

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK ve FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİKRO DESENLİ HETEROJEN POLİMER YÜZEYLERİN
SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE BİO-TUTUNMA
ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

NEVİN ATALAY GENGEÇ
DOKTORA TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

GEBZE
2014

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK ve FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MİKRO DESENLİ HETEROJEN POLİMER
YÜZEYLERİN SENTEZİ,
KARAKTERİZASYONU VE BİO-TUTUNMA
ETKİNLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

NEVİN ATALAY GENGEÇ
DOKTORA TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
PROF. DR. H. YILDIRIM ERBİL

GEBZE

2014



**GEBZE YÜKSEK
TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA JÜRİ ONAY FORMU

GYTE Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 27.01.2014 tarih ve 2014/06 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 19/02/2014 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Nevin ATALAY GENGEÇ'in tez çalışması Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : Prof. Dr. H. Yıldırım ERBİL

ÜYE

: Prof. Dr. Mahmut BAYRAMOĞLU

ÜYE

: Prof. Dr. Murat ÖZDEMİR

ÜYE

: Prof. Dr. Sezai SARAÇ

ÜYE

: Prof. Dr. Hayal BÜLBÜL SÖNMEZ

ONAY

GYTE Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

Bu tez, heterojen ve farklı pürüzlülük derecelerindeki polimer yüzeylerin sentezi ve bu yüzeylere L1210/lökosit ve Saos-2/HGF hücre çiftlerinin seçimli tutunma davranışlarının incelenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. L1210 lösemi hücrelerini, sağlıklı lökositlere nazaran seçimli olarak tutan polimer yüzeylerin saptanması ile kanında lösemi hücresi taşıyan bireylerin sağlık sorunlarının çözümüne katkıda bulunulmuş olunacaktır. Ayrıca Saos-2 hücrelerinin fazla yapıştığı ve HGF hücrelerinin ise az bağlandığı seçimli tutunma gösteren yüzeylerin tespiti ile diş implantlarında yeni malzemelerin gelişimine katkı sağlanacaktır.

Çalışmamızda, farklı kimyasal fonksiyonel gruplara ve hidrofobluk derecelerine sahip, düz veya pürüzlü ve ayrıca mikrodeseanlı pürüzlü heterojen kaplama yüzeyleri, CO₂ ortamında sentezlenen kopolimerler, ticari polimerler ve polimer karışımlardan, daldırma yöntemiyle faz dağılımı prosesi ile oluşturulmuştur. CO₂ ortamında sentezlenen kopolimerlerin M_w'lerinin kontrol edilmesi amacıyla gerçekleştirilen polimerizasyonlar sonucunda kopolimer M_w'nin kontrolünde CO₂/monomer oranının etkin parametre olduğu ve bu oranın değişimi ile M_w'in lineer olarak değiştiği belirlenmiştir. Polimer karışım bileşimi, kaplama sıcaklığı, polimer konsantrasyonu, daldırma hızı ve çözücü cinsi gibi parametrelerin oluşan ince filmin mikrodesean çapı ve mikrodeseanlar arası mesafenin kontrolünde etkin olduğu saptanmıştır. Kaplama özelliklerinin değişimine bağlı olarak HDPE/PS, PPPE/PS ve (TAN-MMA)/PS polimer karışımlardan mikrodesean çapı 0.5-40 µm arasında değişen ve 90-170° temas açısı aralığında ve farklı hidrofobluk derecelerinde olan heterojen yüzeyler kontrollü şekilde hazırlanmıştır.

İn vitro biyolojik incelemelerde, L1210 lösemi hücrelerinin üzerinde tutunmayı tercih ettiği ve buna karşın sağlıklı lökosit hücrelerinin üzerinde az tutunduğu ve ayrıca Saos-2/HGF hücre çifti için de olumlu seçimlilik gösteren PS/PPPE mikrodeseanlı yüzeyleri saptanmıştır. L1210/lökosit ve Saos-2/HGF hücrelerin tutunma performanslarına, yüzey ıslatılabilirliğinin, heterojenliğinin, mikrodesean çapı ve mikrodeseanlar arası mesafe değişiminin etkili olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Mikrodesean, L1210 Lösemi Hücreleri, Lökosit, Seçimli Hücre Tutunması, Temas Açısı, Polimer Yüzey.

SUMMARY

The objectives of this thesis are the synthesis of polymeric surfaces having the different roughness degree and chemical heterogeneity and the examination of selective adsorption behaviors of L1210/leukocyte cells on the synthesized surfaces. If the separation of L1210 cells from leukocytes can be achieved by the synthesized surfaces, this may be useful in finding new treatment options for people with leukemia. These surfaces were also tested with Saos-2 and HGF cells, seeking to achieve more selective adhesion to Saos-2 cells compared to HGF cells in order to develop new dental materials.

Polymer films having flat/rough/micropatterned surface, different function group and hydrophobicity were prepared with phase-separation film formation method by using commercial polymers, polymer blends and synthesized copolymers in CO₂ medium. M_w of synthesized copolymers in CO₂ medium was controlled by varying the ratio of CO₂/monomer. Type of polymer blend, dipping temperature, polymer concentration, dipping speed and solvent type were determined to be effective parameters in controlling the micro pattern diameter and the distances between micropatterns. Heterogeneous surfaces having micropattern diameters of 0.5-40 μm, giving contact angles of 90-170° and different hydrophobicities were prepared using HDPE/PS, PPPE/PS and (TAN-MMA)/PS polymer blends by varying the coating conditions.

Micropatterned PPPE/PS surfaces were found to have positive selectivity to L1210 leukemia cells in comparison with the healthy leukocytes when in vitro biological tests were applied. In addition, these surfaces show positive selectivity to Saos-2 cells in comparison with HGF cells. It was found that wettability, surface heterogeneity, micropattern diameter and distances between micropattern are the effective parameters on the adsorption performances of L1210 cells/ leukocytes and Saos-2/HGF cells.

Keywords: Micropatterning, L1210 Leukemia Cells, Leukocytes, Selective cell adhesion, Contact Angle, Polymer Surface.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen, çalışma azmi ve başarısı ile önümüze ışık tutan, her zaman yol gösteren ve destek olan, sayın hocam Prof. Dr. H. Yıldırım ERBİL'e en içten duygularıyla sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimimde tez izleme jürimde yer alan Prof. Dr. Mahmut BAYRAMOĞLU ve Prof. Dr. Sezai SARAÇ hocalarıma ve tez savunma jürimde yer alan Prof. Dr. Murat ÖZDEMİR ve Prof. Dr. Hayal BÜLBÜL SÖNMEZ hocalarıma verdikleri katkılardan dolayı teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca maddi, manevi her türlü desteklerini ve sevgilerini benden esirgemeyen, annem Atiye ATALAY, babam İsmet ATALAY ve kardeşlerim Ali Rıza ATALAY ve Emre ATALAY'a gönülden teşekkür ederim.

Doktora eğitimim süresince tüm sıkıntılı zamanlarımda büyük bir özveri ile benim yanımda olan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Yrd. Doç. Dr. Erhan GENGEÇ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimimde desteklerini, anlayışlarını ve sevgilerini esirgemeyen laboratuvar arkadaşlarım arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. Uğur CENGİZ, Salih ÖZBAY, Arş. Gör. Merve DANDAN DOĞANCI, Yrd. Doç. Dr. İkrime ORKAN UÇAR ve Yrd. Doç. Dr. C. Elif ÖZEN CANSOY'a teşekkürlerimi sunarım.

GYTE Kimya mühendisliği çalışma arkadaşlarım Dr. Başak TEMUR ERGAN, Arş. Gör. Öznur KAYAN, Yrd. Doç. Dr. Hikmet OKKAY ve sevgisini, desteğini yanımda hissettiğim ismini yazamadığım tüm arkadaşlarıma teşekkürümü sunmayı bir borç bilirim.

Doktora tez çalışmamı oğlum Aziz Doruk GENGEÇ'e ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
TABLolar DİZİNİ	xxvii
1. GİRİŞ	1
2. HETEROJEN YÜZEYLER	3
2.1. Heterojen Yüzeylerin Kullanım Alanları	4
2.2. Heterojen Yüzey Sentez Yöntemleri	6
2.2.1. Faz Ayrımı ile Polimerlerden Heterojen Yüzey Sentezi	6
2.2.2. Polimer Karışımlardan Heterojen Mikrodeseanlı Yüzey Sentezi	11
2.2.2.1. Polimer Karışımların Karışabilirliği (Miscibility)	27
2.2.2.2. Polimer Karışımların Hazırlanma Prosesleri	28
2.3. Yüzey Sülfonasyonu ile Heterojen Polimer Yüzey Sentezi	29
3. TEMAS AÇISI ve KATILARIN SERBEST YÜZEY ENERJİSİ HESABI	32
3.1. Temas Açısı	32
3.1.1. Temas Açısı Ölçüm Metotları	35
3.1.1.1. Statik Temas Açısı Ölçümü	36
3.1.1.2. Dinamik Temas Açısı Ölçümü	39
3.2. Temas Açısı Karmaşası (Contact Angle Hysteresis)	40
3.3. Serbest Yüzey Enerjisi	42
3.3.1. Geometrik Ortalama Metodu (Fowkes ve Owens & Wendt)	42
3.3.2. Asit-Baz Metodu (van Oss-Good)	44
3.4. Süperhidrofobik Yüzeyler	46
3.4.1. Süperhidrofobik Yüzey Sentez Yöntemleri	47
3.4.2. Doğal Süperhidrofobik Yüzeyler: Nilüfer (Lotus) Etkisi	48

3.4.3. Yapay Süperhidrofobik Yüzeyler	49
4. FLORLU KOPOLİMER SENTEZİ	51
4.1. Polimerizasyon Ortamı Olarak CO ₂ kullanımı	51
4.1.1. Heterojen Polimerizasyon	53
4.1.1.1. Sk-CO ₂ İçerisinde Çökelme Polimerizasyonu	54
4.1.1.2. CO ₂ -Genişlemiş Monomer Fazında Polimerizasyon	56
5. POLİMERİK BİYOMALZEMELER ve BİYUYUMLULUK	58
5.1. Polimerik Biyomalzemelerin Sınıflandırılması	61
5.2. Polimerik Biyomateryallerin Kullanım Alanları	64
5.3. Polimerik Biyomateryal-Biyouyumluluk İlişkisi	66
5.3.1. Fizikokimyasal ve Mekanik Biyouyumluluk Testleri	66
5.3.2. Biyolojik Biyouyumluluk Testleri	67
5.3.2.1. Hücre Toksisitesi	68
6. POLİMER YÜZEYLERE BİYOTUTUNMA	70
6.1. Proteinlerin Tutunması	70
6.1.1. Proteinlerin Tutunmasında Yüzey Özelliklerinin Etkisi	71
6.1.1.1. Fibronektin Tutunması	72
6.2. Hücrelerin Biyotutunması	74
6.2.1. Hücre-Yüzey Etkileşimleri	75
6.2.1.1. Hücre Tutunma Molekülleri	75
6.2.2. Hücre Tutunmasında Yüzey Özelliklerinin Etkisi	78
6.2.2.1. Yüzeydeki Kimyasal Grupların Cinsi ve Dağılımı	79
6.2.2.2. Yüzey Pürüzlülüğü	80
6.2.2.3. Yüzey Islatılabilirliği	82
6.2.2.4. Serbest Yüzey Enerjisi	84
6.2.3. Hücre Tutunmasında Hücre Özelliklerinin Etkisi	85
6.2.4. Sağlıklı Hücrelerin Yüzeylerle Etkileşimi	86
6.2.4.1. Kan ve İnsan Gingival Fibroblast (HGF) Hücrelerinin Yüzeylerle Etkileşimi	86
6.2.5. Kanserli Hücrelerin Yüzeylerle Etkileşimi	88
6.2.5.1. Kanserli Lösemi Hücrelerinin (L1210) Yüzeylerle Etkileşimi	89
6.2.5.2. Kanserli Kemik Hücrelerinin (Saos-2) Yüzeylerle Etkileşimi	90
7. MATERYAL – METOT	92

7.1. Kullanılan Monomerler, Ticari Polimerler ve Diğer Kimyasalların Özellikleri	92
7.2. Kullanılan Protein, Hücreler ve Biyolojik Değerlendirme Kimyasallarının Özellikleri	94
7.3. CO ₂ -Genişletilmiş Monomer Ortamında Polimerizasyon	94
7.3.1. CO ₂ Sistem Kalibrasyonu	96
7.3.2. Sentezlenen Polimerlerin Karakterizasyonu	97
7.3.2.1. Kopolimerin Monomer İçeriğinin, Moleküler Ağırlığının ve Termal Geçiş Sıcaklıklarının ¹ H-NMR, GPC, Ubbelohde Viskozimetre ve DSC ile Belirlenmesi	97
7.4. Daldırmayla Kaplama Yöntemi ile Cam Lam/Primer kaplı Cam Lam Üzerine Polimerlerin İnce Film Kaplanması	99
7.4.1. Homopolimer ve Kopolimerlerden Pürüzsüz Polimerik Yüzeylerin Hazırlanması	101
7.4.2. Homopolimer, Kopolimerler ve Polimer Karışımlardan Pürüzlü Polimerik Yüzeylerin Hazırlanması	103
7.4.3. Polimer Karışımlardan Pürüzlü Mikrodesenli Polimerik Yüzeylerin Hazırlanması	105
7.4.4. Polimer Karışımlardan Hazırlanan Polimerik Yüzeylerin Yüzey Sülfonasyonu ile Modifiye Edilmesi	107
7.5. Polimerik Yüzeylerin Karakterizasyonu	107
7.5.1. 2D Optik Mikroskop, 3D Yüzey Profilometresi ve SEM Kullanılarak Polimerik Yüzeylerin Görüntülenmesi	107
7.5.2. Polimerik Yüzeylerin Temas Açısı Ölçümü ve Serbest Yüzey Enerjilerinin Belirlenmesi	109
7.6. Polimerik Yüzeylerin Biyolojik Değerlendirmeleri	110
7.6.1. Biyolojik Değerlendirmelerde Kullanılan Tüm Polimerik Yüzeylerin Toksisite Test Prosedürleri	111
7.6.2. Polimerik Yüzeylere Fibronektin Tutunma Prosedürü	112
7.6.3. Sağlıklı İnsan Kanından Lökosit İzolasyon Protokolü ve Tutunma Denemeleri Prosedürü	113
7.6.4. Hücre Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	114

7.6.5. L1210 Hücre Kültür Ortamının Hazırlanması ve Biyotutunma Denemeleri Prosedürü	115
7.6.6. Saos-2 ve Gingival Fibroblast (HGF) Hücre Ortamlarının Hazırlanması ve Biyotutunma Deneme Prosedürleri	116
7.6.7. Hücre Canlılık Deneme Protokolleri	116
7.6.8. Hücre Boyama ve Hücre Morfolojisinin Belirlenmesi Prosedürleri	117
8. BULGULAR	119
8.1. Sk-CO ₂ Ortamında Polimerizasyon ve Polimer Karakterizasyonu	119
8.1.1. CO ₂ -Genişletilmiş Monomer Ortamında Farklı Monomer Bileşimlerinde ve Reaksiyon Şartlarında p(TAN-ran-MMA) Kopolimerlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu	122
8.1.1.1. p(TAN-ran-MMA) Kopolimerlerinin Monomer Konsantrasyonu ve Monomer/CO ₂ Oranlarının Kopolimer Molekül Ağırlıkları Üzerine Etkisi	125
8.1.1.2. p(TAN-ran-MMA) Kopolimerlerinin Kopolimer Molekül Ağırlığı Üzerine Kopolimerizasyon Basıncı ve Reaksiyon Süresinin Etkisi	127
8.1.1.3. p(TAN-ran-MMA) Kopolimerlerinin Mark-Houwink Sabitlerinin Belirlenmesi	130
8.2. Ticari Homopolimer ve Kopolimerlerden Polimerik Yüzeylerin Sentezi ve Yüzey Karakterizasyonu	132
8.3. CO ₂ Ortamında Sentezlenen p(TAN-ran-MMA) Kopolimerinden Polimerik Yüzeylerin Sentezi ve Yüzey Karakterizasyonu	134
8.3.1. Farklı Zonyl-TAN Bileşimlerinde p(TAN-ran-MMA) Kopolimerlerinden Pürüzsüz Hidrofob Yüzeylerin Hazırlanması ve Yüzey Karakterizasyonu	134
8.3.2. p(TAN-ran-MMA)/PS Polimer Karışımlarından Pürüzlü Hidrofob Yüzeylerin Hazırlanması ve Yüzey Karakterizasyonu	140
8.3.3. p(TAN-ran-MMA)/PS Polimer Karışımlarına Kötü Çözücü İlavesi ile Süperhidrofob Yüzey Sentezi ve Yüzey Karakterizasyonu	142
8.4. HDPE/PS Polimer Karışımlarından Mikrodeseanlı Yüzeylerin Hazırlanması ve Yüzey Karakterizasyonu	145

8.4.1. HDPE/PS Polimer Karışımlarından Hazırlanan Mikrodese­nli Yüzeylerde Polimer Bileşiminin Yüzey Özelliklerine Etkisi	146
8.4.2. HDPE/PS Polimer Karışımlarından Hazırlanan Mikrodese­nli Yüzeylerde Kaplama Şartlarının Yüzey Özelliklerine Etkisi	148
8.4.2.1. Çözücü Etkisi	148
8.4.2.2. Kaplama Konsantrasyonu Etkisi	149
8.4.2.3. Kaplama Sıcaklığı Etkisi	150
8.4.2.4. Kaplama Hızı Etkisi	151
8.4.3. HDPE/PS Polimer Karışımlarından Hazırlanan Mikrodese­nli Yüzeylerde Polimer Molekül Ağırlığının Yüzey Özelliklerine Etkisi	152
8.4.3.1. PS Polimer Molekül Ağırlığı Sabitken, HDPE Molekül Ağırlığının Değişiminin Yüzey Özelliklerine Etkisi	153
8.4.3.2. HDPE Polimer Molekül Ağırlığı Sabitken, PS Polimer Molekül Ağırlığının Değişiminin Yüzey Özelliklerine Etkisi	157
8.4.4. HDPE/PS Polimer Karışımlarından Hazırlanan Yüzeylerin Sülfonasyonu ve Sülfolanmış Yüzeylerin Karakterizasyonu	158
8.5. PPPE/PS Polimer Karışımlarından Mikrodese­nli Yüzeylerin Hazırlanması ve Yüzey Karakterizasyon Sonuçları	159
8.5.1. Farklı Bileşimlerdeki PPPE/PS Polimer Karışımlarından Mikrodese­nli Yüzeylerin Sentezi ve Karakterizasyonu	160
8.5.2. Farklı Bileşimlerdeki PPPE/PS Polimer Karışımlarına Sabit Mik­tar­da Kötü Çözücü İlavesi ile Mikrodese­nli Yüzeylerin Sentezi ve Karakterizasyonu	161
8.5.3. (60:40) ve (80:20) PPPE/PS Polimer Karışımlarına Farklı Mik­tar­da Etanol İlavesi ile Mikrodese­nli Yüzeylerin Sentezi ve Karakterizasyonu	163
8.5.4. PPPE/PS Polimer Karışımlarından Hazırlanan Yüzeylerin Sülfonasyonu ve Sülfolanmış Polimerik Yüzeylerin Karakterizasyonu	166
8.6. Homopolimer, Kopolimer ve Polimer Karışım Yüzeylerinin L1210/lökosit ve Saos-2/HGF Hücre Çiftlerinin Seçimli Canlılık ve Tutunma Davranışının İncelenmesi	167

8.6.1. Yüzeylerin Hücre Canlılığına Olan Etkilerinin Belirlenmesi, Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Polimer Yüzeyler Varlığında Canlılık Testleri	167
8.6.2. Homopolimer ve Kopolimer Yüzeylerine L1210 ve Lökosit Hücrelerinin Tutunma Davranışı	173
8.6.3. Homopolimer ve Kopolimer Yüzeylerine Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Tutunma Davranışı	176
8.6.4. PS/(MMA-ZONYL TAN) Polimer Karışımlarından Sentezlenen Yüzeylere L1210 ve Lökosit Hücrelerinin Tutunma Davranışı	177
8.6.5. PS/(MMA-ZONYL TAN) Polimer Karışımlarından Sentezlenen Yüzeylere Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Tutunma Davranışı	179
8.6.6. PS, HDPE Homopolimerleri ve (50:50) HDPE/PS Polimer Karışım Yüzeylerine L1210 ve Lökosit Hücrelerinin Tutunma Davranışı	180
8.6.7. PS, HDPE Homopolimerleri ve (50:50) PS/HDPE Polimer Karışım Yüzeylerine Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Tutunma Davranışı	181
8.6.8. Farklı Kompozisyonlardaki PPPE/PS Polimer Karışımlarına Aynı Miktarda Kötü Solvent İlavesi ile Sentezlenen Yüzeylerin L1210 ve Lökosit Hücreleriyle Tutunma Davranışı	182
8.6.9. Farklı Kompozisyonlardaki PPPE/PS Polimer Karışımlarına Aynı Miktarda Kötü Çözücü (ETOH) İlavesi ile Sentezlenen Yüzeylere Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Tutunma Davranışı	184
8.6.10. (40:60) ve (20:80) PS/PPPE Polimer Karışımlarına Farklı Miktarda Etanol İlavesi ile Sentezlenen Yüzeylerde L1210 ve Lökosit Hücrelerinin Tutunma Davranışı	186
8.6.11. (40:60) PS/PPPE Polimer Karışımlarına Farklı Miktarda Etanol İlavesi ile Sentezlenen Yüzeylerde Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Tutunma Davranışı	189
8.7. PVOH, PS, S-PS, Homopolimer ve PPPE, Zonyl TAN-MMA Kopolimer Yüzeylerine Fibronektin Tutunması ve Yüzey Karakterizasyonu	191

8.7.1. Fibronektin Tutunmuş PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve Zonyl TAN-MMA Kopolimer Yüzeylerine L1210 ve Lökosit Hücrelerinin Tutunma Davranışı	193
8.7.2. Fibronektin Tutunmuş PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve Zonyl TAN-MMA Kopolimer Yüzeylerine Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Tutunma Davranışı	194
8.8. Hücre Boyanması ile Hücre Morfolojisinin Belirlenmesi	195
9. TARTIŞMALAR	202
9.1. CO ₂ Ortamında Sentezlenen Kopolimerlerin Kopolimer Bileşimi ve Reaksiyon Şartlarının Kopolimer Molekül Ağırlığına Olan Etkisi ve Kopolimer Filmlerinin Yüzey Özellikleri	202
9.2. Polimer ve Polimer Karışımlardan Hazırlanan İnce Film Polimerik Yüzeylerin Özellikleri ve Mikrodeseanlı Polimerik Yüzeylerin Sentezinde Kaplama Şartlarının Yüzey Özelliklerinin Kontrolüne Etkisi	204
9.3. Hazırlanan Polimer Yüzeylerin L1210/Lökosit Hücreleri ile Seçimli Tutunma Sonuçları	211
9.4. Hazırlanan Polimer Yüzeylerin Saos-2/HGF Hücreleri ile Seçimli Tutunma Sonuçları	214
9.5. Polimer Yüzeylere Fibronektin Tutunması Sonucu Elde Edilen Yüzeyler ve Bu Yüzeylerin L1210/Lökosit ile Saos-2/HGF Hücre Çiftleri ile Seçimli Tutunma Sonuçları	216
9.6. Hücre Boyama ile Hücre Morfolojisi Sonuçları	217
10. SONUÇLAR	218
KAYNAKLAR	222
ÖZGEÇMİŞ	243
EKLER	244

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve</u> <u>Kisaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
η	: İntrinsik Viskozite
η_{sp}	: Spesifik Viskozite
η_r	: Relatif Viskozite
T_g	: Camı Geçiş Sıcaklığı
M_n	: Polimer Sayıca Molekül Ağırlığı
M_w	: Polimer Kütlece Molekül Ağırlığı
S	: Yayılma Katsayısı
γ	: Yüzey Gerilim Kuvveti
ΔG_{mix}	: Karışımın Gibbs Serbest Enerjisi
ΔH_{mix}	: Karışımın Entalpisi
ΔS_{mix}	: Karışımın Entropisi
θ	: Temas Açısı
θ_e	: Denge Temas Açısı
θ_a	: İlerleyen Temas Açısı
θ_r	: Gerileyen Temas Açısı
T	: Sıcaklık
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskobu
AIBN	: Aminoazobenzensülfonik Asit
BIS-GMA	: Bis-Fenol A Glisidil Metakrilat
BN	: α -Bromo Naftalin
CAH	: Temas Açısı Karmaşası, Hysteresis
CFC	: Kloroflorokarbon
DSC	: Diferansiyel Tarama Kalorimetresi
ECM	: Ekstrasellüler Matriks
EG	: Etilen Glikol
ESCA	: Kimyasal Analiz Elektron Spektroskopisi
ESEM	: Environmental Scanning Electron Microscope

EtOH	: Etanol
EVA-12	: Etilen Vinil7 Asetat Kopolimer
FA	: Formamide
FN	: Fibronektin
GPC	: Jel Geçirgenlik Kromatografisi
HA	: Hidroksiapatit
HDPE	: Yüksek Yoğunluklu Polietilen
HGF	: İnsan Gingival Fibroblast Hücreleri
H ₂ SO ₄	: Sülfürik Asit
IR spektrumu	: Kızıl Ötesi Spektrumu
ITO	: İndiyum Kalay Oksit
L1210	: Fare Lösemi Hücresi
LCP	: Sıvı Kristal Polimer
MDOP	: 2-Metilen-1,3-Dioksapen
MFI	: Polimerlerin Erime Akışı İndeksi, Melt Flow Index
MH	: Mark-Houwink
MI	: Metilen İyodür
MTT	: [3-(4,5-dimetiltiyazol-2)-2,5-difeniltetrazolyum bromür]
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
NVP	: Vinil-2-Pirrolidon
PA	: Poliasetal
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz
PC	: Polikarbonat
PDMS	: Polidimetilsiloksan
PE	Polietilen
PEA	: Polietilakrilat
PEEK	: Polietereterketon
PEG	: Polietilen Glikol
PET	: Polietilenteraftalat
PEP	: Poli(Etilen-co-Propilen)
PELA	: Laktik Asit-Polietilen Glikol Blok Kopolimeri
PFPE	: Perfloropolietilen
p(FOA)	: Poli(dihidro perfloro oktil akrilat)

PGA	: Poliglikolik Asit
PHEMA	: Poli(Hidroksi Etil Metakrilat)
PHB	: Poli(Hidroksi Bütirat)
PLA	: Polilaktik Asit
PLLA	: Poli(L-Laktik Asit)
PLDLA	: Poli(L-DL-Laktid)
PMA	: Polimetakrilat
PMMA	: Polimetilmetakrilat
PP	: Polipropilen
PPPE	: Polipropilen-Polietilen Kopolimeri
PS	: Polistiren
PSF	: Polisülfon
PTFE	: Politetrafloroetilen, Teflon
PU	: Poliüretan
PVC	: Polivinilklorür
P4VP	: Poli(4-Vinilpiridin)
PVDF	: Poliviniliden Florür
PVOH	: Polivinilalkol
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopu
SFE	: Serbest Yüzey Enerjisi
Sk-CO ₂	: Süperkritik Karbondioksit
s-PS	: Sülfolanmış Polistiren
SR	: Silikon Kauçuk
TFEMA	: 2,2,2-Trifloroetil Metakrilat Homopolimerini
THF	: Tetra Hidro Furan
UHMWPE	: Ultra-Yüksek Molekül Ağırlıklı Polietilen
UOÇ	: Uçucu Organik Çözücü
UV-vis	: Ultraviyole ve Görünür Işık Spektrofotometresi
XPS	: X-ışını Elektron Spektroskopisi
Zonyl-TAN	: Perfloro Alkil Etil Akrlat Monomeri
Zonyl-TM	: Perfloro Alkil Etil Metakrilat Monomeri

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: a) Pürüzsüz kimyasal heterojen yüzey, b) Pürüzlü kimyasal heterojen yüzey.	3
2.2: Su üzerinde lens oluşturan yağ damlasının şekli.	7
2.3: PMMA/PS polimer karışım yüzeyinin AFM görüntüsü.	9
2.4: Üçlü polimer karışımlar için olası farklı yüzey morfolojileri için temsili yüzeyler a) matriks üzerinde ayrı ayrı disperse olmuş iki polimeri, b) matriks üzerinde iki polimerin kısmen çevrenmesi, c) Polimer-1'in Polimer-3 ile tamamen çevrenmesi, d) Polimer-3'ün Polimer-1 ile tamamen çevrenmesi. (siyah: Polimer-1, beyaz: Polimer-2 ve gri: Polimer-3).	10
2.5: 40/20/40 HDPE/PS/PMMA üçlü polimer karışım için AFM görüntüsü.	11
2.6: PEP/PS yığınlarının atomik mikroskop görüntüsü a) 4 nm PEP filmi üzerine spin kaplama ile 4 nm PS kaplı mikrodesezli yüzey, b) 400 nm PEP filmi üzerine spin kaplama ile 4 nm PS kaplı mikrodesezli yüzeyin SEM görüntüsü.	13
2.7: a) 10 w % PS/THF ve b) 8 w % PS/THF çözelti konsantrasyonlarında 25 °C sıcaklıkta elde edilen mikrodesezli PS yüzeylerinin SEM görüntüsü.	13
2.8: a) % (w) 4, b) % (w) 2, c) % (w) 1, d) % (w) 0,5 ve e) % (w) 2 konsantrasyonlarda hazırlanan PS/PMMA polimer karışım yüzeyleri için AFM görüntüleri.	14
2.9: PMMA tabakası üzerine a) 10 mg/mL, b) 5 mg/mL ve c) 1 mg/mL farklı konsantrasyonlardaki PS çözeltisinin buharlaştırılması sonucunda elde edilen PS/PMMA polimer karışım yüzeylerin AFM topografik görüntüsü.	15
2.10: a) 20 mg/mL, b) 40 mg/mL ve c) 60 mg/mL konsantrasyonlardaki 90:10 PS/PMMA bileşimindeki polimer karışım yüzeylerinin AFM görüntüsü.	15

2.11:	a) 0.52, b) 0.16, c) 0.022 ve d) 0.013 g/sa toluen buharlaşma hızı için PS/PMMA polimer karışım yüzeylerinin konfokal mikroskop görüntüsü.	16
2.12:	a) 25°C da % 15 PS/THF ve b) 8°C da % 8 PS/THF çözeltisinin buharlaştırılması sonucu elde edilen PS yüzeyine ait SEM görüntüsü.	17
2.13:	a) E56/PSF ($M_{w,E56} = 357$), b) E51/PSF ($M_{w,E51} = 392$), c) E39/PSF ($M_{w,E39} = 513$) ve d) E31/PSF ($M_{w,E31} = 695$) polimer karışımların SEM görüntüleri.	18
2.14:	a) PS-1/P4VP ($M_{w,PS-1} = 22.4$) ve b) PS-2/P4VP ($M_{w,PS-2} = 582$) polimer karışımlarının SEM görüntüleri.	19
2.15:	İkili polimer karışımlarda olası yüzey morfolojilerinin şematik gösterimi.	20
2.16:	Altın substrat üzerine 100 nm kalınlığında oluşturulan a) PS/PMMA (50/50) polimer karışımı b) PS/PMMA (30/70) polimer karışımının ince film AFM görüntüsü.	21
2.17:	a) % 25:75 PS/PMMA ve b) % 75:25 PS/PMMA polimer karışım bileşimleri için AFM görüntüsü c) PS/PMMA polimer karışım bileşiminin temas açısı ile değişim grafiği.	21
2.18:	Farklı bileşimlerdeki a) 90:10, b) 70:30, c) 50:50 PS/PMMA polimer karışımlarının AFM görüntüsü.	22
2.19:	a) ve g) matrix üzerinde çekirdek kabuk şeklinde dağılmış faz morfolojisi c) ve e) üç polimerin bir arada sürekli olduğu faz morfolojisi için temsili şekillerdir; b) 60/10/30, d) 40/20/40, f) 30/30/40 ve h) 10/80/10 HDPE/PS/PMMA üçlü polimer karışımlara ait SEM görüntüleri.	24
2.20:	a) Altın substrat üzerine oluşturulan PS/PMMA (50/50) polimer karışımının, b) Hidrofobik silikonlu cam substrat üzerine PS/PMMA (30/70) polimer karışımının ince film AFM görüntüsü.	25
2.21:	Polystyrene/Polyisopren polimer karışımlarının a) CH ₃ -SAM ve b) COOH-SAM substratlar üzerindeki yüzey morfolojisinin AFM görüntüsü.	26

2.22:	50:50 PS/PMMA polimer karışımlarının a) Silikon oksit, b) Altın ve c) ODM (oktadesilmerkaptan) substratlar üzerindeki ince film kapalamalarının AFM görüntüsü.	27
2.23:	PS'nin sülfürik asit ile sülfünasyon reaksiyonu.	30
3.1:	Katı yüzey üzerinde oluşturulan sıvı damlasının temas açısı ve katı yüzey ile sıvı damlası arasındaki etkileşim kuvvetleri.	32
3.2:	a) Wenzel teorisine göre ve b) Cassie-Baxter teorisine göre sıvı damlasının pürüzlü yüzeyler üzerindeki damla profilleri.	34
3.3:	Farklı temas açısına sahip katı yüzeyler üzerinde sıvı damlasının oluşturduğu damla profilleri ve temas açıları.	35
3.4:	Optik temas açısı cihazıyla (Gonyometrik metotla) kaydedilmiş bir görüntüde veri işleme ve temas açısı ölçüm penceresi.	36
3.5:	Sıvı damlasının ilerleyen temas açısının ölçümüne dair şematik gösterimi ve temsili analiz grafiği.	38
3.6:	Nilüfer yaprağı su örümceği ve kelebek kanadı fotoğrafları ve SEM görüntüleri.	48
3.7:	Farklı 4 yüzey pürüzlülüğüne sahip yüzeylerin ıslanabilirliğinin şematik gösterimi.	49
4.1:	CO ₂ 'in faz değişim grafiği.	52
5.1:	Vücut içinde kullanılan biyomalzemelere örnek görseller a) bacak eklemi b) diş implantı, c) yapay kalp ve damar, d) kalça protezi.	60
5.2:	Polimerik biyomateryallerin insan vücudundaki değişik uygulamaları.	63
5.3:	Vücuttaki bazı organ/dokuların yerini alan biyomateryal implantlar.	64
6.1:	Aminoasitlerden oluşan polipeptid zinciri.	71
6.2:	Fibronektinin moleküler yapısı.	73
6.3:	Dolaşımdaki lökositlerin endotel hücreler ile etkileşim mekanizması.	77
6.4:	a) Serbest haldeki L1210 hücresi, b) Sülfolanmamış PS yüzeyine yapışan L1210 hücresi ve c) Sülfolanmış PS yüzeyine yapışan L1210 hücresi için 3D temsili şekilleri.	80

6.5:	a) Silindirik ve çubuk şeklindeki polietilen glikol (PEG) mikrodeseenlerine fare fibroblast hücrelerinin tutunma davranışı, b) Silindirik ve çubuk şeklindeki perfloropolietilen (PFPE) mikrodeseenlerine fare fibroblast hücrelerinin tutunma davranışı.	81
6.6:	Farklı boyutlardaki mikrodeseenler üzerine hücrelerin olası tutunma davranışının şematik temsili.	82
6.7:	Temas açısı değişimine bağlı olarak fibroblast hücrelerinin tutunma performansındaki değişim.	83
6.8:	Oestoblast hücrelerinin farklı yüzey özellikli materyaller üzerindeki pozisyonu (bağlanan hücre sayısı) ile a) su temas açısı ve b) serbest yüzey enerjisindeki değişim.	85
6.9:	HOS hücrelerinin a) başlangıçtaki yayılma, b) 1 saatlik inkübasyon sonrasındaki yayılma davranışına dair mikroskop görüntüsü.	88
6.10:	a) düz yüzeylere tutunma davranışı, b) ve c) mikrodeseenli yüzeyin temsili şekli ve i-iv mikordeseenli yüzeylere olası tutunma davranışı.	90
6.11:	Kanserli kemik hücresi Saos-2 nin floresans mikroskop görüntüsü.	91
7.1:	Kullanılan monomerlerin açık formülleri	92
7.2:	Zonyl-TAN monomer karışımları CF ₂ sayısının % dağılımı.	93
7.3:	p(Zonyl-TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin CO ₂ -Genişletilmiş Monomer Fazda Heterojen Kopolimerizasyon reaksiyonu.	95
7.4:	CO ₂ ortamında polimerizasyon sistemi.	96
7.5:	DeneySEL Z _{CO2} değerlerinin hesaplanan değerlerle karşılaştırılması.	97
7.6:	a) Oda sıcaklığında kontrollü daldırma cihazı ile gerçekleştirilen sistem fotoğrafı, b) Sıcak polimer çözeltilerin hazırlandığı deney düzeneği.	100
7.7:	Nikon-Eclipse-LV100D 2D optik mikroskobu ve 3D yüzey profilometresi.	108
7.8:	İnce film polimer yüzeylerin, 3D yüzey profilometresi ile elde edilen örnek görüntüleri ve 2D optik mikroskop görüntüleri.	108
7.9:	KSV-CAM-200 Temas açısı ölçüm cihazı.	110

7.10:	a) MTT testinin çalışma prensibi; Sarı renkli MTT kimyasalı canlı hücrelerdeki mitokondriyal redüktaz enzimi ile reaksiyona girer ve mor renkli formazan kristalleri üretilir. b) Deneysel metodun şematik açıklaması.	111
7.11:	MTT test için hücre sayısı optimizasyon deney sonuçları (24 saat sonra).	112
7.12:	FN tutunma denemelerinin şematik gösterimi.	113
7.13:	Kan sayım çemberi (hemocytometer).	115
8.1:	$^{13}\text{TAN}_{32}\text{-ran-MMA}_{68}$) $_{16}$ kopolimerinin temsili $^1\text{H-NMR}$ spektrumu.	123
8.2:	$^{13}\text{TAN}_{32}\text{-ran-MMA}_{68}$) $_{16}$ kopolimerinin temsili DSC termogramı.	124
8.3:	Farklı basınçlarda hazırlanan p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin wt % Zonyl-TAN bileşimi ile T_g değerlerinin değişimi.	125
8.4:	Beslemedeki Zonyl-TAN bileşiminin artışı ile kopolimer M_w değişimi.	126
8.5:	p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin $W_{\text{CO}_2}/W_{\text{TAN}}$ oranı ile M_w değişimi.	127
8.6:	Farklı basınçlarda sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerin basınç değişiminin kopolimer molekül ağırlığı ile değişimi.	128
8.7:	Farklı basınçlarda CO_2 ortamında sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin $W_{\text{CO}_2}/W_{\text{TAN}}$ oranı ile molekül ağırlık değişimi.	129
8.8:	Farklı reaksiyon sürelerinde iki farklı basınçta CO_2 ortamında sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin reaksiyon süresi ile molekül ağırlık değişimi.	130
8.9:	Farklı Zonyl-TAN bileşimleri için p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin molekül ağırlığına ($\ln M_w$) karşı intrinstik viskozite ($\ln \eta$) değişimi.	131
8.10:	Pürüzsüz ve pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerinin optik mikroskop ve SEM görüntüleri.	132
8.11:	p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin 2 farklı set için (13 ve 15 MPa) % wt Zonyl-TAN bileşiminin değişimine bağlı olarak su temas açısı sonuçlarının değişimi. 15 MPa; ●: θ_e , ▲: θ_a , ■: θ_r ve 13 MPa; ○: θ_e , △: θ_a , □: θ_r .	137
8.12:	$^{13}\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77}$) $_{16}$ kopolimerinin temsili optik mikroskop ve SEM görüntüsü.	137

8.13:	p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin 2 farklı set için (13 ve 15 MPa) % wt Zonyl-TAN bileşiminin değişimine bağlı olarak SFE değişimi. 13 MPa: $\bullet$: γ_s^{tot} , $\circ$: γ_s^- and at 15 MPa: $\blacktriangle$: γ_s^{tot} , $\triangle$: γ_s^- .	139
8.14:	p(TAN ₂₃ -ran-MMA ₇₇)/PS polimer karışımlarının ağırlıkça farklı karışım oranlarında karıştırılması elde edilen yüzeylerin optik mikroskop ve SEM görüntüleri. a) ₈₀ PS+ ₂₀ TAN ₂₃ , b) ₅₀ PS+ ₅₀ TAN ₂₃ , c) ₂₀ PS+ ₈₀ TAN ₂₃ , d) ₁₀₀ PS+ ₀ TAN ₂₃ , e) ₀ PS+ ₁₀₀ TAN ₂₃ .	140
8.15:	TAN ₂₃ /PS polimer karışımlarına EtOH ilavesi ile hazırlanan farklı bileşimlerdeki TAN ₂₃ /PS-e polimer karışım yüzeylerinin SEM görüntüleri ve su damlası profilleri a) ₁₀₀ PS+ ₀ TAN ₂₃ -e, b) ₈₀ PS+ ₂₀ TAN ₂₃ -e, c) ₅₀ PS+ ₅₀ TAN ₂₃ -e, d) ₂₀ PS+ ₈₀ TAN ₂₃ -e, e) ₀ PS+ ₁₀₀ TAN ₂₃ -e.	143
8.16:	Farklı TAN ₂₃ bileşimlerinde EtOH ilavesi ile hazırlanan TAN ₂₃ /PS-e polimer karışımlarının EtOH ilavesi miktarına bağlı olarak temas açısı değişimi.	144
8.17:	TAN ₂₃ /PS-e polimer karışımlarındaki Zonyl-TAN bileşiminin artışına bağlı olarak denge temas açısındaki değişim.	145
8.18:	HDPE homopolimeri ve farklı polimer karışım bileşimlerindeki HDPE/PS polimer karışımlarının optik mikroskop ve SEM görüntüleri.	147
8.19:	Sabit konsantrasyon ve sıcaklıklarda ksilen ve ksilen+toluen çözülerinde hazırlanan HDPE/PS (50/50) polimer karışımından 748 mm/dk daldırma hızında sentezlenen ince film kaplamaların optik mikroskop görüntüleri.	149
8.20:	Sabit sıcaklık ve daldırma hızı için polimer karışım konsantrasyonunun değişimine bağlı olarak sentezlenen HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri.	150
8.21:	Sabit konsantrasyon ve daldırma hızı için kaplama sıcaklığındaki değişime bağlı olarak HDPE/PS (50/50) polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri.	150
8.22:	Sabit konsantrasyon ve daldırma hızı için %50:50 HDPE/PS karışım yüzeylerinin farklı kaplama hızlarında sentezlenen ince film yüzeylerine ait optik mikroskop görüntüleri.	151

8.23:	Farklı molekül ağırlıklı PS ₁ , HDPE ₁ ve HDPE ₂ polimerlerinden % 50:50 HDPE/PS polimer karışım bileşiminde sabit 312 ve 280 mm/dk daldırma hızı ve 25 mg/mL konsantrasyon için hazırlanan ince film polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri.	154
8.24:	PS ₁ ve HDPE ₂ polimerlerinden % 50:50 polimer karışım bileşiminde aynı kaplama hızında farklı kaplama sıcaklıklarında hazırlanan HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri.	156
8.25:	Farklı M _w 'li PS polimerlerinden hazırlanan % 50:50 HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri.	157
8.26:	Sabit kaplama hızında farklı polimer karışım bileşimlerinde hazırlanan PPPE/PS polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri.	161
8.27:	PS homopolimer, PPPE kopolimer ve polimer kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film kaplamaların optik mikroskop ve SEM görüntüleri.	163
8.28:	Farklı miktarda çöktürücü solvent EtOH ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film kaplamaların optik mikroskop ve SEM görüntüleri.	165
8.29:	Farklı miktarda çöktürücü solvent EtOH ilave edilmiş (20:80) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film kaplamaların optik mikroskop ve SEM görüntüleri.	166
8.30:	NIH 3T3 hücrelerinin polimer kaplı yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.	168
8.31:	NIH 3T3 hücrelerinin yeniden sentezlenen polimer kaplı yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.	169
8.32:	Saos-2 hücrelerinin pürüzsüz ve pürüzlü polimerik yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.	170
8.33:	Saos-2 hücrelerinin pürüzlü polimerik yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.	170
8.34:	Saos-2 hücrelerinin farklı bileşimlerdeki PPPE/PS polimer karışım polimerik yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.	171
8.35:	Saos-2 hücrelerinin PPPE/PS polimer karışım polimerik yüzeyleri üzerindeki canlılık testleri.	171

8.36:	HGF hücrelerinin polimerik yüzeyler üzerindeki canlılık testi sonuçları.	172
8.37:	HGF hücrelerinin pürüzlü polimerik yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.	172
8.38:	HGF hücrelerinin farklı bileşimde PPPE/PS polimer karışım polimerik yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.	173
8.39:	Çok az pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerine L1210 ve sağlıklı lökosit hücre yapışması sonuçları.	174
8.40:	Pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerine L1210 ve Lökosit hücrelerinin hücre yapışması davranışı.	175
8.41:	Çok az pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerine Saos-2 ve Gingival Fibroblast (HGF) hücrelerinin yapışma sonuçları.	176
8.42:	Pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerine Saos-2 ve Gingival Fibroblast (HGF) hücrelerinin yapışması sonuçları.	177
8.43:	PS/(MMA ₉₅ -TAN ₅) polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine L1210 ve lökosit hücre yapışması.	178
8.44:	PS/(MMA ₉₅ -TAN ₅) polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine Saos-2 ve HGF hücre yapışması.	179
8.45:	PS, HDPE homopolimerleri ve PS ₅₀ /HDPE ₅₀ polimer karışımından hazırlanan ince film polimer yüzeylerine L1210 ve Lökosit hücre yapışması.	180
8.46:	PS, HDPE homopolimerleri ve PS ₅₀ /HDPE ₅₀ polimer karışımından hazırlanan ince film polimer yüzeylerine L1210/Lökosit hücre yapışması oranı.	181
8.47:	PS, HDPE ve PS ₅₀ /HDPE ₅₀ polimer karışımından hazırlanan ince film polimer yüzeylerine Saos-2 ve HGF hücre yapışması.	182
8.48:	PS homopolimer, PPPE kopolimer ve polimer kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine L1210 ve lökosit hücre yapışması.	183
8.49:	PS homopolimer, PPPE kopolimer ve polimer kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine L1210/lökosit tutunma oranı.	184

8.50:	PS homopolimer, PPPE kopolimer ve polimer kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine Saos-2 ve HGF hücre yapışması.	185
8.51:	Farklı PS homopolimer, PPPE kopolimer ve polimer kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine Saos-2/ HGF hücre yapışma oranı.	185
8.52:	Farklı miktarda çöktürücü solvent EtOH ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine L1210 ve lökosit hücre yapışması.	186
8.53:	Farklı miktarda çöktürücü solvent EtOH ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine L1210/Lökosit hücre yapışma oranı.	187
8.54:	(20:80) PS/PPPE polimer karışımlarına farklı miktarda kötü çözücü (EtOH) ilavesiyle hazırlanan ince film yüzeylerine L1210 ve lökosit hücre yapışması.	188
8.55:	(20:80) PS/PPPE polimer karışımlarına farklı miktarda kötü çözücü (EtOH) ilavesiyle hazırlanan ince film yüzeylerine L1210/Lökosit hücre yapışması oranı.	189
8.56:	Farklı miktarda çöktürücü solvent EtOH ilave edilmiş %40:60 PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine Saos-2 ve HGF hücre yapışması.	190
8.57:	Farklı miktarda çöktürücü solvent EtOH ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine Saos-2/HGF hücre yapışma oranı.	191
8.58:	Fibronektin tutunmamış ve fibronektin tutunmuş PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve MMA ₉₅ -TAN ₅ yüzeylerine L1210 ve lökosit hücrelerinin tutunma davranışı.	193
8.59:	Fibronektin tutunmamış ve fibronektin tutunmuş PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve MMA ₉₅ -TAN ₅ yüzeylerine L1210/lökosit tutunma oranı.	194
8.60:	Saos-2 ve Gingival fibroblast fibronektin tutunmuş ve tutunmamış PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve (MMA ₉₅ -TAN ₅) yüzeylerine Saos-2 ve Gingival fibroblast (HGF) hücrelerinin tutunma davranışı.	195

8.61:	L1210 hücrelerinin actin boyamaları (Kırmızı: falloidin).	196
8.62:	Saos-2 hücrelerinin falloidin boyamaları. Yeşil: falloidin, Kırmızı: TO-PRO.	197
8.63:	L1210 hücrelerinin polimer yüzeyler üzerindeki SEM görüntüleri.	198
8.64:	Saos-2 hücrelerinin polimer yüzeyler üzerindeki SEM görüntüleri.	198
8.65:	HGF hücrelerinin polimer yüzeyler üzerindeki SEM görüntüleri.	199
8.66:	L1210 hücrelerinin 3 günlük inkübasyon sonundaki Calcein boyamaları.	200

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa</u>
2.1: Polimer yüzeylerinin temas açısı sonuçları.	22
2.2: Substrat yüzeylerinin özellikleri.	26
2.3: Polimer yüzey özelliklerinin önemli olduğu uygulamalara örnekler.	29
5.1: Polimerden yapılmış olan implantların metal ve seramiklere göre avantaj ve dezavantajları.	60
5.2: Doğal ve sentetik biyomalzeme türlerinin uygulama alanlarına örnekler.	65
5.3: Biyomateryallerin özelliklerini belirlemede kullanılan fizikokimyasal ve mekanik testler.	67
5.4: Vücut içerisine veya canlı dokulara yerleştirilen biyomateryaller için uygulanabilecek biyolojik testler.	68
6.1: Tutunma molekülleri ve ligandları.	76
6.2: Kanda bulunan hücrelerinin tipleri ve özellikleri.	87
7.1: Kullanılan monomerlerin bazı fiziksel özellikleri.	93
7.2: PS homopolimerlerinin MFI ve M_w özellikleri.	102
7.3: HDPE homopolimerinin MFI ve M_w özellikleri.	104
8.1: p(Zonyl-TAN-ran-MMA) kopolimerinin kodları, NMR fraksiyonları ve kopolimer verimleri.	120
8.2: p(Zonyl-TAN-ran-MMA) kopolimerinin camsı geçiş sıcaklığı (T_g), Moleküler ağırlık (M_w) ve intrinstik viskozite sonuçları.	120
8.3: Sabit Zonyl-TAN bileşiminde reaksiyon basıncının p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin molekül ağırlığına etkisinin belirlenmesi için kopolimer CO_2 mol sayısı, kopolimerdeki CO_2 /TAN ağırlıkça oranı, intrinstik viskozite sonuçları ve verimleri.	121
8.4: Sabit Zonyl-TAN bileşiminde reaksiyon süresinin p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin molekül ağırlığına etkisinin belirlenmesi için kopolimer intrinstik viskozitesi, molekül ağırlığı ve verimleri.	122
8.5: PMMA ve p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin farklı Zonyl-TAN bileşim aralıkları için hesaplanmış Mark-Houwink sabitleri.	132

8.6:	Pürüzsüz ve pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeyleri üzerindeki temas açısı sonuçları.	133
8.7:	p(TAN-ran-MMA) kopolimer yüzeylerindeki denge, ilerleyen ve gerileyen temas açısı sonuçları.	135
8.8:	p(TAN-ran-MMA) kopolimer yüzeylerindeki metilen iyodür, α -bromo naftalin, formamid ve etilen glikol (EG) damlaları ile ölçülmüş sıvı temas açıları sonuçları.	136
8.9:	p(TAN-ran-MMA) kopolimer yüzeylerinin SFE değerleri (mJ/m^2).	139
8.10:	Farklı bileşimlerdeki $\text{TAN}_{23}/\text{PS}$ polimer karışım yüzeylerine su damlasının denge, ilerleyen ve gerileyen temas açısı sonuçları, metilen iyodür ve hekzadekan damlalarının temas açısı sonuçları ve R_{rms} pürüzlülük sonuçları.	141
8.11:	Farklı bileşimlerde hazırlanan $\text{TAN}_{23}/\text{PS}$ -e polimer karışım yüzeyleri üzerinde belirlenen denge, ilerleyen ve gerileyen temas açısı sonuçları ve R_{rms} pürüzlülük sonuçları.	144
8.12:	HDPE, PS ve HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin temas açısı ve SFE sonuçları.	148
8.13:	HDPE/PS polimer karışımlarında kaplama hızının değişimine bağlı olarak temas açısındaki değişimi.	152
8.14:	Farklı molekül ağırlıklı PS_1 , HDPE_1 ve HDPE_2 polimerlerinden % 50:50 HDPE/PS polimer karışım yüzeylerine ait temas açısı sonuçları.	155
8.15:	Farklı molekül ağırlıklı PS_1 ve HDPE_2 polimerlerinden hazırlanan % 50:50 HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinde kaplama sıcaklığı ve hızının değişimi ile sentezlenen yüzeylerde temas açısı sonuçları.	156
8.16:	Farklı M_w 'li PS polimerlerinden hazırlanan % 50:50 HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin temas açısı sonuçları.	158
8.17:	Sülfonlanmış ve sülfonlanmamış yüzeylerde HDPE/PS polimer karışım bileşimi değişimi ile temas açısı değişimi.	159
8.18:	262 mm/dk sabit kaplama hızında farklı polimer karışım bileşimlerinde hazırlanan PPPE/PS polimer karışım yüzeylerinin temas açısı sonuçları.	161

8.19:	PS homopolimer, PPPE kopolimer ve polimer kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarının su temas açısı (± 1) ve R_{rms} pürüzlülük sonuçları.	162
8.20:	Farklı miktarda çöktürücü solvent ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarının su temas açısı ($\pm 1^\circ$) ve yüzey pürüzlülüğü sonuçları.	164
8.21:	PS, PPPE ve PPPE/PS polimer karışımlarının 262 mm/dk daldırma hızı, 15 mg/mL çözelti konsantrasyonu ve 60°C kaplama sıcaklığı için sülfolanmış ve sülfolanmamış yüzeylere ait su temas açısı sonuçları.	167
8.22:	Tutunma denemeleri için hazırlanan polimer yüzeylerin listesi.	169
8.23:	PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve MMA ₉₅ -TAN ₅ kopolimer yüzeylerine fibronektin tutunması sonrasında ölçülen su denge, ilerleme ve gerileme temas açısı (± 1) sonuçları.	192

1. GİRİŞ

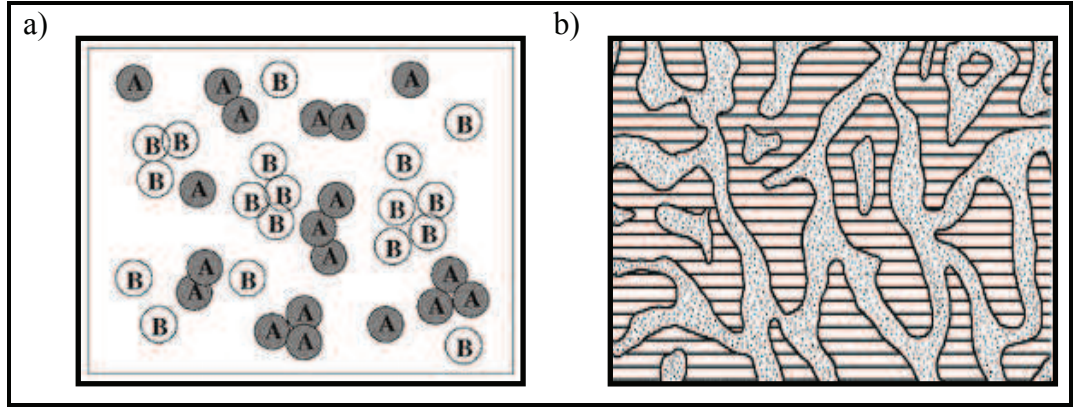
Canlı hücre-yüzey etkileşmelerinin doğası günümüzde hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Hücrelerin bir yüzeye yapışmaları, ya o yüzeyin fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı bu yüzeye yapışmayı tercih etmelerinden, ya da hücrenin kendi salgıladığı hücrelerarası matris proteinlerinin, o yüzeye önce yapışarak daha sonra da hücrelerin bu proteinlere tutunması yoluyla olur. Literatürde rapor edilen bazı çalışmalarda, yüzey-hücre etkileşmeleri üzerine hedeflenen yüzeyin pürüzlülüğü, yüzeyindeki kimyasal grupların cinsi ve dağılımı (heterojenliği), yüzeyin ıslatılabilirliği, serbest yüzey enerjisi gibi özelliklerinin etkisi olduğu belirtilmiştir. Diğer taraftan, bu denemelerde kullanılan yüzeylerin ve hücrelerin çok geniş bir skaladan seçilmiş olmalarının yanı sıra, her bir hücre kendine has karakteristik hücre yapışma molekülleri içermektedir ve bu da hücre-yüzey etkileşmelerinin incelenmesini daha kompleks hale getirmektedir. Ayrıca bu çalışmaların büyük kısmında, hücre/yüzey etkileşme deneyleri ya sadece sağlıklı hücrelerle, ya da sadece sağlıklı hücrelerle, genellikle birbirlerinden çok farklı deneme koşullarında yapıldığından, bulunan sonuçların birbiriyle kıyaslanması ve seçimli tutunmanın varlığının test edilmesi pek mümkün değildir. Bu nedenlerle, bu tez kapsamında, aynı deneme koşullarında, kullanılan polimerik yüzeyin hangi özelliklerinin, hem sağlıklı lökosit, hem de lösemili hücrelerin bu yüzeylere tutunma performansını nasıl etkilediği incelenmesi hedeflenmiştir.

Tez kapsamında ilk olarak, L1210 lösemi hücrelerinin ve sağlıklı lökositlerin bir arada olmadıkları hücre ortamları için, L1210 lösemi hücrelerinin seçimli tutunmasına olanak sağlayabilen polimer yüzeylerin var olup olmadığı ve bu yüzeyler ile hücreler arasındaki etkileşimde hangi yüzey veya yapışma parametresinin etkin olduğu araştırılmıştır. Bunun için, *in vitro* denemelerde hücrelerin kendi hücrelerarası matris proteinlerini sentezlemelerini engelleyecek şartlar sağlanarak, bu koşullardaki hücre-yüzey tutunma testleri yapılmıştır. Bu araştırmadaki pratik hedef, belli periyotlarla kan değişimi yapmak zorunda olan lösemi hastalarının kanlarındaki lösemi hücrelerinden arındırılabilmesi için uygun polimerik adsorban yüzeylerin saptanmasıdır. Ayrıca polimer yüzeylere fibronektin proteini tutunması yapılarak, fibronektin kaplı yüzeylere sağlıklı ve lösemili hücrelerin tutunma performansları da incelenmiştir. Diğer taraftan, L1210 lösemi ve

sağlıklı lökosit hücrelerinin süspansiyon hücre olmalarından dolayı, polimerik yüzeylere yapışma eğilimlerinin yapışkan hücrelere göre daha az olduğu bilinmektedir. Bu yüzden, paralel bir araştırma olarak, L1210/lökosit çifti için hazırlanan polimerik yüzeyler üzerinde, ayrıca daha fazla yapışmaya yatkın hücreler olan, insan Saos-2 ve Gingival Fibroblast (HGF) hücrelerinin de tutunma performansları incelenmiştir. Bu şekilde, Saos-2/HGF hücre çifti için de aynı polimerik yüzeylere yapışma eğilimleri arasında bir seçimliliğin var olup olmadığı test edilmiştir. Pratikte, Saos-2/HGF hücre çiftinin tutunma seçimliliği, dişçilik ve tıptaki önemli çalışmalarda kullanılmaktadır. Saos-2 hücreleri osteojenik hücrelerdir, HGF ise dişetinde bulunan fibroblast yapıda hücrelerdir. Özellikle diş implantlarında, HGF hücreleri implantların etraflarını kaplayıp yumuşak bağ doku oluşturarak bunların çeneye uyum sağlamasını engellerler. Bir diş implantının sağlıklı bir şekilde insanlarda kullanılabilir olabilmesi için, Saos-2 gibi osteojenik hücrelerin bu implant'a yapıştığı ancak HGF hücrelerinin ise yapışmadığı bir üst kaplamaya ihtiyaç vardır. Eğer osteojenik hücrelerin, fibroblast hücrelere göre seçici olarak yapışacağı yüzeyler saptanırsa, o zaman bu bilgi implant uygulamalarında dokuya uyumun sağlanmasında çok faydalı olacaktır. L1210/lökosit ve Saos-2/HGF hücre çiftleri için yapılan tutunma çalışmaları sonucunda, hem L1210/lökosit hücre çifti; hem de Saos-2/HGF hücre çifti için seçimli tutunma davranışı gösteren mikro desenli heterojen polimerik yüzeylerin saptanması mümkün olmuştur.

2. HETEROJEN YÜZEYLER

Heterojen yüzeyler, yüzeydeki kimyasal grupların cinsi ve dağılım yüzdesinin farklı olduğu pürüzsüz heterojen yüzeyler (Şekil 2.1 a)) ve hem topografik hem de kimyasal olarak heterojen olan pürüzlü heterojen yüzeyler (Şekil 2.1 b)) olarak 2 grupta incelenebilir [Web 1, 2009], [Web 2, 2009]. İdeal yüzey olarak kabul edilen yüzeyler dışındaki tüm yüzeyler heterojendir ve heterojen grupların birbirinden farklılık ve yoğunluk derecesine göre heterojen yüzeylerin heterojenlik dereceleri değişir.



Şekil 2.1 a) Pürüzsüz kimyasal heterojen yüzey, b) Pürüzlü kimyasal heterojen yüzey.

Yüzey heterojenliğinin doğası tam olarak tespit edilemez ancak x-ışını elektron spektroskopisi (XPS) ya da kimyasal analiz için elektron spektroskopisi (ESCA) gibi cihazlarla yüzeydeki atomik bileşimin % dağılımı, atomik bileşimin stokiyometrik oranları ve yüzeydeki atomik bileşimdeki değişim miktarları belirlenebilir. Ayrıca heterojen yüzeylerde katı yüzeydeki kimyasal heterojenlik ve pürüzlülük, katı yüzeyinde bir sıvının ıslatılabilirlik performansını etkiler [Wu et al., 2011]. Pürüzsüz yüzeylerde temas açısı ölçümleri ile kimyasal heterojenlik değişimleri hakkında bilgi edinilebilir ve bu bilgiler ışığında farklı yüzeylerin heterojenlik derecelerinin karşılaştırılabilmesi mümkün olur. Flor gibi polar doğaya sahip moleküller içeren pürüzsüz heterojen yüzeyler su ile temas ettiklerinde Flor gruplarının yüzeydeki reoryantasyon hareketi sonucunda da yüzeydeki kimyasal heterojenlik değişir.

2.1. Heterojen Yüzeylerin Kullanım Alanları

Heterojen yüzeyler hidrofil ve hidrofob domainler içeren yüzeyler olabileceği gibi sadece hidrofil ya da sadece hidrofob domainler içeren yüzeylerde olabilir ve hidrofobluk ve pürüzlülük dereceleri gibi yüzey özelliklerindeki farklılıklar katı yüzeyin kullanım alanlarının belirlenmesinde önemli yer tutar. Katı yüzeylerin kullanım alanlarının belirlenmesinde solventlerle örneğin su ile etkileşim sonucunda verdiği tepki önemlidir. Örneğin bir katı yüzeyin proteinlerle ya da vücut içindeki akışkanlara verdiği yanıt yüzey özelliklerine bağlı olarak değişkenlik gösterir [Kowalczyńska, 1995], [Lampin et al., 1997], [Arima and Iwata, 2007], [Fuse et al., 2007], [Blanco et al., 2008]. Heterojen yüzeyler aşağıda örnekleri verilen alanlarda kullanılmaktadır.

- Membranlar

Membranlar bazı molekül veya iyonların geçişini kısıtlamazken, bazılarının geçişini kısıtlayarak moleküler ayırımı gerçekleştirir. Membranların bu molekül ve iyonların geçiş ve kısıtlamasını sağlayan proseslerin kontrolünde yüzeydeki kimyasal grupların ve por çapının kontrolü önemlidir. Membranlar polimerik, gözenekli veya gözeneksiz, simetrik veya asimetrik, ya da kompozit olarak doğal ya da sentetik olabilirler [Salt ve Dinçer, 2006]. Doğal membranlar biyolojik sistemlerde bulunur (örneğin hücre zarı). Sentetik membranlar özellikle sulardan istenmeyen iyonların ayrılması ve suların saflaştırılmasında, kimya sanayi, eczacılık, petrol endüstrisi, hidrometalurji, elektrodializ, çevre, gıda teknolojisi, pervaporasyon, ekstraksiyon, diyaliz, ultrafiltrasyon, genetik ve tekstil endüstrisi gibi alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır [Osada and Nakogava, 1992].

- Süperhidrofobik Yüzeyler

Su damlasının üzerinde 150°'den büyük temas açısı yaptığı ve 10° düşük kayma açısına sahip yüzeyler süperhidrofobik yüzeyler olarak adlandırılır [Erbil et al., 2003]. Bir yüzeyin süperhidrofobik özellik gösterebilmesi için hem üzerinde mikrometre mertebesinde pürüzlülük, hem de doğal olarak hidrofobik olan malzemeden dizayn edilmiş olması gerekir. Süperhidrofobik yüzeylerin bu su iticilik özelliği, sanayide ve günlük hayatta birçok uygulama bulmaktadır. Süperhidrofobik

yüzeyler, askeri alanda elbiseler, mikroçipler ve savunma cihazlarında kullanıldıkları gibi, yakıt tasarrufu sağlamak amacıyla gemilerin dış yüzeyinde ve güneş enerji panellerinde, tekstil sanayinde, otomotiv sanayinde ve biyolojik alanda kan ve diğer vücut sıvılarıyla temas eden biyomateryallerin ve sensörlerin geliştirilmesi gibi geniş bir uygulama alanına sahiptir [Verreck et al., 2003], [Jayaraman et al., 2004], [Yang et al., 2005], [Burger et al., 2006], [Ma et al., 2007], [Srinivasan et al., 2011], [Brushan et al., 2011].

- Anti fouling kaplamalar

Denizde ve tatlı sularda yaşayan mikroorganizma, deniz bitkileri ve diğer canlılarının gemi yüzeylerine yapışıp birikmesi (biyotutunma) sonucu oluşan biyolojik kirliliği ortadan kaldıracak veya azaltacak yeni yüzeylerin sentezine yönelik çalışmalarda heterojen yüzeyler kullanılmaktadır [Callow et al., 2002], [Genzer et al., 2006], [Ucar et al., 2010], [Erbil, 2013]. Antifouling kaplamaların performansı su ile temas eden yüzeylerin protein ya da mikroorganizmalara verdiği yanıtı göre belirlenir ve antifouling materyalin ıslatılabilirlik derecesinin, pürüzlülüğünün kontrolü protein ya da mikroorganizmanın yüzeye tutunmasında etkin parametrelerdir. Bu nedenle pürüzlü ya da kısmen pürüzlü kimyasal heterojen yüzeyler antifouling kaplamalarda kullanılmaktadır.

- Biyomateryaller

Vücudun zarar gören veya işlevini yitiren doku veya organın işlevlerini kısmi veya tamamen yerine getirmek üzere tasarlanmış sentetik veya işlenmiş doğal malzemelerin tümüne biyomateryal denir. Biyomateryaller vücutta değişik doku ve vücut sıvılarıyla temas halinde olduklarından hücre, organ, doku ve vücut sıvılarıyla olan biyotutunma davranışının kontrol edilmesi gerekir. Hücre yada proteinlerin biyotutunma davranışları, yüzey yükü [Blanco et al., 2008], yüzey kimyası [Fuse et al., 2007], yüzey pürüzlülüğü [Blanco et al., 2008] ve serbest yüzey enerjisi [Arima and Iwata, 2007] gibi kullanılan katı biyomateryalin yüzey özelliklerinden etkilenir. Bu nedenle biyomateryalin yüzey pürüzlülüğü ve kimyasal heterojenliği biyotutunma davranışında etkin parametrelerdir.

2.2. Heterojen Yüzey Sentez Yöntemleri

Daldırmayla kaplama, spin kaplama, petri kabına dökerek solvent buharlaştırması yöntemi (casting) gibi faz ayrımıyla sentez yöntemlerinin yanı sıra yüzeye özel polimerlerin/kimyasal grupların aşılması, farklı kimyasal grupların yüzeye tutunması (yüzey modifikasyonu), vakum altında film depozisyonu gibi yöntemlerle heterojen yüzeyler hazırlanabilir [Spatz et al., 1996], [Sorribas et al., 2002]. Faz ayrımı ile polimer malzemelerden heterojen yüzeylerin sentezi ucuz, geniş ve üç boyutlu cisimlere kolay uygulanabilir olması nedeniyle diğer yöntemlere göre daha avantajlıdır.

2.2.1. Faz Ayrımı ile Polimerlerden Heterojen Yüzey Sentezi

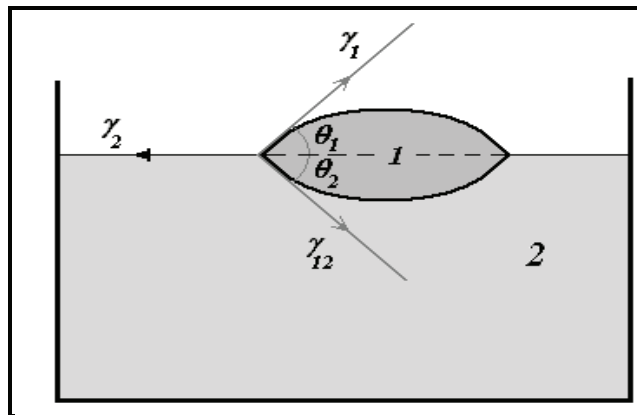
Faz ayrımı yöntemi, pürüzlü materyallerin hazırlanması için değişik araştırmacılar tarafından uygulanmasına rağmen, pürüzlü yapının oluşum mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır [Khayet et al., 2007]. Oluşum mekanizmasının anlaşılmasındaki ana zorluk, polimer ve solvent arasındaki etkileşimler, polimer özellikleri, kurutma şartları ve film kalınlığı gibi polimer özellikleri, termodinamik şartlar ve kaplama şartlarından oluşan birçok faktörün mekanizmanın işleyişinde farklılık göstermesinden kaynaklanmaktadır. Yüzey segregasyonu, yüzey gerilim kuvvetleri ve bulk karışımında termodinamik kuvvetleri dengelemenin bir sonucudur [Khayet et al., 2007] ve film oluşumunun termodinamik dengeden uzak olması uygulamada sınırlayıcı etkiye sahiptir. Makro-moleküller arasındaki viskoz ve moleküller arası etkileşimler, faz dağılımı sırasında zincir kararlılığına engel olmazsa; yüzey faz dağılımında yüzey gerilim kuvvetleri, entropik sınırlamalardan çok daha önemli rol oynar. Bu açıdan solvent seçimi ve uygulama sıcaklığının etkisi, yüzey ve ara yüzey gerilimlerinde diğer tüm etkileri minimize etmek için çok önemlidir. Uygun çözücü içerisinde çözünmüş polimer çözeltilerine non-solvent (kötü çözücü) ilave edilerek de faz ayrımı yöntemiyle heterojen yüzey sentezi gerçekleştirilebilir. Bu şekilde hazırlanan yüzeylerde yüzey yapılanmasının gerçekleşmesinde 3 etki gözlenir [Erbil et al., 2003]:

i) Polimer+solventin küçük miktarı ve solvent+nonsolvent fazları arasında polimer faz dağılım etkinliğini artırarak nonsolvent polimerin çöktürücüsü olarak hareket eder. Bu proses kristalizasyon süresini azaltır ve daha küçük agrege olmuş polimer moleküllerinin oluşumunu sağlar ve polimerce zengin ve polimerce zayıf faz olmak üzere 2 makroskopik fazda dağılım olur. Polimerce zengin fazda kristal çekirdeğinin oluşumu ile kristalizasyon başlar ve bunun sonucunda küresel, lif şeklinde veya diğer kristal şekillerde porlar oluşur. Sonuçta solvent porlardan buharlaşarak pürüzlü yüzeyler meydana gelir.

ii) Nonsolventin varlığı çekirdeklenme hızını artırır ve bu yüzden daha küçük küresel porlar oluşur. Non-solvent solventten daha uçucu olduğu için buharlaşma hızı artar ve kristal oluşumu için gerekli zaman azalır.

iii) Oksijen içeren non-solvent ilavesi substrat (Ör: cam) yüzeyindeki hidroksil gruplarının (-OH) varlığından dolayı cam yüzeyinde polimer çözeltisinin ıslatılabilirliğini artırır ve çöken ilk tabaka homojen yüzey verir. Sonrasında tabaka networkunun büyümesi ile çok daha homojen kaplamalar oluşur.

Polimer karışımlarda mikrodeseanlı heterojen yüzey oluşumunda hangi polimerin yüzeyde lens oluşturacağı tıpkı sıvılardaki lens oluşumunda olduğu gibi yüzey gerilim kuvvetlerine bağlı olarak belirlenir. Birbiriyle karışmayan sıvılar için (Örneğin: yağ-su) ıslatılabilirlik şartları yayılma katsayısı (S) ile belirlenir. Örneğin 2 sıvısı (su) üzerinde mercek oluşturan 1 sıvısına (yağ) ait yüzey gerilim kuvvetleri (γ) Şekil 2.2 de görülmektedir [Harkins, 1952], [Erbil, 2006]. Burada γ_1 ve γ_2 sırasıyla 1 ve 2 sıvıların yüzey gerilimi ve γ_{12} ara yüzey gerilimini ifade etmektedir.



Şekil 2.2: Su üzerinde lens oluşturan yağ damlasının şekli.

Şekil 2.2’de yer alan sıvı merceği oluşturan yüzey gerilim kuvvetlerinin bileşeni alınırsa,

$$\gamma_2 = \gamma_1 \cos \theta_1 + \gamma_{12} \cos \theta_2 \quad (2.1)$$

Eşitlik 2.1 elde edilir. Harkins tarafından birbiriyle karışmayan sıvılar için mercek oluşumuna dair yayılma katsayısı Eşitlik 2.2 ile tanımlanmıştır [Harkins, 1952].

$$S_{1/2} = \gamma_2 - (\gamma_1 + \gamma_{12}) \quad (2.2)$$

Eşitlik 2.2’nin birbiriyle karışmayan su-yağ sıvıları için mercek oluşumuna dair yayılma katsayısının genel ifadesi,

$$S_{o/w} = \gamma_w - (\gamma_o + \gamma_{ow}) \quad (2.3)$$

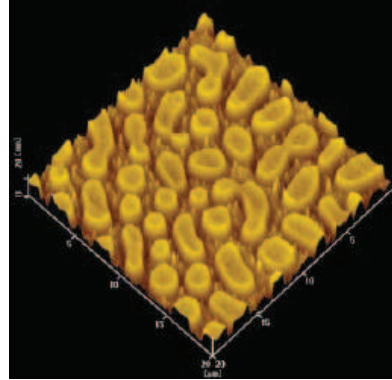
Eşitlik 2.3’de yer alan yayılma katsayısı denkleminde göre $S \geq 0$, koşulunda yağ su üzerinde yayılır ve düşük yüzey gerilimli sıvı (yağ) yüksek yüzey gerilimli sıvının (su) üzerine yayılır. $S < 0$, koşulunda ise yağ su üzerinde mercek oluşturur.

Sıvılarda olduğu gibi yüzey gerilimi farklılıkları olan polimer karışımlar içinde yayılma katsayısı kullanılarak polimer karışımlarda yüzeyde oluşan mikrodeseinin hangi polimerden kaynaklandığı öngörülebilir. Bu durumda Eşitlik 2.2 polimer çiftlerine göre Eşitlik 2.4’de yer aldığı şekilde modifiye edilebilir.

$$S_{P_1/P_2} = \gamma_{P_2} - (\gamma_{P_1} + \gamma_{P_1P_2}) \quad (2.4)$$

Polimer-1 (P_1), düşük yüzey gerilimli ve polimer-2 (P_2) yüksek yüzey gerilimli iki polimerin karıştırılması ile elde edilen filmde, $S \geq 0$ durumunda polimer-1, polimer-2 üzerinde yayılırken, $S < 0$ durumunda lens oluşur [Paul and Newman, 1978]. Örneğin Li ve arkadaşları [Li et al., 2006], PMMA tabakası üzerine PS çözeltisi ile spin-kaplama yapmışlardır ve PMMA’dan daha düşük yüzey gerilimine

sahip PS'nin PMMA tabakası üzerinde çıkıntılar oluşturduğunu AFM görüntüsü olarak gözlemlemişlerdir (Şekil 2.3). Ayrıca, PMMA için $\gamma_2 = 41.2 \text{ mJ/m}^2$ ve PS için $\gamma_1 = 40.2 \text{ mJ/m}^2$ yüzey gerilimi ve PMMA/PS ara yüzey gerilimi $\gamma_{12} = 3.3 \text{ mJ/m}^2$ sayısal değerlerini kullanarak hesapladıkları yayılma katsayısı değerini $S = -2.3 \text{ mJ/m}^2$ olarak bulmuşlar ve $S < 0$ olduğu için yüzeyde lens oluşması gerektiği sonucunu teorik ve deneysel olarak göstermişlerdir [Li et al., 2006].

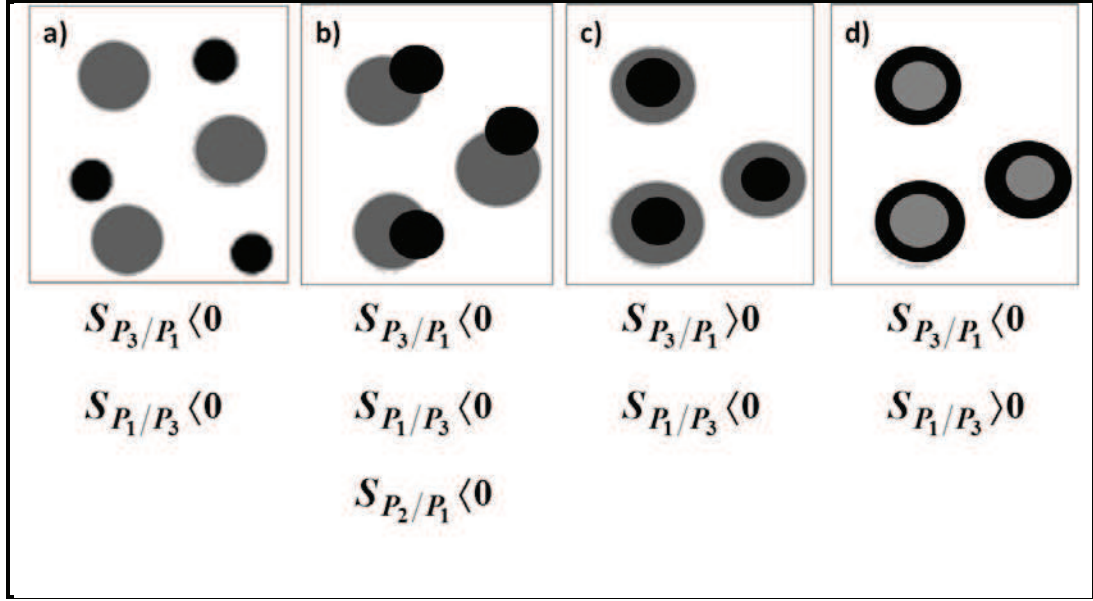


Şekil 2.3: PMMA/PS polimer karışım yüzeyinin AFM görüntüsü.

Üçlü polimer karışımlar için Hobbs ve arkadaşları Eşitlik 2.4'ü iki farklı polimerin üçüncü polimer içinde disperse olduğu koşul için Eşitlik 2.5'de yer aldığı şekilde modifiye etmişlerdir [Hobbs et al., 1988].

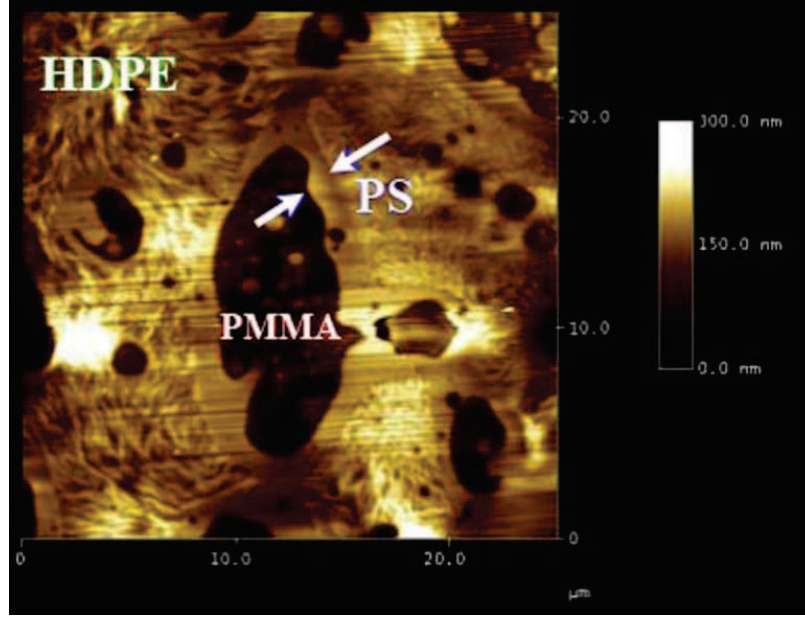
$$S_{P_3/P_1} = \gamma_{P_{12}} - (\gamma_{P_{32}} + \gamma_{P_{13}}) \quad (2.5)$$

Burada $\gamma_{P_{12}}$, $\gamma_{P_{32}}$ ve $\gamma_{P_{13}}$ her bir polimer çifti için ara yüzey gerilimleri ve S_{P_3/P_1} çekirdekte yer alan Polimer-1 üzerini çevrelemiş kabuk şeklindeki Polimer-3 için yayılma katsayısını temsil eder. Eşitlik 2.5, matrikste bulunan polimer ile en yüksek ara yüzey gerilimini veren polimerin diğer disperse olmuş polimer içinde bulunma durumunu ifade eder. Üçlü polimer karışımlar için olası farklı yüzey morfolojileri için temsili yüzeyler Şekil 2.4 de yer almaktadır. $S_{P_3/P_1} > 0$ koşulunda, Polimer-2, Polimer-1 ve Polimer-3 ün üzerinde bulunduğu matriksi temsil eder (Şekil 2.4 a)). $S_{P_3/P_2} < 0$, koşulunda ayrıca matriks üzerinde iki polimerin kısmen çevrenmesi (Şekil 2.4 b)) oluşabilir.



Şekil 2.4: Üçlü polimer karışımlar için olası farklı yüzey morfolojileri için temsili yüzeyler a) matriks üzerinde ayrı ayrı disperse olmuş iki polimeri, b) matriks üzerinde iki polimerin kısmen çevrenmesi, c) Polimer-1'in Polimer-3 ile tamamen çevrenmesi, d) Polimer-3'ün Polimer-1 ile tamamen çevrenmesi. (siyah: Polimer-1, beyaz: Polimer-2 ve gri: Polimer-3).

Örneğin Ravati ve Favis, HDPE/PS/PMMA üçlü polimer karışımlarında yüzey morfolojisinin değişimini yayılma katsayısına bağlı olarak incelemişlerdir [Ravati and Favis, 2010]. PMMA ve HDPE'nin ara yüzey gerilimi ($\gamma_{HDPE/PMMA} = 8.6$ mN/m) oldukça yüksek, PS ve PMMA ($\gamma_{PS/PMMA} = 2.4$ mN/m) ile HDPE ve PS'in ($\gamma_{HDPE/PS} = 5.1$ mN/m) düşüktür. Eşitlik 2.5'i [$S_{P_3/P_1} = \gamma_{P_{12}} - (\gamma_{P_{32}} + \gamma_{P_{13}})$] kullanarak HDPE/PS/PMMA üçlü polimer karışımlar için yayılma katsayılarını $S_{PS/PMMA} = 2.6$, $S_{PMMA/HDPE} = -5.9$ ve $S_{HDPE/PS} = -11.3$ mN/m. PS/PMMA için yayılma katsayısı pozitifken PMMA/HDPE ve HDPE/PS için yayılma katsayısı negatif değere sahiptir ve yayılma katsayılarına dair bu bilgiler HDPE/PS/PMMA üçlü polimer karışım yüzeyinin Şekil 2.4 c) temsili yüzeyine uygun olduğu öngörüsünü geliştirir. Şekil 2.5' de yer alan deneysel çalışmanın sonucunda da 40/20/40 HDPE/PS/PMMA üçlü polimer karışımları için HDPE matriksi üzerinde PS polimeri ile tam olarak çevrenmiş PMMA polimerinin olduğu görülmüştür.



Şekil 2.5: 40/20/40 HDPE/PS/PMMA üçlü polimer karışım için AFM görüntüsü.

2.2.2. Polimer Karışımlardan Heterojen Mikrodeseanlı Yüzey Sentezi

Polimer karışım heterojen ince filmler (veya daha kalın kaplamalar), polimerlerin uygun bir çözücü içinde çözülüp, bir katı üzerinde çözücünün buharlaştırılmasıyla elde edilirler. Bu filmlerin yüzey morfolojisi üzerinde solvent buharlaşma hızının, faz ayrımı ve/veya jelleşmenin varlığının, solvent difüzyonunun, polimerin yüzey geriliminin, polimerler arası ara yüzey geriliminin ve buharlaşma koşullarının önemli etkisi vardır [Li et al., 2009]. Endüstriyel uçucu bir solvent, bir polimer karışım filmini oluşturmakta kullanıldığında, genellikle solvent buharlaşması çok hızlı olduğu için ve bu durumda polimer zincirleri film içinde çoğunlukla hareketsiz olarak kaldığı için oluşan yüzey termodinamik olarak dengede değildir [Khayet et al., 2007] ve film oluşumunda denge-dışı (non-equilibrium) şartlar geçerlidir. Polimerlerin yüzey dağılımında yüzey gerilim kuvvetleri ve polimer-solvent etkileşimleri önemli rol oynar [Walheim et al., 1997].

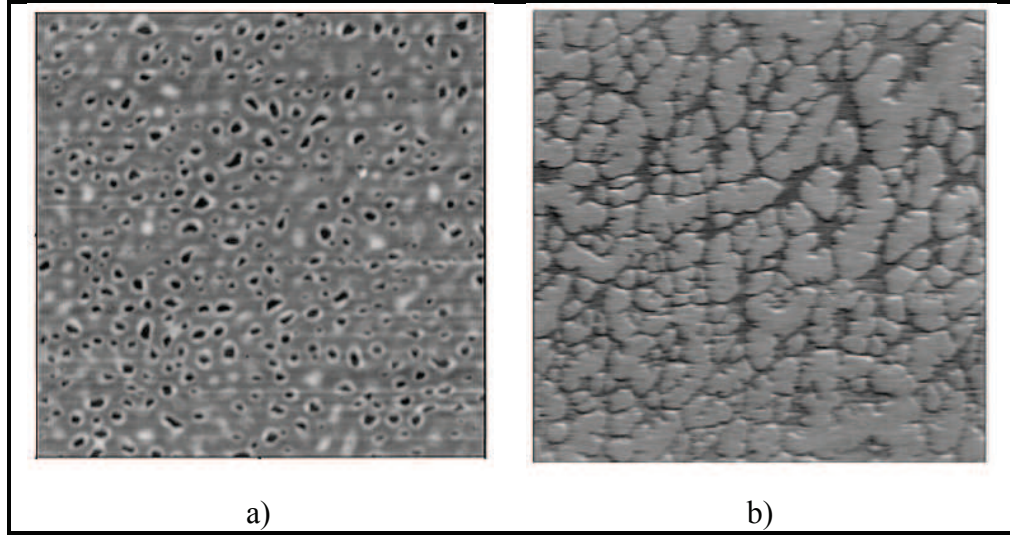
Polimer karışımlarda yüzey yapılanma mekanizması için iki farklı açıklama getirilmiştir: Birinci gruptaki araştırmacılar, film yüzeyinde zincirin konformasyonel entropisinin kütle halinden çok daha küçük olduğunu ve bu yüzden film yüzeyinde var olan polimerik zincirlerin film yüzeyine dik doğrultuda istiflendiğini iddia etmişlerdir [Helfand and Wasserman, 1976], [Wattenberger et al., 1990], [Kumar and Russell, 1991]. Bu açıdan yüzey kompozisyonunun belirlenmesinde, zincirin

molekül ağırlığı etkindir çünkü en düşük molekül ağırlığında, en düşük entropi etkisi vardır ve o yüzey en düşük molekül ağırlıklı makromolekül ile zenginleşir. Halbuki, ikinci gruptaki araştırmacılar, konformasyonel entropi etkisinin pek az olduğunu ve yüzeye geçen polimerler için itici kuvvetin kullanılan polimerlerin yüzey enerji farklılıklarından kaynaklandığını ve düşük yüzey enerjili polimerin polimer/hava ara yüzey gerilimini minimum etmek için yüzeyde zenginleştiğini belirtmişlerdir [Bhatia et al., 1988], [Jones et al., 1989], [Jackson and Short, 1992]. Kısacası, istenilen amaca uygun yüzeylerin hazırlanması için polimer karışımların kullanımı ucuz ve kolay uygulanabilir bir yöntemdir. Literatürde mikro desenli yüzeylerin ortak çözücü içinde çözülmüş polimer karışımlardan hazırlanmasına yönelik birçok çalışma vardır ve bu çalışmalar 5 ana sınıfta incelenebilir:

i) Kaplama konsantrasyonunun yüzey morfolojisine etkisine dair çalışmalar:

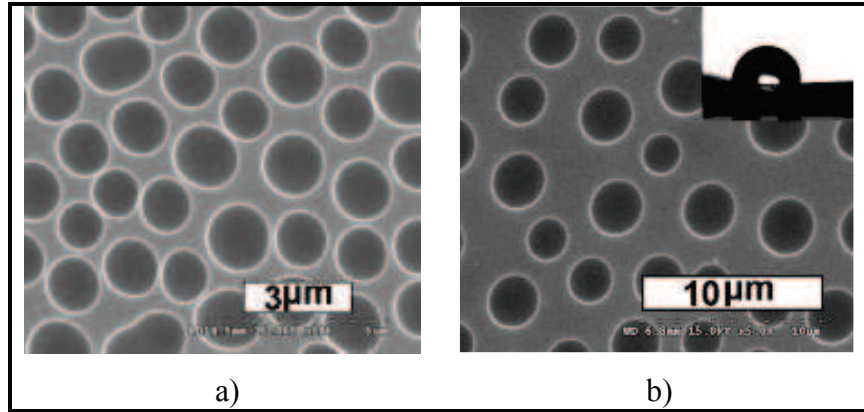
Kaplama konsantrasyonundaki değişim çözeltinin viskozitesinin değişimine neden olduğundan, kaplama konsantrasyonu ile film kalınlığı doğru orantılı olarak değişir. Film kalınlığındaki değişim filmin bulk ve yüzey özelliklerinin değişimine neden olur. Ayrıca kaplama çözeltisinin konsantrasyonundaki değişim polimer karışımı oluşturan polimerlerin çözücü içindeki çözünürlüklerinin değişimine neden olduğundan yüzey morfolojisinin ve polimer çiftlerinden yüzeyde zenginleşen polimer çeşidinin değişimine neden olur.

Overney ve arkadaşları, spin kaplama ile oluşturdukları poli(etilen-co-propilen) (PEP) ince film kaplamayı tavladıktan sonra üzerine spin kaplamayla PS monotabakaları atarak ve tavlama işlemi yaparak PEP/PS yığınlarında (stack) mikro desenli yüzeyler elde etmişlerdir [Overney et al., 1996]. PEP/PS yığınlarının morfolojik özellikleri atomik kuvvet mikroskobu ile incelenmiştir. Şekil 2.6 a)'da 4 nm kalınlığındaki PEP ince filminin 30 dk 125 °C de tavlama sonrasında spin kaplama ile 4 nm kalınlığında PS kaplanması sonucunda elde edilen mikrodeseanlı yüzey görülmektedir. Şekil 2.6 b) de ise 400 nm kalınlığındaki PEP ince filminin 30 dk 125 °C de tavlama sonrasında spin kaplama ile 4 nm kalınlığında PS kaplanması sonucunda elde edilen mikrodeseanlı yüzey görülmektedir. Hem Şekil 2.6 a) da hem de b) de çukurlar PEP ve tepeler PS den oluşmaktadır ancak Şekil 2.6 b) de film kalınlığına bağlı olarak yüzey morfolojisindeki değişiklik gözlenmiştir. PEP film kalınlığının artması tepe ve çukurların boyutlarında artışa neden olmuştur.



Şekil 2.6: PEP/PS yığınlarının atomik mikroskop görüntüsü a) 4 nm PEP filmi üzerine spin kaplama ile 4 nm PS kaplı mikrodeseenli yüzey, b) 400 nm PEP filmi üzerine spin kaplama ile 4 nm PS kaplı mikrodeseenli yüzeyin SEM görüntüsü.

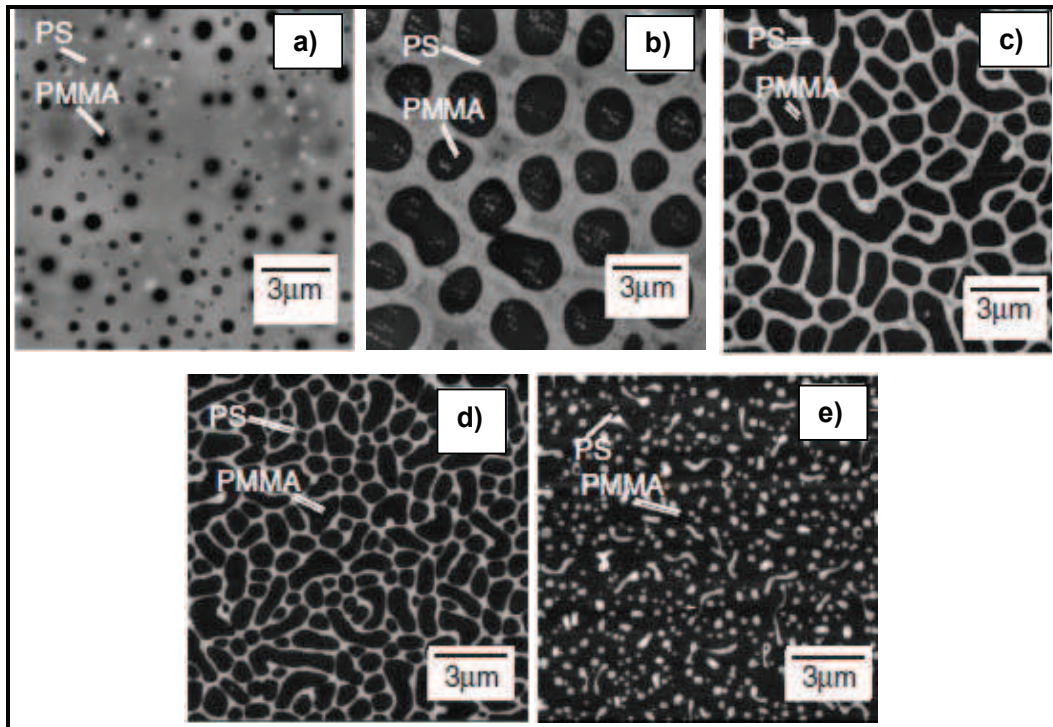
Wang ve arkadaşları, petri kabı içerisindeki kötü çözücü (etilen glikol) yüzeyi üzerine farklı konsantrasyonlardaki THF içerisinde çözünmüş PS çözeltisinin yayılması ve sonrasında solventin buharlaştırılması ile faz dağılımı prosesi ile mikrodeseenli PS yüzeyleri elde etmişlerdir (Şekil 2.7) [2005 Wang et al.]. PS çözeltisinin konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak mikrodeseen çapı ve mikrodeseenler arasındaki mesafe azalmıştır.



Şekil 2.7: a) 10 w % PS/THF ve b) 8 w % PS/THF çözelti konsantrasyonlarında 25°C sıcaklıkta elde edilen mikrodeseenli PS yüzeylerinin SEM görüntüsü.

Cui ve arkadaşları, silikon wafer üzerine etil benzen içerisinde % (w) 0,2 ile 4 konsantrasyonlarda hazırladıkları 50:50 (w:w) PS/PMMA polimer karışım çözeltilerini spin kaplama ile ince film kaplamalar oluşturmuşlar ve kaplama

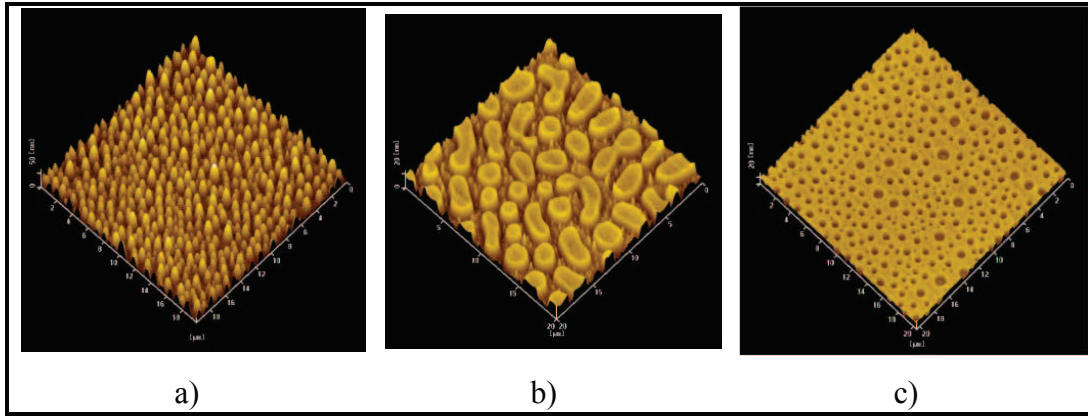
konsantrasyonundaki değişimin yüzey morfolojisine etkisini incelemişlerdir (Şekil 2.8) [Cui et al., 2006]. Etil benzen PS için PMMA dan daha iyi bir çözücüdür ve iki polimer için çözücünün çözünürlüğünün farklı olmasına bağlı olarak etil benzenin PS için daha iyi bir çözücü olmasından dolayı polimer karışım yüzeyinde oluşan çıkıntıların PS olduğu AFM görüntüsü ve XPS analizleri ile belirlenmiştir. Polimer karışım çözeltisinin konsantrasyonunun azalması film kalınlığı ve polimerlerin solvent içindeki çözünürlüklerine bağlı olarak ağımsı mikrodeseenler adacık şeklinde morfolojiye dönüştüğü belirlenmiştir.



Şekil 2.8: a) % (w) 4, b) % (w) 2, c) % (w) 1, d) % (w) 0,5 ve e) % (w) 2 konsantrasyonlarda hazırlanan PS/PMMA polimer karışım yüzeyleri için AFM görüntüleri.

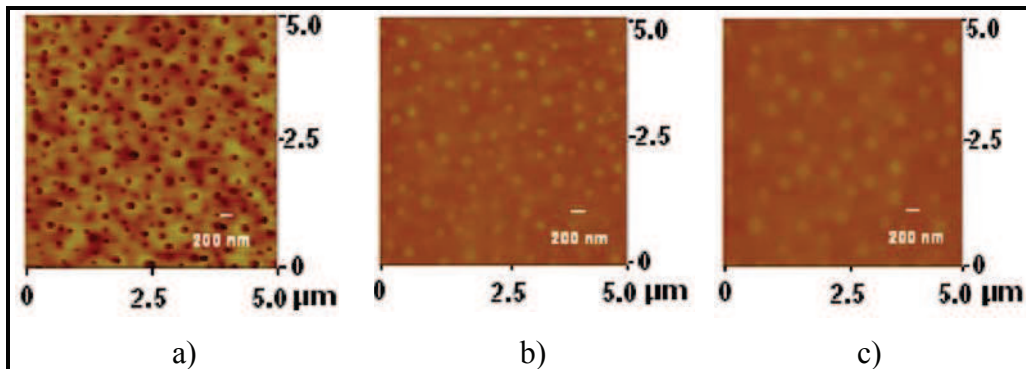
Örneğin Li ve arkadaşları, solvent buharlaştırması yöntemiyle PMMA tabakası üzerine PS çözeltisinin buharlaştırılması ile 10, 5, 1 mg/mL konsantrasyonlarda PS/PMMA polimer karışımlarını sentezlemişlerdir (Şekil 2.9) [Li et al., 2006]. Konsantrasyondaki bu değişim ile doğru orantılı olarak film kalınlığı 260, 160 ve 130 nm olarak doğru orantılı değişmiştir. Şekil 2.9'dan görüldüğü gibi kaplama konsantrasyonundaki değişime bağlı olarak yüzeydeki mikrodeseenlerin çapları ve şekilleri değişmiştir. Konsantrasyon arttıkça granüler morfolojide çıkıntılı yüzeyler

elde edilirken (Şekil 2.9.a ve 2.9.b), konsantrasyonun azalması çukur şeklinde pitlerin oluşumuna neden olmuştur (Şekil 2.9.c).



Şekil 2.9: PMMA tabakası üzerine a) 10 mg/mL, b) 5 mg/mL ve c) 1 mg/mL farklı konsantrasyonlardaki PS çözeltisinin buharlaştırılması sonucunda elde edilen PS/PMMA polimer karışım yüzeylerin AFM topografik görüntüsü.

Liu ve arkadaşları, PS ve PMMA polimerlerini THF içerisinde oda sıcaklığında 5, 10, 20 ve 40 mg/mL konsantrasyonlarında çözerek 10:90, 30:70, 50:50, 70:30 ve 90:10 PS/PMMA bileşimlerinde polimer karışımlardan spin kaplama ile kaplama hızını değiştirerek ince film kaplamaları ITO (indiyum kalay oksit) ve cam substrat üzerine hazırlamışlardır[Liu et al., 2008]. Şekil 2.10'da farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış 90:10 PS/PMMA polimer karışım yüzeylerinin AFM görüntüsü yer almaktadır. Şekilden de görüldüğü gibi konsantrasyonun artması ile silindirik mikrodosenlerin çapları artmıştır.

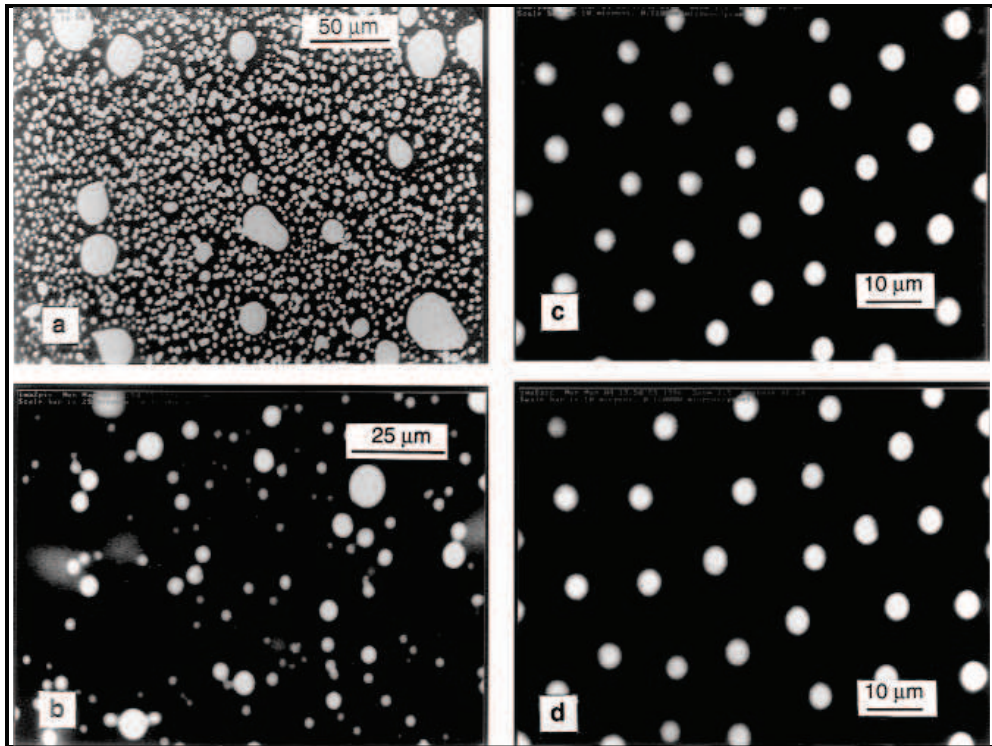


Şekil 2.10: a) 20 mg/mL, b) 40 mg/mL ve c) 60 mg/mL konsantrasyonlardaki 90:10 PS/PMMA bileşimindeki polimer karışım yüzeylerinin AFM görüntüsü.

ii) Kaplama sıcaklığının yüzey morfolojisine etkisine dair çalışmalar:

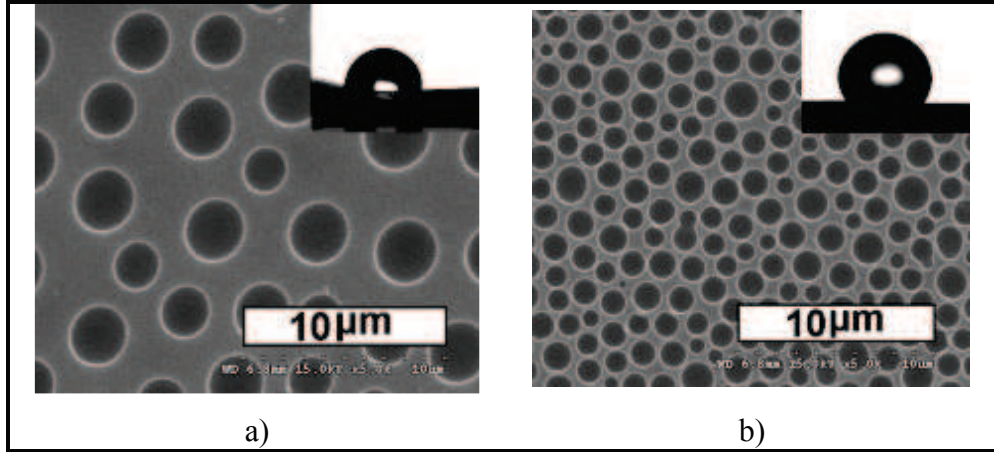
Kaplama sıcaklığındaki değişim kaplama çözeltisinin viskozitesini, polimerlerin çözücü içerisindeki çözünürlüklerini ve kaplama sırasında solventin buharlaşma hızı gibi parametrelerin değişimine neden olması nedeniyle kaplamaların yüzey morfolojilerinin değişimine neden olur. Ayrıca makromoleküller arasındaki viskoz ve moleküller arası etkileşimler, faz dağılımı sırasında zincir kararlılığına engel olmazsa, yüzey faz dağılımında yüzey gerilim kuvvetleri, entropik sınırlamalardan çok daha önemli rol oynar. Bu açıdan solvent seçimi ve uygulama sıcaklığının etkisi, yüzey ve ara yüzey gerilimlerinde diğer tüm etkileri minimize etmek için çok önemlidir.

Kumacheva ve arkadaşları, PS/PMMA polimer karışımlarda solvent buharlaşma hızının yüzey morfolojisine etkisini konfokal mikroskop kullanarak incelemişlerdir (Şekil 2.11) [Kumacheva et al., 1997]. Şekil 2.11’de beyaz olarak görülen mikrodansenler PMMA/PS polimer karışım yüzeyinde PMMA’ca zengin fazı temsil etmektedir. Solvent buharlaşma hızındaki artış PS/PMMA polimer karışım yüzey morfolojisinde (mikrodansen çapı ve dağılımı) oldukça etkin bir parametre iken bulk özelliklerinde önemli bir değişime neden olmamaktadır.



Şekil 2.11: a) 0.52, b) 0.16, c) 0.022 ve d) 0.013 g/sa toluen buharlaşma hızı için PS/PMMA polimer karışım yüzeylerinin konfokal mikroskop görüntüsü.

Wang ve arkadaşları, petri kabı içerisindeki kötü çözücü (etilen glikol) yüzeyi üzerine farklı konsantrasyonlardaki THF içerisinde çözünmüş PS çözeltisinin yayılması ve sonrasında solventin buharlaştırılması ile farklı sıcaklıklarda faz dağılımı prosesi ile mikrodeseanlı PS yüzeyleri elde etmişlerdir (Şekil 2.12) [Wang et al., 2005]. PS çözeltisinin konsantrasyon ve sıcaklığındaki artışa bağlı olarak mikrodesean çapı ve mikrodeseanlar arasındaki mesafe artmıştır.

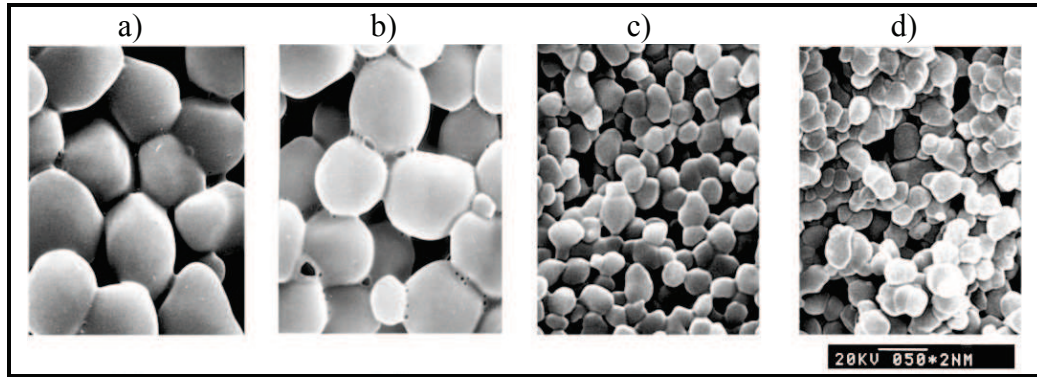


Şekil 2.12: a) 25°C da % 15 PS/THF ve b) 8°C da % 8 PS/THF çözeltisinin buharlaştırılması sonucu elde edilen PS yüzeyine ait SEM görüntüsü.

iii) Polimer özelliklerinin yüzey morfolojisine etkisine dair çalışmalar:

Polimer karışımlardan faz dağılımı yöntemiyle sentezlenen filmlerin yüzey morfolojileri ve yüzeyde zenginleşen polimer, molekül ağırlığı ve polimerin yüzey enerjisi gibi özelliklerine bağlı olarak değişiklik gösterir. Polimerin zincir sonu ve ana zincir grupları arasındaki yüzey enerji farklılıkları düşük molekül ağırlıklı polimerlerin kullanımı durumunda ihmal edilebilir. Polimerin zincir sonu gruplarının yüzey enerjisi ana zincirdeki grupların yüzey enerjisinden küçük ise zincir sonu grupları yüzeyde yerleşmeyi tercih eder. Örneğin PMMA'nın yüzey enerjisi 41.2 mJ/m^2 ve PS nin yüzey enerjisi 40.2 mJ/m^2 dir. PS ve PMMA polimerlerin yüzey enerjileri göz önüne alındığında PS/PMMA polimer karışımları hazırlandığında düşük yüzey enerjisine sahip PS polimerinin yüzeyde zenginleşmesi beklenirken PMMA polimerinin moleküler ağırlığı düşük olduğu durumlarda PMMA yüzeyde zenginleşmeyi tercih eder [Affrossman et al., 1996], [Tanaka et al., 1998], [Kawaguchi et al., 2007].

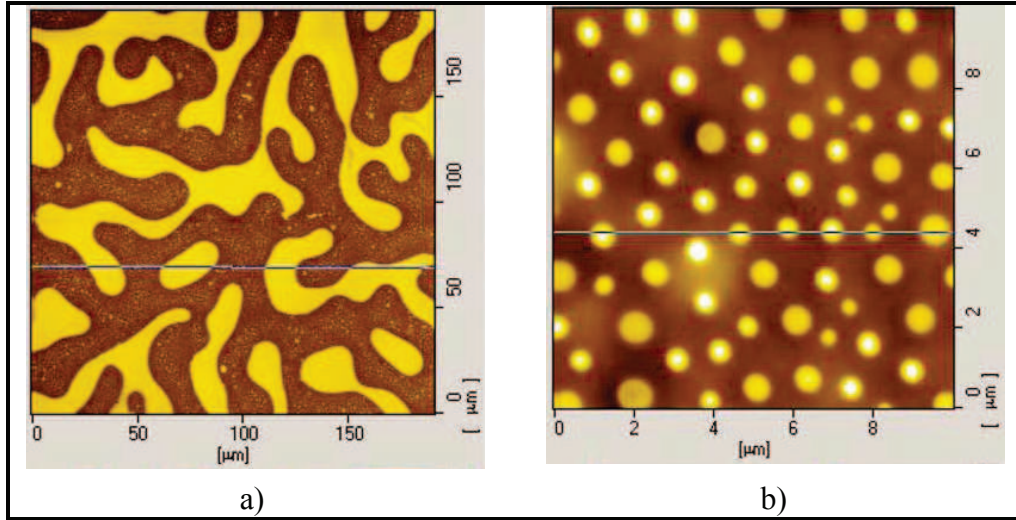
Xie ve Yang , farklı molekül ağırlıklı epoksi resinler (E56, E51, E39, E31) ile polisülfon (PSF) polimer karışımlarından faz dağılımı yöntemi ile spin kaplama ile ince filmler oluşturmuşlar ve polimer molekül ağırlığındaki değişimin yüzey morfolojisine etkilerini incelemiştir[Xie ve Yang, 2001]. E56, E51, E39, E31 epoksi resinlerine ait molekül ağırlıklar sırasıyla 357, 392, 513, 695 kg/mol dır. Şekil 2.13’de 70/30 epoksi/PSF polimer karışım bileşiminde farklı molekül ağırlıklı epoksi reçinelerle hazırlanmış polimer karışım yüzeylerinin SEM görüntüsü görülmektedir. Yüksek molekül ağırlığına sahip E39 ve E31 epoksilerle oluşturulan polimer karışımlardan sentezlenen yüzeylerde mikrodeseen çapları yaklaşık 3 μm iken, düşük molekül ağırlığına sahip (E56 ve E51) epoksilerle oluşturulan polimer karışımlardan sentezlenen yüzeylerde mikrodeseen çapları yaklaşık 7 μm olarak bulunmuştur. Sonuç olarak faz dağılımı prosesinin daha düşük molekül ağırlıklı epoksi ile oluşturulan polimer karışımlarda yüksek molekül ağırlıklı epoksilerle oluşturulanlara göre daha hızlı gerçekleşmesinden yani düşük molekül ağırlıklı epoksi içeren polimer karışımlarda daha düşük viskoziteli olmasından dolayı, epoksi/PSF polimer karışımlarda epoksi molekül ağırlığının artması ile mikrodeseen çapı azalmıştır.



Şekil 2.13: a) E56/PSF ($M_{w,E56} = 357$), b) E51/PSF ($M_{w,E51} = 392$), c) E39/PSF ($M_{w,E39} = 513$) ve d) E31/PSF ($M_{w,E31} = 695$) polimer karışımların SEM görüntüleri.

Li ve arkadaşları, PS ve poli(4-vinilpiridin) (P4VP) polimerlerinden faz dağılımı prosesi ile PS polimerinin molekül ağırlığını değiştirerek PS/P4VP polimer karışımlardan spin kaplama ile ince film kaplamalar oluşturmuşlardır [Li et al., 2004]. PS-1 ve PS-3 farklı molekül ağırlığına sahip PS polimerlerine ait molekül ağırlıkları sırasıyla 22.4 ve 582 k’dir. Şekil 2.14’de farklı molekül ağırlıklarda PS kullanılarak hazırlanmış 50:50 PS/P4VP polimer karışımlarına dair ince film

kaplamaların AFM görüntüsü yer almaktadır. PS polimerinin molekül ağırlığındaki artış polimerin viskozitesini artırması ve faz dağılımı prosesinin daha yavaş ilerlemesinden dolayı daha homojen ve küresel morfolojiye sahip PS/P4VP polimer karışım yüzeylerinin oluşumuna neden olmuştur.

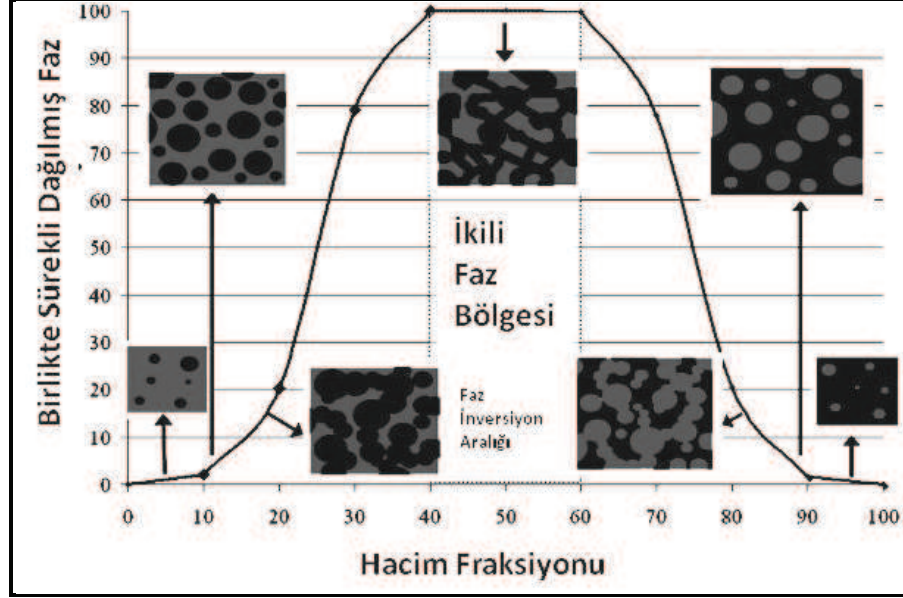


Şekil 2.14: a) PS-1/P4VP ($M_{w,PS-1} = 22.4$) ve b) PS-2/P4VP ($M_{w,PS-2} = 582$) polimer karışımlarının SEM görüntüleri.

iv) Polimer karışım oranının yüzey morfolojisine etkisine dair çalışmalar:

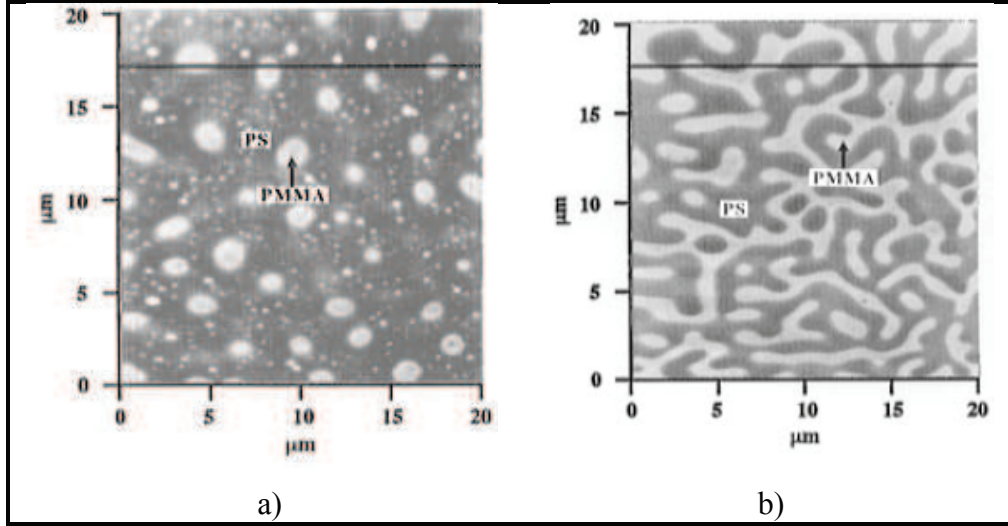
Polimer karışımlardan faz dağılımı prosesi ile hazırlanan ince film yüzeylerde polimer kompozisyonundaki değişim ile yüzeyde yer alan mikrodeseen şekli ve boyutu değişir [Tanaka et al., 1996], [Durigon et al., 2001], [Liu et al., 2008], [Ravati ve Favis, 2010]. İki polimerin fiziksel olarak karıştırılması ile elde edilen ikili (binary) polimer karışımların morfolojileri iki ana kategoride olabilir. Bunlar matriks üzerinde dağılmış adacık şeklinde faz yapısında ya da bir arada sürekli olarak dağılmış (co-continious phase) morfolojide olabilir (Şekil 2.15) [Ravati ve Favis, 2010]. Polimer karışım bileşimine karşı bir arada sürekli olarak dağılma (co-continuity) grafiği ikili polimer karışımların bileşimine ve fazına bağlı olarak yüzey morfolojilerinin değişiminin öngörülmesi açısından önemlidir (Şekil 2.15). Bir arada sürekli olarak dağılma (co-continuity), polimer karışımındaki her bir fazın tam olarak sürekli olduğu durumdur ve bu süreklilik belirli konsantrasyon aralığının üzerinde olduğu için bu ayrıca ikili faz bölgesi (dual phase region) olarak da bilinmektedir. Faz inversiyon aralığı (phase inversion interval) matriks üzerinde dağılmış adacık şeklinde faz yapısının bir arada sürekli olarak dağılmış (co-continuity) faza

dönüştüğü konsantrasyonları temsil eder. Sonuç olarak Şekil 2.15’den görüleceği gibi ikili faz bölgesinin dışında kalan bölgelerde düzenli mikrodeseenlerin oluşumu mümkündür.



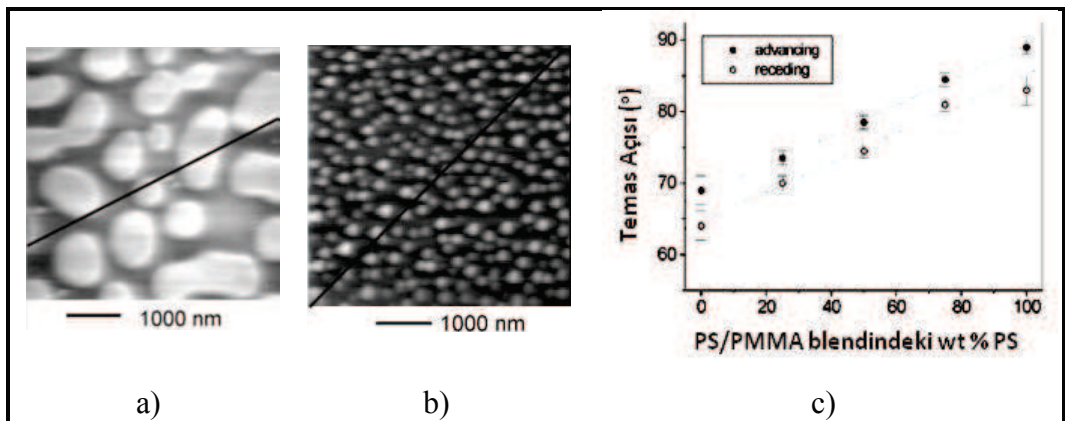
Şekil 2.15: İkili polimer karışımlarda olası yüzey morfolojilerinin şematik gösterimi.

Tanaka ve arkadaşları, polimetilmetakrilat (PMMA) ve polistiren (PS) nin polimer karışımlarından spin-kaplama ile ince film kaplamalarını oluşturmuşlar (Şekil 2.16) ve polimerlerin yüzey enerjilerine, film kalınlığına, polimer karışım oranına ve polimerce zengin fazdaki solvent buharlaşma hızına bağlı olarak matris ve tepe/çukurdaki polimerlerin değiştiğini belirlemişlerdir [Tanaka et al., 1996]. Örneğin 100 nm kalınlığında oluşturulan PS/PMMA (50/50) polimer karışımında, PMMA’nın tepeler oluşturarak PS yapısı üzerinde çapı kontrol edilebilen silindirik mikrodeseenler oluşturduğu ve PS/PMMA (30/70) polimer karışımının, PS matriksi üzerinde PMMA’nın sürekli fazda dağıldığı gözlemlenmiştir.



Şekil 2.16: Altın substrat üzerine 100 nm kalınlığında oluşturulan a) PS/PMMA (50/50) polimer karışımı b) PS/PMMA (30/70) polimer karışımının ince film AFM görüntüsü.

Durigon ve arkadaşları, spin kaplama ile farklı polimer bileşimlerinde PS/PMMA polimer karışım yüzeylerini hazırlamışlar (Şekil 2.17) ve polimer karışım bileşiminin değişimine bağlı olarak temas açısının lineer olarak değiştiğini belirlemişlerdir (Tablo 2.1) [Durigon et al., 2001]. Polimerlerin toluen içerisindeki çözünürlüklerinin farklı olmasından dolayı PS/PMMA polimer karışım bileşiminin değişmesi ile yüzey morfolojisi değişmiş (Şekil 2.17) ve polimer karışımında PMMA bileşiminin artması ile silindirik PMMA mikrodosenlerin çapı artmıştır.

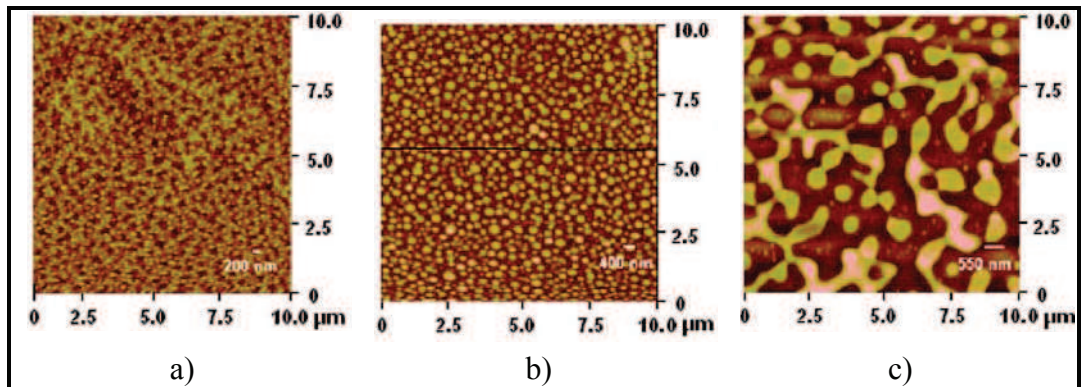


Şekil 2.17: a) % 25:75 PS/PMMA ve b) % 75:25 PS/PMMA polimer karışım bileşimleri için AFM görüntüsü c) PS/PMMA polimer karışım bileşiminin temas açısı ile değişim grafiği.

Tablo 2.1: Polimer yüzeylerinin temas açısı sonuçları.

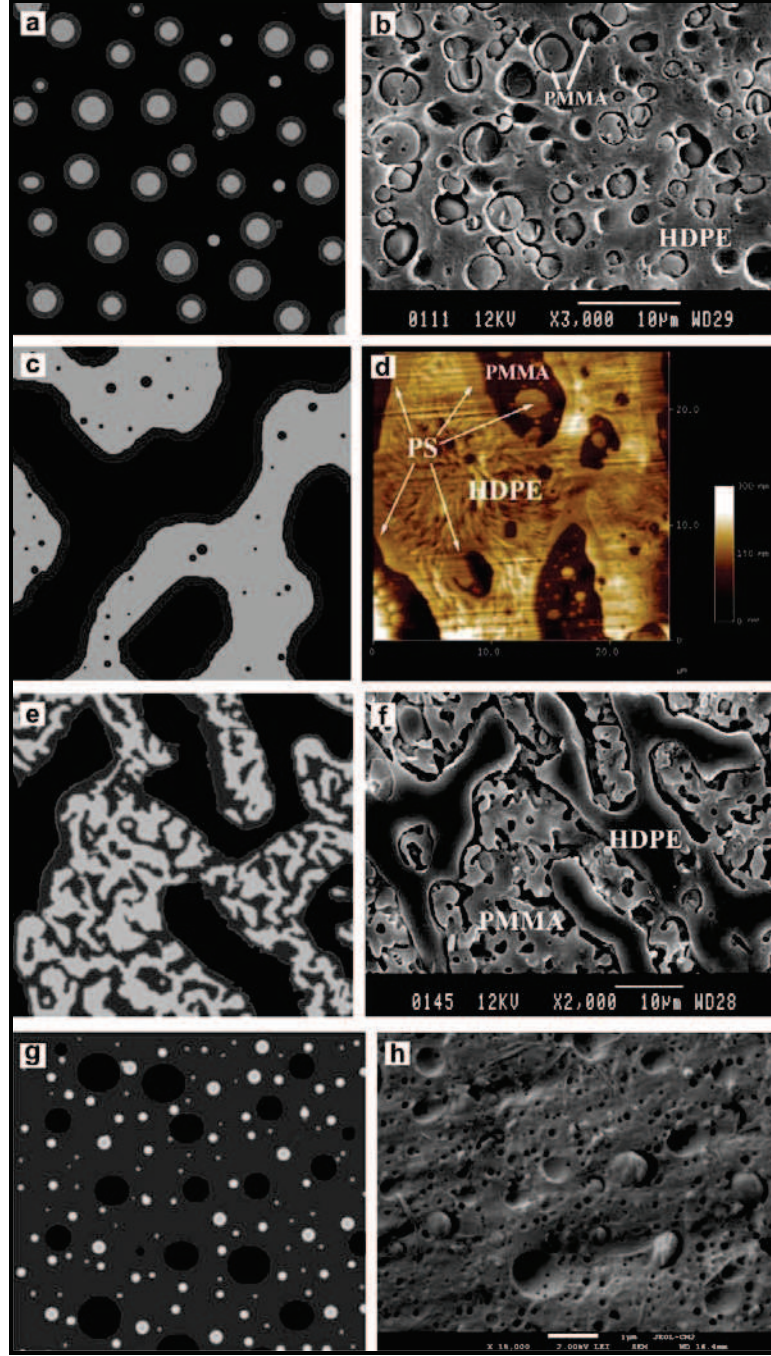
Polimer	θ_{adv} (°)	θ_{rec} (°)	CAH (°)
PS	89±1	83±4	5
PMMA	69±3	64±3	5
PS/PMMA (25:75)	73.5±0.5	70±1	4
PS/PMMA (50:50)	78.5±0.5	74.5±0.5	4
PS/PMMA (75:25)	84.5±0.5	81±1	4

Liu ve arkadaşları, PS ve PMMA polimerlerini THF içerisinde oda sıcaklığında 5, 10, 20 ve 40 mg/mL konsantrasyonlarında çözerek 10:90, 30:70, 50:50, 70:30 ve 90:10 PS/PMMA polimer karışım bileşimlerinde spin kaplama ile kaplama hızını değiştirerek ince film kaplamaları ITO (indiyum kalay oksit) ve cam substrat üzerine hazırlamışlardır [Liu et al., 2008]. 10 mg/mL sabit PS/PMMA polimer karışım konsantrasyonu için polimer bileşiminin yüzey morfolojisine etkisine dair AFM görüntüsü Şekil 2.18 de gözlenmektedir. Şekil 2.18 a) ve b) de silindirik PMMA çıkıntıların yer aldığı mikrodeseanlı yüzeyler elde edilirken polimer karışım oranının 50:50 PS/PMMA olduğu Şekil 2.18 c) yüzeyinde morfoloji adacık şeklini almıştır. PS polimeri PMMA dan daha düşük yüzey enerjisine sahip olmasına rağmen yüzeyde PMMA mikrodeseanleri oluşmuştur. Bunun nedeni PMMA'nın THF içerisinde PS den daha az çözünür olması ve bunun sonucunda da PMMA-hava ara yüzeyinin altında PS fazının kalması şeklinde açıklanmıştır.



Şekil 2.18: Farklı bileşimlerdeki a) 90:10, b) 70:30, c) 50:50 PS/PMMA polimer karışımlarının AFM görüntüsü.

Ravati ve Favis, farklı polimer karışım bileşimlerinde üçlü HDPE/PS/PMMA polimer karışımlarının yüzey morfolojileri üzerine polimer karışım oranının etkisini incelemiştir[Ravati ve Favis, 2010]. 60/10/30, 40/20/40, 30/30/40 ve 10/80/10 HDPE/PS/PMMA üçlü polimer karışımları için yüzey morfolojisindeki değişim Şekil 2.19 da verilmiştir. Şekil 2.19 a) da A/B/C şeklinde üçlü polimer karışımından oluşan ve C matriksi üzerinde B polimer ile tamamen çevrelenmiş A polimerinin yüzey morfolojisine dair temsili görüntü içermektedir. 60/10/30 HDPE/PS/PMMA polimer karışım yüzeyinde de (Şekil 2.19 b)) tıpkı Şekil 2.19 a) temsili yüzeyinde olduğu gibi yüzey morfolojisi göstermiştir yani HDPE matriksi üzerinde çekirdek (core) PMMA polimeri kabuk (shell) PS ile çevrelenmiştir. Matriks/çekirdek-kabuk üçlü polimer karışım sistemlerinde çekirdekte yer alan polimer bileşiminin artması çekirdekte yer alan polimerin kabukla birleşmesine neden olur. Örneğin HDPE/PS/PMMA polimer karışımlarda çekirdekte yer alan PMMA polimerinin bileşimi yüksek olduğunda PS PMMA polimeri üzerinde yayılarak kabuk oluşturmak zorunda kalır (Şekil 2.19 c): bu durumun temsili yüzeyi ve Şekil 2.19 d): 40/20/40 HDPE/PS/PMMA polimer karışımına ait AFM görüntüsüdür. Üçlü polimer karışımlarda üç polimerinde sürekli olduğu durum için diğer bir alternatif PS konsantrasyonu arttığında PMMA içine yerleşen PS polimeri daha izole bir şekilde yer alır (Şekil 2.19 e) ve f)). Çünkü HDPE/PS/PMMA arayüzeyi PS ile doyunlaşır. Harkins'in yayılma teorisine göre B polimeri A ve C polimerlerinden tam olarak ayrılır yani Şekil 2.19 f)'den görüldüğü gibi 30/30/40 HDPE/PS/PMMA polimer karışımında PS'nin HDPE ve PMMA arasındaki iç tabakadan ayrıldığı söylenebilir. Şekil 2.19 g)'de ise 2 polimer farklı bir polimer matriksi üzerinde ayrı ayrı dağılmış yüzey morfolojisi için temsili görüntüdür. Burada PS: gri, PMMA: beyaz ve HDPE: siyah ile temsil edilmektedir. Şekil 2.19 h)'da ise 10/80/10 HDPE/PS/PMMA üçlü polimer karışımına ait SEM görüntüsü yer almaktadır ve PS matriksi üzerinde HDPE ile PMMA küresel morfoloji oluşturmaktadır.

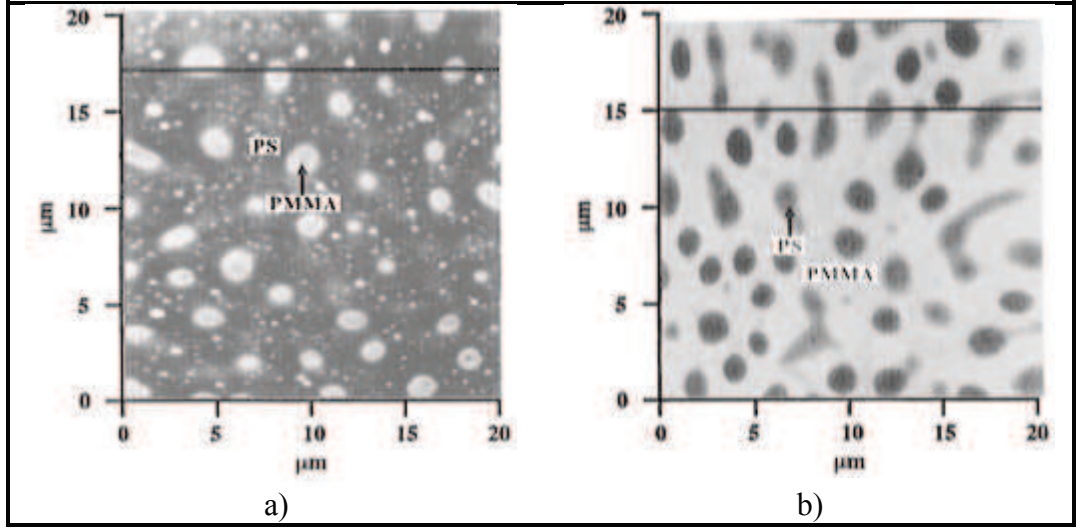


Şekil 2.19: a) ve g) matrix üzerinde çekirdek kabuk şeklinde dağılmış faz morfolojisi c) ve e) üç polimerin bir arada sürekli olduğu faz morfolojisi için temsili şekillerdir; b) 60/10/30, d) 40/20/40, f) 30/30/40 ve h) 10/80/10 HDPE/PS/PMMA üçlü polimer karışımlara ait SEM görüntüleri.

v) Kaplamada kullanılan substartın yüzey morfolojisine etkisine dair çalışmalar:

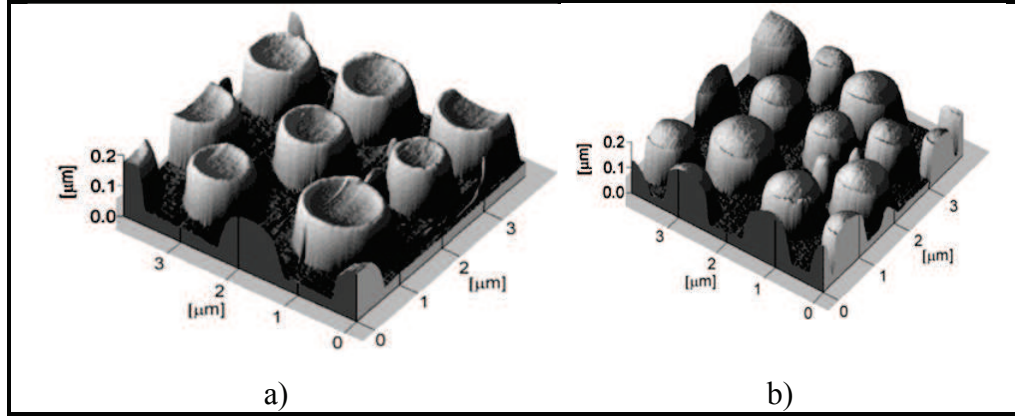
Tanaka ve arkadaşları, polimetilmetakrilat (PMMA) ve polisitiren (PS) nin polimer karışımlarından spin-kaplama ile altın ve hidrofobik substrat üzerine ince film kaplamalarını oluşturmuşlar (Şekil 2.20) ve substrat farklılığına bağlı olarak matris ve tepe/çukurda polimerlerin değiştiğini belirlemişlerdir [Tanaka et al., 1996].

Örneğin 100 nm kalınlığında oluşturulan PS/PMMA (50/50) polimer karışımında, PMMA'nın tepeler oluşturarak PS yapısı üzerinde çapı kontrol edilebilen silindirik mikrodelenler oluşturduğu ve PS/PMMA (30/70) polimer karışımının, PMMA yapısı üzerinde çukur oluşturarak silindirik PS mikroporlarının oluşturduğunu gözlemlenmiştir.



Şekil 2.20: a) Altın substrat üzerine oluşturulan PS/PMMA (50/50) polimer karışımının, b) Hidrofobik silikonlu cam substrat üzerine PS/PMMA (30/70) polimer karışımının ince film AFM görüntüsü.

Budkowski ve arkadaşları, CH_3 ve COOH sonlu kendiliğinden oluşturulan monotabaka substratlar ($\text{CH}_3\text{-SAM}$ ve COOH-SAM) üzerinde PS/PI (polistiren/poliizopren) polimer karışımlarının spin kaplama ince film (yaklaşık 200 nm kalınlığında) kaplamalarını oluşturmuşlardır [Budkowski et al., 2003]. Substrattaki değişikliklerin yüzeyde tepe yada çukur şeklinde damlacık desenli yüzey morfolojileri oluşturduğunu ve solvent buharlaşma hızının substrattaki değişikliğe bağlı olarak değışmesi sonucunda yüzey morfolojisinin değıştiğini belirlemişlerdir (Şekil 2.21). $\text{CH}_3\text{-SAM}$ substratı üzerinde PS/PI polimer karışımının çukur şeklinde (konkav) (Şekil 2.21 a)) ve COOH-SAM substratı üzerinde oluşturulan PS/PI ince filminin tepe (konveks) (Şekil 2.21 b)) şeklinde morfoloji verdiği belirlenmiştir.



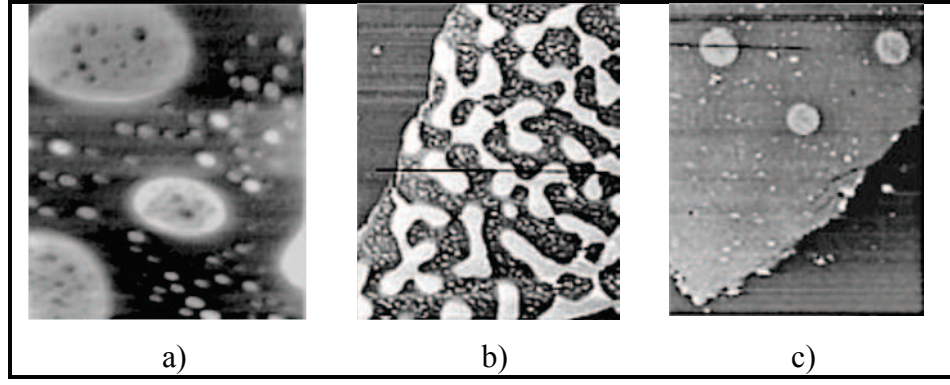
Şekil 2.21: Polystyrene/Polyisopren polimer karışımlarının (a) $\text{CH}_3\text{-SAM}$ ve (b) COOH-SAM substratlar üzerindeki yüzey morfolojisinin AFM görüntüsü.

Walheim ve arkadaşları si-wafer yüzeyini hidrofobluk derecelerine göre modifiye ettikleri üç farklı substrat üzerine spin kaplama yöntemi ile 50:50 PS/PMMA polimer karışımlarını 70-140 nm arasında film kalınlığında ince film kaplamalar oluşturmuşlardır[Walheim et al., 1997]. Substratlara dair özellikler Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2: Substrat yüzeylerinin özellikleri.

Substrat	Yüzey modifikasyon yöntemi	Statik su temas açısı ($^{\circ}$)
Silikon oksit	Kar jeti	0
Altın	Buharlaştırma	65
ODM (oktadesilmerkaptan)	Buharlaştırma	108

Üç farklı subtrat üzerine spin kapalama ile 50:50 PS/PMMA karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine ait AFM görüntüleri Şekil 2.22’de verilmiştir. Substrat yüzey enerjisine (hidrofobluk derecesine) bağlı olarak yüzey morfolojisi ve film yüzeyinde oluşan topografik yapıda solvent buharlaşma hızındaki farklılıktan dolayı değişiklik olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2.22: 50:50 PS/PMMA polimer karışımlarının a) Silikon oksit, b) Altın ve c) ODM (oktadesilmerkaptan) substratlar üzerindeki ince film kapalamalarının AFM görüntüsü.

2.2.2.1. Polimer Karışımların Karışabilirliği (Miscibility)

Polimer karışımların özellikleri, karışımı oluşturan polimerlerin birbiriyle karışabilir durumda olmasıyla ilişkili olduğundan, polimerlerin karışabilirliği polimer karışımı hazırlamanın kilit noktasını teşkil etmektedir. Polimer karışımların karışabilirliği (miscibility), polimer zincirlerinin termodinamik davranışının belirlenmesi ve dolayısıyla filmin yüzey yapılanma özelliklerinin açıklanabilmesinde önemli yer tutar. Polimerlerin karışabilirliği hakkındaki ilk sistematik tanımlamayı Flory şu şekilde yapmıştır [Flory, 1953]: İki polimer birbirleriyle ancak ve ancak etkileşimlerinin serbest karışma enerjisi negatif olması koşuluyla homojen şekilde karışabilir. Gibbs serbest enerjisi aşağıdaki denklemle ifade edilir.

$$\Delta G_{mix} = \Delta H_{mix} - T\Delta S_{mix} \quad (2.6)$$

Burada ΔG_{mix} karışımın Gibbs serbest enerjisi, ΔH_{mix} karışımın entalpisi, T sıcaklık ve ΔS_{mix} karışımın entropisi olarak ifade edilir. Entropi düzensizliğin bir ölçütüdür ve moleküllerin serbestlik derecesi azaldıkça düzenlilik azalır, ΔS_{mix} pozitif olur. Sıcaklık da pozitif değerler aldığı anda ΔG_{mix} 'nin negatif olabilmesi ΔH_{mix} 'in $T\Delta S_{mix}$ değerinden küçük oluşuna veya değerinin olmayışına bağlıdır. Eğer iki yüksek molekül ağırlıklı polimer karıştırılırsa, ΔS_{mix} karışım entropisi ihmal edilebilir ve serbest enerjinin negatif olması koşulu ancak ΔH_{mix} karışımın

entalpisinin negatif olması ($\Delta G_{mix} < 0$) koşulu ile sağlanabilir. Dolayısıyla polimer karışım komponentleri arasında spesifik etkileşimlerde karışım ekzotermik olmalıdır. Ancak genellikle polimerlerin karıştırılması endotermik bir olaydır, dolayısıyla polimerlerin homojen karışabilirlik durumu az rastlanır bir durumdur [Flory, 1953].

Birbiriyle karışmayan iki polimer karıştırıldığında, bir polimerin diğer polimer içindeki boyutu, şekli ve dağılımı, materyal parametrelerine (karışım kompozisyonu, viskozite oranı, elastiklik oranı ve arayüzey gerilimi) ve ayrıca proses şartlarına (sıcaklık, zaman, karışım yoğunluğu) bağlıdır. Bu yüzden, çok-fazlı polimer karışımlarda; proses sırasında ermiş polimer akışının kontrolü ve komponentler arasındaki arayüzey etkileşimlerinin kontrolü ile faz yapısı kontrol edilebilir.

Hidrojen bağı, dipol-dipol ve dipol-iyon kuvvetleri gibi spesifik etkileşimlerin varlığında genellikle polimerler birbirleriyle karışabilmektedirler [Coleman et al., 1991]. Polimer karışımların karışıp karışmaması bileşenlerin kompozisyonuna ve sıcaklığa da bağlıdır. Bu da karışabilir polimer karışımların sınırlı aralıkta elde edilebileceği anlamına gelmektedir. Karışabilir polimer karışımlarda, Gibbs karışma enerjisinin azalmasına sebep olan, gruplar arası ve polimer segmentleri arası etkileşimler vardır [Ramesh et al., 2002]. Karışmayan polimer blendlerinin özelliklerini geliştirmek için uyumlulaştırıcı polimerler kullanılabilir. Uyumlulaştırıcı polimerler genellikle polimer karışımı oluşturan monomerlerin blok kopolimeridir. Aşı kopolimerler de uyumlulaştırıcı olarak kullanılabilir [Web 3, 2011]

2.2.2.2. Polimer Karışımların Hazırlanma Prosesleri

Polimer karışımlar iki ya da daha fazla polimerin herhangi bir kimyasal bağ yapmaksızın karıştırılması yoluyla genellikle iki yolla hazırlanırlar. Birinci yol, daha çok laboratuvar çalışmalarına uygun olan polimerlerin her ikisinin de çözünbildiği bir çözücü seçildikten sonra, polimerler bu çözücüde çözülür, karıştırılır ve daha sonra çözücü uçurulur. İkinci yöntem, tüm bileşenleri camsı geçiş sıcaklıklarının üstüne ısıtarak karıştırmaktır. Genellikle bu işlem ekstruderler de yapılır. Karıştırma eriyik halde gerçekleştirildikten sonra soğuduğunda polimer karışım elde edilmiş olur. Bu iki yöntem dışında; lateks halde karıştırma, ince toz halde karıştırma, karışımdaki diğer bileşenin çözücüsü olarak monomer kullanma ve polimerleştirme

ve IPN (iç içe geçmiş ağ yapılı polimer teknolojisi) yöntemleri de polimer karışım hazırlamakta kullanılır [Chanda and Roy, 2007].

Polimer karışımlardan solvent buharlaştırılması yöntemiyle hazırlanan filmlerin yüzey özelliklerinin kontrol edilmesinde homopolimer-homopolimer, homopolimer-kopolimer (istatistiksel ya da blok kopolimerler) ve kopolimer kopolimer polimer karışımlar kullanılabilir. Böylece farklı fiziksel ve kimyasal özellikteki polimerlerin özelliklerinin ucuz ve kolay uygulanabilir bir yöntemle tek bir materyal üzerinde oluşması sağlanır.

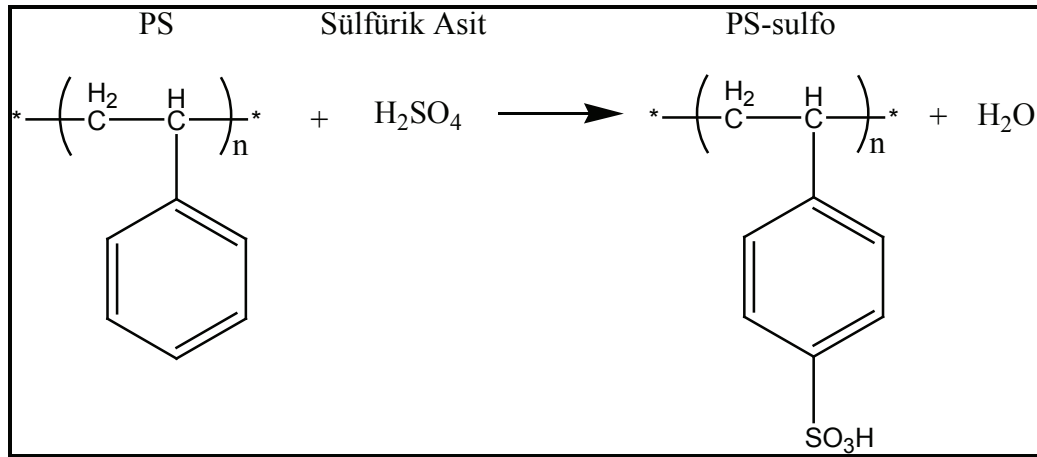
2.3. Yüzey Sülfonasyonu ile Heterojen Polimer Yüzey Sentezi

Heterojen polimer yüzey sentezi için alternatif yöntemlerden birisi polimer yüzeylerin amaca uygun kimyasal grupların yerleşimini sağlamak amacıyla modifiye edilmesidir. Polimere eklenen her yeni grup polimere yeni özellikler kazandırmaktadır [Kenyon and Whaugh, 1958], [Neill and Coşkun, 1987]. Polimer yüzey özellikleri günlük, endüstriyel ve medikal ve biyoteknoloji uygulamalarında modifiye edilerek Tablo 2.3’de verilen uygulama örneklerinde kullanımları söz konusudur. Bu uygulamaların gerçekleştirilmesinde genel olarak fiziko-kimyasal metotlar (sıvı, gaz, buhar ya da radyasyonla yüzeylerin modifiye edilmesi), mekanik metotlar (kumlama, AFM gibi cihazlarla pürüzlendirme ya da yüzeye kimyasal grup aşılama) ya da Biyolojik metotlar (biyomoleküllerin fiziksel tutunması, biyomoleküllerin kimyasal konjugasyonu) kullanılmaktadır [Hoffman, 1995].

Tablo 2.3: Polimer yüzey özelliklerinin önemli olduğu uygulamalara örnekler.

Günlük Uygulamalar	Endüstriyel Uygulamalar	Medikal ve Biyoteknoloji uygulamaları
Adsorbent materyaller	İyon değiştiriciler	Hücre kültür çalışmaları
Adezyon (tutunma)	Kromatografik ayırma işlemleri	Biyolojik olarak parçalanmış materyaller
Boya üretimi	Membranla ayırma işlemleri	Protein ve hücre ayırma işlemleri
Gıda paketleri	Analitik sensörler	Kan ve üriner sondalar
Deterjanlardaki yağ iticiler	Katalistler	Kan sirkülasyon aletleri

Polimerlere $-\text{SO}_2\text{OH}$, $-\text{SO}_2\text{Cl}$, $-\text{SO}_2\text{Na}$ gibi grupların dahil edilmesi sülfolanma, $-\text{NO}_2$ grubunun dahil edilmesi nitrolanma, $-\text{NO}$ grubunun dahil edilmesi ise nitrozolanma olarak adlandırılır. Aromatik halkaya sahip polimerlerin sülfolanması için sülfürik asit (H_2SO_4), kükürt trioksit (SO_3) ve klorosülfürik asit (HOSO_2Cl) kullanılır. Polistiren aromatik yan grup taşıdığı için halka üzerinde çeşitli elektrofilik yer değiştirme reaksiyonlarını kolayca verebilmesi açısından yüzey modifikasyonu açısından avantajlı bir polimerdir. Örneğin kolayca nitrolanabilir [Coşkun vd., 1991], klorlanabilir [Neill and Coskun, 1987], bromlanabilir [Neill and Coskun, 1986], açillenebilir [Kenyon and Whaugh, 1958], kloralkillenebilir [Frechet et al., 1979], [Boinon et al., 1989], sülfolanabilir [Makowski et al., 1975], sülfonillenebilir [Cansiz et al., 1991]. Polistiren polimerinin sülfolanması işlemi Şekil 2.23'deki reaksiyona göre gerçekleştirilir:



Şekil 2.23: PS'nin sülfürik asit ile sülfonasyon reaksiyonu.

Şekil 2.23'de verilen reaksiyona göre polimer yüzeyinin sülfonasyonu yapılabilir. Sülfonasyon işlemi sülfürik asitin değişik konsantrasyonları ve zamana bağlı olarak polimer yüzeylerinin farklı sülfonasyon derecelerinde sülfonlanmasına neden olur. Sülfonasyon işlemi sonrasında polimer yüzeyinin farklı sülfonasyon derecelerine sahip olması polimer yüzeyin hidrofobluk derecesi ve kimyasal heterojenliğinin değişmesine neden olur. Örneğin, Gibson ve arkadaşları oda sıcaklığında PS yüzeyini %100 sülfürik asit çözeltisi içerisinde sülfonlamış ve 4000 mono tabaka sülfon grubunun bu sülfonasyon şartlarında oluşabilmesi için 1 saatten daha kısa bir süreye ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir [Gibson and Bailey, 1980].

Sülfonasyon derecesinin belirlenmesi için 3 teknik kullanılabileceğinden bahsedilmiştir ki bu teknikler:

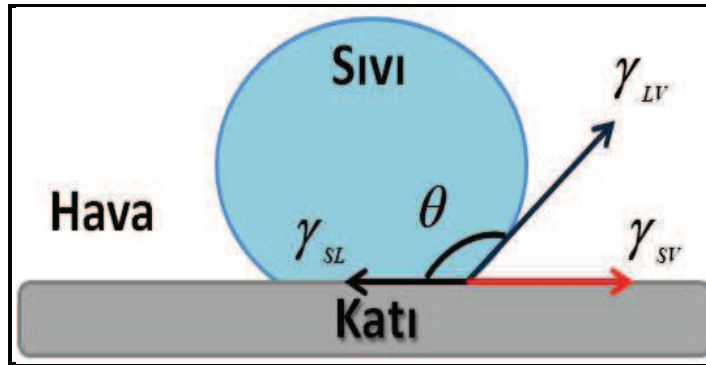
- i) Katyonik bir boya olan metilen mavisi ile PS filminin iyon değişimi ve bunu takiben UV-vis spektrofotometre ile tutunmasının ölçülmesi,
- ii) sülfonik asit gruplarının direkt titrasyonu
- iii) interferometre ile direkt reaksiyon derinliğinin ölçümü.

Sülfolanmış PS yüzeylerinin analizinde kullanılan sülfonik gruplarla katyonik grupların yer değiştirmesi yönteminde, katyonik boya olan metilen mavisi kullanılarak sülfolanmış PS yüzeyindeki protonla Metilen mavisi katyonunun yer değiştirmesi ve iyonik bağ yapması sağlanmıştır ve UV-vis spektrofotometresinde ölçüm alınarak sülfon gruplarının yoğunluğu belirlenmiştir. Kullanılan diğer bir yöntem olan titrimetrik yöntemde ise; PS filmi % 100'lük sülfürik asit çözeltisine daldırılmış ve 2 dk bekletilmiştir. Sülfolan PS film de-iyonize su ile birkaç kez yıkanmıştır. Sülfolanmış PS filmi sulu metilen mavisi içerisine daldırılmış ve boya çözeltisi uzaklaşana kadar de-iyonize su ile yıkanmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Uzaklaşan metilen mavisi mol sayısına karşı film absorbansı grafiği çizilmiştir. Titrant olarak KOH ve analit olarak HCl kullanılarak sülfolanmış PS filminin nötralleştirmek için gerekli KOH miktarından hesaplanmıştır. sülfolanmış PS filminin gramı başına sülfonik asit grup sayısı başına filmi titrasyon öncesi ve sonrasında UV-vis ile absorbans ölçülerek geri hesapla gram film başına SO_3H mol sayısı hesaplanmıştır.

3. TEMAS AÇISI ve KATILARIN SERBEST YÜZEY ENERJİSİ HESABI

3.1. Temas Açısı

Temas açısı, katıların yüzey gerilimini tespit etmek amacıyla kullanılan doğrudan ölçülemez, ancak katı yüzeye sıvı temas ettiğinde sıvı ile katı arasındaki etkileşimlerden (yüzey gerilim kuvvetleri) yararlanarak hesaplanabilir. Sıvıların yüzey gerilimleri direkt ölçüm yöntemleri ile belirlenebilmesine rağmen, katıların yüzey gerilimleri temas açısı ölçümleri sonucunda belirlenebilir. Katı, sıvı ve buhar (hava) fazlarının kesiştiği noktadan çizilen teğet temas açısı (θ) olarak tanımlanır ve sıvı ile katı temas halinde iken katı-sıvı (γ_{SL}), katı-buhar (γ_{SV}) ve sıvı-buhar (γ_{LV}) ara yüzey gerilimleri olarak tanımlanan üç kuvvet dengede kalır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Katı yüzey üzerinde oluşturulan sıvı damlasının temas açısı ve katı yüzey ile sıvı damlası arasındaki etkileşim kuvvetleri.

Ara yüzey gerilimlerinin dengelenmesi sonucu çizilen teğetten belirlenen temas açısına ilişkin kuvvetlerin denkliği ilk kez 1805 yılında Thomas Young tarafından tanımlanmıştır ve Young eşitliği (Eşitlik 3.1) olarak bilinir [Young, 1805].

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SL} + \gamma_{LV} \cos \theta \quad (3.1)$$

Young eşitliği, bir katı yüzeyin ıslatılabilirliğin nicel olarak tanımlanmasını esas alır ve sert, homojen ve tamamen düz (pürüzsüz) olarak tanımlanan gerçekte olmayan ancak olduğu varsayılan ideal yüzeyler için tanımlanmıştır. Katıların yüzey

gerilimi henüz bağımsız olarak ölçülememiş olmasına rağmen katı-sıvı adezyon kuvveti (W_{SL}) kolaylıkla ölçülebilir ve 1869 yılında Dupre katı-sıvı adezyon kuvvetini yüzeyler arası gerilimle ilişkilendirerek Eşitlik 3.2 de verilen Dupre Eşitliğini tanımlamıştır.

$$W_{SL} = \gamma_{SV} + \gamma_{LV} + \gamma_{SL} \quad (3.2)$$

Eşitlik 3.2’de γ_{SV} ve γ_{SL} sırasıyla katı yüzeyin hava ile ve katı yüzeyin sıvı ile yapmış olduğu yüzey gerilim kuvvetleri iken, γ_{LV} sıvı-hava arasındaki yüzey gerilim kuvvetini temsil eder. Dupre aynı zamanda adezyon işi ve yüzey gerilim kuvveti dengesini ilişkilendirerek Young-Dupre eşitliğini tanımlamıştır (Eşitlik 3.3).

$$W_{SL} = \gamma_{LV} (1 + \cos \theta) \quad (3.3)$$

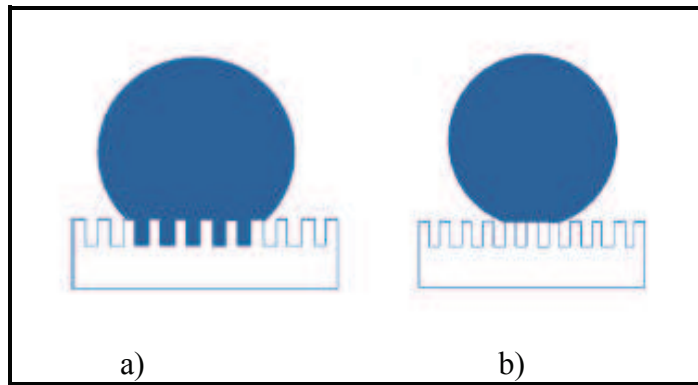
Eşitlik 3.3’e göre eğer sıvı yüzeyi tamamen ıslatıyorsa yani $\theta = 0^\circ$ ise, bu durumda adhezyon işi maksimum değerindedir ($W_{SL} = 2 \gamma_{LV}$), yani katı yüzey, sıvıyı maksimum kuvvetle kendine çekmektedir. Diğer yandan eğer sıvı katı yüzeyle 90° ’lik bir temas açısı verirse adhezyon işi $W_{SL} = \gamma_{LV}$ olur. Sıvı katı yüzeyle 180° (pratikte bu durum pek mümkün değil) açı verirse sıvı katı yüzeyde tamamen küresel olarak durur ve yüzeyde adhezyon işi yoktur ki bu durum katı yüzey ile sıvı arasında hiçbir çekim kuvveti olmadığı anlamında gelir [Erbil, 2006]. Bu sonuca göre pürüzsüz yüzeylerde maksimum temas açısı elde etmek, yalnız yüzey enerjisini düşürmekle mümkündür. Kimyasal olarak pratikte mümkün olmasa da en düşük yüzey enerjisine sahip yapı hegzaگونel paket şeklindeki CF_3 gruplarından oluşur, teorik olarak bu yüzeyin yüzey enerjisi 6.7 mN/m dir [Nishino et al., 1999] ve yapılan hesaplamalar da bu derece pürüzsüz bir yüzeyde maksimum su temas açısı değeri 120° olabileceği bulunmuştur [Nakajima et al., 1999].

Young eşitliği pürüzsüz ideal yüzeyler için tanımlandığından ve pratikte pürüzlü yüzeylerin mevcut olmasından dolayı pürüzlü yüzeyler için temas açısı tanımlanmasına ihtiyaç olmuştur ve 1936 yılında Wenzel katı yüzeydeki pürüzlülüğü göz önüne alarak Young eşitliğini modifiye etmiştir. Eşitlik 3.4 de katı yüzeydeki pürüzlülük faktörünün (r) dahil edildiği temas açısı (θ^W) hesaplamalarında

kullanılan Wenzel eşitliği yer almaktadır. Pürüzlülük faktörü (r), gerçek yüzey alanının geometrik yüzey alanına oranı olarak ifade edilir.

$$\cos \theta^W = r (\gamma_{SV} - \gamma_{SL}) / \gamma_{LV} = r \cos \theta \quad (3.4)$$

Wenzel Eşitlik 3.4’de yer alan denklemi türetirken Şekil 3.2 a)’daki yüzeyi model olarak almıştır ve sıvının pürüzlü yüzeye gömüldüğü varsayılmıştır. Ancak pratikte pürüzlü yüzeylerde pürüzler arasında yer alan hava paketçiklerinden dolayı sıvı damlanın Wenzel teorisinde olduğu şekilde durması mümkün olmadığından 1944 yılında Cassie-Baxter Şekil 3.2 b)’de yer alan modeli kullanarak yüzeydeki hava ve katı fraksiyonu ile temas açısını ilişkilendiren Eşitlik 3.5’i türetmiştir [Cassie et al., 1944].



Şekil 3.2: a) Wenzel teorisine göre ve b) Cassie-Baxter teorisine göre sıvı damlasının pürüzlü yüzeyler üzerindeki damla profilleri.

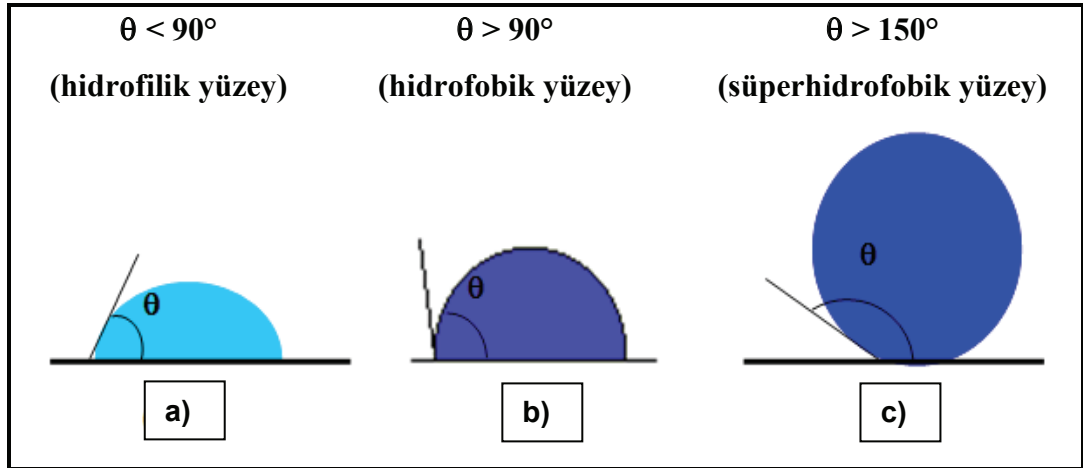
Cassie-Baxter teorisine göre pürüzlü bir yüzey üzerinde su damlası oluşturulduğu zaman, su damlası pürüzler arasına gömülmeden pürüzler arasında var olan hava paketçikleri üzerinde taşınır [Cassie, 1944].

$$\cos \theta^C = f (\cos \theta + 1) - 1 \quad (3.5)$$

Burada f , katı yüzey alan fraksiyonudur ve yüzeydeki toplam katı alanının, hava + katı yüzey alanına oranı olarak tanımlanır.

Temas açısı bir sıvının katı yüzeyi ıslatabilirliğinin bir ölçütüdür ve sıvı ile katı etkileşim kuvvetlerinin büyüklüğüne bağlı olarak temas açısı değeri değişiklik gösterir. Temas açısı değeri arttıkça, sıvı ile katının temas yüzeyi alanı azalır,

böylece katı sıvı tarafından daha az ıslatılmış olur. Genel olarak $\theta < 90^\circ$ ise sıvı yüzeyi ıslatıyordur ve böyle yüzeyler hidrofilik (suyu seven) ve $\theta > 90^\circ$ ise hidrofobik (suyu sevmeyen) yüzeyler olarak adlandırılırken, $\theta > 150^\circ$ ise süperhidrofobik (sıvı katı yüzeyini ıslatmaz) ve $\theta < 30^\circ$ ise süperhidrofilik yüzey (sıvı katı yüzeyini tamamen ıslatır) olarak adlandırılır (Şekil 3.3).



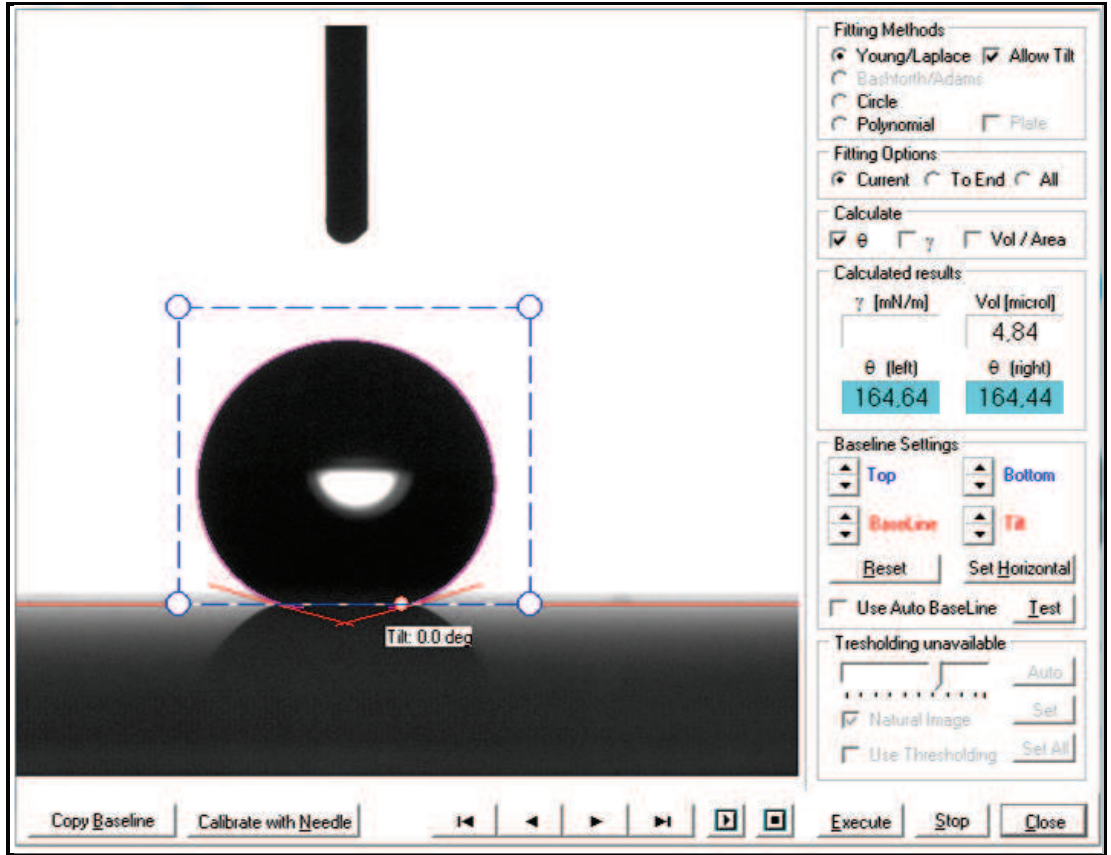
Şekil 3.3: Farklı temas açısına sahip katı yüzeyler üzerinde sıvı damlasının oluşturduğu damla profilleri ve temas açıları.

3.1.1. Temas Açısı Ölçüm Metotları

Temas açısı ölçümü için birçok metot geliştirilmiştir ancak günümüzde iki yöntem yaygın olarak kullanılmaktadır. En yaygın olarak kullanılan yöntemlerden birincisi düz bir katı üzerine yerleştirilen bir video kamera (gonyometre) kullanarak katı yüzey üzerine damlatılan sıvı damlanın profilinin görüntülenmesi esasına dayanan statik temas açısının ölçümü, diğeri ise hareketli düz bir katı plakanın sıvı içerisine kontrollü olarak daldırılması sonucunda sıvı-katı arasındaki etkileşim kuvvetlerinin tensiyometre kullanılarak ölçülmesi esasına dayanan dinamik temas açısı ölçümü metodudur. İki temas açısı tekniğindedir birbirine yakın sonuçlar elde edilse de, statik temas açısı ölçüm yöntemi uygulama kolaylığı, kullanılan test sıvısının az miktarda olması ve ölçüm zamanının kısa olması gibi nedenlerle dinamik temas açısı yöntemine göre daha avantajlıdır.

3.1.1.1. Statik Temas Açısı Ölçümü

Gonyometre yöntemi ile statik temas ölçümü damla profilinin katı üzerine damlatılan durgun damlanın video kamera ile belli zaman aralıklarında belirlenen damla profillerinin incelenmesi sonucunda analiz edilmesi sonucunda sıvı damla ile katı yüzey arasına çizilen teğeten hesaplanan tanjant değerinin belirlenmesi sonucunda temas açısı bulunur (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Optik temas açısı cihazıyla (Gonyometrik metotla) kaydedilmiş bir görüntüde veri işleme ve temas açısı ölçüm penceresi.

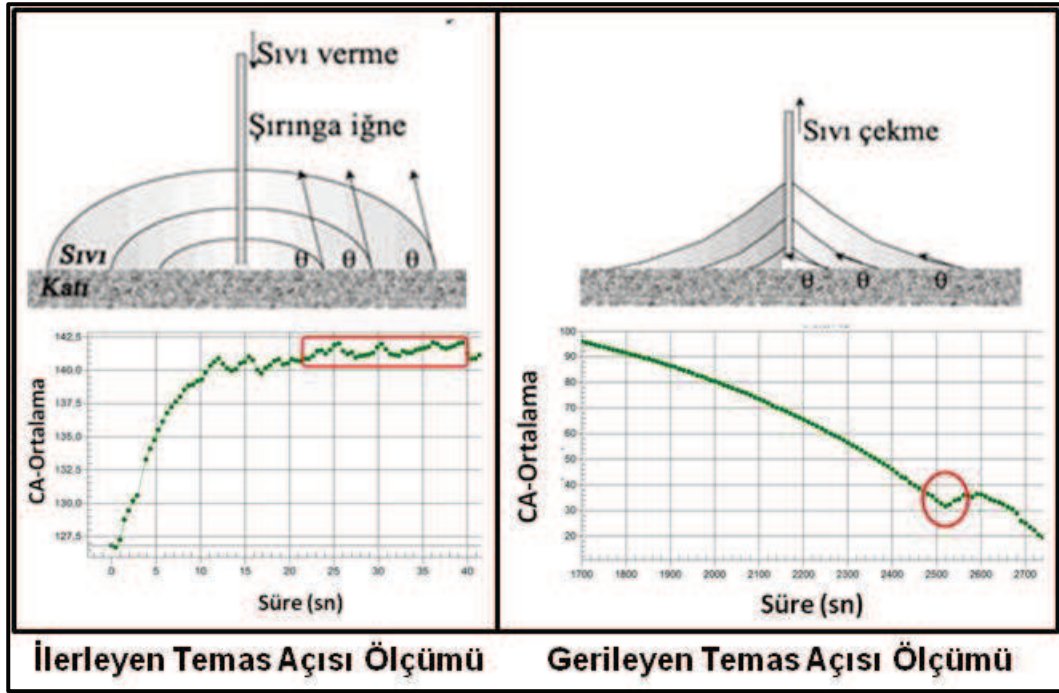
Statik temas açısı yöntemiyle katı yüzeyin temas açısının belirlenmesinde kullanılan test sıvısının az miktarda kullanılması, ölçüm alınacak katı yüzeyinin belirli bir geometriye sahip olmaksızın en az 3 farklı sıvı damlanın oluşturulacağı ölçüm almaya elverişli düz bölgesinin olması, kısa sürede ölçüm alınabilmesi ve uygulama kolaylığı gibi birçok avantaja sahiptir. Ancak ölçüm sırasında damla profilinden damlanın tanjantının bulunması işlemi araştırmacının tecrübesine bağlı olması nedeniyle doğru belirlenmeyen teğet çizgisi hatalı ölçüm alınmasına neden

olacağından dezavantajlıdır. Bu dezavantaj damla profilinin bilgisayar destekli olarak analiz programları kullanılması ile kabul edilebilir sınırlar içerisine çekilerek ortadan kaldırılabılır.

Statik temas açısında denge temas açısı (θ_e) değerinin belirlenmesi yüzeyin kimyasal olarak homojen ve atomik ölçekte düz olduğu ideal olarak varsayılan yüzeyler için belirleyici olması ve ideal yüzeylerin gerçek hayatta bulunmaması nedeniyle fikir vericidir ancak tek başına yeterli değildir. Bu nedenle yüzey özelliklerinin temas açısı özelliklerinin tespitinde ilerleyen temas açısı (advancing contact angle θ_a) ve gerileyen temas açısı (receding contact angle, θ_r) değerlerindeki belirlenmesi önemlidir.

İlerleyen temas açısının belirlenmesinde katı yüzey üzerinde belli hacimde (yaklaşık 3-4 μ L) oluşturulan sıvı damlasının içerisine çelik iğne damla yüksekliğinin yaklaşık 1/3 kadar mesafedeyken yerleştirilir ve sonrasında aynı damlanın hacmi sıvı ile büyütülerek (yaklaşık 8mL hacim) damlanın kuru katı yüzey üzerinde ilerlemesi sağlanır ve bu ilerleme sırasında sık aralıklarla önceden fotoğraf çekme hızı ayarlanmış video kamera tarafından damla profilleri kaydedilir. Kaydedilen her bir damla profilinin fotoğrafında tanjant değeri belirlenmesi ile hesaplanan temas açısı değeri zaman ve damla hacmine karşı ayrı ayrı grafik haline getirilir. Elde edilen grafiklerde zaman ya da damla hacminin temas açısı ile önce doğru orantılı olarak arttığı ve belli bir noktadan sonra $\pm 1-3^\circ$ gibi temas açısı farklılıklarıyla azalıp-arttığı ve bu aralıkta bant vererek neredeyse sabitlendiği gözlenir (Şekil 3.5). Neredeyse temas açısının sabitlendiği bu banta karşılık gelen temas açısı değer ilerleyen temas açısı olarak belirlenir. Damlanın büyütülmesi esnasındaki son damla hacminin belirlenmesi yüzeyin hidrofobluk derecesine göre değişiklik göstereceğinden araştırmacı son damla hacmini ve video kamera ile görüntü alma hızını yüzey özelliklerine göre farklı görüntü hızı ve hacimlerinde deneme yaparak belirlemesi gerekir. Ayrıca ilerleyen temas açısı ölçümü sırasında damla içerisine batırılan iğnenin hidrofobluk derecesi ölçüm sırasında sıvının iğne üzerine tırmanma eğilimini değiştireceğinden çelik iğne yerine hidrofobik iğne (örneğin sıvı parafilm kaplı iğne) kullanılması ölçümün doğru alınması ve analiz edilmesi açısından dikkate alınması gereken başka bir husustur. İlaveten ilerleyen temas açısı değeri denge temas açısı değerinden küçük olamaz, ya çok az pürüzlü yüzeylerde denge temas açısı değerine eşittir ya da pürüzlü yüzeylerde denge temas açısı

değerinden büyüktür. Bu kıstaslara uymayan deneysel sonuçlarda hatalı ölçüm alınmıştır ve ölçümlerin tekrarlanmasına ihtiyaç vardır.



Şekil 3.5. Sıvı damlasının ilerleyen temas açısının ölçümüne dair şematik gösterimi ve temsili analiz grafiği.

Statik temas açısı türleri arasından ikincisi olan gerileyen temas açısı (θ_r) ise daha önce katı yüzeyde oluşturulan sıvı damladan, iğne ile belli miktarda sıvının geri çekilmesiyle (örneğin $8 \mu\text{L}$ oluşturulmuş damladan $5 \mu\text{L}$ sıvı çekilmesi) video kamerada sık aralıklarla çekilen damla profillerinin tıpkı ilerleyen açıda olduğu şekilde kaydedilerek tanjant eğrisinden temas açısının zaman ve damla hacmine karşı otomatik grafiğe alınması sonrasında belirlenir (Şekil 3.6). Gerileyen temas açısı ölçümlerinde sıvı damlanın geri çekilmesi sırasında, pürüzlü ya da kimyasal heterojen bölgelerde damla belli bir enerjiye kadar takılır (pinning effect) ve sonra bu enerji bariyerini aştıktan sonra küçülmeye devam eder. Bu durum temas açısının zaman ya da damla hacmiyle grafiğe geçirildiğinde görülür. Temas açısı zaman ya da damla hacmi ile önce ters orantılı olarak azalır. Belli bir noktadan sonra $\pm 1-3^\circ$ gibi temas açısı farklılıklarıyla azalıp-artan neredeyse sabit bir bant gözlenir (Şekil 3.6). Bu bantta ilk artışın gözlemlendiği noktadan bir önceki azalma değeri veya yüzey özelliğine bağlı olarak banttaki temas açısına karşılık gelen temas açısı değeri gerileyen temas açısı olarak belirlenir. Ölçülen gerileyen temas açısı değeri daha

önce aynı yüzey üzerinde ölçülen denge temas açısı değerinden daima küçüktür. Gerileyen temas açısı ölçümünde iğnenin damlanın içinde ve damla profilini bozmayacak konumda olmasına dikkat edilmelidir aksi takdirde gerileyen temas açısının yanlış ölçümü söz konusu olur.

Gerileyen temas açısı ölçümü statik temas açısı ölçümleri arasında en zor ölçüm alınan yöntem olması nedeniyle ayrıca sıvı damla katı yüzey üzerine damlatılarak ve damla içerisine iğne batırılmaksızın damlanın buharlaşması ile kısa sürelerde damla profilinin video kamera ile görüntülenmesi ve damla profillerinin teğetinden hesaplanan temas açısının zaman ve damla hacmine karşı grafiğe geçirilmesi sonucunda da ölçülebilir. Bu yöntem damlanın içerisine iğne batırılmışken bir taraftan sıvı çekilmesi ve diğer taraftan damlanın buharlaşmasından kaynaklanacak hatalı ölçümün önüne geçilmesi açısından avantajlıdır ve güvenilirdir [Erbil, 2006]. Ancak damlanın buharlaştırılması ile ölçülen gerileyen temas açısı ölçüm süresinin uzun olması nedeniyle pratik olmaması dezavantajlıdır. Gerileyen temas açısı da tıpkı ilerleyen temas açısı gibi yüzey pürüzlülüğü ve kimyasal heterojenlikten etkilenir. Ayrıca yüzey flor gibi polar gruplar içerdiğinde sıvı ile temas eden yüzey üzerinden ölçüm alındığından zaman içerisinde polar grupların sıvı içerisinde yer değiştirmesi söz konusu olduğundan daha dikkatli davranılması gerekmektedir. Ayrıca ilerleyen ve gerileyen temas açısı ölçümü yüzey pürüzlülüğü ve kimyasal heterojenliğine bağlı olarak damlanın enerji bariyerlerine takılması esasına dayanarak ölçüm alındığından, yüzey pürüzlülüğü ve yüzeyin kimyasal heterojenliği hakkında öngörüle bulunabilmek açısından önemlidir.

3.1.1.2. Dinamik Temas Açısı Ölçümü

Dinamik temas açısı ölçümü dinamik tensiyometrede Wilhelmy plakası kullanılarak ilerleyen ve gerileyen temas açıların ölçümünün gerçekleştirilmesinde kullanılır. Katı yüzeyin dinamik temas açısı ölçümü öncesinde Wilhelmy plakası ya da Dü Nouy metodu kullanılarak katı yüzey üzerinde temas açısı belirlenecek test sıvısının yüzey gerilimi belirlenir ve katı yüzey ölçümleri sırasında cihaza ölçülen yüzey gerilimi değeri girilir. Metodun kullanılabilmesi için ölçüm alınacak yüzeyin boyutları ve geometresi Wilhelmy plakası boyutlarında olmalıdır. Katı yüzeyin boyut ve geometrisindeki sınırlama dinamik tensiyometrede temas açısı ölçümlerinde en

büyük dezavantajlardan birisidir. Dinamik tensiyometrede ilerleyen ve gerileyen temas açılarının ölçümü katı yüzeyin elektronik teraziye bağlı kancaya dikey olarak asılarak salınım yapmayacak şekilde sabitlenmesi sağlanır. Daha sonra örnek üzerinde temas açısı ölçülecek test sıvısı örnek kabı içerisine doldurulur ve motoriza sistemin kontrollü şekilde örnek kabını yukarıya çıkarması ile sıvı katı yüzey üzerinde tırmanmaya başlar ve ilerleyen temas açısı ölçümü gerçekleşir. Benzer şekilde örnek kabı aşağıya doğru hareket ettirilerek test sıvısı içerisine daldırılmış katı yüzey üzerine tırmanmış sıvı yüzeyden kopmaya başlar ve bu esnada ölçülen temas açısına ise gerileyen temas açısı denir. Dinamik temas açısı değerleri statik olarak belirlenen temas açısı değerlerinden genellikle daha küçüktür [Erbil, 2006]. Dinamik temas açısı ölçüm metodu fazla miktarda sıvı gerektirmesi ve sıvıya daldırılan katı yüzeyin her iki yüzünün de sıvıya temas etmesinden dolayı katı yüzeyinin çift taraflı kaplanması gerektiğinden dezavantajları vardır. Fakat gonyometrik yöntem kullanılarak statik temas açısı tespit edilemeyen fiberler için bu yöntem kullanılarak temas açısının tespit edilebilmesi fiberlerin temas açılarının tayininde avantaj sağlar.

3.2. Temas Açısı Karmaşası (Contact Angle Hysteresis)

Temas açısı en temel halde Young eşitliği ile belirlenir ancak Young eşitliği ideal yüzeyler için tanımlanmıştır. Ancak ideal yüzeyler, kimyasal olarak homojen, atomik ölçekte pürüzsüz, buhar veya sıvı tutunmasıyla kimyasal etkileşimlere uğramayan ve gerçekte var olmayan olduğu varsayılan yüzeylerdir. Bu nedenle tek bir temas açısı ölçümü ile gerçek yüzeylerin (kimyasal heterojen ve pürüzlü) temas açılarının belirlenmesi mümkün değildir. Gerçek yüzeylerin kimyasal heterojenliği ve pürüzlülüğünden dolayı mutlaka ilerleyen ve gerileyen temas açıları arasında temas açısı farklılığı oluşur. İlerleyen ve gerileyen temas açıları arasındaki bu fark temas açısı karmaşası (CAH, hysteresis) olarak adlandırılır (Eşitlik 3.6) ve aynı zamanda ideal yüzeyden ne kadar sapma olduğunun bir göstergesidir. Temas açısı karmaşası yüzeyin kimyasal heterojenliğinin ve pürüzlülüğünün bir ölçütüdür.

$$CAH = \theta_a - \theta_r \quad (3.6)$$

θ_a ve θ_r temas açısı değerlerinin her ikisi de yüzey pürüzlülüğüne ve yüzeyin kimyasal heterojenliğine bağlıdır ve pratikte ilerleyen temas açısı gerileyen temas açısından büyüktür, denge temas açısı ise ilerleyen ve gerileyen temas açılarının arasında bir değerdedir. Yüzey ideale ne kadar yakın olursa, ilerleme ve gerileme açıları arasındaki farkta o kadar az olur. Heterojenliğin olmadığı, tamamen homojen ve pürüzsüz yüzeylerde (ideal yüzeylerde) ilerleyen ve gerileyen temas açıları birbirine eşittir. Bunun yanında kirlilik, damla boyutu etkisi, yüzeydeki moleküler yer değiştirme ve deformasyon, gözenekler arasına giren sıvı moleküllerinin boyutu ve katı yüzeyindeki yarıklar temas açısı karmaşasını etkileyen diğer faktörlerdendir [Erbil, 2006]. Temas açısı karmaşası değeri genel olarak 10-50° arasında değerler alabilir ancak süperhidrofobik yüzeyler yada flor gibi moleküler yerdeğiştirme yapan polar grupların varlığı temas açısı karmaşası değerini 1-70° arasında değerler almasına neden olabilir [Lee et al., 2004], [Li et al., 2007], [Cengiz et al., 2012].

Bir yüzey pürüzlü ise, gerçek yüzey alanı tepeden görünen (plan) yüzey alanından daha büyüktür. Dolayısıyla, pürüzlü yüzey üzerindeki sıvı-katı etkileşimi düz yüzey üzerindeki etkileşimden daha büyük olur. Eğer düz, pürüzsüz bir yüzeyde, yüzey üzerinde ölçülen temas açısı 90°'den büyükse yüzey pürüzlülüğünün artması ile temas açısı değeri artar. Temas açısının 90°'den küçük olduğu yüzeylerde ise, yüzey pürüzlülüğü arttıkça temas açısı değeri azalır. Yüzey pürüzlü olduğunda ilerleyen ve gerileyen temas açılarının ölçümünde pürüzlerin olduğu bölgelerde sıvı damlası enerji bariyerlerine takılacak ve dolayısıyla pürüzlülük arttıkça temas açısı karmaşası artacaktır.

Heterojen yüzeylerde üçlü faz temas çizgisinin hareketine bariyer olan bazı bölgeler vardır. Bu yüzden bu bölgelerde farklı temas açıları ölçülür. Örneğin, heterojen bir yüzeyde su damlası oluşturulduğu zaman, hidrofobik bölge sıvı ilerlerken temas çizgisinin hareketine takılır ve temas açısı artar. Su gerilerken ise, hidrofilik bölgelerde temas çizgisinin akan hareketini geri çeker ve temas açısı azalır. Böylece yüzeyde bir temas açısı karmaşası oluşur ve yüzeyde heterojenlik arttıkça temas açısı karmaşası artar.

Bir polimer zincirinin yığın (bulk) fazındaki moleküller yüzey özelliklerini belirlemede rol oynamazken, yüzeyin en üst katmanındaki atomlar veya gruplar yüzeyin ıslanabilirlik özelliklerini belirler. Polimer yüzeylerde bazen moleküllerin yönelmesinden ve katı yüzeylerdeki deformasyondan kaynaklanan karmaşa

gözlenir. Polimer yüzeyindeki moleküller sıvı damlasıyla temas ettiğinde, özellikle polimerin yapısında F atomu gibi polar veya H bağı yapan kimyasal gruplar varsa, yüzeyde bir yön değiştirme görülmektedir. İlerleyen temas açısı ölçümü daha öne ıslatılmamış bir yüzeyde yapıldığı için bir yön değiştirme meydana gelmez. Ancak gerileyen temas açısı ölçümü daha önce ıslatılmış bir yüzey üzerinde ölçüm alındığı için, bu esnada moleküler yön değiştirme meydana gelebilir. İlerleyen temas açısı değerini değiştirmeyen bu etki, gerileyen temas açısı değerini değiştirdiği için yüksek CAH değeri ölçülür.

3.3. Serbest Yüzey Enerjisi

Temas açısı ölçümleri katı-sıvı arayüzey etkileşimlerinin termodinamik incelenmesi sonucunda hesapla temas açısının belirlenmesini içeren indirekt yöntemdir. Benzer şekilde katı yüzeylerin serbest yüzey enerjisinin belirlenmesinde de farklı test sıvıları ile belirlenen temas açısı sonuçları kullanılır ve farklı yaklaşımlar göz önüne alınarak serbest yüzey enerjisi belirlenebilir. Katı yüzeyin serbest yüzey enerjisinin belirlenmesinde en sık kullanılan metotlar geometrik ortalama (Fowkes ve Owens & Wendt) ve asit-baz (van Oss-Good) metotlarıdır. Her iki metodun da mikroskopik ölçekte pürüzlü yüzeylerin serbest yüzey enerjisinin belirlenmesinde kullanımı uygun değildir. Bu nedenle eğer yüzey pürüzlü ise bu durumda pürüzlülüğün mikroskopik ölçekte ortadan kaldırılması için ön işlemler yapılması gerekir. Örneğin pürüzlü polimer yüzeyler tavlama ya da presleme gibi ön işlemlere tabi tutularak mikroskopik ölçekte pürüzsüz hale getirilebilir.

3.3.1. Geometrik Ortalama Metodu (Fowkes ve Owens & Wendt)

1964 yılında Fowkes kohezyon (W_c) ve adezyon (W_a) işlerinin dispersiyon, d , polar, p , indüksiyon, i ve hidrojen bağı, h bileşenlerine ayrılabilceğini önermiştir [Fowkes, 1964].

$$W_c = W_c^d + W_c^p + W_c^i + W_c^h + \dots \quad (3.7)$$

$$W_a = W_a^d + W_a^p + W_a^i + W_a^h + \dots \quad (3.8)$$

Sıvı ile temas halinde olan bir katının adezyon işinin dispersiyon bileşeni Eşitlik 3.9’da olduğu şekilde ifade edilebilir:

$$W_a^d = \sqrt{(W_c^d)_S + (W_c^d)_{LV}} = 2\sqrt{\gamma_s^d \gamma_{LV}^d} \quad (3.9)$$

Katı-sıvı sistemi için sadece London dispersiyon kuvvetleri ile etkileşen ara yüzey gerilimi ise Eşitlik 3.10’da verildiği şekilde ifade edilir.

$$\gamma_{SL} = \gamma_s^0 + \gamma_{LV} - 2\sqrt{\gamma_{s^0}^d \gamma_{LV}^d} \quad (3.10)$$

Eşitlik (3.10) ile Young eşitliği (Eşitlik 3.1) birleştirilerek Eşitlik 3.11’deki Fowkes-Young eşitliği türetilmiştir.

$$\gamma_{LV} \cos \theta = -\gamma_{LV} + 2\sqrt{\gamma_{s^0}^d \gamma_{LV}^d} - \gamma_{SV} \quad (3.11)$$

Fowkes, düşük enerjili katı yüzeyler için $\pi_{SV} = 0$ olarak kabul etmiş ve bu katılar üzerindeki yüksek enerjili sıvı damlaları için ideal denge temas açısını Eşitlik 3.12 ile ifade etmiştir.

$$\cos \theta_e = -1 + 2\sqrt{\gamma_{s^0}^d} \left(\frac{\sqrt{\gamma_{LV}^d}}{\gamma_{LV}} \right) \quad (3.12)$$

Aynı zamanda, tüm apolar sıvılar için $\gamma_{LV}^d = \gamma_{LV}$ olarak kabul etmiş ve eşitlik (3.12)’yi kullanarak bazı apolar polimerler için $\gamma_{s^0}^d$ değerlerini hesaplamıştır.

1969 yılında, Owens ve Wendt, Fowkes eşitliğini temel alarak, yüzey gerilimini dispersiyon, γ_i^d ve polar, γ_i^p olmak üzere 2 bileşene ayırmışlardır. Owens-Wendt, sıvı ile temas halindeki bir polimerin adezyon kuvvetinin serbest enerjisini Eşitlik 3.13 ile ifade edilebileceğini kabul etmişlerdir [Owens and Wendt, 1969].

$$W_a = 2 \left(\sqrt{\gamma_{SV}^d \gamma_{LV}^d} + \sqrt{\gamma_{SV}^p \gamma_{LV}^p} \right) \quad (3.13)$$

Bu eşitlik $\gamma_i = \gamma_i^d + \gamma_i^p$ ve $\gamma_{SL} = \gamma_{SV} + \gamma_{LV} - 2\left(\sqrt{\gamma_{SV}^d \gamma_{LV}^d} + \sqrt{\gamma_{SV}^p \gamma_{LV}^p}\right)$ kabulüne dayanmaktadır. Eşitlik (3.13), Young eşitliği (Eşitlik 3.1) ile birleştirilirse, Eşitlik 3.14 elde edilir.

$$\gamma_{LV}(1 + \cos \theta_e) = 2\left(\sqrt{\gamma_{SV}^d \gamma_{LV}^d} + \sqrt{\gamma_{SV}^p \gamma_{LV}^p}\right) \quad (3.14)$$

Eşitlik 3.14 ile bir polimerin yüzeyine sadece 2 sıvı (su ve metilen iyodür) kullanılarak oluşturulan damlaların denge temas açısı değerleri ile polimer yüzeyin serbest yüzey enerji değeri hesaplanabilir. Hesaplamalarda su için $\gamma_{LV}^d = 21.8$ ve $\gamma_{LV}^p = 51.0$, metilen iyodür için $\gamma_{LV}^d = 49.5$ ve $\gamma_{LV}^p = 1.3$ mJ/m² olarak kullanılmaktadır. Bu değerler kullanılarak Eşitlik (3.14) çözülür ve γ_{SV}^d ve γ_{SV}^p değerleri hesaplanır. Polimerin toplam yüzey gerilimini ise bu iki değer toplamı alınarak Eşitlik 3.15’de yer alan denklem ile bulunur.

$$\left(\gamma_{SV} = \gamma_{SV}^d + \gamma_{SV}^p\right) \quad (3.15)$$

Owens ve Wendt eşitliği, “tüm polar materyallerin diğer polar materyallerle kendi iç polar koheziv kuvvetlerinin bir fonksiyonu olarak etkileşir” kabulünden dolayı polar moleküller için hatalı sonuçlar vermektedir ve bu durumda geometrik ortalama yönteminin polar moleküller içeren yüzeylere uygulanmaması gerekir.

3.3.2. Asit-Baz Metodu (van Oss-Good)

1985 yılından sonra van Oss, Good ve Chaudhury, Lifshitz teorisine temel olarak iki faz arasındaki adezyon serbest enerjisini tanımlamak için daha ileri bir teori geliştirmişler ve katı bir yüzeyin iki etkin kuvvetten meydana geldiğini öne sürmüşlerdir [Van Oss et al., 1988], [Van Oss and Good, 1992]. Bu kuvvetler, dispersiyon, apolar ve indüksiyon etkileşimlerini kapsayan Lifshitz-van der Waals etkileşimleri (γ^{LW}) ve tüm elektron alıcı-verici etkileşimler ile H bağına kapsayan asit-baz etkileşimleri (γ^{AB}) olarak ifade edilmiştir. Buna bağlı olarak da adezyon (tutunma) işi Eşitlik 3.16’da olduğu şekilde türetilmiştir.

$$-W_a = \Delta G_{SL} = \Delta G_{SL}^{LW} + \Delta G_{SL}^{AB} \quad (3.16)$$

$$\Delta G_{SL}^{LW} = \sqrt{\Delta G_S^{LW} \Delta G_L^{LW}} \quad (3.17)$$

Bu eşitliğin dispersiyon etkileşimleri kısmı Fowkes eşitliği ile uyumludur ve γ_{SL}^{LW} terimi Eşitlik 3.18 de yer aldığı şekilde yazılabilir.

$$\gamma_{SL}^{LW} = \gamma_S^{LW} + \gamma_L^{LW} - 2\sqrt{\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW}} \quad (3.18)$$

Van Oss ve Good asit-baz etkileşimleri için geometrik ortalama kuralını kullanmamışlardır. H bağları asit-baz etkileşimlerinin kapsamında yer alır ve birçok sıvının yüzeyi sadece elektron verici özelliktedir, elektron alıcı özelliğe sahip değildir. Van Oss ve Good, asit-baz etkileşimlerini Eşitlik 3.19 ile ifade etmiştir,

$$-\Delta G_{SL}^{AB} = 2 \left(\sqrt{\gamma_s^+ \gamma_L^-} + \sqrt{\gamma_s^- \gamma_L^+} \right) \quad (3.19)$$

Burada, γ_i^+ yüzey geriliminin Lewis asit, γ_i^- Lewis baz parametresidir. Buradan, γ_{SL}^{AB} terimi Eşitlik 3.20’de olduğu gibi ifade edilir.

$$\gamma_{SL}^{AB} = 2 \left(\sqrt{\gamma_s^+} - \sqrt{\gamma_s^-} \right) \left(\sqrt{\gamma_L^-} - \sqrt{\gamma_L^+} \right) \quad (3.20)$$

Ayrıca Lifshitz-van der Waals etkileşimleri (LW) ara yüzey serbest enerjisi Young Dupre eşitliği (Eşitlik 3.3) birleştirilirse;

$$-\Delta G_{SL}^{LW} = \gamma_S^{LW} + \gamma_L^{LW} - \gamma_{SL}^{LW} \quad (3.21)$$

Elde edilir ve aynı zamanda Eşitlik 3.18 ve 3.21 birleştirilirse;

$$-\Delta G_{SL}^{LW} = 2\sqrt{\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW}} \quad (3.22)$$

Eşitliği elde edilir. Toplam adezyon ara yüzey serbest enerji eşitliği ise Eşitlik 3.16, 3.19 ve 3.22 birleştirilerek aşağıdaki şekilde türetilir.

$$-\Delta G_{SL} = 2\left(\sqrt{\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW}} + \sqrt{\gamma_S^+ \gamma_L^-} + \sqrt{\gamma_S^- \gamma_L^+}\right) \quad (3.23)$$

Yayıma basıncının ihmal edilmesi ve Young-Dupre eşitliği ile Eşitlik 3.23'ün birleştirilmesi sonrası, genel temas açısı denklemi Eşitlik 3.24 ile verilmektedir.

$$\gamma_{LV}(1 + \cos \theta) = 2\left(\sqrt{\gamma_S^{LW} \gamma_L^{LW}} + \sqrt{\gamma_S^+ \gamma_L^-} + \sqrt{\gamma_S^- \gamma_L^+}\right) \quad (3.24)$$

Eşitlik 3.24'ün temas açısı verilerine uygulanabilmesi için referans sıvıların γ_L^{LW} , γ_L^- ve γ_L^+ değerlerine ihtiyaç vardır. Apolar sıvılar için $\gamma_L^{LW} = \gamma_L$ ' dir, ancak dipolar veya monopolar sıvılar için γ_L^- ve γ_L^+ değerlerinin saptanması o kadar kolay değildir. Van Oss ve Good su için keyfi bir ilişki tanımlamışlar ve diğer tüm sıvıları bu tanımlamayı temel alarak türetmişlerdir. Su için $\gamma^{AB} = 51.0 \text{ mJ/m}^2$ olduğundan $\gamma_W^+ = \gamma_W^-$ olarak kabul etmişler ve $\gamma_W^+ = \gamma_W^- = 25.5 \text{ mJ/m}^2$ olarak hesaplamışlardır.

Referans sıvı yüzey gerilim bileşenlerini bulduktan sonra, polimer yüzeylerin γ_S^{LW} , γ_S^+ ve γ_S^- değerlerini hesaplamak için 2 metot vardır. İlk metotta, Eşitlik 3.24 de 2 tanesi polar sıvı olmak üzere 3 farklı sıvı değeri kullanılarak çözülür. İkinci metotta, γ_S^{LW} değeri apolar bir sıvı kullanılarak hesaplanır, daha sonra 2 tane polar sıvı kullanarak γ_S^+ ve γ_S^- değerleri hesaplanır. Bazen γ_S^+ ve γ_S^- 'nin karekök değerleri negatif olarak çıkabilmektedir. Bu durum henüz net olarak açıklanamamıştır ve bu teoriye karşı daha fazla itiraz edilmesine neden olmaktadır. Eğer polar sıvılar seçilecekse bunlardan birisi mutlaka su olmalıdır, aksi takdirde su haricinde 2 polar sıvı kullanılacaksa (örneğin etilen glikol veya formamid) oldukça değişken γ_S^+ ve γ_S^- değerleri elde edilebilir. Van Oss-Good metodu karışmayan sıvı-sıvı etkileşimlerinin açıklanmasında başarılı bir şekilde kullanılabilir.

3.4. Süperhidrofobik Yüzeyler

Su damlasının katı yüzey üzerinde verdiği temas açısı 150° ve üzerinde olan yüzeyler süperhidrofobik yüzey olarak adlandırılır. Suyu yüzeyden uzaklaştırmak için gerekli enerji ile ilişkili olarak damlayı hareket ettirici kuvvet pratikte hidrofobikliğin bir ölçüsüdür ve temas açısı karmaşası ile ilişkilidir. Süperhidrofobik

yüzeyler üzerine ilk teorik modellemeler 1960' larda Johnson and Dettre (1964) tarafından yapılmıştır. Johnson and Dettre'nin araştırmalarının temeli damlanın yarı kararlı (metastable) halleri arasındaki makroskobik titreşim enerjisi ve enerji bariyerlerinin yüksekliği arasındaki dengeden belirlenen yüzey pürüzlülüğünden kaynaklanan temas açısı karmaşasıdır. Bir yüzeyin herhangi bir sıvı ile ıslanabilirliği yüzeyin kimyasal yapısı (kimyasal heterojenliği) ve yüzey pürüzlülüğüne bağlıdır ve temas açısı karmaşası bu iki faktörün bir ölçütü olduğundan hidrofobluk derecesinin belirlenmesinde göz önüne alınmalıdır [Tsuji et al., 1997], [Chen et al., 1999], [Öner and McCarthy, 2000], [Erbil et al., 2003], [Li et al., 2007], [Deng et al. , 2012].

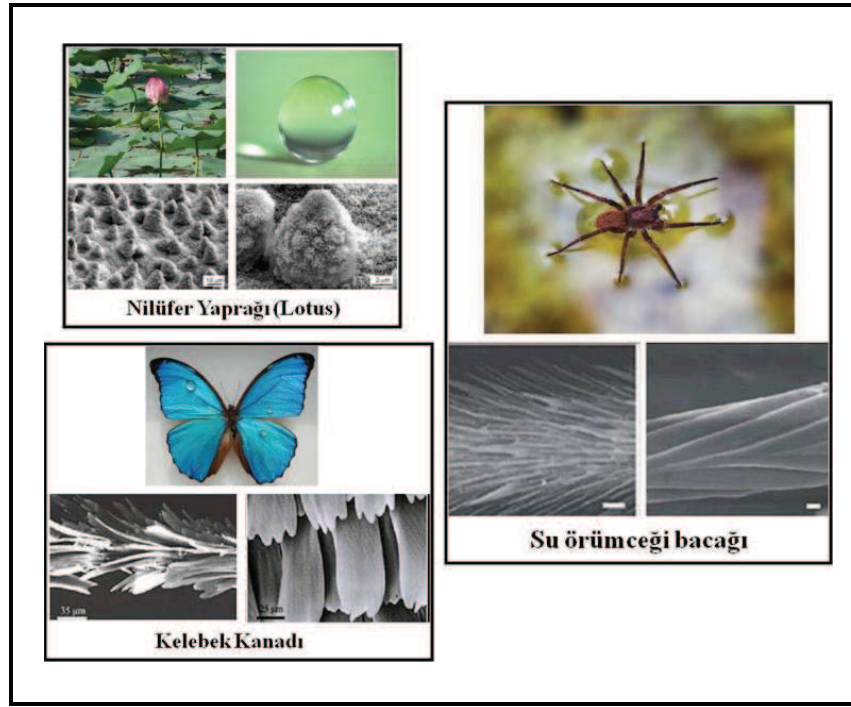
Süperhidrofobik yüzeyler, pürüzlülüğü meydana getiren morfoloji bakımından düzenli ve düzensiz pürüzlü yapılar olarak ikiye ayrılır. Düzenli pürüzlü yüzeyler, pürüzlülüğü meydana getiren sivri uçlar, oyuklar ve çizgiler gibi oluşumların hiyerarşik bir düzenle bulunduğu yüzeylerdir [Öner and McCarthy, 2000], [Motornov et al., 2002]. Düzensiz pürüzlü yüzeyler ise pürüzlülüğü meydana getiren oluşumların hiyerarşik olmayan bir şekilde bulunduğu yüzeylerdir [Onda et al., 1996], [Erbil et al., 2003]. Süperhidrofobik yüzeyler yapışmama, kirletmeme ve kendi kendini temizleme gibi üstün özelliklere sahiptirler. Bu özellikler gemiler için biyo-kirliliğe karşı kaplamalar, otomobiller için kendi kendini temizleyen camlar, metal saflaştırma, leke tutmayan kumaşlar, kirlenmez cephe kaplamaları gibi biyolojik ve endüstriyel birçok uygulamalara sahiptirler [Li et al., 2007].

3.4.1. Süperhidrofobik Yüzey Sentez Yöntemleri

1990'ların sonlarında, süperhidrofobik yüzeylerin senteziyle ilgili birçok makale yayınlanmıştır. Ancak uygulanan metotların çoğu, mekanik ve kimyasal oyma (litografi, plazma, lazer, kimyasal veya elektrokimyasal aşılama yöntemleri) gibi hidrofobik yüzeyin pürüzlülüğünü değiştirme esasına dayanan pahalı ve geniş alanlara uygulanması zor olan yöntemlerdir. Halbuki Erbil ve arkadaşları [Erbil et al., 2003], faz dağılımı prosesi ile ucuz bir polimer olan hidrofobik propileni (104°) daldırarak kaplama yaparak ve iyi çözücü/kötü çözücü kullanarak faz dağılımı prosesi ile süperhidrofobik (160°) propilen yüzeyini sentezlemişlerdir. Ayrıca polimer konsantrasyonu ve kaplama sıcaklığının, temas açısı ve yüzey pürüzlülüğü üzerine etkin parametreler olduğunu belirlemişlerdir. Yötemin ucuz olması ve geniş alanlara uygulanabilmesi en büyük avantajıdır.

3.4.2. Doğal Süperhidrofobik Yüzeyler: Nilüfer (Lotus) Etkisi

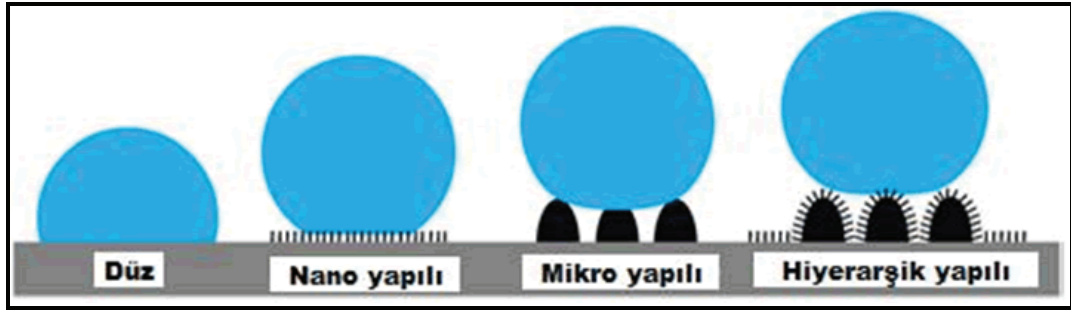
Doğada; nilüfer çiçeği, kelebek kanadı, su örümceğinin bacakları gibi birçok tür 150° den büyük su temas açısına sahiptir ve bu süperhidrofobik özelliklerinden dolayı kendi kendini temizleme özelliğine sahiptirler (Şekil 3.6). Nilüfer yaprağı üzerinde ölçülen statik temas açısı ve temas açısı karmaşası değerleri sırasıyla 164° ve 3° 'dir [Guo and Liu, 2007], [Li et al., 2007], [Bhushan et al., 2009], [Koch et al., 2009], [Yan et al., 2011]. Nilüfer bitkisi, çamurlu ve kirli ortamlarda yetişmesine rağmen, yapraklar üzerine toz zerresi geldiğinde, yaprağın üzerine düşen yağmur damlları ya da kondense olan su damlları toz zerrecikleri toplayarak yaprak üzerinde hareketin etkisi ile nilüfer yaprağının yüzeyini temizlerler. Bu yaprakların süperhidrofobik özellik göstermesinin nedeni hava paketçiklerinin varlığıdır.



Şekil 3.6: Nilüfer yaprağı Su örümceği ve Kelebek kanadı fotoğrafları ve SEM görüntüleri.

Nilüfer yaprağı kendi doğası gereği mikro boyuttaki pürüzlülükler üzerinde nano pürüzlülükler bulunan hiyerarşik pürüzlülüğe sahiptir [Patankar, 2004], [Bhushan and Jung, 2006], [Koch et al., 2008], [Koch et al., 2009] ve bu sayede süperhidrofob özellik yani kendi kendini temizleme özelliği gösterir. Nilüfer yaprağının bu kendi kendini temizleme etkisi Lotus etkisi olarak tanımlanır

[Neinhuis and Barthlott, 1997]. Hiyerarşik yapılar yüzeyde hava paketçiği oluşumunu sağlar, hava paketçiği oluşumu da su damlasının yüzey üzerinde minimum temas alanına sahip olmasına neden olur. Şekil 3.7 de düz, nano yapı, mikro yapı ve hiyerarşik yapı yüzeylere dair şematik gösterim yer almaktadır [Bhushan et al., 2009]. Şekildende görüldüğü gibi hiyerarşik yapı yüzeylerde yüzey alanı daha büyük olduğundan daha fazla hava paketciğini yer alması yüzeyin su iticiliğini artırır.



Şekil 3.7. Farklı 4 yüzey pürüzlülüğüne sahip yüzeylerin ıslanabilirliğinin şematik gösterimi.

3.4.3. Yapay Süperhidrofobik Yüzeyler

Nilüfer yaprağı ve doğada yer alan diğer süperhidrofobik yüzey özellik gösteren bitki ve canlıların yüzey özelliklerinin 1990'lı yıllarda belirlenmesi süperhidrofobik yüzeylerin yapay olarak üretiminde araştırmacılara öncülük etmiştir. Nilüfer yaprağına benzer (hiyerarşik yapı) morfolojilere sahip süperhidrofobik yüzeyler, litografi, baskı tabanlı (template-based), plazma uygulamaları, kimyasal biriktirme, tabaka olarak birikme ve koloidal birleşme gibi tekniklerle sentezlenmiştir. Ancak bu tekniklerin uygulama yöntemleri ve kullanılan materyaller oldukça pahalı olması nedeniyle küçük alanlara uygulanmaktadır. Halbuki faz segregasyonu, elektrospining ve püskürtme ile kaplama teknikleri ile hem daha ucuz hem de daha büyük alanların kaplanması olanaklı olması, süperhidrofobik yüzeylerin sentezinde bu yöntemlerin kullanımını avantajlı hale getirmektedir. Örneğin faz segregasyonu yöntemiyle Erbil ve arkadaşları ucuz bir polimer olan propilenden kötü çözücü kullanımı ile propilen yüzeyindeki hava paketçikleri miktarını artırarak süperhidrofobik yüzey sentezini gerçekleştirmişlerdir [Erbil et al., 2003]. Faz segregasyonu (ayrımı) tekniği ile süperhidrofobik yüzey sentezinde amaç

polimer çözünürlüğünün en az olduğu limit noktada (bulanma noktası öncesinde) kaplama yapmaktır. Faz ayrımı yöntemi kullanılarak, çözücü uzaklaştırılması [Xie, 2004], çözeltiye kötü-çözücü ilavesi [Erbil et al., 2003], [Lu et al. 2005], [Yabu and Shimomuro, 2005], [Vogelaar et al., 2006], [Wei et al., 2010], [Cengiz et al., 2012] ve elektrospining [Cengiz et al., 2012] teknikleri ile değişik araştırmacılar tarafından süperhidrofob yüzeyler elde edilmiştir.

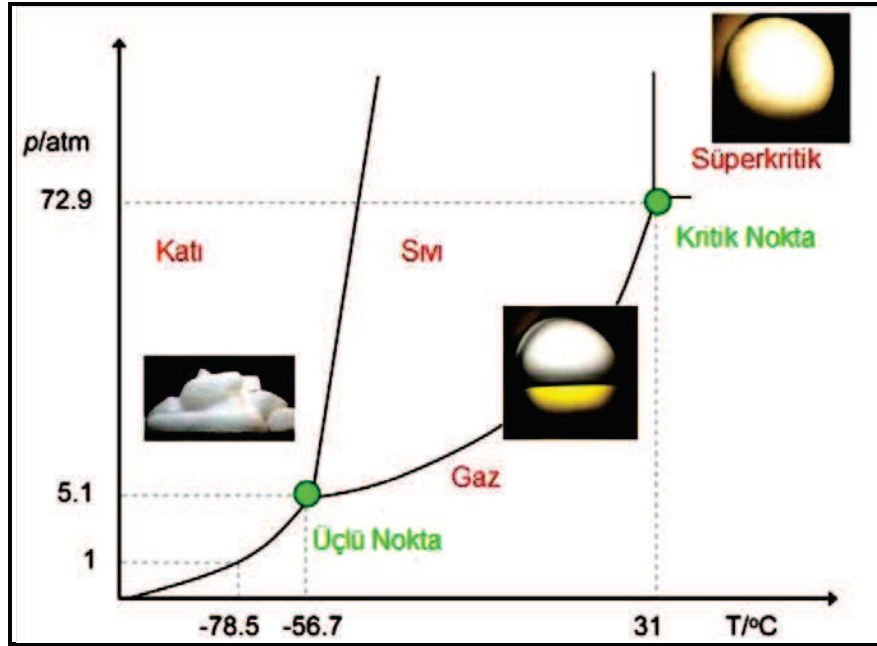
4. FLORLU KOPOLİMER SENTEZİ

Florlu polimerler sulu polimerizasyon sistemleri (emülsiyon yada süspansiyon polimerizasyon), solvent bazlı polimerizasyon sistemlerinde (Freon-113) yada solvent/su bazlı hibrit polimerizasyon sistemlerinde sentezlenebilirler [Quintero-Ortega et al., 2007]. Bu sistemler fazla miktarda su kullanımı, kloroflorokarbon (CFC) gibi toksisitesinden dolayı kullanımı kısıtlanmış ya da floro-surfactantların kullanımı gibi dezavantajlara sahip olmaları nedeniyle çevre ile dost yeni teknolojiler geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Ancak flor bazlı polimerler süperkritik karbondioksit (Sk-CO₂) ortamında kolayca çözündüklerinden [Desimone and Guan, 1992], [Kendall et al., 1999] bilim adamları tarafından kloroflorokarbon yerine Sk-CO₂ kullanımı önem kazanmıştır. Uçucu organik çözücü (UOÇ) yerine polimerizasyon ortamında çözücü olarak CO₂'in kullanılması, CO₂'in kolay bulunması, ucuz olması ve çevre ile uyumlu özelliklerinden dolayı oldukça iyi bir alternatif çözücü olma özelliği sağlar. Ayrıca geleneksel çözücüler kullanılarak yapılan polimerizasyonlarda yüksek viskozite ortamı, çözücünden kaynaklı zincir transferi ve ilave saflaştırma gereksiniminden kaynaklı problemlerden dolayı CO₂ kullanımı geleneksel çözücülere göre avantajlıdır [Scholsky, 1993], [Canales and DeSimone, 1997], [Wells and DeSimone, 2001].

4.1. Polimerizasyon Ortamı Olarak CO₂ kullanımı

CO₂ normal şartlar altında renksiz ve kokusuz bir gazdır. CO₂ gazı basınç altında ve -56.7°C ile 31°C arasında sıvı hale dönüşürken, düşük sıcaklıkta ve yüksek basınçta katı hale dönüşür. 31°C'nin ve 72.9 bar'ın üzerinde CO₂ gazı süperkritik akışkan haline dönüşür ve süperkritik karbondioksit (Sk-CO₂) adını alır (Şekil 4.1). CO₂ süperkritik şartlar altında gaz gibi difüze olma ve sıvı gibi çözme özelliğine sahiptir. Süperkritik CO₂'in çözücü gücü yoğunluğunun bir fonksiyonu olarak tanımlanabilir. Sistemin sıcaklığının ve basıncının kontrolü ile süperkritik CO₂'in çözebilme gücü kontrol edilebilir [Dean, 1993], [Kemere and Meyer, 2005], [Ahmed et al., 2009]. CO₂'in yoğunluğu düşük sıcaklık ve basınç değişimlerinden oldukça fazla etkilenir. CO₂ ortamında polimerizasyonlarda CO₂ genellikle monomerler için solventken, polimerler için non-solvent özelliğini gösterir ve

böylece geleneksel yöntemlerde olduğu gibi solventin uzaklaştırılması için ekstra bir işlem yapılması gerekmeden ürünün direkt kullanılabilme avantajı sağlar.



Şekil 4.1: CO₂'in faz değişim grafiği.

Polimerizasyon ortamı olarak CO₂ kullanıldığında, sıcaklık ve basınçtaki değişime bağlı olarak monomer ve monomer+polimerin CO₂ içindeki çözünürlüklerine bağlı olarak polimerizasyon ortamı homojen ya da heterojen olabilir. Homojen polimerizasyonda monomer, başlatıcı, oligomer ve nihai ürün polimer, polimerizasyon sıcaklığı ve basıncında CO₂ içerisinde çözünürken, heterojen polimerizasyonda ortamda bulunan giren veya ürünlerden en az biri CO₂ içerisinde çözünmeyerek ayrı bir faz vermektedir. Sadece amorf ya da düşük erime noktasına sahip floropolimerler ve siloksanlar CO₂-seven polimerler olarak adlandırılır ve orta sıcaklık-basınçlarda ($T < 100^{\circ}\text{C}$ ve $P < 400$ bar) sk-CO₂ içerisinde çözünürlük gösterirler ve homojen polimerizasyon ile sentezlenebilirler [DeSimone and Guan, 1992], [Desimone et al., 1994], [Desimone et al., 2003]. Bununla birlikte bu iki sınıf polimer dışındaki birçok polimer CO₂-sevmeyen polimer olarak adlandırılır ve normal sıcaklık ve basınç aralıklarında sk-CO₂ ortamında çözünmezler ve çökelme, dispersiyon, emülsiyon ya da süspansiyon polimerizasyonları gibi heterojen polimerizasyon yöntemleri ile polimerleştirilebilirler [Beckman, 2004], [Ahmed et al., 2009]. Örneğin polimetil metakrilatın (PMMA) karbondioksit içinde çözünmesi için 105 g/mol PMMA için 100°C ve 2000 bar basınç gereklidir

[Rindfleisch et al., 1996], [Kendall et al., 1999] ve bu şartlar polimer endüstrisi için hem pratik değildir hemde pahalıdır. Ancak MMA'nın CO₂ ortamında homojen polimerizasyonunun pratik olmamasının ve maliyetli olmasına karşın, poli(dihidro perfloro oktil akrilat) [p(FOA)] gibi flor içeren stabilizatör kullanımıyla heterojen dispersiyon polimerizasyonu ile 65°C ve 204 bar da PMMA sentezi gerçekleştirilmiştir [Desimone et al., 1994]. Ayrıca Desimone ve Guan yüksek molekül ağırlıklı (270.000 g/mol) p(FOA) homopolimerini sk-CO₂ ortamında homojen serbest radikal polimerizasyonu ile 207 atm ve 59.4°C'da % 65 verimle sentezlemişlerdir [Desimone and Guan, 1992]. Ayrıca metil metakrilat (MMA), butil akrilat, stiren ve etilen gibi monomerler ile FOA'nın CO₂ ortamında homojen polimerizasyon ile Desimone and Guan tarafından polimerleştirilebildiği belirlenmiştir [DeSimone and Guan, 1992], [Scholsky, 1993]. Mawson ve arkadaşları, perfloro alkil akrilat (Zonyl-TAN) monomerini 20.7 MPa ve 59.4°C sıcaklıkta sk-CO₂ ortamında homojen olarak sentezlemişlerdir ve sentezlenen p(Zonyl TAN) polimerinin camsı geçiş sıcaklığı ($T_g = -23^{\circ}\text{C}$) ve erime noktasını 88°C olarak belirlemişlerdir[Mawson et al., 1995]. Literatürde CO₂ ortamında homojen polimerizasyon ile flor içeren monomerlerin kullanılması ile ortalama reaksiyon şartlarında sentezlenen birçok kopolimerizasyon ve homopolimerizasyon çalışması yer almaktadır [Hu et al., 2002], [Hwang et al., 2004], [Shin et al., 2006], [Kim et al., 2007], [Shin et al., 2007], [Liu et al., 2008], [Shin et al., 2008]. Bu çalışmalardan çıkan ortak sonuç CO₂-seven monomerlerin kullanımı (Ör: florlu ya da siloksanlı) polimerizasyon ortamının homojen kalmasında, polimerin fiziksel özelliklerinde etkilidir. Ancak molekül CO₂ ortamında heterojen polimerizasyon uygulama alanının genişliği açısından homojen polimerizasyondan üstünlüğe sahiptir ve literatürde geniş bir yer kaplamaktadır.

4.1.1. Heterojen Polimerizasyon

CO₂'in yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerin birçoğunu çözebilmesi için yüksek basınç ve sıcaklığa ihtiyaç vardır. Bu yüzden CO₂ birçok polimeri çözmek için zayıf bir solventtir. Geleneksel polimerlerin sadece sınırlı bir kısmı 500-600 bar'ın altında belli bir konsantasyonda (1-5 wt %) Sk-CO₂ içinde çözünür. Bunlar polisiloksanlar, perfloroalkanlar, perfloroeterler ve bazı polikarbonatlardır

[Timmerman and Greyson, 1962], [Herman, 1989], [Caprani, 1995]. Bu nedenle Sk- CO_2 içinde polimerizasyon reaksiyonlarının çoğu heterojen polimerizasyon şeklinde gerçekleşir. CO_2 'e karşı afinite gösteren polimerler CO_2 -filik (CO_2 -seven) olarak adlandırılır [Maury et al., 1993]. Lipofilik ve hidrofilik polimerler CO_2 içinde çözünmeme eğilimindedir ve bu polimerler CO_2 -fobik (CO_2 -sevmeyen) olarak ifade edilir. Bununla birlikte, sıvı ya da sk- CO_2 içinde CO_2 -soluble hidrofilik ve lipofilik monomerlerin heterojen polimerizasyonları başarılı olarak yapılmıştır [Shaffer et al., 1996]. Sıvı ve sk- CO_2 içinde ilk olarak 1968 de Sumitoma Chemical Company tarafından vinil monomerinin heterojen polimerizasyonu rapor edilmiş ve patent almıştır. Diğer patent alanlar ise, metilmetakrilatın polimerizasyonunu oluşturmuş ve precipitation polimerizasyonla polimer ve kopolimerler üretmişlerdir [Hay, 1999]

CO_2 ortamında heterojen polimerizasyon sırasında herhangi bir anda, CO_2 dışında bir veya daha fazla faz oluşur ve bu nedenle homojen polimerizasyona göre daha kompleks yapıya sahiptir. Heterojen polimerizasyon çökeltme, dispersiyon, süspansiyon ve emülsiyon polimerizasyonları olmak üzere dört farklı polimerizasyon prosesi ile gerçekleştirilir. CO_2 ortamında en sık kullanılan polimerizasyon tipleri, çökeltme ve dispersiyon polimerizasyonlarıdır [DeSimone et al., 1994], [Cooper, 2000], [Ye and DeSimone, 2005], [Renault et al., 2008], [Ahmed et al., 2009], [Zetterlund et al., 2009]. Ayrıca son zamanlarda CO_2 -genişletilmiş sıvı faz polimerizasyonu ve kontrollü/yaşayan heterojen radikal polimerizasyon teknikleri ile CO_2 ortamında polimer sentezi gerçekleştirilerek düşük basınç ve sıcaklıklarda heterojen polimerizasyon olanaklı hale gelmektedir [Guo et al., 2006], [Zwolak et al., 2005], [Wang et al., 2008], [Zwolak and Lucien, 2008], [Zetterlund et al., 2009], [Pu et al., 2010], [Cengiz et al., 2011], [Cengiz et al., 2013].

4.1.1.1. Sk- CO_2 İçerisinde Çökeltme Polimerizasyonu

Çökeltme polimerizasyonu, monomer ve başlatıcının polimerizasyon başlangıcında polimerizasyon çözücüsü içinde çözündüğü ve polimerizasyon ilerledikçe oluşan oligomer ve daha da ilerlemesi ile polimer zincirlerinin oluşumu ile molekül ağırlığının artması sonucunda, polimerin çözücü içerisindeki çözünürlüğünün doygunluk seviyesine gelmesi sırasında çökmesi ve sonlanması ile gerçekleşen bir heterojen polimerizasyon çeşididir. Sk- CO_2 , çökeltme

polimerizasyonlarında çözücü ortam olarak diğer organik solventlere alternatif olarak kullanılır ancak Sk-CO₂ içerisinde çökeltme polimerizasyonunda zaman ilerledikçe polimer zincirlerinin büyümesi ile artan molekül ağırlığına bağlı olarak polimer zincirleri çökelmeye başlar. Bu bir sonlanma değil, zincir büyümesi sonucu CO₂ içinde çözünürlük sınırını aşma ile alakalıdır. Polimerizasyon çökeltme sonrası alt fazda devam edebilir veya sonlanabilir [Kendall et al., 1999], [Cooper, 2000] [Zetterlund et al., 2009], [Kennedy et al., 2009], [Cengiz et al., 2013]. Çökeltme polimerizasyonunun en önemli avantajı CO₂ dışarı alınıp, ortam basıncı 0,1 MPa düşürülünce, kuru saf polimer çökerek reaktör dibinde kalmasıdır [Cooper, 2000].

CO₂ ortamında çökeltme polimerizasyonu ile yaygın olarak serbest radikal yada kationik zincir büyümesi reaksiyon mekanizmaları kullanılarak birçok polimer sentezlenmiştir [Cooper, 2000]. Çökeltme polimerizasyonu CO₂ ortamında polimerizasyonda en önemli avantajlardan birisi reaktör içerisindeki basıncın boşaltılması sonrasında polimerin solvent içermemesi ve kuru olarak direkt kullanılabilmesidir. Serbest radikal çökeltme polimerizasyonunda vinil monomerlerinin CO₂ ortamında çökeltme polimerizasyonu ile polimerleştirilmesi endüstriyel açıdan önemli olması nedeni ile birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir [Romack and DeSimone, 1995], [Kennedy et al., 2005], [Kwon et al., 2008], [Zetterlund et al., 2009]. Romack ve DeSimone, sk-CO₂ ortamında akrilik asit monomerinden çökeltme polimerizasyonu ile polimerizasyon basıncını 12.5-34.5 MPa arası değiştirilerek yüksek molekül ağırlıklı ($M_n=150$ kg/mol) poli(akrilik asit) polimerini sentezlemişlerdir [Romack and DeSimone, 1995]. Aynı zamanda, poli(akrilik asit) polimerinin molekül ağırlıklarının zincir transfer ajanı kontrolü ile sistematik olarak incelemişler ve zincir transfer ajanı konsantrasyonu arttıkça polimer molekül ağırlıklarının 2.9-153 kg/mol arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Kwon ve arkadaşları, 2-Metilen-1,3-dioksapen (MDOP) ve N-vinil-2-Pirrolidon (NVP) monomer ile sk-CO₂ ortamında serbest radikal polimerizasyon mekanizması ile poli(MDOP) ve MDOP ile NVP nin kopolimerlerini sentezlenmişlerdir [Kwon et al., 2008]. Kopolimerdeki NVP oranı arttıkça dönüşümün arttığı ve besleme olarak sadece NVP beslendiğinde dönüşümün % 100 olduğunu rapor etmişlerdir.

4.1.1.2. CO₂-Genişlemiş Monomer Fazında Polimerizasyon

Çevre ile uyumlu çözücüler kapsamında yer alan CO₂-genişletilmiş sıvı, sk-CO₂'in özelliklerini ve organik çözücünün çözme gücünü bir arada taşır ve bu nedenle etkin bir çözelti karışımıdır. CO₂-genişlemiş organik çözücü fazı 1989 yılından itibaren bilinen bir çözücü karışımı olmasına karşın [Gallagher et al., 1989], ilk defa deneysel olarak etanol, asetonitril, etil asetat ve toluen organik çözücülerini ile CO₂-organik çözücü faz modellemesinin yapılması [Badilla et al., 2000] ve mikro ve nano partikül oluşumunda potansiyel bir uygulama alanı olarak kullanılmasına [Eckert et al., 2000] başlanmıştır. Polimerizasyon ortamı olarak CO₂-genişletilmiş sıvı fazın kullanılması ise bir organik çözücü ile birlikte ilk defa 2001 yılında stiren monomeri polimerizasyonu ile başlamıştır [Liu et al., 2001]. 2006 yılında ise CO₂ ortamında ikinci bir çözücü olmadan ilk defa sadece CO₂-genişletilmiş monomer fazında polimerizasyon yapılmıştır [Zwolak et al., 2006].

Liu ve arkadaşları, organik çözücü olarak THF ve sikloheksan kullanarak stireni CO₂-genişletilmiş organik çözücü içerisinde polimerleştirmişlerdir ve polimerizasyon veriminin ve molekül ağırlığının artan basınç ile düştüğü rapor etmişlerdir [Liu et al., 2001]. Liu ve arkadaşları, ayrıca 2003 yılında organik çözücü olarak kloroform, etilasetat ve iso-amil asetat çözücülerini kullanarak, MMA monomerinin CO₂-genişletilmiş organik çözücü içerisinde polimerleştirmişlerdir [Liu et al., 2003]. PS'nin CO₂-genişletilmiş organik çözücü içerisindeki polimerizasyona benzer olarak PMMA polimerizasyonunda da basınç artışı ile polimer verim ve molekül ağırlığının düştüğünü rapor etmişlerdir [Liu et al., 2001; Liu et al., 2003]. Xu ve arkadaşları, MMA monomerini CO₂-genişletilmiş THF fazında çökeltme polimerizasyonu ile 62°C reaksiyon sıcaklığı ve 8.5 MPa reaksiyon basıncında PMMA polimerini sentezlemişlerdir. PMMA polimerizasyonunda polimer molekül ağırlıkları hacim genişlemesi ile önce düşerken, hacim genişleme sabiti 2'yi geçtikten sonra molekül ağırlığının arttığı rapor edilmiştir [Xu et al., 2003]. Molekül ağırlığındaki bu değişim nedeni olarak sıvı faz içerisine CO₂ basılması ile hacim genişlemesi sonucu sıvı faz içerisindeki monomer konsantrasyonu azalmakta ve dolayısıyla polimer molekül ağırlıkları azalmaktadır. Ayrıca hacim genişlemesinin artması ile radikal halindeki oligomerik zincirlerin çökmesi sonucunda, polimerizasyon ortamı çözelti ortamı yerine polimer fazı olacaktır. Polimerizasyon

polimer fazında devam ettiği ve hacim genişlemesi arttıkça polimer molekül ağırlıkları arttığı rapor edilmiştir [Xu et al., 2003].

Zwolak ve arkadaşları, MMA monomerini CO₂-genişlemiş monomer fazında sentezlemişlerdir[Zwolak et al., 2006]. Bu çalışmada ikinci bir organik çözücü kullanılmadan monomer fazının genişlemesi ile oluşan faz içerisinde polimerizasyon yapılmıştır. Polimerizasyon sıcaklığı 50°C sabit tutulup, polimerizasyon basıncı 0.1-6 MPa arasında değiştirilerek PMMA polimerinin molekül ağırlığının arttığı rapor edilmiştir [Zwolak, 2005]. Zwolak ve arkadaşları bu çalışmayı 2006 yılında BA ve St monomerleri ile tekrarlamışlar ve her iki çalışma sonuçlarının da bir uyum içinde olduğunu, basınç arttıkça PBA ve PS homopolimerlerinin molekül ağırlıklarının arttığını rapor etmişlerdir [Zwolak et al., 2006]. Zwolak ve arkadaşlarının çalışmalarına benzer şekilde Cengiz ve arkadaşları [Cengiz et al., 2013], perfloroalkiletil metakrilat monomeri (Zonyl-TM) ile MMA monomerinden 10-13 MPa'lık düşük basınç aralığında 80°C reaksiyon sıcaklığında CO₂-genişlemiş monomer fazında sentezlemişlerdir. Monomer başına düşen CO₂ miktarının (Zonyl-TM)-MMA kopolimerinin molekül ağırlığını nasıl değiştirdiğini incelemişler ve monomer başına düşen CO₂ miktarının artması ile ve kopolimerdeki Zonyl-TM monomer oranının azalması ile kopolimer molekül ağırlığının arttığını belirlemişlerdir.

5. POLİMERİK BİYOMALZEMELER ve BİYOUYUMLULUK

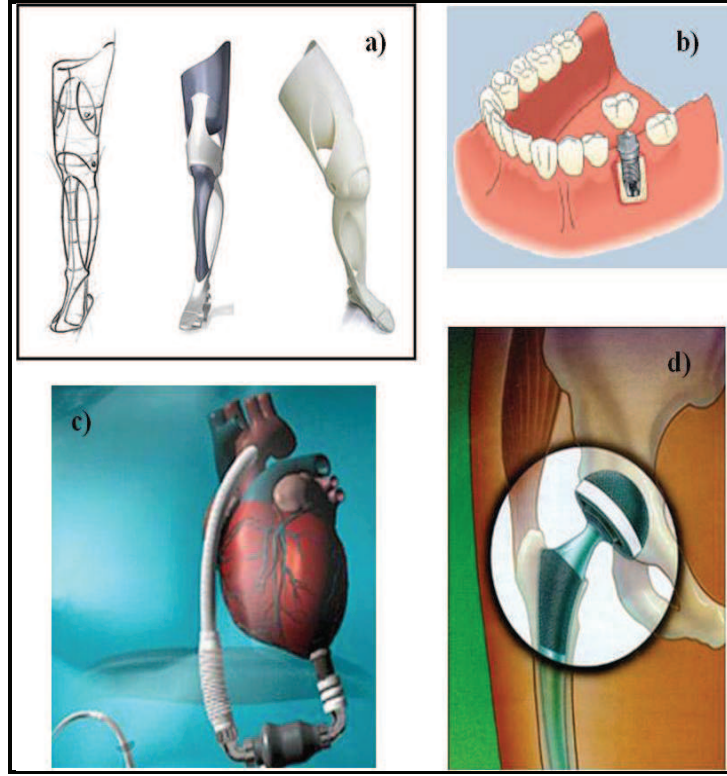
Yaşayan sisteme yerleştirilmek (implantasyon) ve organ/dokuların işlevlerini kısmen veya tümünden üstlenmek üzere tasarlanan materyallere biyomateryal adı verilir. Bu malzemelerin; biyolojik yönden uyumlu olması, toksik ve karsinojenik olmaması, kimyasal açıdan inert ve stabil olması, yeterli mekanik kuvvete sahip olması, yoğun bir yaşama uyum gösterebilmesi, uygun ağırlık ve dansitede olması, büyük miktarlarda işlenebilme ve fabrikasyon kolaylığı göstermesi, ekonomik olması biyomateryal olarak kullanım için istenen temel özelliklerdir. Ayrıca biyomalzemelerin; fiziksel, kimyasal, mekanik, termal özelliklerinin iyi bilinmesi ve doku ile allerjik, toksik, karsinojenik reaksiyon vermemesi istenen diğer özelliklerdir [Sugarmann et al., 1984], [Gristina et al., 1985].

Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek ya da desteklemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemelerdir. Sürekli olarak veya belirli aralıklarla vücut akışkanlarıyla (örneğin kan, hücrelerarası matris) ile temas ederler. Biyomalzemelerin işlevsel olarak kullanılıp-kullanılmaması, biyomalzemenin vücut akışkanına verdiği yanıtla belirlenir [Robert et al., 2003]. Biyomalzemenin canlı sisteme yerleştirilmesinden oldukça kısa bir süre sonra biyomalzeme üzerine protein tabakası kaplanır ve saniyelerle dakikalar arasında olan bu süreçte, yüzeyin hemen hemen tamamında, tek tabaka olarak protein adsorblanmıştır. Kanda mevcut hücreler yüzeye yaklaşmadan önce çoktan bu süreç tamamlanır. Hücreler, biyomalzeme yüzeyi ile değil, tek tabakada protein ile karşılaşır ve protein adsorbsiyonundan sonra, hücreler implant yüzeyine, difüzyon, taşınım ya da aktif mekanizmalarla ulaşırlar. Hücreler yüzeyde tutunabilir, başka hücrelerin gelmesi ve gelişimini sağlayabilir. Bütün bu basamaklar, yüzeydeki proteine cevaptır.

Biyouyumlu olan malzemeler, biyomalzeme olarak adlandırılır ve uygulama sırasında biyomalzemenin vücut sistemine uygun cevap verebilme yeteneği biyoyumluluk olarak tanımlanır. Biyoyumluluk, bir biyomalzemenin en önemli özelliğidir. Biyoyumlu, yani ‘vücutla uyuşabilir’ bir biyomalzeme, kendisini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı oluşumu, vb) meydana getirmeyen malzemedir [Banerjee et al., 1997]. Biyomalzemenin yapısal ve yüzey uyumluluğunda biyoyumluluk

açısından değerlendirilmesi gereken diğer parametrelerdir. Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıyken, yapısal uyumluluk, malzemenin vücut dokularının mekanik davranışına sağladığı optimum uyumdur [Ramakrishna et al., 2001].

Biyomalzemeler metaller, seramikler, polimerler ve kompozit malzemeler olarak gruplandırılabilir [Wong and Bronzino, 2007]. Alüminyum oksit, biyoaktif cam, karbon ve hidroksiapatit (HA) biyoyumlu seramik malzemelere örnek olarak verilebilir. Biyomalzeme olarak kullanılan metaller ve alaşımlar ise, altın, tantal, paslanmaz çelik ve titanyum alaşımları olabilir. Ayrıca polietilen (PE), poliüretan (PU), politetrafluoroetilen (PTFE), poliasetal (PA), polimetilmetakrilat (PMMA), polietilenteraftalat (PET), silikon kauçuk (SR), polisülfon (PS), polilaktik asit (PLA) ve poliglikolik asit (PGA) gibi çok sayıda polimer, tıbbi uygulamalarda kullanılmaktadır. Polimerler, çok değişik bileşimlerde ve şekillerde (lif, film, jel, boncuk, nanopartikül) hazırlanabilmeleri nedeniyle biyomalzeme olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir. Ne var ki, bazı uygulamalar için-örneğin, ortopedik alanda-mekanik dayanımları zayıf olması ve sıvıları yapısına alarak şişebilmeleri ya da istenmeyen zehirli ürünler (monomerler, antioksidanlar gibi) salgılayabilmeleri gibi nedenlerle kullanımları sınırlanabilmektedir. Polimer biyomalzemelerin yanı sıra metal biyomalzemelerde, sağlamlıkları, şekillendirilebilir olmaları ve yıpranmaya karşı dirençli olmaları nedeniyle biyomalzeme olarak kullanılmaktadır. Metallerde biyomalzeme olarak kullanımda sınırlayıcı etkenler ise biyoyumluluklarının düşük olması, korozyona uğrayabilmeleri, dokulara göre çok sert olmaları, yüksek yoğunlukları ve alerjik doku reaksiyonlarına neden olabilecek metal iyonu salımı yapabilmeleridir. Seramikler, biyoyumlulukları son derece yüksek olan ve korozyona dayanıklı malzemelerdir. Fakat bu avantajlarının yanı sıra, kırılğan, işlenmesi zor, düşük mekanik dayanıma sahip, esnek olmayan ve yüksek yoğunluğa sahip malzemeler olmalarından dolayı dezavantajlara sahiptirler. Homojen özellik gösteren ve kullanım açısından dezavantajlara sahip olan tüm bu malzeme gruplarının dezavantajlı yanlarını ortadan kaldırabilmek için alternatif olarak kompozit malzemeler geliştirilmektedir. Şekil 5.1'de vücut içinde kullanılan biyomalzemelere örnek görseller yer almaktadır [Web 4, 2013].



Şekil 5.1: Vücut içinde kullanılan biyomalzemelere örnek görseller a) bacak eklemi b) diş implantı, c) yapay kalp ve damar, d) kalça protezi.

Polimerden yapılmış olan implantların metal ve seramiklere göre avantaj ve dezavantajları Tablo 5.1’de özetlenmiştir [Park, 1979].

Tablo 5.1: Polimerden yapılmış olan implantların metal ve seramiklere göre avantaj ve dezavantajları.

AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
• Kullanıma uygun olarak değişik formlarda kolaylıkla hazırlanabilirler. • Metallerle karşılaştırıldığında, vücut içinde paslanmazlar. • Doğal dokulara çok büyük benzerlik gösterdiklerinden dolayı, heparin gibi maddelerle bağlanabilmeleri mümkündür. • Adheziv özellikte polimerlerin kullanımı organlara dikiş atılmadan uygulanabilmelerini sağlar. • Dansiteleri doğal dokuların dansitesine çok yakındır.	• Elastiklik ve viskoelastiklik özellikleri polimerlerin yaygın kullanımını zorlaştırır. • Polimerizasyonun doğası nedeniyle polimerlerin vücutta parçalanabilmeleri söz konusu olabilir. • Antioksidan, renk giderici, plastizer gibi katkı maddelerini içermeyen saf, medikal amaçlı polimer bulabilmek zordur.

Polimerler genellikle biyouumlu olduklarından spesifik uygulamalar için uygun olup-olmadıkları araştırılır. Örneğin bir kontak lens kornea yüzeyinden veya gözyaşından protein adsorblamamalıdır. Ancak bir kemik sabitleştirici materyal için bu durum tam terstir. Çünkü doku ile temasın olabilmesi için iyi bir etkileşim gerekmektedir. Polimerlerin biyolojik uyumu büyük ölçüde polimer yüzeyinde adsorblanmış proteinlerle, dokudaki hücrelerin yüzeyindeki reseptörler arasındaki spesifik ilişkiyle açıklanır. Bir diğer önemli konu, materyalin porozitesi ve yapısı, implant materyali ile dokular arasındaki mekanik stress dağılımıdır. Biyoyumluluğu artırma çabaları; seçicilik azaltma ve artırma da yoğunlaşmıştır. Örneğin, hücre-yüzey ilişkileri protein adsorbsiyonundaki azalmayla veya protein adsorbsiyonundaki seçicilikle sınırlandırılarak polimerlerin biyoyumlulukları değerlendirilir [Hubbel, 1994], [Ikada, 1994].

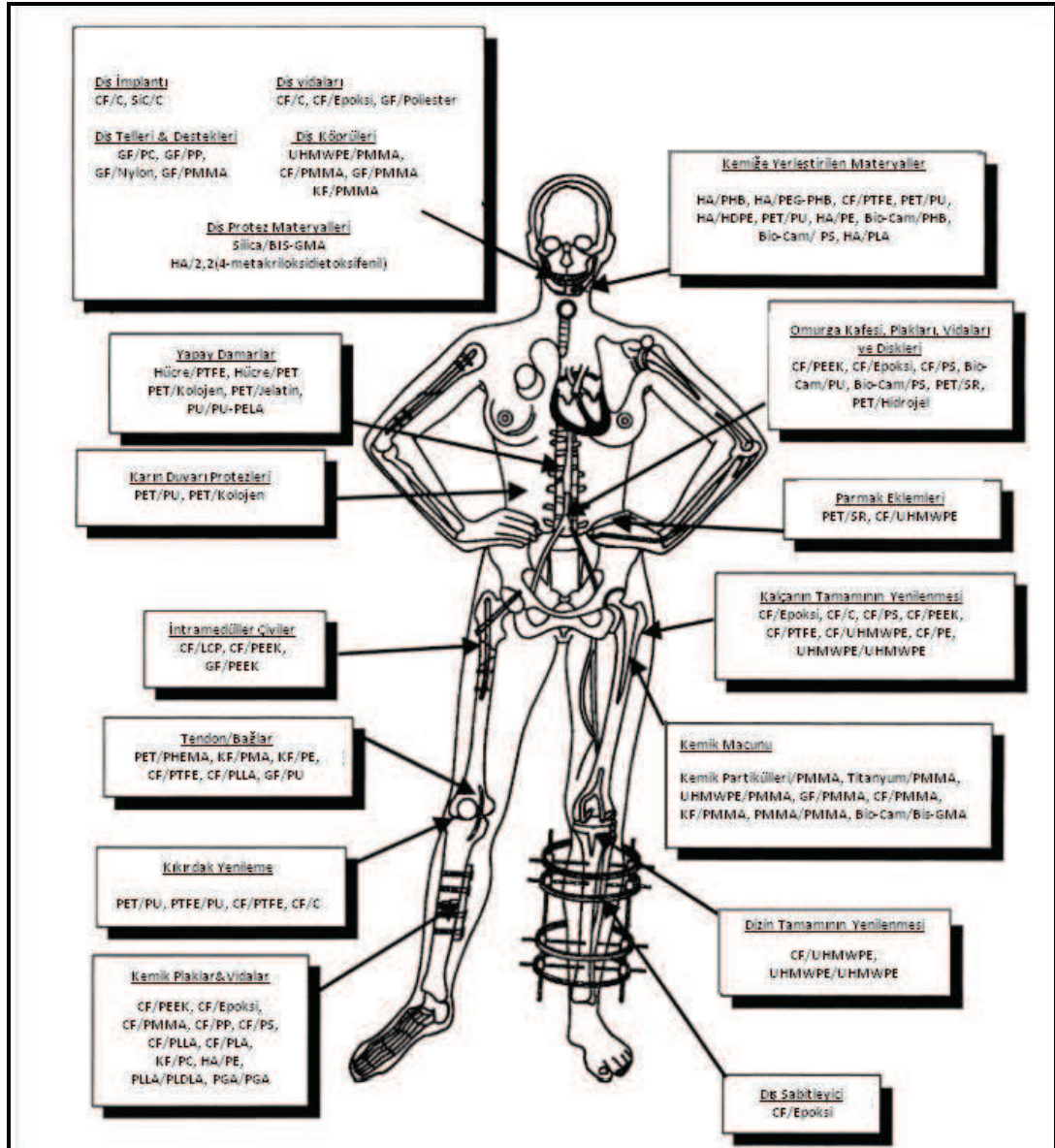
5.1. Polimerik Biyomalzemelerin Sınıflandırılması

Polimerlerin özellikleri, yapı taşları olan monomerlerden büyük farklılık gösterir. Bu nedenle, uygulama alanına yönelik olarak uygun biyomalzeme seçimi, biyotıp mühendisliği tarafından dikkatli olarak yapılmalıdır. Polimerik biyomalzemeler doğal ve yapay (sentetik) olmak üzere 2 ana grupta incelenebilir. Doğal polimerler, biyolojik olarak üretilen ve benzersiz işlevsel özelliklere sahip olan polimerlerdir. Proteinler (örneğin kollajen, jelatin, elastin, aktin, vb), polisakkaritler (selüloz, nişasta, dekstran, kitin, vb) ve Polinükleotidler (DNA ve RNA) başlıca doğal polimerlerdir. Yaşayan organizmaların karmaşık yapılarından dolayı üretim maliyetleri yüksek ve yeterince büyük ölçeklerde üretilmemeleri, karşılaşılan başlıca sorunlardandır. Doğal polimerler nanoteknolojide ve biyomimetik (doğayı taklit eden) malzemelerin sentezlenmesinde anahtar rolü oynamakta ve lipid tübüller (yağ borucukları) ve protein lateksler gibi biyopolimerik yapıların geliştirilmesi, doğal polimerlerle ilgili pazar şansını önemli oranda yükseltmektedir. Doğal polimerler özellikle spesifik uygulamalarda ihtiyaç duyulan boşlukları doldurmakta, ancak bazı sentetik polimerlerin çok ucuza üretilme şansı doğal polimerlerin kullanımından ziyada sentetik polimerlerin kullanımına olan ilginin artmasına neden olmaktadır. Doğal polimerler, biyolojik ortamdaki makromoleküllerin benzeri veya aynısı olduklarından, canlı vücuduyla temas

ettiklerinde zehir etkisi, iltihaplanma gibi istenmeyen reaksiyonlar vermezler. Ancak, elde edildikleri kaynağa bağlı olarak bileşimlerinin değişmesi, yüksek sıcaklıklarda bozunmaları ve bu nedenle şekillendirilmelerindeki güçlük ve tüm bunların ötesinde immünojenik olmaları (bağışıklık tepkisine yol açmaları) önemli dezavantajlarıdır. Enzim varlığında yapılarının bozunması, yani biyobozunur oluşlarıysa geçici uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler açısından avantajlıdır [Gristina et al., 1985] .

Günümüzde Polietilen (PE), Polipropilen (PP), Polivinilklorür (PVC), Poliester (PE), Poldimetilsiloksan (PDMS), Politetrafloroetilen (Teflon) ve Polimetilmetakrilat (PMMA) gibi çok sayıda yapay (sentetik) polimer de biyomateryal olarak kullanılır. PE sertliğinin iyi olması yağlara dirençli olması ve ucuz olması nedeniyle tüp formundaki uygulamalarda ve kateterlerde biyomalzeme olarak kullanılır. Ayrıca kalça protezlerinde sterilizasyon sıcaklığına dayanımı olmadığı için alçak yoğunluklu PE yerine yüksek yoğunluklu PE kullanılır. PP, PE'ye benzer ancak daha serttir. Kimyasal direnci ve çekme dayanımı yüksektir ve PE'nin kullanıldığı alanlarda PP de biyomalzeme olarak kullanılır. PVC tıbbi uygulamalarda tüp formunda kullanılır ve bu uygulamalar kan nakli, diyaliz gibi amaçlar içerebilir. PVC sert ve kırılabilir bir malzeme olmasına rağmen plastikleştirici ilavesi ile yumuşak ve esnek hale getirilebilir ancak plastikleştiricilerin düşükte olsa toksik etkisi bu modifikasyonu sınırlayıcı etki gösterir. PDMS drenaj borularında ve kateterlerde, bazı damar protezlerinde ve solunum cihazlarında kullanılır. Ayrıca mükemmel esneklik ve kararlılığından dolayı parmak eklemleri, kan damarları, kalp kapakçıkları, göğüs implantları, dış kulak, çene ve burun implantları gibi çok sayıda protezde de kullanılır. Teflon hem ısı hem de kimyasal açıdan kararlı ancak işlenmesi çok zor bir polimerdir. Hidrofobik yapısından dolayı kaygan bir yüzeye sahip olmasından dolayı damar protezlerinde sıklıkla kullanılır. PMMA, ışık geçirgenliği, sertliği ve kararlılığı nedeniyle göz içi lensler ve sert kontak lenslerdeki kullanımı yaygındır. Yukarıda kısaca kullanım alanları ve özellikleri belirtilen biyomalzeme olarak yaygın kullanılan polimerlerin dışında, polimer teknolojisinin gelişimi sayesinde polimer modifikasyonlar ile birçok sentetik polimerin biyomalzeme olarak kullanımı söz konusudur. Ayrıca polimer malzemelerin mukavemetinin ve kırılabilirlik gibi özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla polimerik kompozitlerin biyomateryal olarak kullanılmaktadır [Ramakrishna et al., 2001]. Şekil 5.2'de insan vücudunda hangi bölgelerde hangi kompozit malzemelerin

biyomalzeme olarak kullanımına dair örnekler yer almaktadır [Ramakrishna et al., 2001]. Şekil 5.2’de yer alan kısaltmalar şu şekildedir: CF: Karbon lifler; C: Karbon; GF: Cam lifler; KF: Kevlar lifler; PMMA: poli(metilmetakrilat); PS: polisülfon; PP: polipropilen; UHMWPE: Ultra-yüksek molekül ağırlıklı polietilen; PLDLA: poli(L-DL-laktid); PLLA: poli(L-laktik asit); PGA: poliglikolik asit; PC: polikarbonat; PEEK: polietereeterketon; HA: hidroksiapatit; PMA: polimetakrilat; BIS-GMA: bis-fenol A glisidil metakrilat; PU: poliüretan; PTFE: politetrafloroetilen; PET: polietilenteraftalat; PEA: polietilakrilat SR:silikon kauçuk; PELA: laktik asit-polietilen glikol blok kopolimeri; LCP: sıvı kristal polimer; PHB: poli(hidroksi bütirat); PEG: polietilen glikol; PHEMA: poli(hidroksi etil metakrilat).

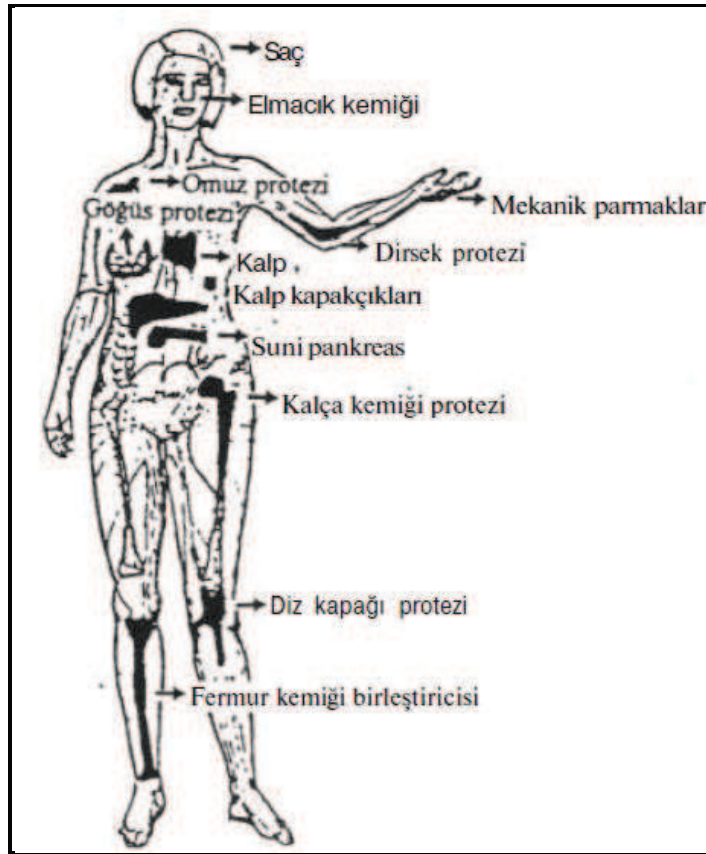


Şekil 5.2: Polimerik biyomateryallerin insan vücudundaki değişik uygulamaları.

5.2. Polimerik Biyomateriyallerin Kullanım Alanları

Polimerik biyomateriyaller; etken madde salım sistemlerinde, doku/hücre yenilenmesinde ve hücre transplantasyonu uygulamalarında ve ortopedik amaçlı olarak da tıp ve eczacılıkta yaygın şekilde kullanılırlar. Etken madde salım sistemi olarak; difüzyon kontrollü, şişme kontrollü, magnetik kontrollü sistemlerde kullanılabilmekte ve istenen salım şekline polilaktik asit (PLA), silikon, selüloz türevleri, etilenvinilasetat-kopolimeri (EVA), polimetilmetakrilat (PMMA) gibi polimerler kullanılabilmektedir [Chien, 1985], [Langer et al., 1990].

Doku/hücre yenilenmesi amacıyla da polimerik biyomateriyallerin kullanılması söz konusudur. Kıkırdak, kemik, periodontal doku, sinirlerin tamiri gibi çeşitli uygulama alanlarında polimerik biyomateriyaller kullanılır (Şekil 5.3).



Şekil 5.3: Vücuttaki bazı organ/dokuların yerini alan biyomateriyal implantlar.

Örneğin birçok doku tipinin temel madde ekstresi olan kollajen en yaygın kullanılan biyomalzemelerden birisidir ve kolojen kullanımı ile dokuların yeniden yapılabileceği vücut içinde yapılan biyolojik çalışmalarda gösterilmiştir. Doğal bir

biyomateryal olan kollajen, kemik ve diş yapısında bulunmaktadır [Park, 1979], [Maruoka et al., 1994]. Ortopedik doku ve onun yerini alacak olan polimerik biyomalzemeler; eklem protezleri, küçük veya büyük protez birleştiricileri, kemikteki deformasyonu düzelten implantlar, kemiğin yerini alan biyomateryaller, suni lifler, kalp kapakçığı gibi implant sistemlerini kapsamaktadır.

Tıbbi uygulamalarda kullanılan biyomalzemeleri; sert doku yerine kullanılacak biyomalzemeler ve yumuşak doku yerine kullanılacak biyomalzemeler olarak iki grupta da toplanabilir. Ortopedik ve diş implantları, genelde birinci grup (sert doku yerine) kapsamına giren metal ve seramiklerden hazırlanırken, kalp-damar sistemi ve genel plastik cerrahi malzemeleri polimerlerden üretiliyor. Ancak, böyle bir gruplandırma her zaman geçerli değil. Örneğin, bir kalp kapakçığı polimer, metal ve karbondan hazırlanabilir; bir kalça protezi de metal ve polimerlerin kompozitlerinden oluşabilir. Tablo 5.2 de doğal ve sentetik biyomalzeme türlerinin uygulama alanları örneklenmiştir [Wong and Bronzino, 2007].

Tablo 5.2: Doğal ve sentetik biyomalzeme türlerinin uygulama alanlarına örnekler.

UYGULAMA ALANI	BİYOMALZEME TÜRÜ
İskelet Sistemi	
Eklemler	Titanyum, Titanyum-Aliminyum-Vanadyum Alaşımları.
Kemik Dolgu Maddesi	PMMA
Yapay Tendon ve Bağlar	Teflon, Poli (etilen teraftalat)
Diş implantları	Titanyum, Kalsiyum Fosfat
Kalp Damar Sistemleri	
Kan damarı protezleri	Poliüretan, Teflon, Poli (etilen teraftalat)
Kalp kapakçıkları	Paslanmaz çelik, Karbon
Kataterler	Poliüretan, Teflon, Silikon Kauçuk
Organlar	
Yapay Kalp	Poliüretan
Duyu Organları	
Göz içi lensler	PMMA, silikon kauçuk, Hidrojeller
Kontak lensler	Silikon-akrilat, hidrojeller

5.3. Polimerik Biyomateriyal-Biyouyumluluk İlişkisi

Yaşamda aldığı büyük yer nedeniyle biyomateriyallerin fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesinde yeni yaklaşımların ortaya konulması ve biyouyumluluklarının tesbitinde yeni metodların geliştirilmesi, tıp alanında yeni biyomateriyallerin kullanıma sunulması için son derece önemlidir. Ancak fizikokimyasal özelliklerin yanında istenen biyolojik özellikleri taşımayan biyomateriyalin başarısından söz etmek imkansızdır. Bir biyomateriyal veya implantın başarısı; implantın özelliği ve biyouyumluluğuna, implantı kullanacak kullanıcının durumuna ve uygulamayı yapan kişinin becerisine büyük ölçüde bağlıdır. Polimerin organizmaya uygulanışı doku-polimer etkileşmesini de beraberinde getirmektedir. Bu konuda birçok araştırma yapılmıştır [Park, 1979], [Langer and Peppas, 1981], [Ashar, 1987], [Hubbel, 1994], [Stevens, 2008]. Çalışmaların odak noktası ise istenmeyen doku etkileşimlerinin nasıl ortadan kaldırılıp en aza indirilebileceği olmuştur. Bu nedenle, kimyasal ve fiziksel yönden inert, ayrıca da biyouyumlu polimerlerin tasarlanması önemlidir. Kullanılan tüm polimerlerin sürekli parçalanma özellikleri konusunda bilgi eksikliği ve stabil bir polimerin az olması, gerçek bir dokunun yerini alacak polimerik bir sistemin tasarlanmasıyla ilgili ana kısıtlamadır. Kıkırdak, kemik, periodontal doku gibi birçok doku tipinin temel madde ekstraktlarının kollajen gibi doğal maddeler kullanılarak yeniden yapılabileceği in vivo olarak gösterilmiştir. Ancak doğal polimerlerin mekanik kuvvetlerinin yetersiz olması üretimlerini zorlaştırmaktadır. Bu sebeple gerçek bir dokunun yerini alacak polimerik bir sistemin tasarlanmasında özellikle polimer stabilitesinin sağlanması ve parçalanma problemlerinin ortadan kaldırılması gerekmektedir [Park, 1979], [Langer and Peppas, 1981]. Bu kısıtların ortadan kaldırılması için, biyomateriyalin biyouyumluluğunun belirlenmesi işleminde fizikokimyasal ve mekanik biyouyumluluk testleri birarada yapılmalıdır.

5.3.1. Fizikokimyasal ve Mekanik Biyouyumluluk Testleri

Biyomateriyallerin ve medikal sistemlerin özelliklerinin belirlenmesinde kütleli özellik testleri ve yüzey özellik testleri olmak üzere 2 farklı analiz yöntemi uygulanmaktadır. Biyomateriyallerin özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan

fizikokimyasal ve mekanik testler Tablo 5.3 de sınıflandırılmıştır [Ashar, 1987]. 1.grupta yer alan testler ön değerlendirme testleridir ve uygulaması oldukça basit testlerdir. 2.grupta ise daha gelişmiş testler yer alır ve birinci grup testlere göre daha spesifik sistemler için ihtiyaç duyulabilecek testlerdir.

Tablo 5.3: Biyomateriyallerin özelliklerini belirlemede kullanılan fizikokimyasal ve mekanik testler.

TEST GRUPLARI	KÜTLESEL ÖZELLİK TESTLERİ	YÜZEYSEL ÖZELLİK TESTLERİ
I	Dansite Sertlik IR spektrumu NMR spektrumu Polimerin tanınması Stress-strain ilişkisi	Değme açısı IR spektrumu Morfoloji (Işık mikroskobu)
II	Yarılma Elektriksel iletkenlik Elementel kompozisyon ve ekstre edilebilme Molekül ağırlığı dağılımı Morfoloji (SEM) Optik özellik Osilasyon Çözücü yanıtı Gerilme esnekliği Termal özellikler Açı genişliği X-Ray spektrum	Değme açısı Morfoloji Protein adsorpsiyonu Yüzey kimyasal bileşimi (XPS)

5.3.2. Biyolojik Biyouyumluluk Testleri

Medikal sistemlerin güncel kullanımında biyolojik performansı önceden belirlemede, kullanılabilecek in vitro (labaratuvar ya da yapay ortamdaki) ve in vivo (canlı ortamda ya da yaşayan koşullardaki) testler gerçekleştirilmektedir. Bu testlerin çoğu kullanılması düşünülen medikal ürünün herhangi bir potansiyel toksisite olasılığını belirlemek içindir. Yapılacak uygulama için testlerin uygun seçimi, anlamlı sonuçların bulunması ve gereksiz harcamalardan kaçınmak için önemlidir. Tablo 5.4'de uygulanabilir biyolojik test işlemleri ve sistem uygulamalarının esasları ve hangi sisteme hangi testlerin uygulanabileceği verilmiştir [Ashar, 1987].

Tablo 5.4: Vücut içerisine veya canlı dokulara yerleştirilen biyomateryaller için uygulanabilecek biyolojik testler.

Testler	Hücre Toksisitesi	Deri irritasyonu	I. M. İmplantasyon	Kan Uyumu	Hemoliz	Karsinojeniklik	Uzun Süreli İmplant	Hassasiyet	Öldürücülük	Pirojen Testi
Materyal/Araç Uygulamaları Ve Sınıflandırılması										
<u>Harici Sistemler:</u>										
Sağlıklı yüzey		*						*		
Yarık yüzey	*	*								
<u>Haricen Temastaki Sistemler:</u>										
Sağlam doğal kanallar								*		
Vücut dokuları ve sıvıları										
Operasyon sırasında	*									*
Kısa süreli	*		*							*
Kronik	*		*					*		*
Kan damarları, indirek	*		*	*	*			*		*
Kan damarları, direk, kısa süreli	*			*	*			*		*
Kan damarları, indirek.uzun süreli	*		*	*	*			*		*
<u>Temastaki İmplant Sistemler:</u>										
Kemik	*					*	*	*		*
Doku ve doku sıvıları	*		*			*	*	*		*
Kan	*		*	*	*	*		*		*

Tablo 5.4’de yer alan testler materyalin kendisinde ve sistemde yapılabilir. Test ortamı olarak en sık kullanılan yapay vücut sıvıları; enjeksiyonlu su, serum fizyolojik, alkol:serum fizyolojik (1:20), polietilenglikol, pamuk tohumu yağı, yapay ekstrasellüler sıvılarıdır.

5.3.2.1. Hücre Toksisitesi

Hücre toksisitesi testleri, in vitro hücre kültürü denemelerinde kullanılan materyallerin toksit etkisini belirlemek için kullanılan yöntemdir. Hücre toksisite

testleri biyolojik reaksiyonların kompleks yapısından dolayı toksit substratlarla maruz kalma sonrasındaki ilk 12-24 saatlik zaman periyotlarında hücreler üzerindeki sınırlı etkileri ölçülebilir [Hanks et al., 1996]. Hücre toksisite testleri aletlerle, cihazlarla veya hücre kültür ortamıyla direkt temas halindeki hücrelerin bu materyallere verdikleri yanıtı belirlemek için kullanılır. Hücrenin canlılığını kaybettiği şartların belirlenmesi sonucunda bu şartlar için toksit etki belirlenmiş olur. Hücrelerin büyütülmesi ve aktif hale geçmesi, hücre ortamının hücre toksisite miktarının belirlenmesi ve anti-tümör maddelerin hücrel toksisite seçiciliklerinin belirlenmesinde MTT [3-(4,5-dimetiltiyazol-2)-2,5-difenil tetrazolyum bromür] denemeleri kullanılır. Ayrıca in vitro doku kültürü sistemlerinde biyomateriyallerin hücrel toksisitesinin belirlenmesi içinde MTT denemeleri yapılır. MTT denemelerinin en büyük avantajı hızlı ve sıcaklığa duyarlı olmasıdır. İndirgenme reaksiyonları ile üretilen pembe renkli çözünmeyen formazan içinde sarı renkli çözünür tetrazolyum tuzu olan 3-(4,5-dimetiltiyazol-2)-2,5-difenil tetrazolyum bromürü (MTT) birleştirmek için mitokondriyal dehidragenez enzimlerinin kapasitesinin ölçümüne bağlı olarak MTT denemeleri gerçekleştirilir. Çözünmeyen kristaller spektrofotometre ile absorbans değerlerinin ölçümü için dimetil sülfoksit ya da asidik izopropanol içinde çözülür. Sonuçta yaşayan hücrelerin aktif mikondriyal dehidrogenezleri boyanın renginin değişmesine neden olurken, ölen hücrelerde herhangi bir değişiklik gerçekleşmez [Mosmann, 1983], [Sgouras and Duncan, 1990], [Ciapetti et al., 1993], [Zucco et al., 1998].

Kültürü yapılmış hücrelere materyalin, sistemin veya bunların ekstrelerinin uygulanması sonucunda oluşabilecek in vitro toksisite tayin edilebilmektedir. Test tekniklerinin çeşitliliği yönünde çalışmalar yapılmaktadır. Aşağıda verilen testler hücre toksisitesini belirlemede uygulanabilmektedir.

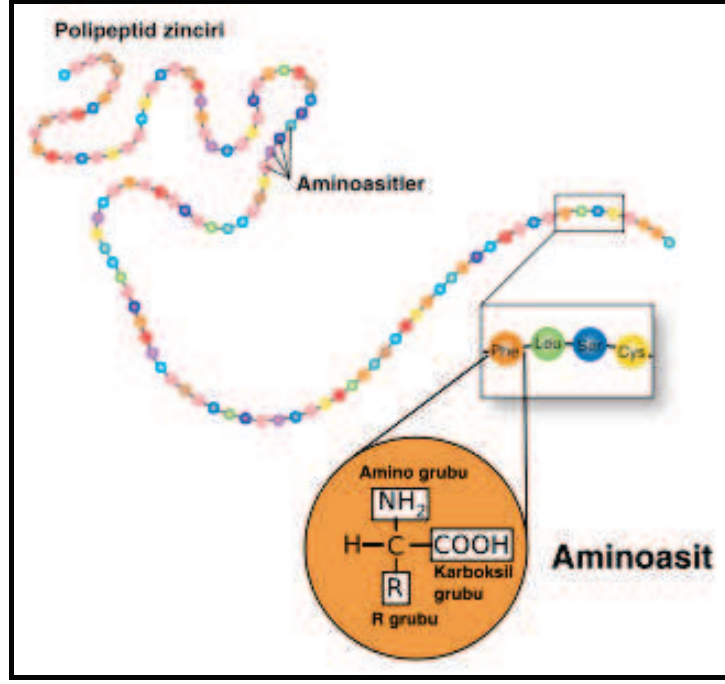
- Agara yayma Yöntemi
- Doğrudan Temas Yöntemi
- Hücre Büyümesinin Önlenmesi Yöntemi
- Hücre Büyümesi Yöntemi

6. POLİMER YÜZEYLERE BİYOTUTUNMA

Tıbbi sistem kontrolü, biyosensör geliştirme, klinik muamele, ilaç dağıtımı, ilaç kullanımına ait gelişme ve biyolojik araştırmalar gibi çok sayıda alandaki ilerlemeler yaşayan hücre yüzeyi ile katı yüzeylerin kimyasal etkileşmelerinin (biyotutunma/anti-tutunma) detaylı olarak anlaşılmasını gerektirir [Sun et al., 2005]. Polimerik yüzeylere biyotutunma davranışı, yüzeyin kimyasal yapısı, yüzey pürüzlülüğü, temas açısı gibi polimer yüzey özelliklerinin yanısıra hücrelerin şekli, büyüklüğü ve yüzey özellikleri gibi birçok parametrenin karşılıklı etkileşimini içeren kompleks bir yapıdır. Yapılan birçok araştırmaya rağmen hala hücrelerin katı yüzeylere biyotutunma davranışının mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır.

6.1. Proteinlerin Tutunması

Proteinler, neredeyse tüm biyolojik işlemlerde anahtar rol oynayan makro moleküllerdir. Proteinler membranların, kas ve bağ dokusunun yapısal elemanlarıdır ve birçok molekülün vücut içinde taşınmasında ve depolanmasında görev alırlar. Proteinler, hücrenin yapısında yer alan C, H, O, N ve S içeren zincir şeklindeki amino asitlerin belirli türde, belirli sayıda ve belirli diziliş sırasında karakteristik düz zincirde birbirlerine kovalent tutunmasıyla oluşmuş büyük organik bileşiklerdir. Şekil 6.1’de proteinlerin yapıtaşını oluşturan aminoasitlerin rezonans yapısı görülmektedir. Protein tutunması van der Waals, hidrofobik ve elektrostatik kuvvetleri gibi farklı protein-yüzey kuvvetleri tarafından yürütülen çok karmaşık bir süreçtir. Çoğu protein, heterojen yüzeylere sahiptir ve bu nedenle adsorbe yüzeyi ile birden fazla modda etkileşim gösterebilirler [Brusatori, 2001]. Tutunmayı yöneten asıl güçler protein ve katı yüzeyler arasındaki elektrostatik etkileşimler ve hidrofobikliklerdir. Tutunma esnasında veya protein yüzeye tutunduktan sonra proteinler yapısal değişikliğe uğramaktadırlar. Protein moleküllerinin yapısal değişiklikleri hidrofobik yüzeylerde hidrofiliklere göre daha yaygındır. Hidrofobik yüzeylerde oluşan tutunma miktarı daha yüksektir [Ratner et al., 1996], [Niklason et al., 1999].



Şekil 6.1: Aminoasitlerden oluşan polipeptid zinciri.

6.1.1. Proteinlerin Tutunmasında Yüzey Özelliklerinin Etkisi

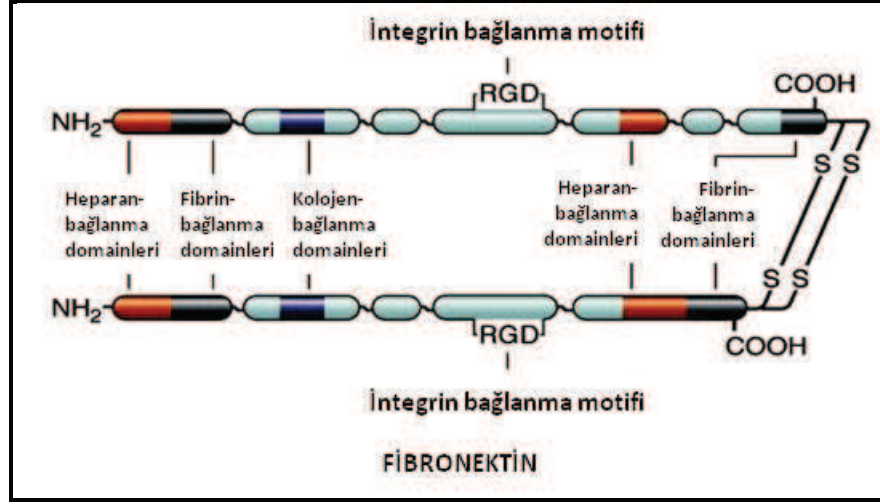
Canlı sisteme implantasyondan oldukça kısa bir süre sonra biyomalzeme üzerine bir protein tabakası kaplanır. Saniyelerle dakikalar arasında olan bu süreçte, yüzeyin hemen hemen tamamında, tek tabaka olarak protein adsorblanır. Kanda mevcut hücreler yüzeye yaklaşmadan önce çoktan protein tutunması tamamlanır. Hücre, malzeme yüzeyi ile değil, tek tabakada protein ile karşılaşır. Hücreler, bu proteinlere cevap geliştirdiği için, implantta meydana gelen seri biyoreaksiyonların kontrolü proteinlerin yüzeye verdiği yanıtla ilgilidir. Protein adsorbsiyonundan sonra, hücreler implant yüzeyine, difüzyon, taşınım ya da aktif mekanizmalarla ulaşırlar. Hücreler yüzeyde tutunabilir, başka hücrelerin gelmesi ve gelişimini sağlayabilir. Bütün bu basamaklar, yüzeydeki proteine cevaptır ve polimerik yüzeylerin biyotutunma davranışının incelenmesinde göz ardı edilmemesi gerekir [Holtfreter, 1948].

Literatürde polimerik yüzeylere protein tutunmasına dair biyomedikal uygulamalarda birçok araştırma yapılmıştır [Noinville et al., 1995], [Ostini et al., 2001], [Tsukagoshi et al., 2007] ve proteinlerin yüzeye tutunmasında katı yüzeyin yüzey özelliklerinin etkin olduğu belirlenmiştir. Hidrofilik yüzeylerin protein tutunmasını önleyici, hidrofobik yüzeylerin ise protein tutunmasını artırıcı etki

gösterdiği belirlenmiştir [Gutowska et al., 1994], [Bel and Peppas, 1996], [Horak et al., 1997], [Schwendel et al., 2001], [Herwerth et al., 2003], [McClellan and Franses, 2005], [Tsukagoshi et al., 2007]. Ayrıca yüzey hidrofobluğunun bir ölçütü olan oligomerin yüzey yükü ve yüzey pürüzlülüğünde protein tutunmasında etkin olduğu ve proteinlerin negatif yüklü ve pürüzlü yüzeylere tutunma eğiliminin daha fazla olduğu belirlenmiştir [Herrwerth et al., 2003], [Goncalves et al., 2005].

6.1.1.1. Fibronektin Tutunması

Fibronektin (FN) vücutta endotel, hepatositler, fibroblastlar, trombositler ve makrofajlar gibi çeşitli hücrelerde, ekstrasellüler sıvıda, bağ dokusunda, bazal membranda bulunur. FN molekülü 600A° uzunluğunda, 25A° genişliğinde olup molekül ağırlığı 440-550 kD olan fibronektin 200-250 kD molekül ağırlıklı iki alt üniteden oluşur. Bir molekül ekstrasellüler matriks (ECM) proteini olan fibronektin; kollagen, fibrin ve heparan sülfat gibi ECM moleküllerine ve hücrelere bağlanan birçok fonksiyonel bölge içerir (Şekil 6.2) [Magnusson and Mosher, 1998], [Demirer ve Marakoğlu, 2001]. Fibronektin ile hücreler arasındaki etkileşme, genelde bu molekül üzerindeki belli anahtar dizileri tanıyıp bağlanan özelleşmiş reseptörler aracılığı ile gerçekleşir. Bu protein üzerinde en iyi bilinen fonksiyonel bölgeler RGD (arjinin-glisin-aspartat), LDV (lösin-aspartat-valin) ve REDV (arjinin-glutamataspartat- valin) segmentleridir [Yamada, 1991]. Tutunma moleküllerini içeren integrinler arginin-glisin-asparagin (RGD) aminoasit dizilerine sahip moleküllere tutunma özelliği gösterir (Örneğin fibronektin) ve hücreler fibronektine integrin reseptörlerinden bağlanır [Frenette et al., 1996]. RGD dizileri, hücre-dışı matriks glikoproteinlerinde, bazı hücrelerin yüzeyinde ve bazı kompleman proteinlerinde bulunur.



Şekil 6.2: Fibronektinin moleküler yapısı.

ECM proteini olan fibronektinin biyomalzemeye tutunması sonucu hücrelerle biyotutunma davranışının belirlenmesine dair literatürde birçok araştırma yapılmıştır [Zhang et al., 2007], [Baujard-Lamotte et al., 2008], [Kowalczyńska et al., 2008]. Örneğin Zhang ve arkadaşları [Zhang et al., 2007], polietilen tereftalat (PET) polimeri üzerine fibronektin tutunmasının kararlılığını incelemek amacıyla tutunmanın kovalent yada fiziksel olarak gerçekleşip/gerçekleşmemesini incelemiştir. Adsorbe olan fibronektin kalınlığının artması ile fibronektin tutunmasının kovalent olarak gerçekleştiğini belirlemiştir. Ayrıca fare böbreği hücrelerinin fibronektin tutunmuş PET yüzeyine tutunma davranışını incelemişler ve fibronektinin yüzeydeki yoğunluğunun artması ile hücre tutunmasının azaldığını belirlemiştir. Baujard-Lamotte ve arkadaşları, hidrofilik silika ve hidrofobik polistiren yüzeyleri üzerine FN tutunmasını araştırmışlardır [Baujard-Lamotte et al., 2008]. Hidrofilik silika yüzeyine FN tutunması oluşturulduğunda tutunma süresinin değiştirilmesinden bağımsız olarak FN'nin konformasyonel yapısının değişmediği ancak hidrofobik PS yüzeyine aynı miktarda FN tutunması gerçekleştirildiğinde adsorbe olan FN konformasyonunun değiştiği belirlenmiştir. Bunun sonucunda FN'nin konformasyonel değişimlerinde hidrofobik yüzeylerin hidrofilik yüzeylere göre etkin olduğu belirtilmiştir. Kowalczyńska ve arkadaşları, sülfolanmış (hidrofilik) ve sülfolanmamış (hidrofobik) PS yüzeyleri üzerine fibronektin tutunmamış ve fibronektin tutunmuş bu yüzeylere L1210 lösemi hücrelerinin tutunma davranışını incelemiştir [Kowalczyńska et al., 2008]. Aynı tutunma şartlarında gerçekleştirilen FN tutunmasının sülfolanmış PS yüzeyinde sülfolanmamış PS

yüzeyine göre daha fazla olduğunu belirlemişler ve sülfolanmış PS yüzeyinde konformasyonel değişimin daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca sülfolanmış PS yüzeyi üzerine tutunmuş FN yüzeyine L1210 hücrelerinin tutunmasının sülfolanmamış PS yüzeyine adsorbe olmuş FN yüzeyine L1210 hücresi tutunmasının daha fazla olduğunu belirlemişlerdir ve bunun nedeninin fibronectin domaininde olan F-actin organizasyonunun değişimine bağlamışlardır. Sonuç olarak hücrelerin biyotutunma davranışının kontrolünde fibronectin tutunma parametrelerinin kontrol edilmesi önemlidir. Fibronectin adsorbe olmuş yüzeylere hücrelerin tutunmasının istendiği biyomalzemeler için, hidrofilik yüzey özelliklerinde biyomalzemelerin geliştirilmesi tutunma gücünü artırıcı etki sağlar.

Velzenberg ve arkadaşları, bakteriyolojik grade polistiren (PS), doku kültürü grade polistiren (tPS), polihidroksietil metakrilat film (poliHEMA) ve bi-layer hidroksipropil metilselüloz-karboksil metilselüloz-kaplı petri kabı (CEL) şeklindeki farklı yüzey özellikli materyallere fibronectinin tutunmasında yüzeylerin polar doğasının etkisini incelemek amacıyla adezyon işinin polar katkısını incelemişlerdir [Velzenberger et al., 2009]. Bu incelemeler sonunda, polar katkı arttıkça yüzeyin hidrofilikliğinin arttığı ve fibronectin kaplanmadan önce en düşük polar katkıya sahip PS' nin en düşük afiniteye sahip olduğu, tPS den daha hidrofilik PolyHEMA ve CEL ise ortalama afiniteye sahip PS den daha yüksek afiniteye sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca fibronectin kaplama sonrası ve öncesi belirlenen polar komponentler sayesinde fibronectinin hangi materyaller üzerine absorbe olduğu belirlenmiş ve fibronectinin PS ve tPS üzerine tutunduğu ancak PHEMA ve CEL üzerine tutunmadığı polar komponent değişimlerine göre belirlenmiştir. Bu teknik substrat üzerine protein tutunmasını belirlemek için kolay uygulanabilir bir yöntemdir.

6.2. Hücrelerin Biyotutunması

Yapışma (tutunma, adhezyon), farklı tipteki moleküllerin birbiri ile veya uygun bir ortam ile etkileşim kurması sonucu oluşur. Hücrelerin başka hücrelerle ya da hücreler arası matriksle etkileşimleri hücre üzerindeki yapışma molekülleri (hücre tutunma molekülleri) tarafından kontrol edilir. Hücre yapışma moleküllerinin, hücre

dışı ve hücre içi alana uzanan kısımları vardır ve hücre dışına uzanan kısımlar dışarıda karşılaştıkları moleküllerle ilişki kurarak biyotutunma gerçekleştirirler.

6.2.1. Hücre-Yüzey Etkileşimleri

Tıbbi sistem kontrolü, biyosensör geliştirme, klinik muamele, ilaç dağıtımı, ilaç kullanımına ait gelişme ve biyolojik araştırmalar gibi çok sayıda alandaki ilerlemeler yaşayan hücre yüzeyi ile katı yüzeylerin kimyasal etkileşmelerinin (tutunma/anti-tutunma) detaylı olarak anlaşılmasını gerektirir.

6.2.1.1. Hücre Tutunma Molekülleri

Hücre tutunma molekülleri, hücrelerin özgül olarak dokulara yönelmelerinde, birbirlerini tanımalarında, embriyogenez, hücre büyümesi, hücre farklılaşması ve inflamasyon gibi olguların düzenlenmesinde görev alırlar [Holtfreter, 1948], [Steinberg, 1970], [Frenette et al., 1996]. Tutunma molekülleri dört sınıfta incelenmektedir: integrinler, selektinler, immünglobulin süper-ailesine dahil tutunma molekülleri ve kaderinler.

Integrinler, heterodimer transmembran proteinlerdir. İntegrinler endotelde, epitel hücresinde, trombositlerde, lökositlerde ve tümör hücrelerinde bulunur. Hücre tutunma molekülleri ailesinden bazı integrin reseptörleri, ligandları ve hücre dağılımları Tablo 6.1’de örnek olarak verilmiştir [Aytekin, 2004].

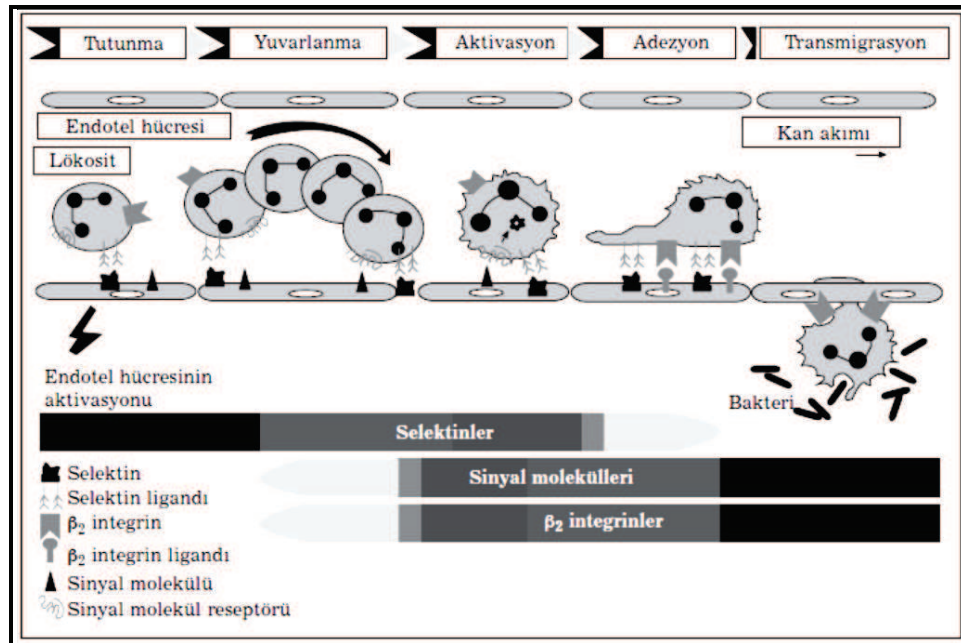
Tablo 6.1: Tutunma molekülleri ve ligandları.

Adezyon Molekülü	Dağılım	Ligandları	Fonksiyon
Selektinler			
E-selektin (CD62E) P-selektin (CD62P) L-selektin (CD62L)	Endotel hücresi Endotel hücresi, trombosit Lökosit	PSGL-1 de bulunan sialize, fukozile yapılar PSGL-1 de bulunan sialize, fukozile yapılar CD34, MAdCAM-1	Tutunma, Yuvarlanma Tutunma, Yuvarlanma Tutunma, Yuvarlanma
Selektin Ligandları			
E-selektin ligand (ESL-1) P-selektin ligand-1 (PSGL-1/CD162)	Lökosit Lökosit	E-selektin E-, P-, L-selektin	Tutunma, Yuvarlanma Tutunma, Yuvarlanma
İntegrinler			
β_1 ailesi $\alpha_4\beta_1$ (CD49/CD29) (VLA-4)	Lenfosit, bazofil, NK, eozinofil	VCAM-1, fibronektin	Sıkıadezyon, migrasyon
β_2 ailesi $\alpha_1\beta_2$ (CD11a/CD18) (LFA-1) $\alpha_{11}\beta_2$ (CD11b/CD18) (Mac-1) $\alpha_x\beta_2$ (CD11e/CD18) (P159,95) $\alpha_4\beta_2$ (CD11d/CD18)	Lökositler Nötrofil, mnsosit, NK, eozinofil Miyeloid Hücreler Lökosit, eozinofil	ICAM-1, -2, fibrinojen ICAM-1, fibrinojen, C3bi ICAM-1, fibrinojen, C3bi VCAM-1, ICAM-3	Sıkıadezyon, migrasyon Sıkıadezyon, migrasyon Sıkıadezyon Sıkıadezyon
β_3 ailesi $\alpha_x\beta_3$ (gpIIb/IIIa) (CD41/CD61)	Trombositler	Fibronektin, fibrinojen, vWF, vitronektin, PECAM-1	Trombosit proliferasyonu migrasyonu
β_7 ailesi $\alpha_4\beta_7$ (LPAM-1)	Lenfosit, eozinofil, NK	MAdCAM-1, VCAM-1	Sıkıadezyon
İmmünglobulin süper ailesi ICAM-1 (CD54) ICAM-2 (CD102) ICAM-3 (CD50) PECAM-1 (CD31) MAdCAM-1 VCAM-1 (CD106) JAM-A JAM-B JAM-C	Endotel hücresi, lenfosit Endotel hücresi Endotel hücresi, lökosit Lökosit, platelet, endotel hücresi Mukozal HEV Endotel hücresi Endotel hücresi, lökosit Endotel hücresi Endotel hücresi, lökosit	LFA-1, Mac-1 LFA-1, Mac-1 LFA-1 PECAM-1, $\alpha_x\beta_3$ L-selektin, $\alpha_4\beta_7$ VLA-4, $\alpha_4\beta_7$ JAM-A, LFA-1 JAM-B, JAM-C, VLA-4 Mac-1	Sıkıadezyon, migrasyon Sıkıadezyon Sıkıadezyon Sıkıadezyon, migrasyon Yuvarlanma, sıkıadezyon Sıkıadezyon Sıkıadezyon, migrasyon Sıkıadezyon, migrasyon Sıkıadezyon, migrasyon

Aktif ya da inaktif halde bulunabilen integrinlerin, birbirine kovalent olmayan bağlarla bağlı alfa (α) ve beta (β) alt üniteleri vardır [Bischof et al., 1993], [Darnel, 1995], [Shimizu et al., 1999], [Sims and Dustin, 2002]. Molekülün fonksiyonel aktivitesi için her iki alt ünite de gereklidir, ancak tutunma özgülüğünün α alt ünitesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir [Hynes, 1992]. β_1 integrinler özellikle lökositlerin endotel hücrelerine ve kolojen, laminin ve fibronektin gibi hücre dışı matriks proteinlerine tutunmasında görev alırlar. β integrinler hücre yayılımı ve hücre göçünden sorumlu proteinlerken α integrinler, gen yanıtları, apoptoz, çoğalma, reseptörlerin aktivasyonu ve hücre salgısı üretimde görev alırlar. Tutunma molekülleri sınıflandırmasında yer almayan ancak tutunma molekülü olarak davranan tutunma moleküleride vardır. Bunlar: Hermes (CD44), CD36, Laminin, Fibronektin ve OX40'dır.

Hücreler, özel ECM protein ligandlarıyla ilişkili çok sayıda integrin içerirler ve bazı durumlarda, iki integrin bir ligandı, ligand molekülünün farklı noktalarından tanıyabilir veya iki farklı integrin aynı ECM protein bölgesinden bağlanabilir. Yani çoğu integrin, adhezif ligandlar için çok spesifik değildir. Bununla birlikte iki integrinin bir ligandın aynı bölgesine tutunması mutlaka aynı fonksiyona yol

açacakları anlamına gelmez [Hemler, 1990], [Guan and Hynes, 1990], [Hall et al., 1990]. Tutunma molekülleri, lökositlerin inflamasyon alanına toplanmasında başlıca rolü oynar. Lökositler ile inflame endotel hücresi arasındaki ilişki selektinler, integrinler ve onların ligandları, “functional” tutunma molekülleri tarafından sağlanır. Lökosit-endotel ilişkisi çok aşamalı ve dinamik bir süreçtir. Tutunma ve yuvarlanma aşaması selektinler ve ligandları aracılığıyla olur. Sonraki aşama integrinlerin aktivasyonu ve integrinler ile ligandları arasında gerçekleşen lökositlerin endotele sıkı tutunmasıdır. Bu durum Şekil 6.3’de görüldüğü gibi şu mekanizmayla işler [Web 5, 2010]: Dolaşımdaki lökositler kan akımı dalgalarına karşı koyarak endotel hücrelerinin aktivasyonu sonucunda yavaşlar ve damar endoteline yaklaşır (tutunma). Kan akımı nedeniyle endotel hücre yüzeyinde bulunan selektinlerle gevşek tutunma oluşturur ve bu durum lökositlerin yuvarlanmasına neden olur (yuvarlanma). Selektinler lökosit yüzeyindeki karbonhidrat ligandlarına bağlanır. Yuvarlanma sırasında lökosit yüzeyindeki β_2 integrin reseptörleri hızla aktive olur (aktivasyon). Inflamasyon alanındaki kimyasal düzenleyiciler integrinlerin aktivitesini uyararak lökosit yüzeyinde bulunan aktive olmuş integrinlerin endotel hücresi yüzeyine tutunmalarını kuvvetlendirir (adezyon). Dış tehdidin olduğu noktadan hücre göçü gerçekleşerek, lökositlerin dış tehdidi ortadan kaldırma prosesi başlar. Endotel üzerinde gerçekleşen göç, integrinlerin endotel hücresi yüzeyindeki ligandlarla etkileşmesi ile düzenlenir.



Şekil 6.3: Dolaşımdaki lökositlerin endotel hücreler ile etkileşim mekanizması.

İntegrinler, insan vücudunda bulunan hemen hemen tüm hücrelerde eksprese olurlar. Aktif hale geçen bir hücre sitoplazmasından sinyal iletildiğinde, integrinlerin hücre-dışında kalan kısmı şekil değişimi göstererek kendi ligandına olan afinitesini artırır. Bu işleme içeriden-dışa (inside-out) sinyal iletimi denir. Bu işlem tutunma molekülleri arasında bir tek integrinlerde görülür. İntegrinlerin ligandına tutunması ile bu kez dışarıdan-içeriye (outside-in) sinyal mekanizması çalışır; bu da hücre içerisinde apoptozisten proliferasyona kadar birçok işlevde etkili olur. İntegrin-kanser ilişkisi yakın zamana kadar tutunma ve migrasyonla sınırlıydı ve integrin alt ünitelerinde oluşan genetik bozuklukların kanser ile ilişkisi yakın zamana kadar bilinmiyordu. Evans ve arkadaşları, β -1-integrin alt ünitesinde ortaya çıkan heterozigot mutasyonların dilin skuamöz hücreli kanserinin oluşmasında etkili olduğunu göstermişlerdir [Evans et al., 2003]. İntegrinlere sinyal iletimi sonucunda oluşan integrin desenindeki değişikliklerin gözlemlenmesi sonucunda, integrin yanıtının düzenlenmesi ve kanser arasında işbirliği olduğu tespit edilmiştir [Koistinen and Heino, 2002]. Farklılaşmış integrin desenleri, kanser hücrelerinin değişik matrislerle tanımlanmasına olanak sağlar, bununla birlikte, başkalaşmış integrin desenlerinin genlerdeki başkalaşmış sinyal iletimine ve yük değişikliklerine neden olabileceği belirtilmiştir [Plantefaber and Hynes, 1989]. Örneğin, L1210 lösemi hücre yüzeyindeki $\alpha_5\beta_1$ integrinleri ile fibronektinin RGD domeinine iyi tutunma sergilediği bilinmektedir [Kowalczyńska et al., 2008].

6.2.2. Hücre Tutunmasında Yüzey Özelliklerinin Etkisi

Katı yüzeyi/hücre ve bunun alt dalı olarak polimer yüzeyi/hücre etkileşimleri günümüzde hala tam olarak anlaşılamamış bir konudur ve gerek tedavi amacıyla, gerekse de tıpta kullanılan medikal ürünlerinin tasarımı için yüzey/hücre etkileşimlerinin iyi anlaşılması önemlidir. Literatürde çıkan makalelerde yüzey/hücre etkileşimleri, 5 önemli parametre ile ilişkilendirilmiştir:

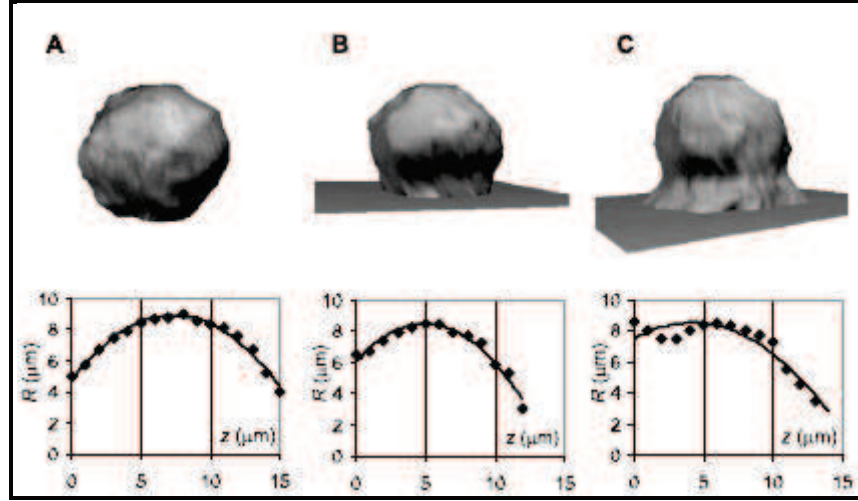
- i) Yüzeydeki kimyasal grupların cinsi ve dağılım yüzdesi [Kowalczyńska et al., 2003], [Kowalczyńska et al., 2005], [Fuse et al., 2007], [Blanco et al., 2008],
- ii) Yüzey pürüzlülüğü [Spatz et al., 1996], [Chen et al., 1997], [Whitesides et al., 2001], [Xie et al., 2002], [Wang et al., 2004], [Blanco et al., 2008],

- iii) Yüzey ıslatılabilirliği [Lampin et al., 1997], [Lensen et al., 2008],
- iv) Katının serbest yüzey enerjisi [Dobkowski et al., 1999], [Arima et al., 2007],
- v) Testlerde kullanılan hücrenin büyüklüğü ve şeklidir [Evans, 1992], [Korohoda and Madeja, 1997], [Kim et al., 2005].

6.2.2.1. Yüzeydeki Kimyasal Grupların Cinsi ve Dağılımı

Hücre davranışı genellikle, kullanılan katı biyomateryalin yüzey özelliklerinden etkilenir. Arima ve arkadaşları, yüzeyinde metil, hidroksil, karboksilik asit ve amino grubu içeren 4 çeşit alkentiol kullanarak, hücre yapışmasına ıslatılabilirlik, yüzey fonksiyonel gruplar ve fonksiyonel grup yoğunluklarının etkisini incelemişlerdir [Arima et al., 2007]. Bu incelemeler sonucunda; hücrenin yüzeye yapışmasında, temelde yüzeyin ıslatılabilirliğinin önemli olduğu ancak yüzey fonksiyonel gruplarının tipinin, fonksiyonel grup yoğunluğunun ve hücre çeşidinin de ıslatılabilirliğin yanında hücrenin yüzeye yapışmasındaki diğer etkin parametreler olduğu belirlenmiştir.

Kowalczyńska ve arkadaşları, sülfolanmış ve sülfolanmamış PS yüzeyleri üzerine L1210 lösemi hücresinin tutunma performansını incelemişlerdir [Kowalczyńska et al., 2003]. Sülfolanmış ve sülfolanmamış PS yüzeylerinin hidrofobluk derecelerindeki farklılıktan dolayı sülfolanmış yüzeylerde başlangıçta yapışan hücre sayısının sülfolanmamış yüzeyden daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca sülfolanmış PS yüzeylerinde tutunma süresinin artırılması ile sülfolanmamış yüzeylere göre hücrenin yapıştığı alanın arttığı belirlenmiştir (Şekil 6.4). Ayrıca aynı grup farklı sülfonasyon derecelerine sahip PS yüzeylerine L1210 hücrelerinin tutunma performansını incelemiş ve PS yüzeyindeki sülfon grup yoğunluğunun artmasının L1210 hücrelerinin tutunma gücünü artırıcı etki gösterdiğini belirlemişlerdir [Dobkowski et al., 1999].



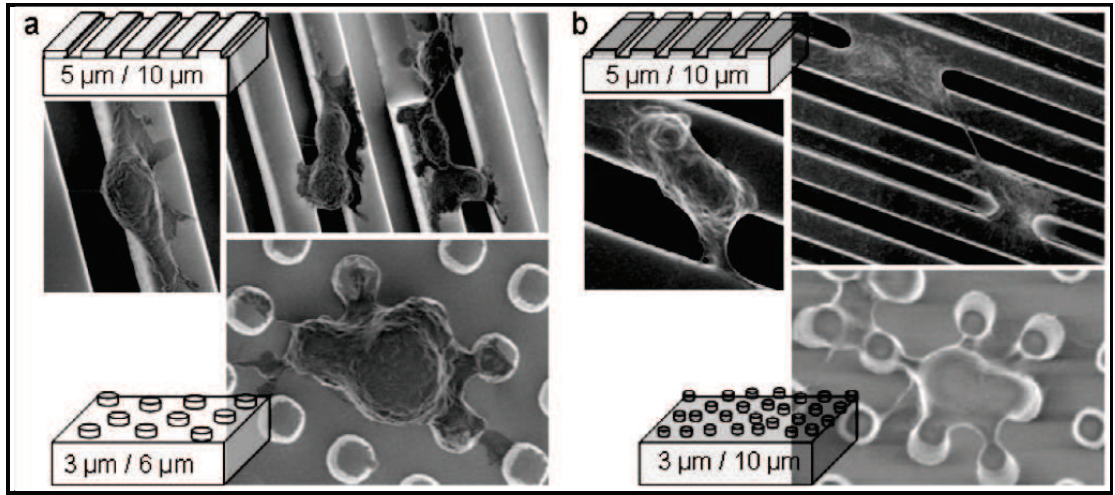
Şekil 6.4: a) Serbest haldeki L1210 hücresi, b) Sülfolanmamış PS yüzeyine yapışan L1210 hücresi ve c) Sülfolanmış PS yüzeyine yapışan L1210 hücresi için 3D temsili şekilleri.

6.2.2.2. Yüzey Pürüzlülüğü

Hücreler yüzeyin topografik değişimlerine güçlü şekilde cevap verirler ve bu cevabı geliştiren mekanizmaların anlaşılmasına yönelik çalışmalar devam etmektedir. Mekanizmanın kompleks ve karmaşık olması araştırmacıları mikro yada nano desenli özel yüzeylerin tasarlanması ve pürüzlülükleri ayarlanan bu yüzeyler üzerine tutunma davranışının incelenmesine yöneltmiştir. Mikrodesenli yüzeylerin tıpta kullanımı, Harvard Üniversitesinden, G. M. Whitesides and D. E. Ingber tarafından 1997 de başlatılmıştır [Chen et al., 1997]. İnsan hücrelerinin belli desenlere sahip katılar üzerinde öldüğü ve bundan farklı desenlere sahip katılar üzerinde yaşamaya devam ettiği gözlenmiş ve hücrelerin bu davranışında hücre büyüklüğü ve şeklinin de önemli olduğu anlaşılmıştır (Chen et al., 1997; Whitesides et al., 2001). Mikro yapıları yüzeylerle canlı hücrelerin etkileşimleri son zamanda bilim adamları tarafından yoğun olarak incelenmiştir [Li et al., 2003], [Sun et al., 2005], [Yu et al., 2005], [Lensen et al., 2008], [Torres et al., 2008].

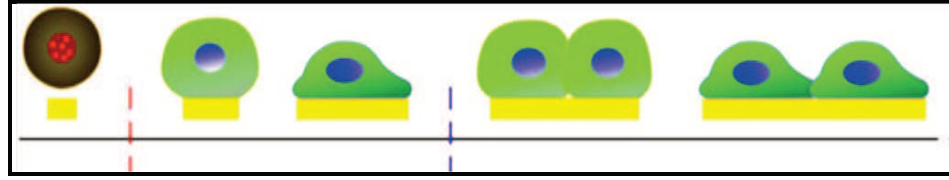
Hücreler yüzeyin topografik değişimlerine güçlü şekilde cevap verirler. Ayrıca hücreler mikrometre boyutlu oluklara sahip katılar üzerinde sert bölgeler boyunca sıralanma eğilimindeyken, mikrometre boyutlu desenli (pillar) yüzeylerde desen boyutu hücre boyutundan büyük olduğunda hücreler pillarların kenarlarına yapışma eğilimi gösterir veya eğer hücreler hareket halinde ise bu defa pillarların arasında sürüklenme eğilimi gösterirler [Turner et al., 2000]. Ancak, başlangıçta protein

tutunma miktarı ve/veya oryantasyonu topografik olarak yapılandırılmış yüzeylerde, düz yüzeylerden farklıdır [Den Braber et al., 1998] ve hücreler kendi topografik özelliklerine uygun yüzeylere yanıt vererek yapışırlar [Chou et al., 1995], [Van Kooten and von Recum, 1999]. Ancak bu hücre iskeletinin esnekliğine ve F-aktin sertliğine de bağlıdır ve hücre hizalanmasını, bu hücrelerin yüzey topografisine adaptasyonları belirler. Diğer taraftan mikrodeseanlı yüzeyler üzerine bir kez hücre yapışması gerçekleştikten sonra, yapışan hücrelerin şekilleri mikro desene göre değişir. Belli topografik yapıya desanlı yüzeylerde ve farklı elastikliğe sahip polietilen glikol (PEG) polimeri ile yapılan denemelerde (Şekil 6.5), hücrelerin ya tepeler boyunca sıralandıkları, ya da çukurlar içine yerleştiği belirlenmiştir [Lensen et al., 2008].



Şekil 6.5: a) silindirik ve çubuk şeklindeki polietilen glikol (PEG) mikrodeseanlarına fare fibroblast hücrelerinin tutunma davranışı, b) silindirik ve çubuk şeklindeki perfloropolietilen (PFPE) mikrodeseanlarına fare fibroblast hücrelerinin tutunma davranışı.

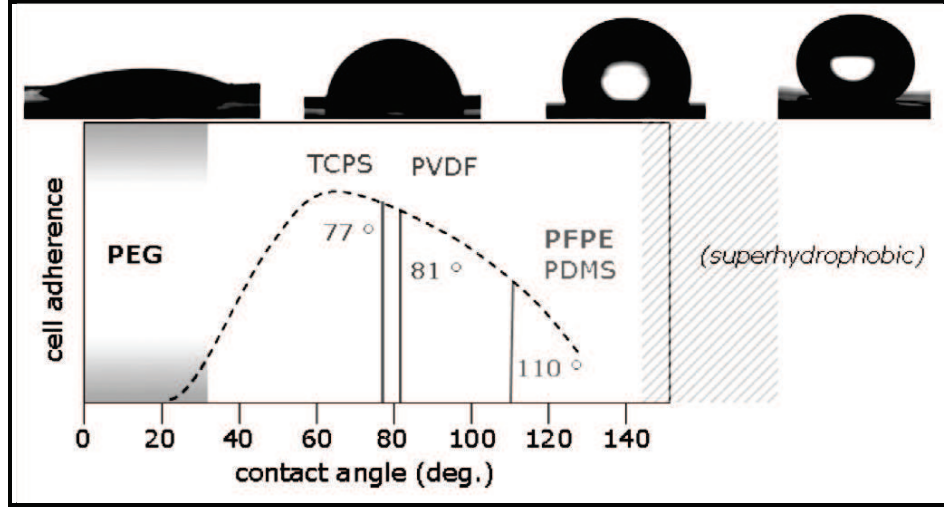
Yan ve arkadaşları, topografik olarak yapılandırılmış yüzeylerin hücrelerle tutunmasının hücrelerin tutunma özelliklerinin belirlenmesi için kritik tutunma alanları belirlemişlerdir ve bu şekilde belli sayıdaki hücrenin mikropattern boyutlarının tasarlanması ile tutunma lokasyonlarının ve şekillerinin kontrol edilebileceğini önermişlerdir (Şekil 6.6) [Yan et al., 2011].



Şekil 6.6: Farklı boyutlardaki mikrodeseenler üzerine hücrelerin olası tutunma davranışının şematik temsili.

6.2.2.3. Yüzey Islatılabilirliği

Bir katının yüzey ıslatılabilirliği, su temas açısı tayini ile belirlenir ve proteinlerin o yüzey üzerindeki seçimli tutunmasında, yani hücre tutunmasının oluşup oluşmamasında etkili olan bir özelliktir, örneğin fibronektin proteinin yapıştığı yüzeylere albumin yapışmaz [Kottkemarchant et al., 1996], [Lampin et al., 1997], [Toworfe et al., 2004]. van der Valk ve arkadaşları, fibroblast hücrelerinin hidrofilik yüzeylerde, hidrofobik yüzeylerden daha iyi yayıldığını belirtmişlerdir [van der Valk et al., 1983]. Ayrıca Schakenraad ve arkadaşları insan endotel fibroblast hücrelerinin büyüme hızının hidrofobluk arttıkça arttığını belirtmişlerdir [Schakenraad et al., 1986]. 40-70° arasında su temas açısı olan polimerik yüzeylere hücreler etkin bir şekilde yapışırlar [van Wachem et al., 1985], [Tamada and Ikada, 1986], [Van Wachem et al. 1987], [Tamada and Ikada, 1993], [Lee et al., 1997], [Lee et al., 1998], [Lensen et al., 2008]. Yıldız-şeklinde PEG, PVDF, TCPS, PDMS ve lineer PFPE (perfloropolieter) yüzeylerinin, yüzey kimyası, topografisi ve elastikliğindeki değişime bağlı olarak fare fibroblast hücresi NIH L929'un (bağ dokusu hücresi) yapışma gücünü incelemelerinde, Süperhidrofob ve süperhidrofil yüzeylerde hücre yapışması minimum iken maksimum hücre yapışmasının orta hidrofobluktaki ($\theta = 55-85^\circ$) TCPS ve PVDF polimer yüzeylerinde gerçekleştiği tespit edilmiştir [Lensen et al., 2008]. Bu durumu Lensen ve arkadaşları [Lensen et al., 2008], Tamada ve arkadaşlarının [Tamada and Ikada, 1994] deney datalarını da kullanarak temas açısı değişimine bağlı olarak hücre tutunma değişimini Şekil 6.7'de gösterilen şema ile özetlemişlerdir.



Şekil 6.7: Temas açısı değişimine bağlı olarak fibroblast hücrelerinin tutunma performansındaki değişim.

Şekil 6.7’den de görüldüğü gibi orta hidrofoblukta hücrelerin (örneğin fibroblast) yüzeye tutunması maksimumken, süper hidrofilik ya da süperhidrofobik yüzeylerde hücre tutunması minimumdur. Bu durum şaşırtıcı değildir, çünkü orta ıslatılabilirliğe sahip doku kültürü polistiren (TCPS) yüzeyine hücre tutunması optimum değerdedir ve oldukça hidrofilik oldukları bilinen PEG hidrojellerinin hücre itici özellikleri literatürden bilinmektedir [Peppas and Langer, 1994], [Shimizu et al., 1999], [Zhang et al., 2006], [Zhao et al., 2006]. Literatürde yer alan ve yukarıda özetlenen değişik çalışmalarda, farklı ıslatılabilirlik derecelerine sahip yüzeyler ile fibroblast hücrelerinin yapışma performansı, farklı ıslatılabilirlik aralığında verilmiştir, ancak bu incelemeler birleştirildiğinde maksimum yapışma performansının 40-85° temas açıları arasında olduğu söylenebilir.

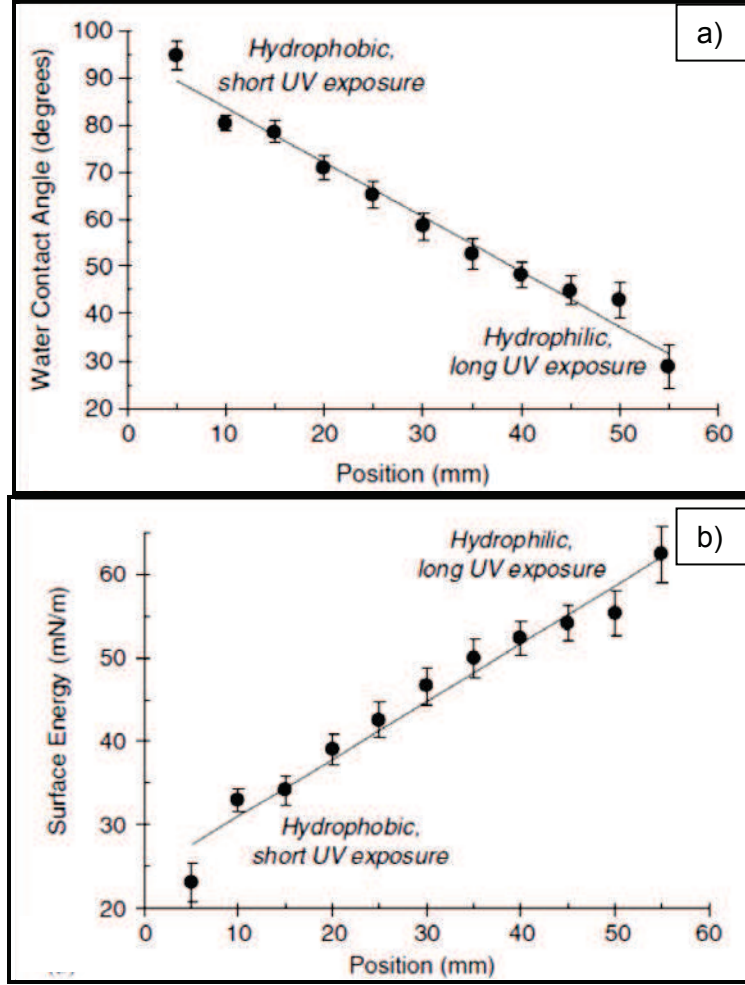
Yüzey-hücre etkileşimleri genellikle vücut sıvıları içinde gerçekleştiğinden, yüzeydeki kimyasal grupların bileşimi ve dağılım yüzdesi (kimyasal heterojenlik) ve yüzey pürüzlüğü etkin parametrelerdir ve bu yüzey parametreleri CAH değerinin o ortamdaki takibiyle kontrol edilebilir. Lensen ve arkadaşları, inceledikleri polimer yüzeylerde buldukları CAH değerlerini poliviniliden florür (PVDF) için 32°, polidimetilsiloksan (PDMS) için 59° ve poliperfloropolieter (PFPE) için 68° olarak belirlemişlerdir [Lensen et al., 2008]. PFPE materyalinin CAH değeri 68° dir ki bu değer oldukça büyüktür ve bunun bu denli büyük olmasının nedeni su altında flor gruplarının reoryantasyon hareketi yapmasıdır [Ucar et al., 2010]. Lensen ve arkadaşlarının CAH değerindeki bu önemli değişimi takip etmelerinin, hücre kültürü

çalışmalarının sulu ortamda yapılması gerektiğine işaret etmişlerdir ancak bu konuda detaylı bir çalışma gerçekleştirmemişlerdir [Lensen et al., 2008]. Avrupa birliği 6. Çerçeve programı kapsamında disiplinler arası 33 grubun ortaklaşa çalıştığı (GYTE ekibinin de dahil olduğu) AMBIO projesinde *Ulva linza* sporunun yüzeye yapıştıktan sonra dışarıdan su jeti kuvveti uygulanması ile yüzeyden uzaklaşma performansları incelenmiş ve yüzeyden ayrılan *Ulva* spor yüzdesi ile CAH, wetting hysteresis (WH) ve serbest yüzey enerjisi ile lineer olarak değiştiği tespit edilmiş ve literatürde ilk kez yayınlanmıştır [Ucar et al., 2010].

6.2.2.4. Serbest Yüzey Enerjisi

Bir katının serbest yüzey enerjisi, çeşitli sıvıların temas açısı değerlerinden hesapla bulunur ve o yüzeye hücrenin yapışma gücünü, davranışını etkileyen temel parametrelerden biridir [Van Der Valk et al., 1983], [Van Wachem et al., 1985], [Schakenraad et al., 1986]. Kennedy ve arkadaşları, farklı yüzey özelliğine sahip fibronektin kaplı yüzeyler üzerinde su temas açısı ve serbest yüzey enerjisi değişimini incelemişlerdir [Kennedy et al., 2006]. Fibronektin kaplı yüzeylerde 30-95° temas açısı arasında, yüzeyin hidrofilliği arttıkça yapışan osteoblast hücresi (MC3T3-E1) hücre sayısı lineer şekilde artmakta ve 15-63 mN/m serbest yüzey enerjisi aralığında ise yüzey enerjisinin artması ile (hidrofillik artarken) yüzeye bağlanan hücre sayısı artmaktadır (Şekil 6.8). Bazı koşullarda, yüzey enerjisi hücrenin başlangıçta yapışma performansının belirlenmesinde fazla etkin değildir ancak hücrelerin o yüzeydeki çoğalma hızı ile lineer bir ilişki gösterir ve hidrofobluk arttıkça hücrenin çoğalma hızı artar.

Wachem ve arkadaşları ortalama yüzey enerjisine sahip substratlar üzerine insan endotel hücrelerinin daha iyi yapıştığını gözlemlemişlerdir [Van Wachem et al., 1985]. Ozcan ve arkadaşları, oksijen plazma modifikasyonu ile farklı ıslatılabilirlikteki (63.5 den 26.7° ye) PMMA film yüzeylerinin (3T3 fibroblast hücre kültürü) hücre-materyal etkileşimlerini incelemişler ve plazma gücüne bağlı olarak 61 mJ/m² maksimum SFE değerinde 3T3 Fibroblast hücrelerinin maksimum tutunma gösterdiğini belirlemişlerdir [Ozcan et al., 2009].



Şekil 6.8: Oestoblast hücrelerinin farklı yüzey özellikli materyaller üzerindeki pozisyonu (bağlanan hücre sayısı) ile a) su temas açısı ve b) serbest yüzey enerjisindeki değişim.

6.2.3. Hücre Tutunmasında Hücre Özelliklerinin Etkisi

Hücreler çevrelerindeki yapılara karşı çok hassastırlar, bazen 5 nm'ye varan büyüklükte cisimlere ilgi gösterebilirler. Bir hücrenin belli bir yüzeye güçlü bir yapışma gerçekleştirebilmesi için o yüzey deseni ile hücre zarındaki fokal yapışma kümeleri arasındaki mesafe yakın ölçekte olmalıdır [Spatz et al., 1996], [Chen et al., 1997], [Whitesides et al., 2001], [Xie et al., 2002], [Wang et al., 2004], [Blanco et al., 2008]. Hücrelerin tutunma özelliklerindeki değişim hücre şekli, türü, büyüklüğü ve aktin organizasyonundaki değişikliklerle ilişkilidir [Orend and Chiquet-Ehrismann, 2000] ve bir hücrenin bir substrata tutunmasında, hücre şekli, hücre yayılma davranışı, yüzeyin kimyasal kompozisyonu ve morfolojisi gibi hücre tutunma moleküllerinin substrat ile etkileşiminde önemli parametrelerdir [Cutis, 1986],

[Busscher et al., 1991], [Haas and Plow, 1994]. Davidson ve arkadaşları, normal hücreler topografik olarak yapılanmış yüzeylerle etkileşime girdiklerinde kanser hücrelerinden farklı şekilde yüzeyle etkileşime girdiğini ve normal hücrelerin plazma membranlarının hücre ile yüzey arasındaki temas alanının artışı sonucunda kolay olarak deforme olamadığını belirtmişlerdir [Davidson et al., 2009]. Hücrelerin bir yüzeye yapışabilmesi için o yüzeyin deseni ile hücre zarındaki fokal yapışma kümeleri arasındaki mesafenin yakın ölçekte olması gerektiği bilinmektedir [Haas and Plow, 1994], [Fuse et al., 2007], [Blanco et al., 2008].

6.2.4. Sağlıklı Hücrelerin Yüzeylerle Etkileşimi

Tıbbi sistemlerde kullanılan implant, aletler ya da cihazların (örneğin diyaliz cihazları) performanslarının belirlenmesinde ve kullanılabilirliklerinin belirlenmesi için sağlıklı hücrelerle özellikle de vücuttaki temel sıvı kan ile etkileşimlerinin belirlenmesi gerekir.

6.2.4.1. Kan ve İnsan Gingival Fibroblast (HGF) Hücrelerinin Yüzeylerle Etkileşimi

Kan; alyuvar (kırmızı kan hücreleri, eritrositler), akyuvar (beyaz kan hücreleri, lökositler) ve kan pulcukları (trombositler, platelet) olmak üzere üç ana hücre çeşidinden ve plazmadan oluşur [Web 6, 2009]. Akyuvar, alyuvar ve kan pulcuklarının özellikleri Tablo 6.2 de verilmiştir [Web 7, 2009]. Tablo 6.2'den de görüldüğü gibi kanda bulunan sağlıklı hücreler 1.5-20 mikron arasında değişen çaplara sahiptir. Akyuvarlar ise çekirdek ve sitoplazma yapılarına göre granülositler, limfositler ve monositler olmak üzere üç gruba ayrılır. Granülositler ise çekirdeklerinin boyanabilme özelliklerine göre nötrofiller, bazofiller ve eozinofiller olmak üzere üç grupta toplanırlar.

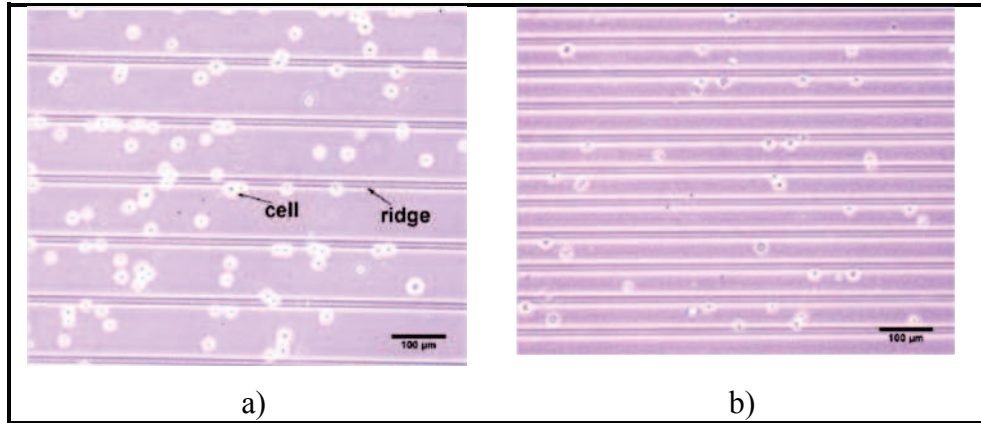
Tablo 6.2: Kanda bulunan hücrelerinin tipleri ve özellikleri.

Hücre Tipi	Eritrosit	Lenfosit	Nötrofil	Eozinofil	Bazofil	Monosit	Platelet
Beyut	6.7 – 7.7 µm	6 – 15 µm	12 – 14 µm	12 – 17 µm	14 – 16 µm	16 – 20 µm	1.5 – 3.5 µm
Hücre sayısı/Litre	3.9 – 6.5 x 10 ¹²	0 – 0.1 x 10 ⁹	2 – 7.5 x 10 ⁹	1.3 – 3.5 x 10 ⁹	0 – 0.44 x 10 ⁹	0.2 – 0.8 x 10 ⁹	150 – 400 x 10 ⁹
Diferansiyal lökosit sayısı	—	20 – 50 %	40 – 75 %	1 – 6 %	< 1 %	2 – 10 %	—
Büyüme süresi	5 – 7 gün	1 – 2 gün	6 – 9 gün	6 – 9 gün	3 – 7 gün	2 – 3 gün	4 – 5 gün
Olgun hücre ömrü	120 gün	?	6 Saat	8 – 12 gün	?	Ay/yıl	8 – 12 gün

Materyal yüzeylerine trombosit yapışması ve aktivasyonu, kanın pıhtılaşmasına neden olur. Kanın pıhtılaşması, yapay organ implantasyonları, yapay kan damarları ve diğer kanla temas eden aygıtların uygulamalarında işlevsel tehlikelere neden olarak zaman zaman insan yaşamını tehdit edici bir unsur oluşturur [Peppas and Langer, 1994], [Banerjee et al., 1997]. Kan ile uyumlu materyallerin üretimde, bu işlevsel problemlerin çözümü için kimyasal modifikasyon ile non-trombojenik endotel hücrelerin taklidine yönelik çalışmalar yapılmıştır [Zhang et al., 2003], [Kaladhar and Sharma, 2004]. Ancak bu yöntemler, çok fazla kimyasal sentez ve biyolojik-iyileştirmeler gerektirdiği için uygulamaları spesifik materyallerle sınırlıdır. 2005 yılında Sun ve arkadaşları [Sun et al., 2005], materyallerin kan uyumluluğu ile ilgili nano-yapı etkisini incelemek için nano-yapılı karbon nanotüp filmi üzerine farklı floroalkil zincir uzunluklu polikarbonat üretiler kaplayarak süperhidrofobik yüzey sentezlemişlerdir. Nano yapılı süperhidrofobik filmler, kanda bulunan trombositlere karşı anti-yapışma özellik sergiler ve trombositler yüzeye düşük miktarda bağlandığında bile süperhidrofobik yüzeylerin kullanımı ileri aktivasyon ve sonrasında gelen deformasyon ve yayılmanın önlenmesinde etkin bir stratejidir [Zhang et al., 2003], [Sun et al., 2005]. Bu strateji, düz yüzeylerin yanı sıra nano-yapılı süperhidrofobik yüzeylerin de kan uyumluluğu ile ilgili uygulamalarda

kullanılabilmesine olanak sağlar. Ayrıca insan lökosit hücrelerinin yüzeylere tutunma özellikleri incelenmiş ve yüzey sülfonasyonu yada başka fonksiyonel gruplarla modifiye edilen yüzeyler üzerine yapışan hücrelerin sayısının, modifiye edilmemiş yüzeylere göre daha yüksek olduğu saptanmıştır [Bruil et al., 1992].

İnsan gingival fibroblast hücreleri (HGF), dişetinde bulunan fibroblast yapıda hücrelerdir. Özellikle diş implantlarında, HGF hücreleri implantların etraflarını kaplayıp yumuşak bağ doku oluşturarak bunların çeneye uyum sağlamasını engellerler [Hormia and Kononen, 1994]. Bir diş implantının sağlıklı bir şekilde insanlarda kullanılabilir olabilmesi için, HGF hücrelerinin yapışmadığı yüzeylere ihtiyaç vardır. Eğer osteojenik hücrelerin, fibroblast hücrelere göre seçici olarak yapışacağı yüzeyler saptanırsa, o zaman implant uygulamalarında dokuya uyumun sağlanmasında çok faydalı olur. Soboyejo, osteosarkoma hücrelerinin (HOS) çubuk şeklinde mikrodesezli polidimetilsiloksan (PDMS) polimer yüzeyi ile etkileşimini farklı inkübasyon sürelerinde incelemiş ve hücrelerin çubuk şeklindeki mikrodesezlerin üzeri yerine oluklar boyunca yayıldığını belirlemiştir (Şekil 6.9) [Soboyejo, 2009].



Şekil 6.9: HOS hücrelerinin a) başlangıçtaki yayılma, b) 1 saatlik inkübasyon sonrasındaki yayılma davranışına dair mikroskop görüntüsü.

6.2.5. Kanserli Hücrelerin Yüzeylerle Etkileşimi

Kanser; DNA'nın hasar görmesi ile hücrenin normal davranışlarını düzenleyen mekanizmaların bozulması sonucu oluşur. Hücrede sinyal iletimi, hücre döngüsünün ve programlı hücre ölümünün düzenlenmesi gibi işlemlerde anahtar görev üslenen pek çok proteinin işlevi ilk kez hücrenin bu kontrolsüz çoğalmasına yol açan anormal

aktiviteleri nedeniyle tanımlanabilmiştir. Kanser, sadece hücre çoğalma hızını artırma duyarlılığındaki kontrolsüz büyümeye sebep olmaz. Aynı zamanda, normal hücrelerin çoğalmasının baskılanması sonucunda işlevlerini yerine getirememelerine de sebep olur [Almeida and Barry, 2010]. Tümör hücrelerinin bir yüzeye yapışma yeteneği ve şekil değişimi kanserli hücrelerin metastazında önemlidir. Tümör hücrelerinin çevre dokulara yayılmaya başladığı sırada, yapışma etkileşimleri ve aktin (protein) organizasyonunda ve hücre şeklinde önemli değişiklikler oluşabilir [Evans, 1992]. Bu yüzden, kanser hücrelerinin yapışma ve çevre dokulara yayılma kapasitesi ile kanser hücrelerinin şekli arasındaki ilişkileri kontrol eden mekanizmanın incelenmesi gerekir. Tümör hücrelerinin şekil ve yerleşiminde, çevresindeki sağlıklı hücreler ve bulundukları ortamın nicelikleri de önemli etkiler arasındadır [Korohoda et al., 1997] ve yüzey üzerine tutunan proteinin bağıl miktarı yüzey alanı ile orantılıdır [Kim et al., 2005].

6.2.5.1. Kanserli Lösemi Hücrelerinin (L1210) Yüzeylerle Etkileşimi

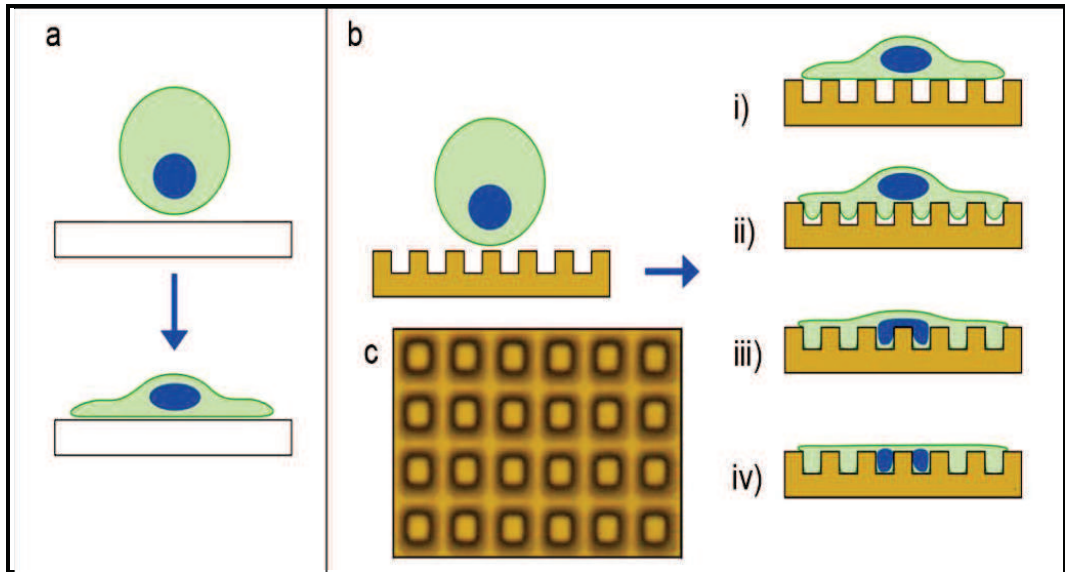
Lösemi, kan hücrelerinin özellikle de akyuvarların normalin üzerinde çoğalması ile kendini gösteren ve normal kan hücrelerinin üretilme kabiliyetini engelleyen bir kanser türüdür. Lösemi kan ya da bağışıklık sistemi hücrelerinden gelişir. Kan hücreleri kemik iliği tarafından yapılır ve bu kan yapıcı hücreler kemik iliği içinde dağılmış olan ana hücreler (mast cell) ve ön ana hücreler tarafından üretilirler. Lenfosit hücreleri olgunlaştıktan sonra işlevlerine göre farklılaşarak kana geçerler, Lösemi hücreleri ise farklılaşma yerine olgunlaşmanın erken aşamasında durumlarını koruyarak kana geçerler ve bölünme yeteneklerini sürdürürler. Yüksek sayıdaki olgunlaşmamış ve malign (kötü huylu kanser hücresi), hücrelerin normal ilik hücrelerinin yerini alması ile iliklerde hasar meydana gelir. Böylece kan pıhtılaşmasında rol oynayan plateletler ve savunmada rol oynayan lökositlerin sayısı azalarak bu hücrelerin yerini yapısı bozulan ve uygun işlev görmeyen lösemi hücreleri alır. Lösemi hücreleri normal kan hücreleri ile yaklaşık olarak 16-20 mikron çaplı olarak aynı boyuttadır ancak farklı görünümündedirler [Klosterman, 2006].

L1210 lösemi hücreleri farenin intraperitoneal boşluğunda hücre süspansiyonu olarak büyütülerek elde edilir. Bunların katılara yapışma özellikleri incelenmiş ve

cama yapışmadıkları halbuki embriyonik fibroblast mono tabakaları üzerine kolaylıkla bağlandığı saptanmıştır [Wojciak and Ehrlich, 1990]. Ayrıca L1210 hücrelerinin sülfolanmış PS yüzeyine tutunmasında L1210 hücrelerinin α -aktin ve F-aktin dağılımlarının yapışma performansını etkilediği ve yüzeydeki sülfü grubu ($-SO_3H$) yoğunluğuna bağlı olarak L1210 hücrelerinin tutunma performansı lineer olarak arttığı saptanmıştır [Kowalczyńska et al., 2003].

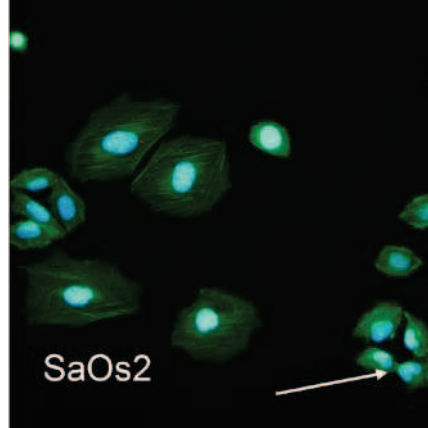
6.2.5.2. Kanserli Kemik Hücrelerinin (Saos-2) Yüzeylerle Etkileşimi

Kanserli hücrelerin yüzeylerle etkileşim mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamış bir konudur ve araştırması devam etmektedir. Ancak kanserli kemik hücrelerinin düz yada mikrodeseanlı yüzeylerle etkileşimine dair olası tutunma davranışı Şekil 6.10'da verilmiştir [Davidson et al., 2009]. Düz yüzeyler üzerinde kanserli hücrelerin yayıldığını (Şekil 6.10 a)), mikrodeseanlı yüzeylerde ise 4 olası şekilde yayılma gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 6.10 i-iv). Mikrodeseanlı yüzeylere yapışma davranışına dair olası durumlar şu şekilde özetlenebilir: Hücreler yüzeyle az etkileşim kurarak yayılabilir (Şekil 6.10 i)), hücreler yüzey topografisine adapte olarak yayılabilir (Şekil 6.10 ii)), hücre çekirdekleri deforme olarak yüzey topografisine adapte olarak yayılabilirler (Şekil 6.10 iii) ve iv)).



Şekil 6.10: a) düz yüzeylere tutunma davranışı, b) ve c) mikrodeseanlı yüzeyin temsili şekli ve i-iv) mikrodeseanlı yüzeylere olası tutunma davranışı.

Saos-2 hücreleri osteojenik hücrelerdir ve kemik implantlarında HGF hücrelerinin implantların etraflarını kaplayıp yumuşak bağ doku oluşturarak çeneye uyum sağlamasını engellemesi amacıyla güçlü tutunma davranışı sergilemesi istenen hücreleridir. İnsan osteosarkoma türevi hücreleri (Saos-2) (Şekil 6.11), katı yüzey üzerinde küçük yüzey alanlarında yayılır ve uzun inkübasyon sürelerinde yayılma eğilimleri artar [Davidson, 2012].



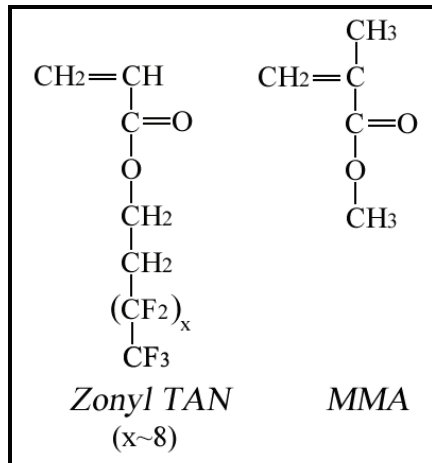
Şekil 6.11: Kanserli kemik hücresi Saos-2 nin floresans mikroskop görüntüsü.

Myllymaa ve arkadaşları, Saos-2 hücrelerinin farklı hidrofobluk derecesine (72, 82 ve 100° temas açılı) ve yüzey enerjisine sahip mikrodesezli polidimetilsiloksan yüzeyine tutunma davranışını incelemişleridir [Myllymaa et al., 2009]. Saos-2 hücrelerinin katı yüzeye tutunma performansını temas açısı ve yüzey enerjisinin etkilediğini ve yüzey enerjisinin polar komponenti ile doğru orantılı olarak tutunma gösterdiğini belirlemişlerdir.

7. MATERİYAL – METOT

7.1. Kullanılan Monomerler, Ticari Polimerler ve Diğer Kimyasalların Özellikleri

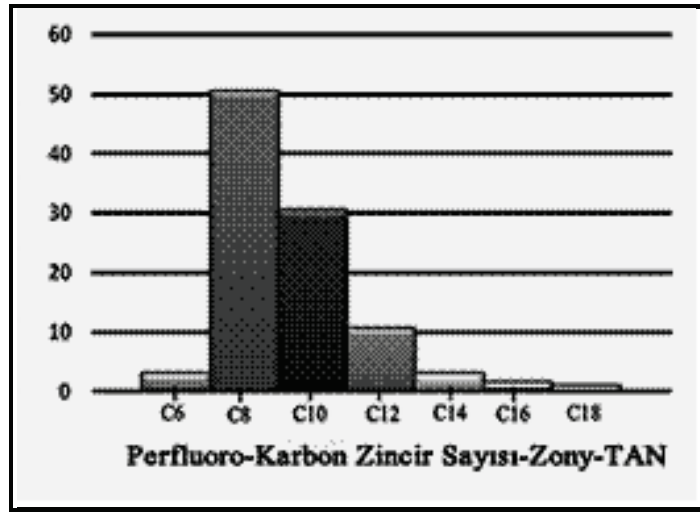
Tez kapsamında polivinilalkol (PVOH, Merck, Mw=160.000), polistiren (PS, Sigma Aldrich, Mw = 350.000; Petkim, Mw = 230.000 ve Mw = 140.000), yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE, Basell Inc, HOSTALEN-GM8255, Mw > 1.000.000; Petkim, pellet enjeksiyon grade (I 668 UV), Mw = 500.000 ve Mw = 250.000), polipropilen-polietilen kopolimeri (PPPE, Dow Chemical Co., Versify 2300, wt % 12 polietilen içerikli), etilen vinil asetat kopolimeri (EVA-12, DuPont Inc., ELVAX 660, wt %12 Vinil Asetat içerikli) polimerleri ticari polimerleri ve tez kapsamında sentezlenen TAN-MMA kopolimerinin kopolimerizasyonunda ise perfluoro etil alkil akrilat (Zonyl-TAN, Dupont) ve endüstriyel monomer olarak metil metakrilat (MMA) kullanılmıştır. Kullanılan monomerlerin açık formülleri Şekil 7.1’de görülmektedir.



Şekil 7.1: Kullanılan monomerlerin açık formülleri.

Kullanılan floro monomerler, Dupont firmasının Türkiye yetkili bayisinden satın alınmıştır ve ilave bir saflaştırma yapılmadan direk kullanılmıştır. Zonyl-TAN monomeri 6-18 arasında -CF₂ sayısı içeren bir monomer karışımıdır. Şekil 7.2’de -CF₂ sayının Zonyl-TAN monomeri içerisindeki % dağılımı görülmektedir ve Zonyl-TAN monomer dağılımı (-CF₂ sayısı yaklaşık 8) dar bir dağılıma sahiptir [Web 8, 2009]. Bu sayılar kesin olmamakla birlikte, monomer ortalama molekül ağırlıkları

göz önüne alınarak hesaplanır. Ayrıca Tablo 7.1’de kullanılan monomerlerin bazı fiziksel özellikleri görülmektedir.



Şekil 7.2. Zonyl- TAN monomer karışımları CF₂ sayısının % dağılımı.

Tablo 7.1: Kullanılan monomerlerin bazı fiziksel özellikleri.

Fiziksek özellikler	Zonyl-TAN	MMA
Cas Numarası	27905-45-9	80-62-6
Molekül Ağırlık (g/mol)	569	100.12
Formu (25°C)	Katı	Sıvı
Erime Sıcaklığı (°C)	50-60	-48
Kaynama Noktası (°C)	100-220	101
% Flor atom içeriği	63.5	-
Yoğunluk (g/mL,25°C)	-	0.94
Parlama Noktası (°C)	>100	435

Kopolimer sentezinde başlatıcı olarak AIBN (Sigma Aldrich) ve solvent olarak CO₂ (Linde Gaz) kullanılmıştır. AIBN hiçbir saflaştırma işlemine tabi tutulmadan satın alındığı gibi kullanılmıştır. Ayrıca sentezlenen polimerlerin saflaştırılması işleminde kullanılan toluen ve metanol çözümleri teknik kalitede olarak Tekkim firmasından alınmıştır. Ayrıca ince film kaplamaların oluşturulması sırasında, Tekkim’den temin edilen ksilen, toluen ve Merck’den temin edilen tetrahidrofuran (THF), ve etanol (EtOH) çözücü veya çöktürücü solvent olarak kullanılmıştır. Sentezlenen polimer yüzeylerin temas açısı ölçümlerinde kullanılan saf su, diodometan

(MeI₂), formamid, α -bromo naftalin (α -BrNaft), etilen glikol test sıvıları ise Merck firmasından satın alınmıştır.

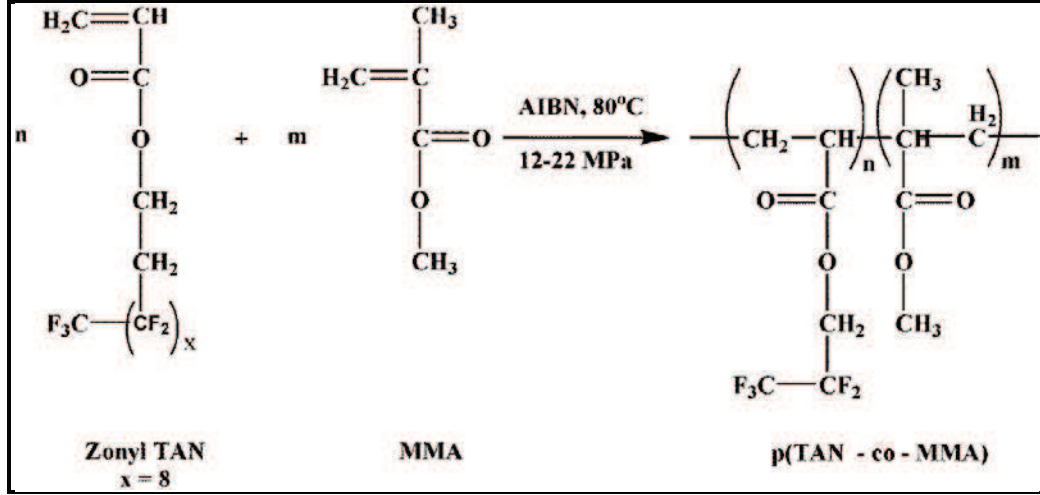
7.2. Kullanılan Protein, Hücreler ve Biyolojik Değerlendirme Kimyasallarının Özellikleri

Tez kapsamında L1210 (Fare lösemi hücreleri, ATCC® CCL-219), insan primer lökosit (Tam kandan), Saos-2 (insan osteosarkoma hücreleri, ATCC® HTB-85™) ve HGF (insan Gingival Fibroblast), NIH 3T3 fibroblast hücreleri olmak üzere toplam 5 çeşit hücre ortamı ve insan plazma fibronektin proteini kullanılmıştır. İnsan primer lökosit hücreleri, tam kandan Histopaque (Sigma) kullanımı ile yoğunluk metoduyla izole edilerek elde edilmiştir. HGF hücreleri Prof. Dr. A. U. Ural (GATA, Ankara, Türkiye) tarafından kullanılmak üzere verilmiştir.

Biyolojik denemelerde kullanılan kimyasalların tümü yurtdışından temin edilmiştir. Biyolojik denemelerde kullanılan kimyasallara dair detaylar: Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) hücre ortamı, Fetal bovin serum (FBS), penisilin/streptomisin, tripsin-etilendiamintetraasetik asit (EDTA), Hank's Balanced tuz çözeltisi (Hank's Balanced Salt Solution, HBSS), MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromid), TRITC-konjüge Phalloidin (Sigma), TO-PRO (Invitrojen) boya, L-Glutamin, Penisilin-Streptomisin, at serumu, kalsein, gluteraldehit, PBS (fosfat tamponlu tuz çözeltisi).

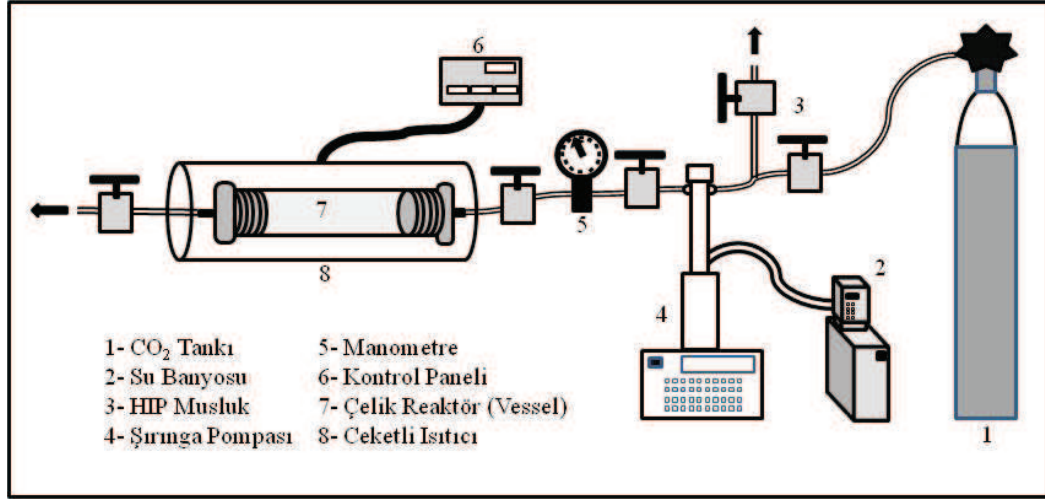
7.3. CO₂-Genişletilmiş Monomer Ortamında Polimerizasyon

MMA CO₂-sevmeyen monomerlerdir ve CO₂ ortamında polimerizasyonlarında belli basınç ve sıcaklıklarda homojen faz verirken, polimerizasyon başlar başlamaz, polimer zincirlerinin büyümesi ile birlikte, polimer zincirleri CO₂ içinde çözünmez ve heterojen faz verir. Bu nedenle CO₂ içerisinde MMA'ın Zonyl-TAN ile kopolimerleri heterojen fazda yürür. Tez kapsamında, CO₂ ortamında p(Zonyl-TAN-ran-MMA) CO₂-genişletilmiş monomer fazında ve heterojen polimerizasyon ile basınç, monomer konsantrasyonu, reaksiyon süresi gibi polimerizasyon parametrelerinin değiştirilmesi ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 7.3).



Şekil 7.3: p(Zonyl-TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin CO₂-genişletilmiş monomer fazda heterojen kopolimerizasyon reaksiyonu.

Kopolimerler yüksek basınca dayanıklı silindir şeklindeki paslanmaz çelik reaktörlerde yapılmıştır (Şekil 7.4). Kopolimer sentezinde monomerler hassas terazide tartılır. Toplam monomer miktarının ağırlıkça %1'i kadar AIBN ile monomerler reaktör içerisine konur. Reaktör içerisinden çok yavaş hızda bir miktar CO₂ geçirilerek ortamdaki hava ve nem uzaklaştırılır. Reaktör çıkış vanası kapatılarak, daha önce kalibrasyonla ayarlanmış miktarda CO₂ basılır. Daha sonra reaktör istenilen sıcaklığa etrafında çevrili olan ısı bantları ile ayarlanarak getirilir. Isı bantları reaktörü, hızlı bir şekilde istenilen sıcaklığa ($\pm 0,1^\circ\text{C}$ sıcaklık duyarlılığında) getirilir. Polimerizasyon süresi tamamlandıktan sonra CO₂ yavaşça reaktör içerisinden boşaltılır ve reaktör oda sıcaklığına soğutulur. Reaktör açılır ve kopolimer toplanır. Reaksiyona girmemiş monomer veya kısa zincirli oligomerler kopolimerin toluende çözülüp, metanolde çöktürülmesi ile uzaklaştırılır. Çökelek süzülüp, bir gün oda sıcaklığında bekletildikten sonra, 1 gün vakum etüvünde kurutulur. Vakum etüvünde sabit tartıma gelen polimer tartılarak gravimetrik olarak verim hesabı yapılır.

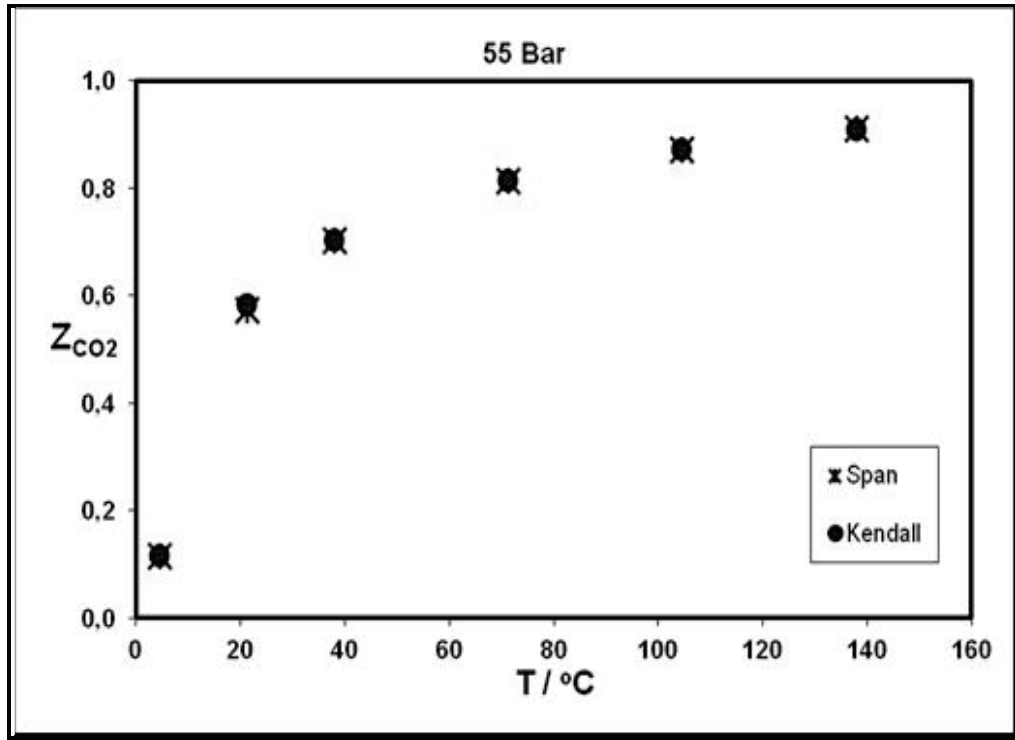


Şekil 7.4: CO₂ ortamında polimerizasyon sistemi.

7.3.1. CO₂ Sistem Kalibrasyonu

CO₂ ortamında gerçekleştirilen polimerizasyonlarda çelik reaktör içerisine basılan CO₂ miktarının bulunması amacıyla polimerizasyon öncesinde sistem kalibrasyonu gerçekleştirilmiştir. Sistem kalibrasyonunun detayları aşağıda yer almaktadır.

Sistem kalibrasyonu kısaca şırınga pompasındaki saf CO₂'in borular vasıtasıyla denemenin yapıldığı reaktöre ne kadar aktarıldığının bir göstergesidir. Bu kalibrasyon ile ortama basılan CO₂ miktarı hesabı tam olarak yapılmış olur ve kapalı bir sistem olduğu için, şırıngadan aktarılan CO₂, sistem boruları içindeki ve reaktördeki CO₂ toplamına eşit olacağı için deney sisteminin kontrolü de bu şekilde yapılmış olur. Isco şırınga pompasından, reaktör içerisine basılan CO₂ miktarı hesabı, $PV = Z_{CO_2} nRT$ gaz denklemi kullanılarak yapılmıştır ve bu gaz sistemdeki maksimum gaz miktarıdır. Bu denklemde tek bilinmeyen olan CO₂ sıkıştırılabilirlik faktörüdür (Z_{CO_2}). Literatürde 1951 yılında Kendall ve Sage tarafından Z_{CO_2} değerleri deneysel olarak bulunmuştur [Kendall and Sage, 1951]. Ancak bu sonuçlar çok dar bir alanda deneysel veriler içermektedir. Bu yüzden denemelerdeki 0-30 MPa ve 0-150°C arası Z_{CO_2} değerlerinin hesaplanması gerekmektedir. Bu amaçla, CO₂ gazının sıcaklık ve basınca göre yoğunluğunun verildiği Span ve Wagner çalışması kullanılmıştır [Span and Wagner, 1996]. Şekil 7.5'de 55 bar basınçta, 0-140°C arası değişen sıcaklıkta Z_{CO_2} değerlerinin, Kendall deneysel sonuçları ile Span ve Wagner verileri ile hesaplanan değerlerinin karşılaştırılması görülmektedir.



Şekil 7.5: Deneysel Z_{CO_2} değerlerinin hesaplanan değerlerle karşılaştırılması.

Şekilde 7.5’de de görüldüğü gibi deneysel değerleri ile hesap değerleri tam örtüşmektedir. Bu örtüşme, sıkıştırılabilirlik faktörü rapor edilmemiş, kendi çalışma aralığımızda Span ve Wagner sonuçları ile genişletme imkanı tanımıştır.

7.3.2. Sentezlenen Polimerlerin Karakterizasyonu

Sentezlenen kopolimerlerin polimer karakterizasyonlarında ^1H -NMR, GPC ve DSC aletleri kullanılmıştır. Ayrıca molekül ağırlıkları GPC’nin yanı sıra Ubbelohde viskozimetre kullanımı ile intrinsik viskozitelerin belirlenmesi şeklinde de rapor edilmiştir.

7.3.2.1. Kopolimerin Monomer İçeriğinin, Moleküler Ağırlığının ve Termal Geçiş Sıcaklıklarının ^1H -NMR, GPC, Ubbelohde Viskozimetre ve DSC ile Belirlenmesi

Kopolimer içerisindeki, monomer yüzdeleri Inova-500 MHz spektrometre kullanılarak ^1H -NMR spektrumlarından tespit edilmiştir. Cihazda çözücü olarak

CDCl₃ kullanılmıştır. NMR değerleri iç standart TMS'ye karşı ppm olarak kayıt edilmiştir. Kopolimerdeki karakteristik piklerin altında kalan alan hesabından kopolimerdeki komonomer oranları hesaplanmıştır. H-MNR piklerinin alan hesaplamaları için "MestRec" adlı bilgisayar programı kullanılmıştır.

Sentezlenen kopolimerlerin sayıca (M_n) ve kütlece (M_w) molekül ağırlıkları GPC (Agilent 1100 GPC, Waters Styragel HR4E ve HR5E kolonları ile birlikte) cihazıyla, mobil faz olarak kromatografik saflıkta THF kullanılarak ölçülmüştür. GPC cihazı molekül ağırlıkları 10.000 ile 1.000.000 arası değişen primler standart PMMA ve PS ile kalibre edilmiştir. Kolondan polimer çözeltisi geçiş süresi 0,3 mL/dk olarak ayarlanmıştır.

Kopolimer intrinsik viskozite değerleri (η) Ubbelohde viskozimetresi (Çap=3.15x10⁻⁴ m, Ref. no: 50110) kullanılarak ölçülmüştür. Kopolimerler klorofom içerisinde 1.7 ile 10.0 g/dL arasında değişen 8 farklı konsantrasyonda hazırlanır. Önce saf klorofom viskozimetreden geçiş süresi bulunur. Saf kloroformun 3,15x10⁻⁴ m çapına ait Ubbelohde viskozimetresinden ortalama akış süresi 43 sn' dir. Daha sonra sırasıyla derişikten seyreltiğe doğru tüm kopolimer çözeltilerinin akış süreleri ölçülür. Her bir ölçüm üç kez, aralarında maksimum 1 sn' lik bir sapma olacak şekilde tekrarlanır ve ortalaması alınır. Böylece, polimer konsantrasyonuna bağlı olarak Ubbelohde viskozimetresinden ortalama akış süreleri hesaplanır. Polimer çözeltilerinin ortalama akış sürelerinin, saf çözücünün akış süresine oranı relatif viskozite (η_r) değerini verir Buradan spesifik viskozite değerine $\eta_{sp}=\eta_r-1$ ile hesaplanır. İntrinsik viskozite η değeri ise, (η_{sp}/c) ile c arasında çizilen grafiğin c=0 noktasındaki değeridir. Kopolimer viskozite sonuçları ve GPC sonuçları MH denkleminde yerine konarak kopolimer Mark-Houwink (M-H) sabitleri olan K ve α değerleri hesaplanmıştır.

$$[\eta] = K (M_v)^\alpha \quad (7.1)$$

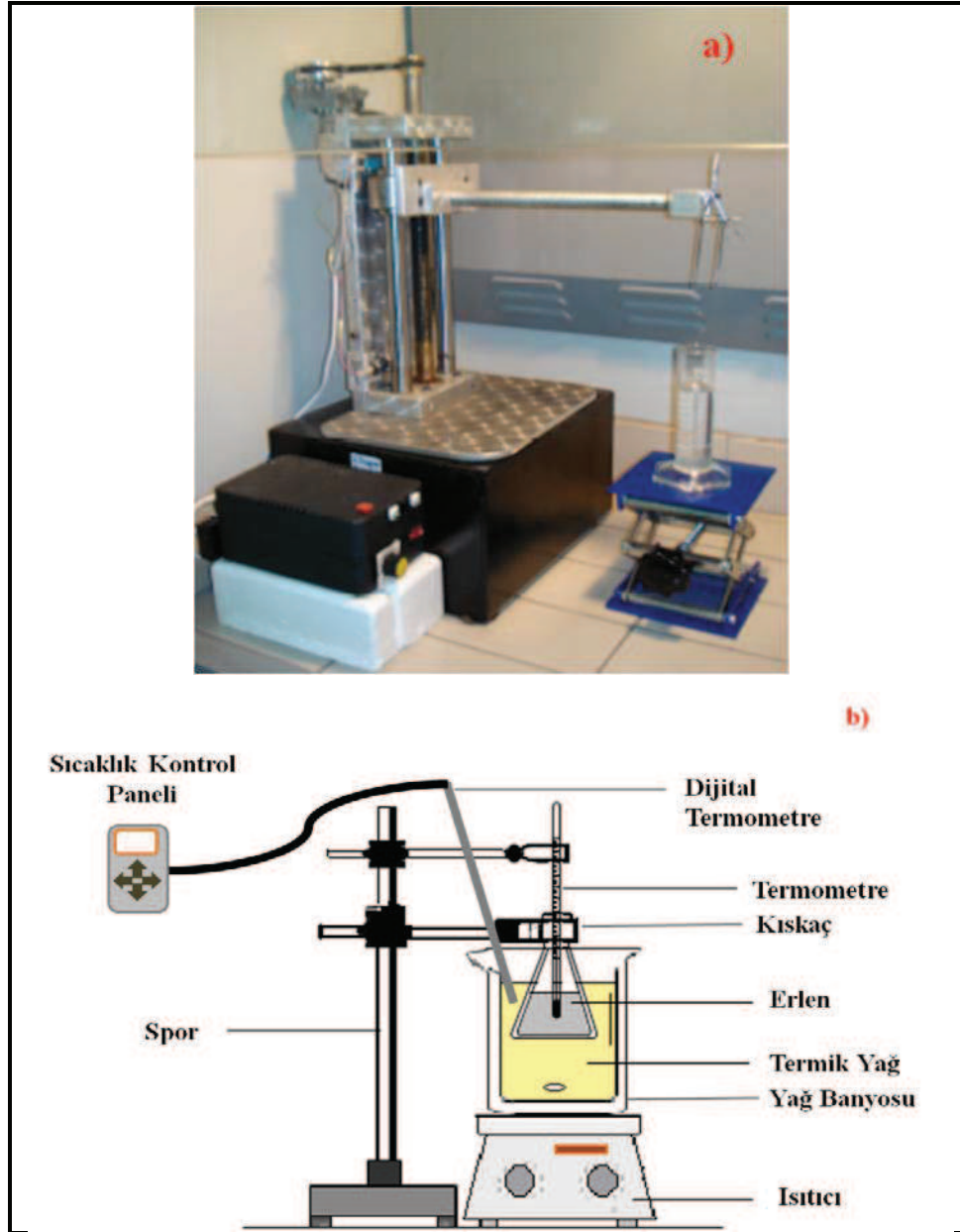
Kopolimer camısı geçiş sıcaklığı (T_g) değerleri, Perkin Emler Jade DSC aleti kullanılarak bulunmuştur. T_g ölçümlerinde sıcaklık taraması 5°C/dakika olacak şekilde -50 ile 150°C arası yapılmıştır. T_g hesaplamalarında ikincil ısıtma eğrileri kullanılmıştır.

7.4. Daldırmayla Kaplama Yöntemi ile Cam Lam/Primer Kaplı Cam Lam Üzerine Polimerlerin İnce Film Kaplanması

Polimer ince filmlerin kaplanması işlemi öncesinde ($\phi=13$ mm ve 15 mm) yada standart (76x26 mmxmm) cam lamalar kromik asit çözeltisi kullanılarak temizlenmiştir. Kromik asit çözeltisinin hazırlanması için, 25 g potasyum kromatın üzerine yaklaşık 50 mL saf su ilavesi sonrasında çözeltinin karıştırılarak potasyum kromatın tamamen çözülmesi sağlanır. Daha sonra üzerine 500 mL derişik sülfürik asit çözeltisi yavaş yavaş ve aralıklı olarak eklenerek karıştırılır, bir müddet çözeltinin soğuması beklenerek aynı işlem 500 mL sülfürik asit çözeltisinin tamamen eklenmesine kadar devam ettirilerek kromik asit çözeltisi hazırlanmış olur. Kromik asit çözeltisinde 6 saat bekletilen yuvarlak cam lamalar önce musluk suyu altında asitten tamamen arınana kadar yıkanır ve sonra bunların üzerini tamamen kapatacak şekilde saf su ilave edilerek 1 saat bekletilir. Bu bekletme işleminden sonra camlar de-iyonize su ile tek tek yıkanarak 100°C’de etüv içerisinde kurutulur. Ayrıca kaplamalar cam lamalar yerine poliepoksi primer kaplı yüzeyler üzerinde de gerçekleştirilmiştir. Poliepoksi primer çözeltisi iki komponentli 404 yapıştırıcısının standart lamalar için 50 mg/mL konsantrasyonda kloroform içerisinde çözülmesi sonrasında daldırmayla kaplama yöntemi kullanılarak standart lamaların çift taraflı kaplanması sonrasında 1 gün bekletilip 1 saat 100°C sıcaklıkta çapraz tutunması için etüvde bekletilmesi prosedürüne göre gerçekleştirilmiştir.

Kaplamalarda kullanılan mekanik daldırma cihazı, dik konumda 75 ila 764 mm/dakika hızda kontrollü olarak hareket edebilmektedir. Kaplamalar, yapılan ön denemeler neticesinde en uygun morfolojinin oluşmasını sağlayacak hızın belirlenmesi sonucunda, sabit daldırma hızında, yuvarlak/standart cam lamin 1 dakika kaplama çözeltisinde bekletilmesi ve sonrasında tekrar aynı hızda geri çekilmesi ile çift taraflı olarak kaplanması ile gerçekleştirilmiştir. Kaplamaların oluşturulduğu mekanik daldırma cihazı ve deney düzeneğini içeren sistem Şekil 7,6’da görülmektedir. Polimer kaplanmış yuvarlak/standart cam lamalar önce 3-4 saat desikatörde tutulmuş ve sonrasında 30°C’de vakum etüvünde 1 gün bekletilerek kaplama içerisinde kalan eser miktarda da olsa çözücünün tamamen uzaklaşması sağlanmıştır (aksi takdirde bu solvent toksik madde olarak hücre ölümüne sebep olabilmektedir). Hazırlanan polimer çözeltisinin derişimine, kaplama sıcaklığına ve

kaplama hızına bağı olarak 0,5 mikrometre ile 2 mikrometre arasında kalınlığa sahip ince film polimer kaplamalar oluşturulmuştur. Kaplama kalınlıkları yuvarlak camların kaplama öncesi ve sonrasında hassas terazi ile ölçülmesi sonucunda ağırlık artışının yuvarlak cam lamin yüzey alanına oranlanması ile tespit edilmiştir.



Şekil 7.6: a) Oda sıcaklığında kontrollü daldırma cihazı ile gerçekleştirilen sistem fotoğrafı, b) Sıcak polimer çözeltilerin hazırlandığı deney düzeneği.

Tez kapsamında hazırlanan homopolimer, kopolimer ve polimer karışımlardan hazırlanan ince film yüzeylerinin tamamında bu bölümde verilen deneysel işlem sırası gerçekleştirilmiştir. Ancak hazırlanan yüzeyler için polimer, çözücü, kaplama

sıcaklığı, kaplama konsantrasyonu ve daldırma hızı gibi kaplama özelliklerini değiştiren parametreler polimere özgü olması nedeniyle aşağıdaki bölümlerde bunlar detaylandırılmıştır.

7.4.1. Homopolimer ve Kopolimerlerden Pürüzsüz Polimerik Yüzeylerin Hazırlanması

Tez kapsamında pürüzsüz polimerik yüzeylerin hazırlanmasında çapraz bağlı polivinil alkol (PVOH), polistiren (PS), sülfolanmış-polistiren (s-PS) ve farklı bileşimlerde hazırlanmış Zonyl-TAN ile MMA kopolimerleri (TAN-ran-MMA) kullanılmıştır. Tüm polimer çözeltileri kullanılan çözücünün kaynama noktasının 10°C altında çözülmesi ile hazırlanmıştır ve aşağıda kaplama şartları özetlenmiştir.

- **Çapraz Bağlı Polivinil Alkol (PVOH) Homopolimer Yüzeylerinin Hazırlanması:**

Çapraz bağlı PVOH yüzeylerin hazırlanması işlemi iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada 10 mg/mL konsantrasyondaki PVOH çözeltisi su içerisinde 90 °C sıcaklıkta çözülerek hazırlanmış ve hazırlanan PVOH çözeltisi oda sıcaklığına kadar karıştırmaya devam edilerek soğutulmuştur. Oda sıcaklığındaki PVOH çözeltisi kontrollü daldırma tekniği kullanılarak 312 mm/dk hızda yuvarlak cam lamalar üzerine çift taraflı olarak kaplanmıştır. PVOH kaplı cam lamalar 1 gün desikatörde kurutulmuştur. İkinci aşamada PVOH kaplamanın çapraz bağlı hale getirilmesi için gerçekleştirilmiştir ve yuvarlak cam lam üzerinde oluşturulan PVOH kaplaması glutraldehit çözeltisi içerisinde 2 saat bekletildikten sonra saf su ve sonrasında de-iyonize su ile yıkanarak vakum etüvünde 50°C sıcaklıkta 1 gün bekletilmesi sonrasında çapraz bağlı PVOH yüzeyleri hazırlanmıştır.

- **PS Homopolimer Yüzeylerinin Hazırlanması:**

PS homopolimer yüzeylerinin hazırlanmasında farklı molekül ağırlıklı PS polimerlerinin THF, toluen ve ksilen çözeltilerinden hazırlanması ve THF çözeltisi içerisinde hazırlanan PS çözeltisine kötü çözücü (etanol) ilavesi hazırlanan çözeltilerden PS yüzeyleri hazırlanmıştır. PS yüzeylerinin hazırlanmasında kullanılan PS polimerlerinin erime akışı indeksi (melt flow index, MFI) ve molekül ağırlık (M_w) özellikleri Tablo 7.2’de verilmiştir.

Tablo 7.2: PS homopolimerlerinin MFI ve M_w özellikleri.

Polimer ismi	MFI ölçüm koşulları	MFI değerleri (g/10 dk)	M_w
PS ₁	190 °C, 5kg	15.12	140.000
	190 °C, 2.16kg	2.81	
PS ₂	200 °C, 5kg	7.92-8.12	230.000
PS	-	-	350.000

PS₁, PS₂ ve PS polimerleri ksilen içerisinde 135°C’de 25 mg/mL konsantrasyonda çözölmüş ve 320 mm/dk kaplama hızında 120°C sıcaklıkta standart cam lamalar ve 404 poliepoksi primer kaplı cam lamalar üzerine kontrollü daldırma tekniğı ile ince film kaplamalar oluşturulmuştur. Ayrıca PS homopolimeri THF içerisinde 60°C ve toluen çözöcüsü içerisinde 100°C sıcaklıkta 10 mg/mL konsantrasyonda ve 320 mm/dk kapalama hızında kontrollü daldırma tekniğı kullanılarak hazırlanmıştır. Kötü çözöcü ilavesi ile hazırlanan PS yüzeyleri sadece 10 mg/mL konsantrasyonda THF çözöcüsü içersine etanol kötü çözöcüsü ilavesi ile 320 mm/dk kapalama hızında kontrollü daldırma tekniğı kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan tüm PS yüzeyleri 1 gün desikatörde kurutulduktan sonra vakum etüvünde 40°C’da 1 gün bekletilmiştir.

- Sülfolanmış PS (PS-sulfo) Homopolimer Yüzeylerinin Hazırlanması:

Yukarıda detayları verilen ve 10 mg/mL konsantrasyonda kontrollü daldırma tekniğı kullanılarak THF içerisinde hazırlanan PS yüzeyinin sülfonasyonu farklı deneme koşullarında gerçekleştirilmiştir. Yüzey sülfonasyonu için sülfürik asit (H₂SO₄) çözeltisi kullanılmıştır. Yüzey sülfonasyonu denemeleri H₂SO₄ (% 97) ve hacimce % 80, 60 ve 40 konsantrasyonlarda hazırlanan H₂SO₄ çözeltisi içerisinde farklı bekletme sürelerinde (1, 10, 20, 40 dk) PS yüzeylerinin bekletilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Yüzey sülfonasyonunda kullanılan tüm PS yüzeyleri 404 poliepoksi primer üzerine kaplanmış PS yüzeyleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Yüzey sülfonasyonu farklı konsantrasyonlardaki H₂SO₄ çözeltileri ve bekletme sürelerinde gerçekleştirilmiştir ve bekletilen PS yüzeyleri önce seyreltik H₂SO₄ çözeltileri ile en son saf su ve deiyonize su ile yıkanarak hazırlanmıştır. Sülfolanmış PS yüzeylerinin yıkanması sonrasında yüzeylerinde kalan suyun tam olarak buharlaşmasını sağlamak amacıyla desikatörde 1 gün bekletilmiştir.

- p(TAN-ran-MMA) Kopolimer Yüzeylerinin Hazırlanması:

Sk-CO₂ içerisinde farklı Zonyl TAN bileşimlerinde (mol % 0.75, 1, 3, 5, 7.5, 10) hazırlanan p(TAN-ran-MMA) kopolimerleri kloroform içerisinde ve THF içerisinde 50 mg/mL konsantrasyonda 60°C sıcaklıkta çözünerek daldırma tekniği ile 320 mm/dk daldırma hızında ve oda sıcaklığında, standart ve yuvarlak cam lamalar üzerine pürüzsüz ince film polimer yüzeyler sentezlenmiştir. Kaplanmış ince film p(TAN-ran-MMA) kopolimer yüzeyleri 1 gün desikatörde bekletilerek kurutulmuş ve 40°C de vakum etüvünde 1 gün bekletilerek kaplama içerisinde hapsolmuş eser miktarda da olsa çözücünün tamamen uzaklaşması sağlanmıştır.

7.4.2. Homopolimer, Kopolimerler ve Polimer Karışımlardan Pürüzlü Polimerik Yüzeylerin Hazırlanması

Tez kapsamında pürüzlü polimerik yüzeylerin hazırlanmasında yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE) homopolimeri, propilen-polietilen kopolimer (PPPE), etilen vinil asetat kopolimer (EVA-12) ve kötü çözücü ilavesi ile hazırlanmış p(TAN-ran-MMA) kopolimerleri kullanılmıştır. Tüm ince film polimerik kaplamalar kontrollü daldırma tekniği kullanılarak oluşturulmuş ve aşağıda kaplama şartları detayları özetlenmiştir.

- HDPE Homopolimer Yüzeyinin Hazırlanması: Tez kapsamında 3 farklı molekül ağırlığa sahip HDPE homopolimeri kullanılmıştır ve HDPE homopolimerine ait MFI ve M_w özellikleri Tablo 7.3’de verilmiştir.

HDPE, HDPE1 ve HDPE2 homopolimerleri ksilen içerisinde 30, 25, 20 ve 10 mg/mL konsantrasyonlarda 125°C sıcaklıkta çözülmüş ve 115, 120 ve 125°C kaplama sıcaklıklarında 320 ve 262 mm/dk kaplama hızlarında kontrollü daldırma cihazı kullanılarak ince film pürüzlü HDPE yüzeyleri hazırlanmıştır. Kaplanmış ince film HDPE polimer yüzeyi 1 gün desikatörde bekletilerek kurutulmuş ve 40°C de vakum etüvünde 1 gün bekletilerek kaplama içerisinde hapsolmuş eser miktarda da olsa çözücünün tamamen uzaklaşması sağlanmıştır.

Tablo 7.3: HDPE homopolimerinin MFI ve M_w özellikleri.

Polimer ismi	MFI ölçüm koşulları	MFI değerleri (g/10 dk)	M_w
HDPE	-	-	>1.000.000
HDPE₁	190 °C, 2.16 kg	0.09	500.000
	230 °C, 5 kg	0.69	
HDPE₂	190 °C, 2.16kg	4.4-6.5	250.000

- PPPE Kopolimer Yüzeylerinin Hazırlanması:

PPPE kopolimer yüzeyleri çözücü ve çözücü+kötü çözücü ortamında olmak üzere 2 farklı şekilde hazırlanmıştır. Çözücü ortamında hazırlanan PPPE kopolimer yüzeyleri için çözücü olarak ksilen, toluen ve THF kullanılmıştır. PPPE kopolimeri ksilen, toluen ve THF çözücülerini içerisinde ayrı ayrı sırasıyla 125, 105 ve 60°C sıcaklıklarda çözülmüş ve kontrollü daldırma tekniği kullanılarak 30, 25, 20 ve 10 mg/mL konsantrasyonlarda çözünme sıcaklıklarında ince film kaplamalar oluşturulmuştur. Kötü çözücü ilavesi hazırlanan PPPE yüzeylerinde kötü çözücü olarak etanol kullanılmıştır. Kaplanmış ince film pürüzlü PPPE polimer yüzeyleri 1 gün desikatörde bekletilerek kurutulmuş ve 40°C'de vakum etüvünde 1 gün bekletilerek kaplama içerisinde hapsolmuş eser miktarda da olsa çözücünün tamamen uzaklaşması sağlanmıştır.

- EVA-12 Kopolimer Yüzeyinin Hazırlanması:

Ağırlıkça % 12 vinil asetat içeren etilen vinil asetat kopolimeri (EVA-12) toluen içerisinde 10 mg/mL konsantrasyonda çözülmüş ve 60°C sıcaklıkta, 312 mm/dk sabit kaplama hızında ince film kaplamalar oluşturulmuştur. Kaplanmış ince film EVA-12 kopolimer yüzeyi 1 gün desikatörde bekletilerek kurutulmuş ve 40°C de vakum etüvünde 1 gün bekletilerek kaplama içerisinde hapsolmuş eser miktarda da olsa çözücünün tamamen uzaklaşması sağlanmıştır.

- Pürüzlü p(TAN-ran-MMA) Kopolimer Yüzeyinin Hazırlanması:

Pürüzlü p(TAN-ran-MMA) kopolimer yüzeyinin hazırlanmasında molce % 5 ve 10 Zonyl TAN içeren sk-CO₂ ortamında sentezlenen kopolimerler kullanılmıştır. p(TAN-ran-MMA) kopolimerleri 50 mg/mL konsantrasyonda THF içerisinde

çözölmüş ve çözeltiliye kötü çözücü farklı bileşimlerde etanol ilavesi sonrasında kontrollü daldırma tekniğı kullanılarak oda sıcaklığında, 320 mm/dk kaplama hızında çözeltili içerisinde 1 dk bekletilmek suretiyle çift taraflı pürüzlü ince film kaplamalar hazırlanmıştır. Hazırlanan p(TAN-ran-MMA) kopolimer yüzeyleri 1 gün desikatörde bekletilerek kurutulmuş ve 40°C’de vakum etüvünde 1 gün bekletilerek kaplama içerisinde hapsolmuş eser miktarda da olsa çözücünün tamamen uzaklaşması sağlanmıştır.

7.4.3. Polimer Karışımlardan Pürüzlü Mikrodesenli Polimerik Yüzeylerin Hazırlanması

Tez kapsamında hazırlanan pürüzlü mikrodesenli polimerik yüzeylerin hazırlanmasında p(TAN-ran-MMA)/PS, HDPE/PS ve PPPE/PS polimer karışımları kullanılmıştır. Mikrodesenli yüzeylerin hazırlanmasında mikro desen çapı/mesafesi gibi yüzey özelliklerinin ayarlanması için kaplama çözeltili konsantrasyonu, polimer karışım bileşimi, çözücü değişimi, kaplama hızı değişimi ve kullanılan polimer molekül ağırlıklarındaki değişim gibi parametreler baz alınmıştır. Tüm kapalamalar kontrollü daldırma cihazı kullanılarak cam ya da poliepoksi primer kaplı cam substratlar üzerinde kaplama çözeltili içerisinde 1 dakika bekletilerek hazırlanmıştır. Aşağıda bu parametrelerdeki değişimin detayları her bir polimer karışım grubu için detaylandırılmıştır:

- p(TAN-ran-MMA)/PS Polimer Karışımlardan Mikrodesenli Polimerik Yüzeylerin Hazırlanması:

p(TAN-ran-MMA)/PS polimer karışımlarda mikrodesenli polimerik yüzeylerin hazırlanmasında iki ayrı grup deney setinde oluşturulmuştur. Kullanılan molce % 5 ve ağırlıkça % 23 Zonyl-TAN içermektedir ve sk-CO₂ ortamında hazırlanmıştır. Birinci grupta, p(TAN-ran-MMA) kopolimerleri oda sıcaklığında ve PS homopolimeri 60°C’de THF çözücüsü içerisinde 50 mg/mL çözeltili konsantrasyonlarında çözümlenerek farklı bileşimlerdeki p(TAN-ran-MMA)/PS polimer karışımları hazırlanmıştır. Farklı bileşimlerde hazırlanan p(TAN-ran-MMA)/PS polimer karışımlarının bileşimleri 20/80; 50/50; 80/20 polimer karışım oranlarında hazırlanmıştır. İkinci grupta ise, birinci grupta hazırlanan polimer bileşimlerinde çözeltiler aynı şekilde THF içerisinde hazırlanmış ve karıştırılmış ve sonrasında

bulanma noktasına kadar farklı bileşimlerde kötü çözücü (etanol) ilavesi ile süperhidrofobik yüzeyler sentezlenmiştir.

- HDPE/PS Polimer Karışımlardan Mikrodeseanlı Polimerik Yüzeylerin Hazırlanması:

HDPE/PS polimer karışımlardan mikrodeseanlı polimerik yüzeylerin hazırlanmasında Tablo 7.2 ve 7.3’de verilen farklı molekül ağırlıklı HDPE ve PS polimerleri kullanılmıştır. HDPE/PS polimer karışımların hazırlanmasında polimer karışım bileşimi, polimer karışım konsantrasyonu, kaplama hızı, kaplama sıcaklığı, kaplama çözücüsü ve polimer molekül ağırlık değişimine bağlı olarak mikro desen çapı ve mikro desenler arasındaki mesafenin kontrolü hedeflenmiştir. Polimer karışım bileşimi olarak HDPE/PS: 40/60, 50/50 ve 60/40 polimer karışım bileşimleri; çözücü konsantrasyonu olarak 25, 20, 15 ve 10 mg/mL konsantrasyonlar; kaplama hızı olarak 748, 320 ve 262 mm/dk kaplama hızları; kaplama sıcaklığı olarak 125, 120, 115 ve 110°C kaplama sıcaklıkları; çözücü olarak ksilen, toluen yada ksilen-toluen çözücü karışımı; polimer molekül ağırlığı olarak Tablo 7.2 ve 7.3’de verilen farklı molekül ağırlıklı HDPE ve PS polimerleri kullanılmıştır. Herbir parametrenin kullanılan deney seti içindeki detayları Bölüm 8.4’de kendi içerisinde detaylandırılmıştır.

- PPPE/PS Polimer Karışımlardan Mikrodeseanlı Polimerik Yüzeylerin Hazırlanması:

PPPE/PS polimer karışımlardan mikrodeseanlı polimerik yüzeylerin hazırlanmasında çözücü olarak THF kullanılarak 25, 15 ve 10 mg/mL konsantrasyonlarda 60°C kaplama sıcaklıklarında cam yada cam üzerine poliepoкси primer kaplı substrat üzerine farklı polimer karışım bileşimlerinde (PPPE/PS: 10/90; 20/80; 40/60; 50/50; 60/40; 80/20; 90/10), farklı kaplama hızlarında (226-784 mm/dk hız aralığında) ve ayrıca aynı denemelerin kötü çözücü etanol ilave edilmesi ile hazırlandı. Değiştirilen kaplama şartlarına bağlı olarak deney koşulları Bölüm 8.5’de detaylandırılmıştır.

7.4.4. Polimer Karışımlardan Hazırlanan Polimerik Yüzeylerin Yüzey Sülfonasyonu ile Modifiye Edilmesi

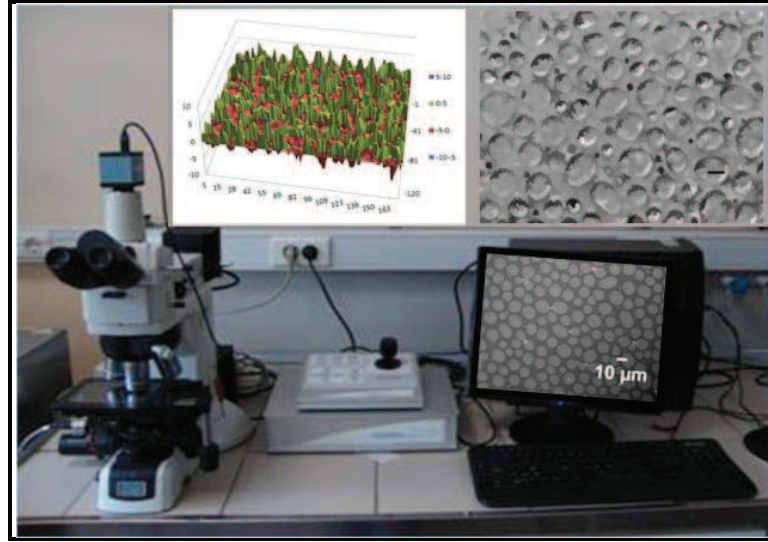
Bölüm 7.4.3.'de hazırlanma prosedürleri verilen farklı bileşimlerde hazırlanmış HDPE/PS ve PPPE/PS polimer karışım yüzeylerinin yüzey heterojenliğinin artırılması ve amfifilik yapı kazandırılması amacıyla sadece polimer karışım yüzeyindeki PS lokal bölgelerinin sülfolanacağı deney koşulları belirlenmiştir. Denemelerde yüzey sülfonasyonu için sülfürik asit çözeltisi kullanılmıştır. İnce film HDPE/PS ve PPPE/PS polimer karışımlarının yüzey sülfonasyonu uygun sülfürik asit konsantrasyonunda belli bekletme sürelerinde bekletilerek ve sonrasında deiyonize su ile yıkanarak gerçekleştirilmiştir. Polimer karışımı oluşturan HDPE ve PPPE polimerlerinin sülfolanmadığı ancak PS polimerinin sülfolandığı optimum sülfürik asit konsantrasyonu ve sülfürik asit içerisinde bekletme süreleri belirlenmiştir. Yüzey sülfonasyonu için deneysel detaylar HDPE/PS polimer karışımlar için Bölüm 8.4.4.'de ve PPPE/PS polimer karışımlar için Bölüm 8.5.4.'de yer almaktadır.

7.5. Polimerik Yüzeylerin Karakterizasyonu

Kontrollü daldırma yöntemiyle hazırlanan ince film kaplamaların yüzey özelliklerinin belirlenmesi amacıyla aşağıdaki yüzey analiz yöntemleri ve hesaplamaları kullanılmıştır.

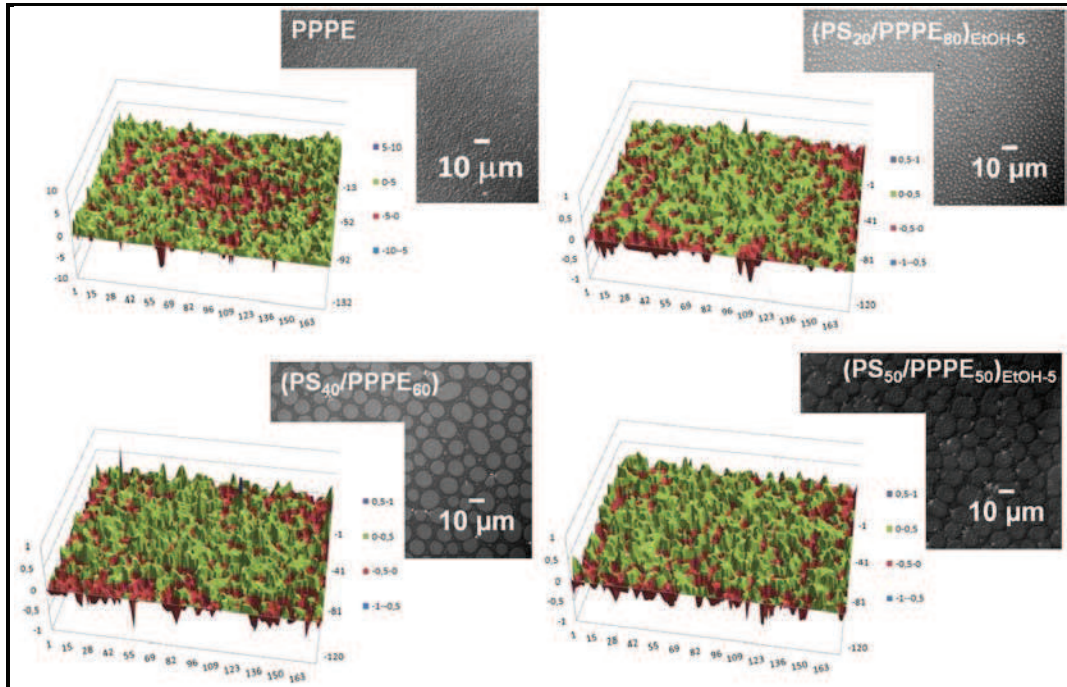
7.5.1. 2D Optik Mikroskop, 3D Yüzey Profilometresi ve SEM Kullanılarak Polimerik Yüzeylerin Görüntülenmesi

İnce film polimer kaplamaların yüzey morfolojilerinin belirlenmesi amacıyla Nikon SMZ-300 optik mikroskop kullanılarak x200, x500 ve x1000 büyütmelerde farklı bölgelerden 2D optik mikroskop görüntüleri çekilmiştir. Ayrıca hazırlanan ince film polimer yüzeylerin rms pürüzlülük (R_{rms}) değerlerinin ölçülmesi ve yüzey topografyasının oluşturulması için 3D yüzey profilometresi (Clemex kamera monte edilmiş Nikon-Eclipse-LV100D Mikroskop ve Clemex Professional 3-D modelleme (Image Analysis System)) kullanılmıştır (Şekil 7.7).



Şekil 7.7: Nikon-Eclipse-LV100D 2D optik mikroskobu ve 3D yüzey profilometresi.

Şekil 7.8’de hazırlanan bazı ince film polimer yüzeylerin 2D optik mikroskop ve 3D yüzey profilometresi ile elde edilen örnek görüntüleri verilmiştir. 2D optik mikroskop ve 3D yüzey profilometresi ölçümleri sonucunda seçilen yüzeylerin yüzey morfolojilerinin daha detaylı görüntülenebilmesi için Quanta 200 FEG model ESEM (Environmental Scanning Electron Microscope) görüntüleri x2000, x5000, x10000, x20000, x50000 ve x100000 büyütme için çekilmiştir.



Şekil 7.8: İnce film polimer yüzeylerin, 3D yüzey profilometresi ile elde edilen örnek görüntüleri ve 2D optik mikroskop görüntüleri.

7.5.2. Polimerik Yüzeylerin Temas Açısı Ölçümü ve Serbest Yüzey Enerjilerinin Belirlenmesi

Pürüzsüz, pürüzlü ve mikrodeseanlı pürüzlü polimer yüzeyler üzerinde su damlasının denge (θ_e), ilerleyen (θ_a) ve gerileyen (θ_r) temas açısı ölçümleri KSV-CAM-200 cihazı kullanılarak yapılmıştır (Şekil 7.9). Denge temas açısı (θ_e) ölçümleri için, yüzeyler üzerinde 5 μ L hacminde su damlası dispenser kontrollü bir hipodermik şırınga-iğne yoluyla oluşturulmuş ve damla profil görüntüsünün KSV-CAM-200 cihazında analizi yapılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar ölçüm alınan numunenin en az 5 farklı bölgesinden alınarak belirlenmiş ve alınan bu ölçümlerin ortalaması alınarak $\pm 1^\circ$ hassasiyette rapor edilmiştir. İlerleyen temas açısı (θ_a) ölçmek için yüzeyler üzerinde ilk olarak 3 μ L hacminde su damlası oluşturulmuştur. Daha sonra iğne damla ile temas halinde tutularak su damlasının hacmi 8 μ L' ye çıkarılmıştır. Damla hacmi arttırılırken, damla profilleri KSV-CAM-200 tarafından kaydedilmiş ve damla profillerinin analiz edilmesiyle θ_a hesaplanmıştır. Gerileyen temas açısı (θ_r) ölçümünde ise, 8 μ L hacmindeki su damlasından yüzey pürüzlülüğüne ve hidrofohluk derecesine bağılı olarak 4 veya 5 μ L hacminde sıvı iğne damla ile temas halinde iken geri çekilmiş ve kaydedilen damla görüntülerinin analiz edilmesiyle θ_r bulunmuştur. θ_r açısının tayini θ_e ve θ_a açılarının belirlenmesine göre daha zor olması nedeniyle ayrıca damla buharlaşması yöntemi kullanılarak θ_r temas açısı ölçümlerinin doğruluğı kontrol edilmiştir [Erbil, 2006]. Yüzey pürüzlülüğü ve kimyasal heterojenliğin bir ölçütü olan temas açısı karmaşası (CAH, contact angle hysteresis) değerleri ilerleyen ve gerileyen temas açısı farklarından hesaplanmıştır ($CAH=\theta_a-\theta_r$).



Şekil 7.9: KSV-CAM-200 Temas açısı ölçüm cihazı.

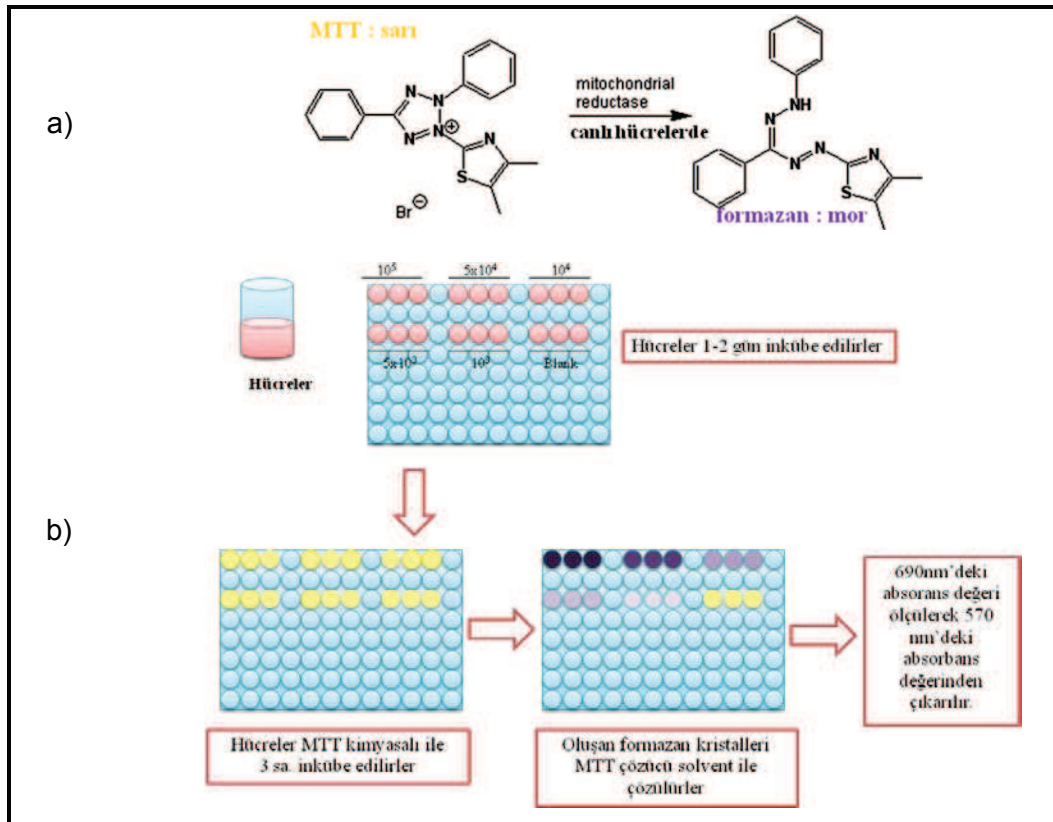
Pürüzsüz polimerlerin serbest yüzey enerjileri (SFE) değerleri ise ölçülen 5 μL hacimli su, MeI_2 , formamid, α -bromo naftalin ve etilen glikol θ_c değerleri kullanılarak, van-Oss Good yöntemiyle (asit-baz metodu) hesaplanmıştır (Eşitlik 4.14 ve 4.15) [Erbil, 2006].

7.6. Polimerik Yüzeylerin Biyolojik Değerlendirmeleri

Tez kapsamında L1210, lökosit, Saos-2 ve insan Gingival Fibroblast (HGF) hücreleri olmak üzere toplam 4 çeşit hücre ortamı kullanılmış ve bu hücrelerin farklı polimer yüzeylerine tutunma davranışlarının yanı sıra, uzun süreli kültür ortamında yüzeylerdeki morfolojileri ve hücre iskelet yapıları da incelenmiştir. Canlılık testlerinin yapılması, hücre ortamlarının hazırlanması ve yapılan denemelerdeki karakterizasyon denemelerinin detayları aşağıda anlatılmıştır. Polimerik yüzeylerin biyolojik değerlendirmeleri, tezimin bir parçası olan TUBİTAK 110M181 numaralı 1001 araştırma projesi ortağı Bilkent Üniversitesi, UNAM araştırma merkezinde gerçekleştirilmiştir.

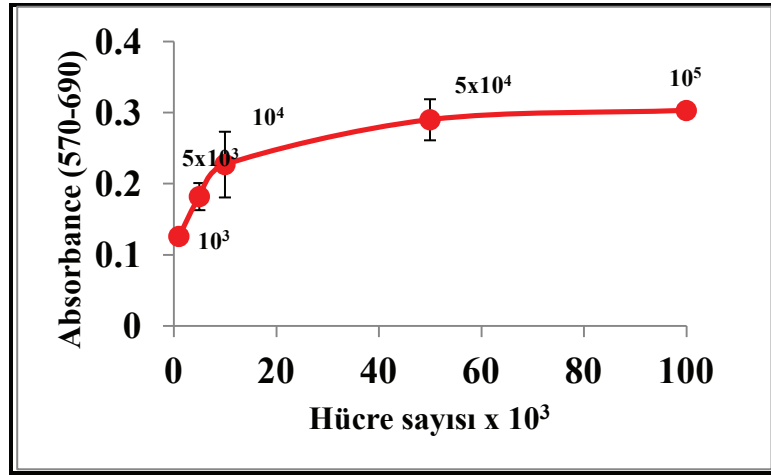
7.6.1. Biyolojik Değerlendirmelerde Kullanılan Tüm Polimerik Yüzeylerin Toksisite Test Prosedürleri

Hücre çalışmalarında ilk basamak, polimer kaplı yüzeylerin toksisite testi sonucunda toksik olmayan biyoyumlu yüzeylerin seçilmesi işlemidir. Bunun için ilk aşamada sıvı azotta saklanan NIH 3T3 fibroblast hücreleri çözülerek kültürüne başlanmış, kültür şartları optimize edildikten sonra toksisite testi için gerekli hücre sayısı optimize edilmiştir. Bunun için 96 kuyucuğa sahip hücre kültürü tabaklarında 5 farklı hücre sayısı/kuyucuk denenmiştir. Her bir hücre sayısı için 3 kuyucuk kullanılmıştır (n=3). Denenen hücre sayıları; 10^3 , 5×10^3 , 10^4 , 5×10^4 ve 10^5 hücre/kuyucuktur. Hücreler ekildikten 1 gün sonra MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) test yöntemi ile 570 nm’de spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülmüştür. Deneysel metodun detayları Şekil 7.10’da verilmiştir.



Şekil 7.10: a) MTT testinin çalışma prensibi; Sarı renkli MTT kimyasalı canlı hücrelerdeki mitokondriyal redüktaz enzimi ile reaksiyona girer ve mor renkli formazan kristalleri üretilir. b) Deneysel metodun şematik açıklaması.

Optimizasyon deneyi sonucunda kuyucuk başına ekilecek hücre sayısının absorbans değerlerinin lineer şekilde arttığı 10^3 - 10^4 hücre sayısı aralığında olmasına karar verilmiştir (Şekil 7.11). Daha yüksek hücre sayılarında testin doygunluğa ulaşmaya başladığı ve farklı hücre sayıları arasında absorbans değer farklarının gittikçe azaldığı tespit edildiğinden daha yüksek hücre sayıları tercih edilmemiştir.



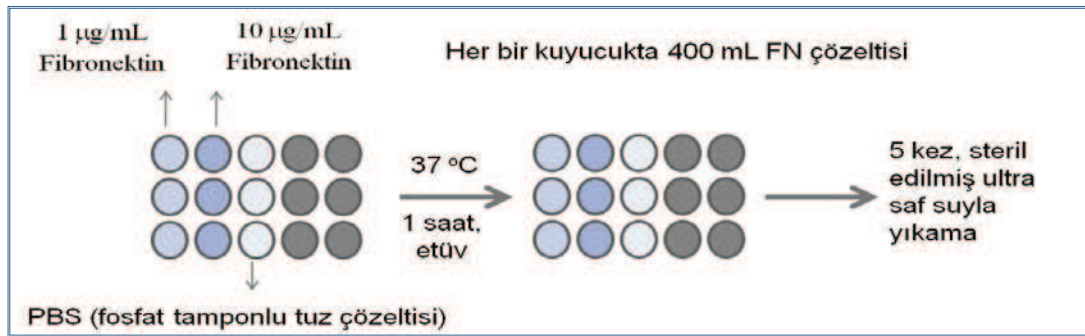
Şekil 7.11: MTT test için hücre sayısı optimizasyon deney sonuçları (24 saat sonra).

96 kuyucuklu mikropalakada her bir kuyucuğun yüzey alanı 0.35 cm²'dir. Polimer kaplı cam lamellerin yerleştirilip toksisite testlerinin yapılacağı 24 kuyucuklu tabaklarda ise her bir kuyucuğun yüzey alanı 2 cm²'dir, yani yüzey alanı 96 kuyucuklu mikropalakaya göre 5.7 kat fazladır. Dolayısı ile 24 kuyucuklu tabaklarda kuyucuk başına düşecek olan hücre sayısı $5.7 \times 10^3 - 5.7 \times 10^4$ aralığında olmalıdır ve kuyucuk başına eklenecek olan MTT test kimyasal hacimleri de arttırılacağından dolayı test bu aralıkta saturasyona (doygunluğa) ulaşmayacaktır. Bu sonuçlardan sonra polimer kaplı yüzeylerin toksisite deneylerinde 3×10^4 hücre/kuyucuk kullanılmasına karar verilmiştir.

7.6.2. Polimerik Yüzeylere Fibronektin Tutunma Prosedürü

İki kez destile edilmiş su içinde ve 1 mg/mL konsantrasyonda -20°C'da donmuş halde saklanan FN çözeltisi oda sıcaklığına getirilerek, PBS (fosfat tamponlu tuz) çözeltisi ile 10 µg/mL konsantrasyona seyreltilmiştir. 24 kuyucuklu tabakalar içerisine polimer kaplanmış camlar ve referans olarak kullanılan kaplanmamış

camlar en az 3 tekrar olacak şekilde yerleştirilmiş ve 400 μ L/kuyu olacak şekilde FN çözeltisi mikropipetle tabaka içerisine yerleştirilmiştir (Şekil 7.12). 37°C’da 1 saat etüvde bekletilmiş ve etüvden çıkarılan 24 kuyucuklu mikrolaka içerisindeki FN çözeltisi mikropipetle çekilerek, 5 kez steril ultra saf su ile yıkanmıştır. Polimer yüzeylerdeki FN tutunmasının homojen şekilde olup olmadığını kontrol etmek amacıyla yüzeylerin temas açısı ölçülmüş ve ayrıca 500 büyütmede optik fotoğraf çekilmiştir.



Şekil 7.12: FN tutunma denemelerinin şematik gösterimi.

7.6.3. Sağlıklı İnsan Kanından Lökosit İzolasyon Protokolü ve Tutunma Denemeleri Prosedürü

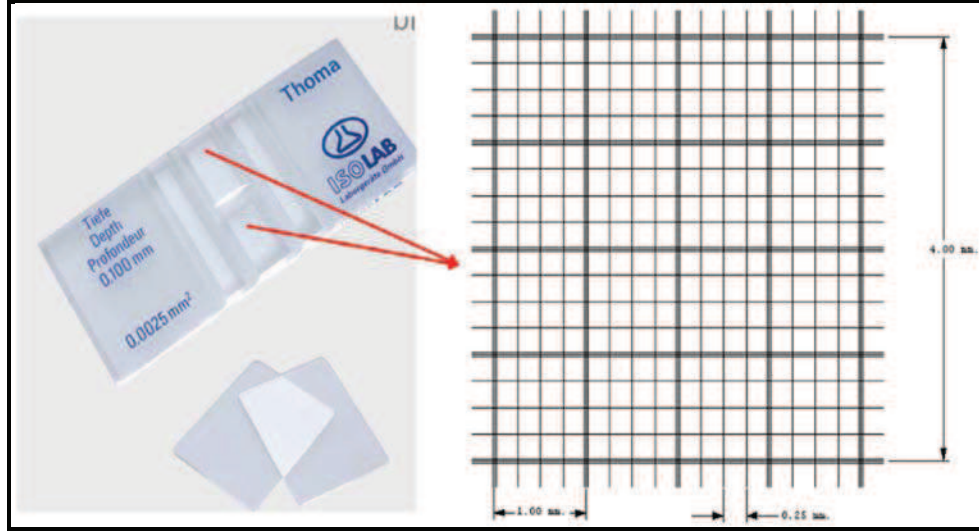
Lökosit tutunma deneylerini gerçekleştirmek için kandan primer lökosit izolasyonu yapılmıştır. Bunun için gönüllü ve sağlıklı bir bireyden 10 mL kan alınmış ve kanın pıhtılaşmasını engellemek için EDTA’lı tüp içerisine konmuştur. Kan 10 mL HBSS ile seyreltilmiştir. 20 mL Histopaque (Sigma) 50 ml’lik bir falkon tüpüne eklenmiş ve üzerine karışmayacak şekilde 20 mL seyreltilmiş kan ilave edilerek 2.300 rpm’de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjleme sonrasında kırmızı kan hücreleri falkonun en altında, bir üstte Histopaque, onun üzerinde tek çekirdekli hücreler ve en üstte ise serum olacak şekilde ayrılmışlardır. Serum üstten atılarak tek çekirdekli hücreler pipet yardımıyla çekilmiş ve 10 ml besi yeri (F12 + %10 Calf Serum + 2 mM L-Glutamin + %1 Penisilin/Streptomisin) içeren falkona aktarılmıştır. 2.000 rpm’de 10 dakikalık santrifüjden sonra çöken hücreler 5 ml besi yeri içerisinde yeniden seyreltilmiş ve 2.500 rpm’de 10 dakika daha santrifüj edilmiştir. Çöken hücreler 5 mL besi yeri içerisinde seyreltilerek standart hücre

kültürü şartlarında (37 °C, 5% CO₂) inkübe edilmiştir. 24 saatlik inkübasyonun sonucunda hücreler PBS ile yıkanmış ve deney kalan hücreler ile yapılmıştır.

Hücrelerin kendi hücrelerarası matris proteinlerini sentezlemelerini engellemek amacıyla hücreler 50 µg/mL sikloheximid ve 4 mg/mL BSA içeren besi yerinde 1 saat inkübe edilmiştir. Deneyde kullanılan tüm 13 ve 15 mm yüzeylerin her iki tarafı da 1 saat UV altında sterilize edildikten sonra malzemeler 24-kuyucuklu tabak içerisine (her kuyuya bir cam yüzey) yerleştirilmiştir. Her kuyuya 500 µL besi yeri içinde 30.000 hücre ekilmiş ve her örnek (her çeşitten 4'er adet çalışıldı) için 12 dakika ve 2 saat sonra kuyulardaki besi yerleri çekilerek atıldıktan sonra 2 kez HBSS ile yıkanmıştır. Örnekler yeni bir tabağa aktarılaraq 1 kez daha HBSS ile yıkanmıştır. Son konsantrasyon 1 µM olacak şekilde Calcein (HBSS'de seyreltilmiştir) ile 30 dk inkübe edilmiştir (sadece canlı hücreleri görmek için). Floresans mikroskopta (Zeiss-Axio Observer Inverted Mikroskop) her örnekten en az 5 fotoğraf çekilmiş ve Image J [Web 9, 2014] programı ile hücreler sayılmıştır. Her örnekten çekilen fotoğrafların ortalamaları alınarak değerlendirmeler yapılmıştır.

7.6.4. Hücre Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Hücre konsantrasyonlarının belirlenmesi işlemi Şekil 7.13'de görülen kan sayım çemberi (hemocytometer-Isolab) kullanılarak yapılmıştır. Hücre süspansiyonu ve % 0.4'lük trypan blue boyası 1:1 oranında karıştırılır. Kan sayım çemberinde yer alan 2 bölmeye ayrı ayrı 10 µL 1:1 oranında boya ile karıştırılmış hücre süspansiyonu eklenir. Üzerine cam kapatılır ve ışık mikroskobunda 2 bölmedeki hücreler ayrı ayrı sayılır. Her bölmede toplam 16 kare vardır. 2 bölmede yer alan toplam 32 kare içindeki hücre sayısı belirlenir. Çemberde bulunan büyük karedeki ortalama hücre sayısı x seyretme faktörü (1:1 seyreltmede bu sayı 2 olarak alınır) x 10⁴ (dönüştürme katsayısı) formülü ile 1 mL'deki hücre sayısı yani hücre sayısı/mL cinsinden hücre konsantrasyonu belirlenir.



Şekil 7.13: Kan sayım çemberi (hemocytometer).

7.6.5. L1210 Hücre Kültür Ortamının Hazırlanması ve Biyotutunma Denemeleri Prosedürü

Denemelerde kullanılan L1210 hücreleri ATCC hücre hattıdır (ATCC # CCL-219) ve sıvı azot içerisinde ayrı ayrı denemelerde kullanılmak üzere saklanmıştır. Denemelere başlamadan önce donmuş halde olan L1210 hücrelerinin oda sıcaklığına gelmesi sağlanmıştır. Hücrelerin bir yüzeye tutunması ya bağlandıkları yüzeyin kimyasal ve fiziksel özellikleri sebebiyle ya da hücrelerin kendi hücrelerarası matris proteinlerini sentezlemeleri ve bu proteinlerin yüzeye yapışıp hücrelerin de bu proteinlere tutunması yoluyla olur. Hücrelerin kendi hücrelerarası matris proteinlerini sentezlemelerini engellemek amacıyla 75 cm²'lik kapta %70 dolulukta hücreler 50 µg/mL sikloheksimid ve 4 mg/mL BSA (sığır serum albumin) içeren serumsuz besi yerinde 1 saat inkübe edilmiştir. Deneyde kullanılan tüm 13 ve 15 mm yüzeylerin her iki tarafı da 1 saat laminar akış kabini altında yaklaşık 250 nm UV altında sterilize edildikten sonra malzemeler 24-kuyucuklu tabaklar içerisine (her kuyuya bir cam yüzey) yerleştirilmiştir. Her kuyuya 500 µL besi yeri içinde 90.000 hücre ekilmiş ve her örnek (her örnekten 4'er adet) için 2 saat sonra kuyulardaki besi yerleri çekilmiştir. Hemen ardından da yüzeyler tutunmayan hücrelerden kurtulmak amacıyla 2 kez HBSS ile yıkanmıştır. Örnekler yeni bir tabağa aktarılıp 1 kez daha HBSS ile yıkanmıştır. Son konsantrasyonu 1 µM olacak şekilde Calcein-AM (Invitrogen) (HBSS'de seyreltildi) ile 30 dakika inkübe edilmiştir. Calcein boyaması canlı hücreleri floresans mikroskopta görebilmek için yapılmıştır. Floresans

mikroskopta (Zeiss-Axio Observer Inverted Mikroskop) her örnekten en az 5 fotoğraf çekilerek Image J [Web 8, 2014] programı kullanarak hücreler sayılmıştır. Her örnekten çekilen fotoğrafların ortalaması alınarak değerlendirmeler yapılmıştır (n=4).

7.6.6. Saos-2 ve Gingival Fibroblast (HGF) Hücre Ortamlarının Hazırlanması ve Biyotutunma Deneme Prosedürleri

Hücrelerin bir yüzeye yapışmaları ya yüzeyin fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı ya da hücrenin kendi salgıladığı hücrelerarası matris proteinlerinin yüzeye yapışarak hücrelerin de bu proteinlere tutunması yoluyla olur. Tez kapsamında yüzey özelliklerinin hücre tutunmasına olan etkileri incelenmek istendiğinden hücrelerin kendi hücrelerarası matris proteinlerini sentezlemelerini engellemek amacıyla, hücre tutunması denemelerinde sikloheksamid kimyasalı kullanılmış, hücrelerin yapışmaları serumsuz ortamda incelenmiş ve spesifik olmayan tutunmayı engellemek için ise BSA kullanılmıştır. Hem Saos-2 hem de ve Gingival fibroblast hücreleri (HGF) hücreleri 4 mg/mL BSA ve 50 µg/mL sikloheksamid içeren serumsuz DMEM besi yerinde 1 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra Saos-2 ve Gingival fibroblast hücreleri her bir kuyucukta 30.000 hücre olacak şekilde 24-kuyucuklu tabaklara ekilmiş ve tutunmasının oluşması için 1 saat standart hücre kültür şartlarında (37 °C, %5 CO₂ , %95 nemlilik) inkübe edilmiştir. 1 saat sonrasında tutunmamış hücreler HBSS ile yıkanarak ayrılmış ve yapışan hücreler 1 µM Calcein ile boyanmıştır. Her bir kuyucuktan en az 5 fotoğraf alınarak yapışan hücreler floresans mikroskopta (Zeiss-Axio Observer Inverted Mikroskop) fotoğraflanmış ve Image J programı kullanarak sayılmıştır.

7.6.7. Hücre Canlılık Deneme Protokolleri

Canlılık testleri NIH 3T3, Saos-2 ve HGF hücreleri ile yapılmıştır. L1210 ve lökosit hücreleri yapışmayan hücreler oldukları için toksisite çalışmalarında kullanılmamıştır. Canlılık deneyleri, Saos-2 ve HGF hücrelerinin polimer yüzeylerdeki 24 saatlik inkübasyonları sonucunda yapılmıştır. Deneyde kullanılan tüm kaplı 15 mm yüzeylerin her iki tarafı da 1 saat UV altında sterilize edildikten sonra malzemeler 24-kuyucuklu tabak içerisine (her kuyuya bir cam yüzey)

yerleştirilmiştir. Her kuyuya 500 µL besi yeri içinde 30.000 Saos-2 veya 15.000 HGF hücresi ekilmiştir (her örnekten 3'er adet çalışılmıştır). 24 saat sonunda her kuyudan besi yeri çekilerek atılmıştır. Her kuyuya, kuyudaki toplam besi yeri miktarının (300 µL) %10'u olacak şekilde MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide test yöntemi) bileşimi (Sigma) eklenmiştir. Hücre besi yerine, 3 saatlik inkübasyon sonunda 300 µL "MTT Solubilization Solution (Sigma)" eklenmiş ve 5 dakika boyunca çalkalanmıştır. Oluşan formazan kristallerinin absorbansı spektrofotometrede 570 nm dalga boyu ile ölçülmüştür.

7.6.8. Hücre Boyama ve Hücre Morfolojisinin Belirlenmesi Prosedürleri

Hücreler bir yüzey üzerine bağlandıktan sonra kendi hücreler arası matrislerini sentezler ve hücrelerin uzun vadedeki davranışları bu matris de bulunan proteinlerin hücreler ile olan etkileşimlerine bağlıdır. Hücreler arası matris de bulunan liganların hücre üzerindeki reseptörler ile etkileşimleri sonucunda hücrelerin iskelet yapıları belirlenir. Hücrelerin yüzeyler üzerindeki aktin iskeletini görüntülemek için hücreler yüzeylere ekildikten (L1210 için 50.000 hücre veya Saos-2 için 30.000 hücre) 48 saat sonra HBSS ile yıkanmış, ardından % 3.7 formaldehit ile 15 dakika fikslenmiştir. Daha sonra % 0.25 Triton-X ile 10 dakika inkübe edilerek geçirgen hale getirilen hücreler TRITC-konjüge Phalloidin (Sigma) ile 20 dakika boyunca boyanmıştır. Boyanan hücrelerin çekirdekleri TO-PRO (Invitrogen) ile boyanmış konfokal mikroskopta (Zeiss LSM 510) görüntülenmiştir.

Yüzeylerin hücreler için uyumluluğunun daha detaylı incelenmesi için SEM analizleri gerçekleştirilmiştir. Bunun için yüzeyler üzerine 50.000 L1210 veya 30.000 Saos-2 veya 30.000 HGF hücresi ekilmiştir. 48 saat sonucunda tutunmayan hücreler HBSS ile yıkanmış ve kalan hücreler 1 saat boyunca % 2'lik glutaraldehit solüsyonu içerisinde fikslenmiştir. Hücreler artan alkol konsantrasyonlarında (% 20, % 40, % 60, % 80, % 100) 5'er dakika dehidre edilmiş ve kritik nokta kurutucusunda (Tourismis Autosamdri®-815B) kurutulmuştur. Hücreler SEM'de (FEI Quanta 200 FEG) analiz edilmiştir.

L1210 hücrelerinin morfolojilerinin belirlenmesi için hematoksilen-eosin boyaması yerine Calcein-AM boyaması yapılmıştır. Hematoksilen-eosin boyaması sırasında hücreler fiksledikten sonra farklı alkol konsantrasyonları, hematoksilen ve

eosin boyaları ve yıkamalara maruz kalmaktadır. L1210 hücreleri yüzen hücreler oldukları için farklı boyamalarda (falloidin boyaması gibi) hücrelerin yüzeyden kalktıkları gözlenmiştir. Bu yüzden daha az yıkama basamağı olan Calcein-AM boyaması morfolojilerini anlamak için kullanılmıştır. Bunun için 50.000 L1210 hücresi polimer kaplı yüzeyler üzerinde 3 gün boyunca inkübe edilmiş, 3 gün sonunda hücreler HBSS ile yıkanmış ve 30 dakika süre ile Calcein solüsyonunda boyanmıştır.

,

8. BULGULAR

8.1. Sk-CO₂ Ortamında Polimerizasyon ve Polimer Karakterizasyonu

Tez kapsamında sk-CO₂ ortamında p(Zonyl-TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin monomer konsantrasyonu ve CO₂/TAN monomer oranını (Tablo 8.1 ve 8.2), reaksiyon basıncı (Tablo 8.3) ve reaksiyon süresi (Tablo 8.4) gibi reaksiyon şartlarının değişiminin kopolimer molekül ağırlığı üzerine etkilerinin araştırılması için 5 farklı set kopolimer hazırlanmıştır. Bu setlerde hazırlanan p(Zonyl-TAN-ran-MMA) kopolimerlerine dair kodlama şekli tüm kopolimerlerde aynı formatta yapılmıştır. p(Zonyl-TAN-ran-MMA) kopolimerine dair bu formatın temsili hali olan $A(TAN_B\text{-ran-MMA}_C)_D$ şeklindeki kodlamada A: reaksiyon son basıncını (MPa), B: beslenen Zonyl TAN monomer wt %'sini, C: beslenen MMA monomer wt %'sini ve D ise reaksiyon süresini simgelemektedir.

Tablo 8.1'de Sk-CO₂ ortamında monomer konsantrasyonu ve CO₂/TAN monomer oranının kopolimer molekül ağırlığı üzerine etkilerinin araştırılması için hazırlanan 2 farklı set p(Zonyl-TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin Zonyl-TAN monomer besleme oranı, kopolimerdeki Zonyl-TAN ağırlık ve mol yüzdeleri ve verimleri verilmiştir. Tablo 8.1'de görüldüğü gibi tüm reaksiyonlar 16 saatlik sabit reaksiyon süresinde gerçekleştirilmiştir. Farklı Zonyl-TAN besleme oranlarında ancak bu besleme oranlarının 13 ve 15 MPa reaksiyon basınçları için kendi içinde aynı olduğu 2 farklı set kopolimer sentezi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca Tablo 8.1 de verilen polimerizasyonlar için, 13 MPa basınçta gerçekleştirilen tüm polimerizasyonlarda 36 g CO₂ ve beslemede 8.42 g MMA kullanılmışken, 15 MPa basınçta gerçekleştirilen tüm polimerizasyonlarda 52 g CO₂ ve beslemede 12 g MMA kullanılmıştır. Bu iki set kopolimer sentezinin gerçekleştirilmesindeki amaç iki farklı basınçta aynı Zonyl-TAN bileşiminde ve sabit MMA besleme miktarında kopolimer molekül ağırlığının değişim trendinin CO₂ miktarına bağlı olarak belirlenmesidir.

Tablo 8.1: p(Zonyl-TAN-ran-MMA) kopolimerinin kodları, NMR fraksiyonları ve kopolimer verimleri.

	Kopolimer Kod	Beslenen Zonyl-TAN (gram)	Zonyl-TAN mol % (Kopolimer)	Zonyl-TAN wt % (Kopolimer)	Verim (wt %)
SET 1	$_{13}(\text{TAN}_4\text{-ran-MMA}_{96})_{16}$	0.362	0.85	4.17	89
	$_{13}(\text{TAN}_5\text{-ran-MMA}_{95})_{16}$	0.485	1.05	5.69	85
	$_{13}(\text{TAN}_{15}\text{-ran-MMA}_{85})_{16}$	1.480	3.52	15.17	89
	$_{13}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_{16}$	2.520	5.37	24.39	83
	$_{13}(\text{TAN}_{32}\text{-ran-MMA}_{68})_{16}$	3.880	8.60	34.58	81
	$_{13}(\text{TAN}_{39}\text{-ran-MMA}_{61})_{16}$	5.315	11.85	40.18	83
SET 2	$_{15}(\text{TAN}_4\text{-ran-MMA}_{96})_{16}$	0.515	0.81	4.22	91
	$_{15}(\text{TAN}_5\text{-ran-MMA}_{95})_{16}$	0.690	1.06	5.53	87
	$_{15}(\text{TAN}_{15}\text{-ran-MMA}_{85})_{16}$	2.110	3.53	17.17	87
	$_{15}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_{16}$	3.590	5.39	24.53	85
	$_{15}(\text{TAN}_{32}\text{-ran-MMA}_{68})_{16}$	5.530	8.51	38.31	79
	$_{15}(\text{TAN}_{39}\text{-ran-MMA}_{61})_{16}$	7.580	11.57	43.43	81

Tablo 8.2: p(Zonyl-TAN-ran-MMA) kopolimerinin camsı geçiş sıcaklığı (T_g), Moleküler ağırlık (M_w) ve intrinstik viskozite sonuçları.

	Kopolimer Kod	% mol TAN (Besleme)	T_g (°C)	η (dL/g)	M_w (kg/mol)	M_v (kg/mol)	PDI
SET 1	$_{13}(\text{TAN}_4\text{-ran-MMA}_{96})_{16}$	0.75	79,06	0.426	178	172	3.71
	$_{13}(\text{TAN}_5\text{-ran-MMA}_{95})_{16}$	1.00	78.63	0.362	127	137	3.53
	$_{13}(\text{TAN}_{15}\text{-ran-MMA}_{85})_{16}$	3.00	71.65	0.255	89	84	2.87
	$_{13}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_{16}$	5.00	69.44	0.246	84	81	2.90
	$_{13}(\text{TAN}_{32}\text{-ran-MMA}_{68})_{16}$	7.50	66.98	0.226	76	75	2.81
	$_{13}(\text{TAN}_{39}\text{-ran-MMA}_{61})_{16}$	10.00	63.51	0.208	66	66	2.54
SET 2	$_{15}(\text{TAN}_4\text{-ran-MMA}_{96})_{16}$	0.75	81.30	0.432	184	175	4.00
	$_{15}(\text{TAN}_5\text{-ran-MMA}_{95})_{16}$	1.00	77.20	0.360	125	136	3.21
	$_{15}(\text{TAN}_{15}\text{-ran-MMA}_{85})_{16}$	3.00	72.11	0.254	86	84	3.07
	$_{15}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_{16}$	5.00	70.45	0.244	82	80	3.04
	$_{15}(\text{TAN}_{32}\text{-ran-MMA}_{68})_{16}$	7.50	67.75	0.224	74	74	2.96
	$_{15}(\text{TAN}_{39}\text{-ran-MMA}_{61})_{16}$	10.00	64.70	0.207	65	66	2.71

Tablo 8.2’de SET 1 ve SET 2 de hazırlanan p(Zonyl-TAN-ran-MMA) kopolimerinin DSC den elde edilen camsı geçiş sıcaklığı (T_g) , GPC den elde edilen kopolimer moleküler ağırlığı (M_w) ve Ubbelhold viskozimetreden elde edilen intrinstik viskozite sonuçları görülmektedir.

Reaksiyon basıncındaki değişimin molekül ağırlığı üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla hazırlanan SET-3 kopolimerlerinin CO₂ mol sayıları, CO₂/TAN monomer oranı, intrinstik viskozite sonuçları ve verimleri Tablo 8.3’de görülmektedir. SET-3 de hazırlanan tüm kopolimerler sabit Zonyl-TAN (5 g) ve MMA (12 g) monomer beslemelerinde gerçekleştirilmiştir ve 12-22 MPa arasındaki basınç değişimine bağlı olarak monomer başına düşen CO₂ mol sayısı değişmiştir.

Tablo 8.3: Sabit Zonyl-TAN bileşiminde reaksiyon basıncının p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin molekül ağırlığına etkisinin belirlenmesi için kopolimer CO₂ mol sayısı, kopolimerdeki CO₂/TAN ağırlıkça oranı, intrinstik viskozite sonuçları ve verimleri.

	Kopolimer Kod	n _{CO2}	TAN mol % (Kopolm.)	$\frac{W_{CO2}}{W_{TAN}}$	η (dL/ g)	M _v (kg/ mol)	Verim (wt %)
SET 3	12(TAN ₂₃ -ran-MMA ₇₇) ₁₆	0.83	4.90	10.41	0.225	72	95
	14(TAN ₂₃ -ran-MMA ₇₇) ₁₆	1.07	5.33	12.28	0.231	75	93
	15(TAN ₂₃ -ran-MMA ₇₇) ₁₆	1.19	5.41	13.43	0.244	81	85
	16.5(TAN ₂₃ -ran-MMA ₇₇) ₁₆	1.36	4.75	17.58	0.258	87	88
	22(TAN ₂₃ -ran-MMA ₇₇) ₁₆	2.01	4.38	28.14	0.336	127	82

Ayrıca reaksiyon süresinin değişimine bağlı olarak kopolimer için molekül ağırlığının değişiminin belirlenmesi aynı Zonyl TAN bileşiminde 13 ve 15 MPa’lık 2 ayrı basıçta SET-4 ve SET-5 kopolimerleri sentezlenmiştir. Tablo 8.4’de SET-4 ve 5 kopolimerleri için intrinstik viskozite, kopolimer molekül ağırlıkları ve kopolimer verimleri verilmiştir. SET-4 deki tüm polimerizasyonlarda 36 g sabit CO₂ ve beslemede 2.52 g Zonyl-TAN ile 8.42g MMA kullanılmıştır ve reaksiyon süresi 4-24 saat arasında değiştirilmiştir. SET-5 de ise, tüm polimerizasyonlarda 52 g sabit CO₂ ve beslemede 3.59 g Zonyl-TAN ile 12 g MMA kullanılmıştır ve reaksiyon süresi 4-24 saat arasında değiştirilmiştir.

Tablo 8.4: Sabit Zonyl-TAN bileşiminde reaksiyon süresinin p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin molekül ağırlığına etkisinin belirlenmesi için kopolimer intrinstik viskozitesi, molekül ağırlığı ve verimleri.

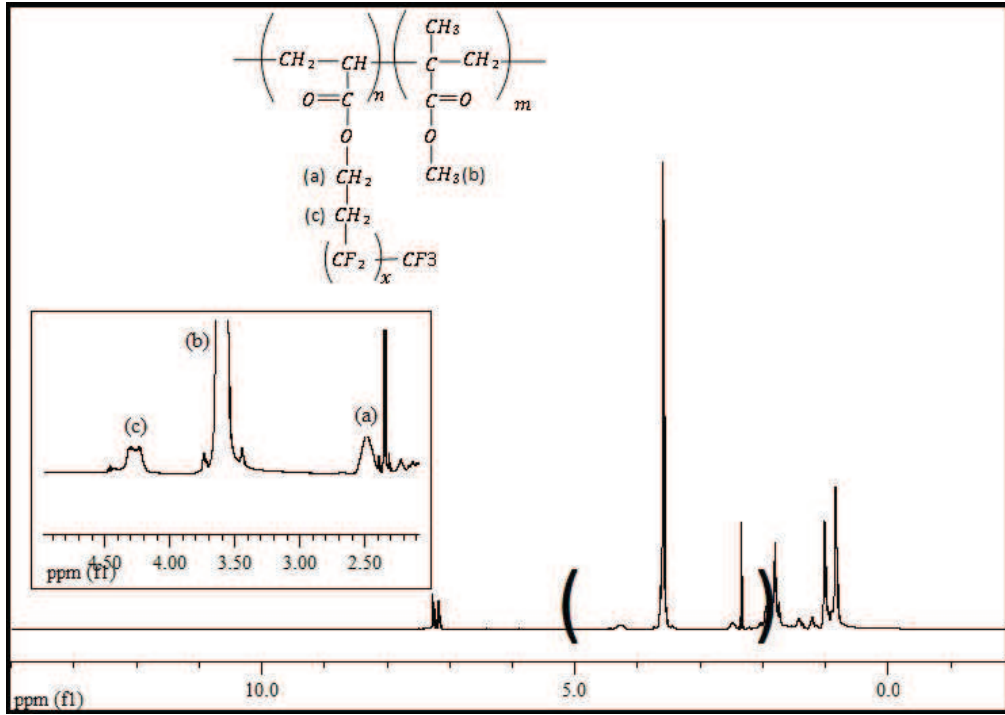
	Kopolimer Kod	η (dL/g)	M_w (kg/mol)	M_v (kg/mol)	PDI	Verim (wt %)
SET-4	$_{13}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_{24}$	0.295	103	105	2.94	85
	$_{13}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_{16}$	0.246	84	81	2.90	83
	$_{13}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_8$	0.238	80	78	2.86	84
	$_{13}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_6$	0.223	76	75	3.04	84
	$_{13}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_4$	0.209	63	64	2.86	75
SET-5	$_{15}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_{24}$	0.271	89	93	3.87	86
	$_{15}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_{16}$	0.244	82	80	3.04	85
	$_{15}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_8$	0.229	74	73	2.31	76
	$_{15}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_6$	0.211	67	65	1.86	74
	$_{15}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_4$	0.205	61	63	1.61	74

8.1.1. CO₂-Genişletilmiş Monomer Ortamında Farklı Monomer Bileşimlerinde ve Reaksiyon Şartlarında p(TAN-ran-MMA) Kopolimerlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu

Reaksiyon şartlarının değişiminin kopolimer molekül ağırlığı üzerine etkisinin belirlenmesinin amaçlandığı bu çalışma CO₂-genişletilmiş monomer ortamında polimerizasyonun doğasına uygun olarak düşük basınç (12-22 MPa) ve sıcaklıklarda (°C 80) gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen kopolimerlerin karakterizasyonunda ¹H-NMR spektrumu, difaransiyel tarama kalorimetresi (DSC), Jel geçirgenlik kromatografisi (GPC) ve Ubbelohde viskozimetresi kullanılmıştır.

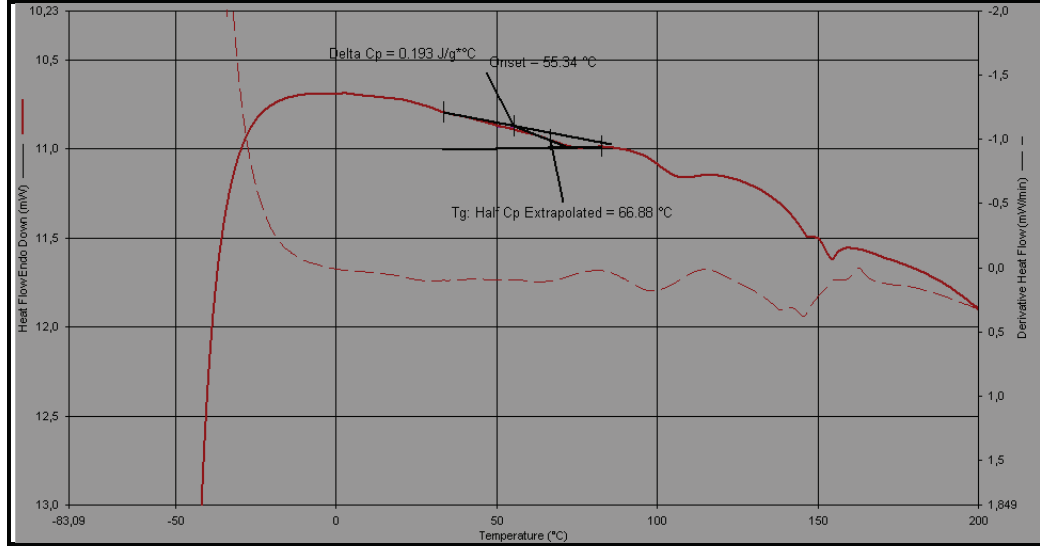
p(Zonyl-TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin kimyasal yapısı ve kopolimer fraksiyonları ¹H-NMR spektroskopisi kullanılarak tespit edilmiştir ve Şekil 8.1’de $_{13}(\text{TAN}_{32}\text{-co-MMA}_{68})_{16}$ kopolimerlerinin temsili ¹H-NMR spektrumu görülmektedir. 4.3’ppm de yer alan pik (pik c) p(TAN-ran-MMA) kopolimerinin Zonyl-TAN kısmındaki karboksilik aside bağlı metilen grubuna ve 2.6 ppm’de yer alan pik (pik a) ise aynı kısımdaki perfloro akrilat kısmına bağlı metilen grubuna aittir. 3.6 ppm de yer alan pik (pik b) ise MMA kısmına ait metil grubuna aittir (Şekil 8.1) [Choi et al., 2004], [Cengiz et al., 2011]. p(TAN-ran-MMA) kopolimerindeki MMA ve Zonyl-TAN gruplarının miktarı PMMA grubundaki metil protonlarının (-COOCH₃) ve PFA

gruplarındaki metilen protonlarının (-H₂Rf) integral oranları MestReC paket programından belirlenerek hesaplanmıştır. ¹H-NMR spektrumu sonuçlarına göre sentezlenen kopolimerlerin wt % Zonyl TAN bileşimleri monomer besleme oranından daha yüksek bulunmuştur (Tablo 8.1-8.3) ve bu sonuç literatürle uyumludur [Desimone et. al., 1992], [Cengiz et. al., 2013].



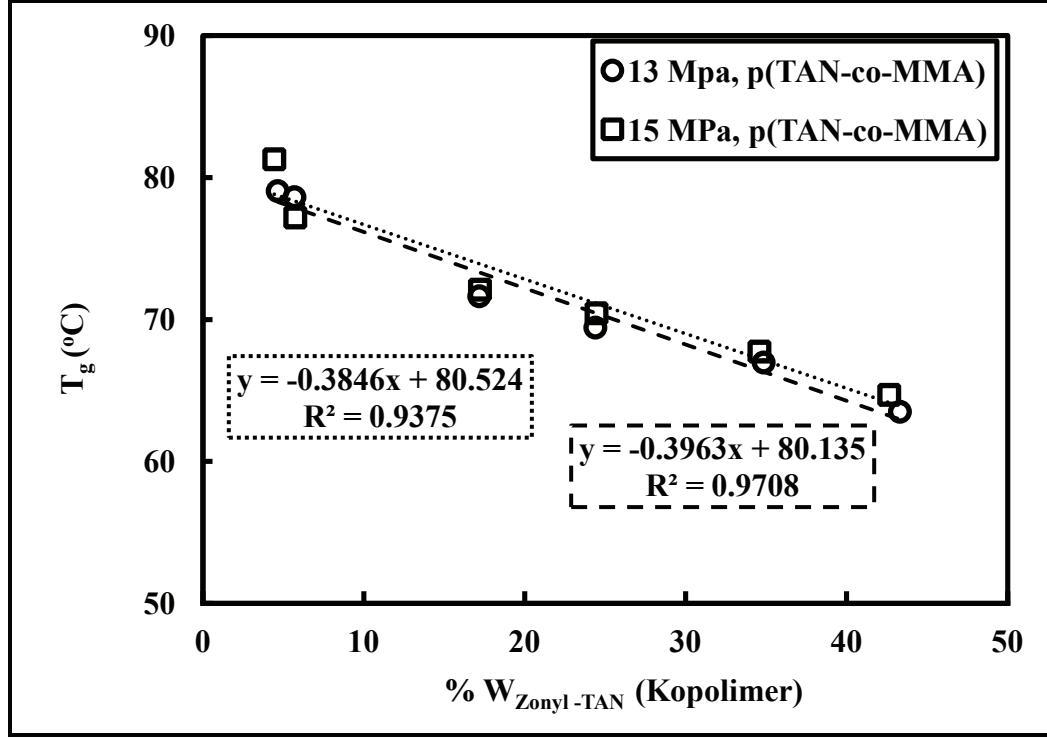
Şekil 8.1: ¹³(TAN₃₂-ran-MMA₆₈)₁₆ kopolimerinin temsili ¹H-NMR spektrumu.

p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin camsı geçiş sıcaklıkları (T_g) DSC kullanılarak tespit edilmiştir ve Şekil 8.2’de ¹³(TAN₃₂-ran-MMA₆₈)₁₆ kopolimerlerinin temsili DSC termogramı görülmektedir.



Şekil 8.2: $_{13}(\text{TAN}_{32}\text{-ran-MMA}_{68})_{16}$ kopolimerinin temsili DSC termogramı.

T_g değerleri sadece SET-1 ve SET-2 de sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimeri için belirlenmiştir (Tablo 8.2). SET-1 ve SET-2 de sentezlenen p(MMA-ran-Zonyl-TAN) kopolimerinin T_g değerleri literatürde rapor edilen PMMA ve poli(Zonyl-TAN) T_g değerlerinin arasında bulunmuştur ve kopolimerdeki wt % Zonyl-TAN bileşiminin 4.6'dan 43.3'e artması ile kopolimer T_g değerleri 81°C'dan 64°C'a azalmıştır. (Tablo 8.2). Literatüre göre PMMA'nın T_g değeri 105 °C [Zhou et al., 2008], poli(Zonyl-TAN) polimerinin -3.3°C'dır [Mawson et al., 1995]. SET-1 (13 MPa) ve SET-2 (15 MPa) da sentezlenen kopolimerler için kopolimerdeki wt % Zonyl-TAN bileşiminin kopolimer T_g değerleri ile değişimi Şekil 8.3'de verilmiştir. Her iki set kopolimerlerinin wt % Zonyl-TAN bileşiminin artması ile kopolimerdeki $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_x$ - yan zincirindeki $-\text{CF}_2$ grubunun artışı nedeniyle T_g değerlerinin yüksek regrasyon değerlerinde lineer şekilde azaldığı belirlenmiştir ve bu sonuç literatür ile uyumludur [van-de Grampel et al., 2004], [Cengiz et al., 2011]

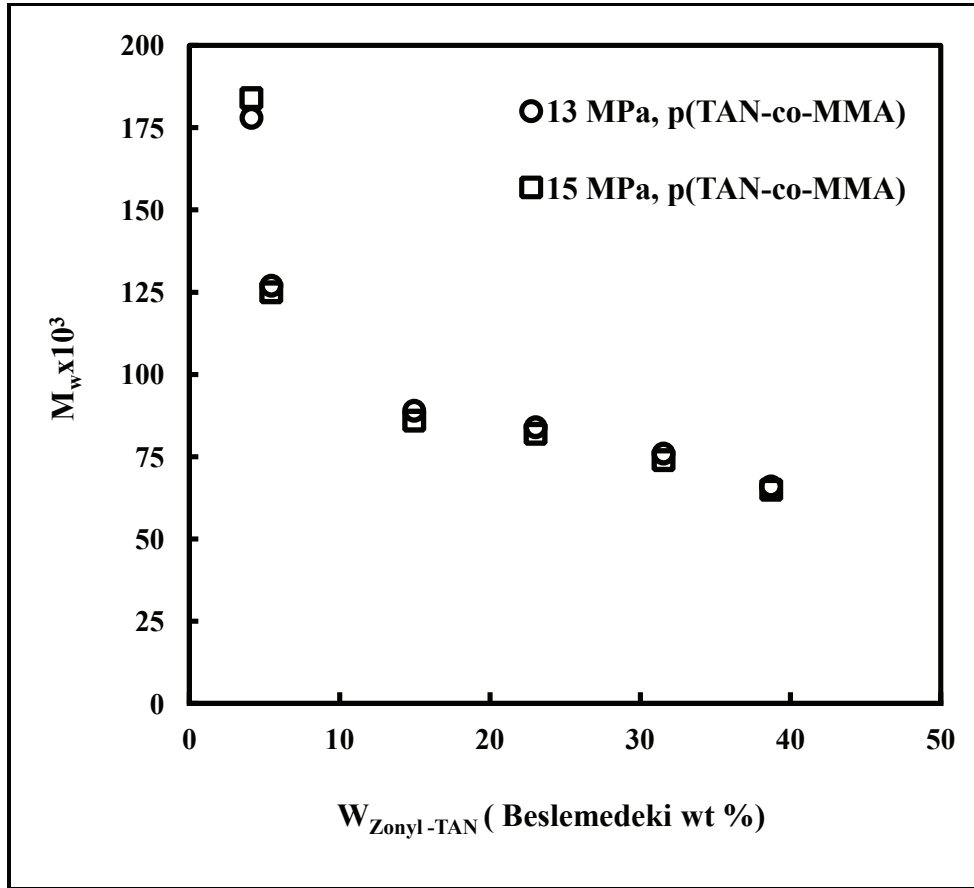


Şekil 8.3: Farklı basınçlarda hazırlanan p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin wt % Zonyl-TAN bileşimi ile T_g değerlerinin değişimi.

8.1.1.1. p(TAN-ran-MMA) Kopolimerlerinin Monomer Konsantrasyonu ve Monomer/CO₂ Oranlarının Kopolimer Molekül Ağırlıkları Üzerine Etkisi

Monomer konsantrasyonu [(w/w %) TAN/(TAN+MMA)] ve monomer/CO₂ [(w/w %) CO₂/TAN] oranlarının kopolimer molekül ağırlıkları üzerine etkisini belirlemek için, 13 (SET-1) ve 15 MPa (SET-2) basınçlarda CO₂-genişletilmiş monomer ortamında p(TAN-ran-MMA) kopolimerleri sentezlenmiştir (Tablo 8.1 ve 8.2). Reaktördeki CO₂ konsantrasyonu 13 ve 15 MPa basınçlar için sırasıyla 8 ve 11.39 mol/L olarak sabitken ve CO₂/MMA oranı wt % 9.88 de sabitken, beslemedeki Zonyl-TAN monomer konsantrasyonu her iki set kopolimer için wt % 4.1'den 38.7'ye artırılmıştır. Beslemedeki Zonyl-TAN konsantrasyonunun artırılması ile her iki set için kopolimer molekül ağırlığının (M_w) azaldığı belirlenmiştir (Şekil 8.4). Bunun nedeni Zonyl-TAN konsantrasyonunun artırılması ile zincir sonlanma reaksiyonlarının daha erken oluşmasıdır [Zwolak et al., 2005], [Wang et al., 2008], [Zwolak et al., 2008]. MMA monomeri homojen sk-CO₂ fazındakinden daha yüksek konsantrasyonlarda monomerce zengin sıvı fazında çözünme eğilimindedir [Nishino et al., 2004], [Wang et al., 2008]. Bu nedenle heterojen sıvı fazdaki MMA'nın

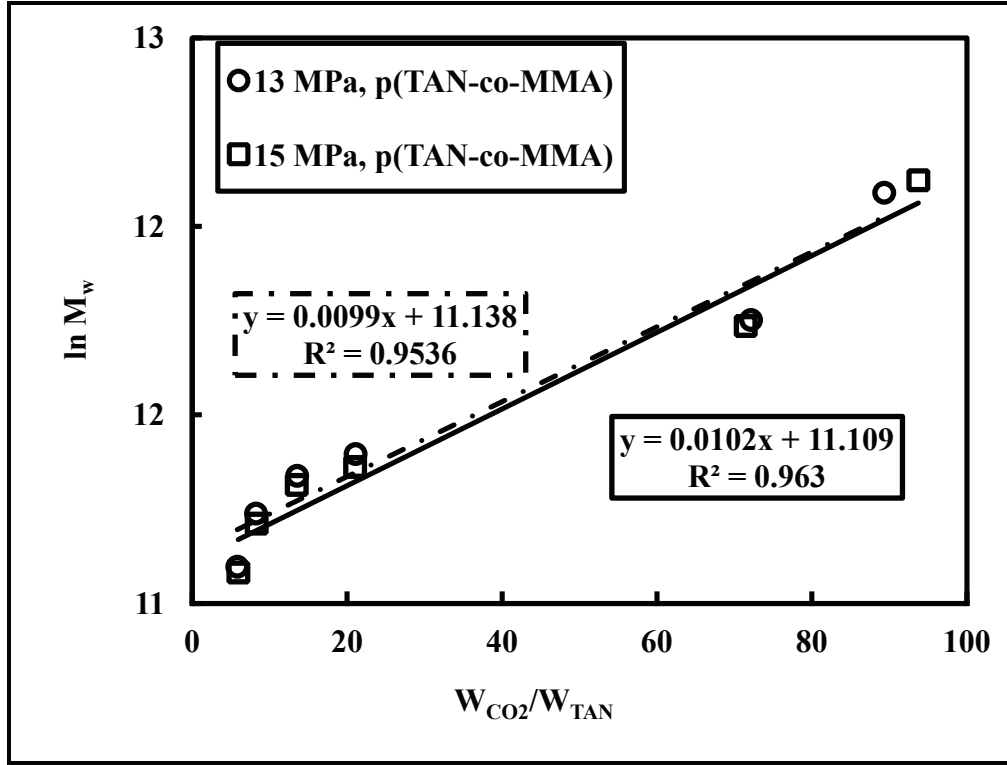
polimerizasyon hızı homojen sk-CO₂ fazından daha hızlı olur ve bu durumda daha kısa zincirlerin oluşmasına neden olur. Sonuç olarak kopolimerdeki Zonyl-TAN konsantrasyonunun artması ile sıvı fazda yer alan MMA konsantrasyonunun azalmasından dolayı her iki setteki kopolimerler için daha kısa zincirler oluşur ve buna bağlı olarak da M_w azalır (Tablo 8.1 ve 8.2).



Şekil 8.4: Beslemedeki Zonyl-TAN bileşiminin artışı ile kopolimer M_w değişimi.

Monomer/CO₂ [(w/w %) CO₂/TAN] oranının M_w üzerine etkisini belirlemek için Tablo 8.1 ve 8.2 de yer alan değerleri kullanarak W_{CO_2}/W_{TAN} oranı hesaplanmıştır. W_{CO_2}/W_{TAN} oranı ile kopolimer log M_w arasında çizilen grafikten W_{CO_2}/W_{TAN} oranının kopolimer molekül ağırlığı ile her iki set kopolimerleri için (SET-1 ve 2) yüksek regresyon değerlerinde (SET 1 için $R^2 = 0.9536$ ve SET-2 için $R^2 = 0.9630$) lineer trend bulunmuştur (Şekil 8.5). Ayrıca reaksiyon basınçları her iki sette sentezlenen kopolimerler için farklı olmasına rağmen, aynı Zonyl-TAN bileşiminde kopolimer M_w 'lerinin da neredeyse aynı olduğu belirlenmiştir. Bu durumun nedeni, her ne kadar basınçlar farklı olsa da birim Zonyl-TAN başına düşen

CO₂ miktarı (W_{CO_2}/W_{TAN}) sabit olduğu için, polimer zincirleri etrafını saran CO₂ solventi miktarı sabittir ve bu da kopolimer M_w 'nın sabit kalmasına neden olur. CO₂ ortamında polimerizasyonlarda reaksiyon şartlarının M_w üzerine etkisine dair birçok çalışma olmasına rağmen CO₂/monomer oranının (W_{CO_2}/W_{TAN}) ayarlanması ile kopolimer M_w kontrolüne yönelik çalışmalar literatürde yer almamaktadır.

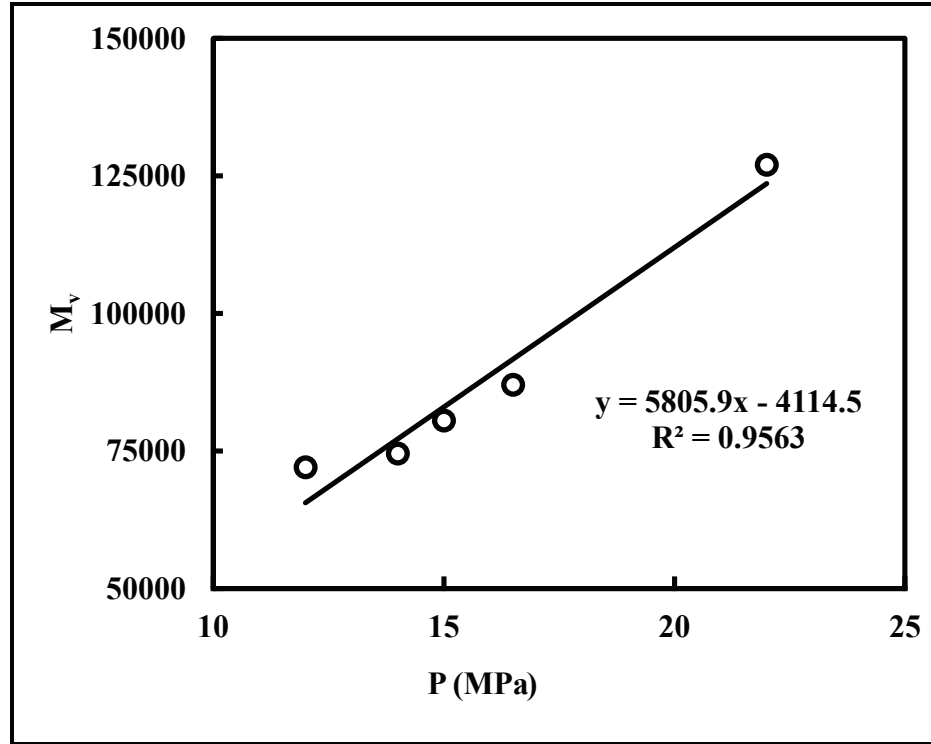


Şekil 8.5: p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin W_{CO_2}/W_{TAN} oranı ile M_w değişimi.

8.1.1.2. p(TAN-ran-MMA) Kopolimerlerinin Kopolimer Molekül Ağırlığı Üzerine Kopolimerizasyon Basıncı ve Reaksiyon Süresinin Etkisi

Zonyl-TAN ve MMA CO₂-genişletilmiş monomer ortamında 80°C sıcaklıkta ve ağırlıkça % 1 AIBN konsantrasyonunda, 5 farklı basınçta (12, 14, 15, 16.5, ve 22 MPa), sabit Zonyl-TAN monomer oranında (beslemede ağırlıkça % 23) kopolimerizasyonları gerçekleştirilmiş (SET-3) ve basınçtaki değişimin kopolimer molekül ağırlıkları üzerine etkisi incelenmiştir (Tablo 8.3). Reaktördeki CO₂ konsantrasyonu farklı basınçlar için sırasıyla 8, 10, 11, 13 ve 19 mol/L olarak değişirken beslemedeki Zonyl-TAN ve MMA monomer konsantrasyonları SET-3 kopolimerlerinin hepsi için sabit tutulmuştur. Literatürde sk-CO₂ ortamında

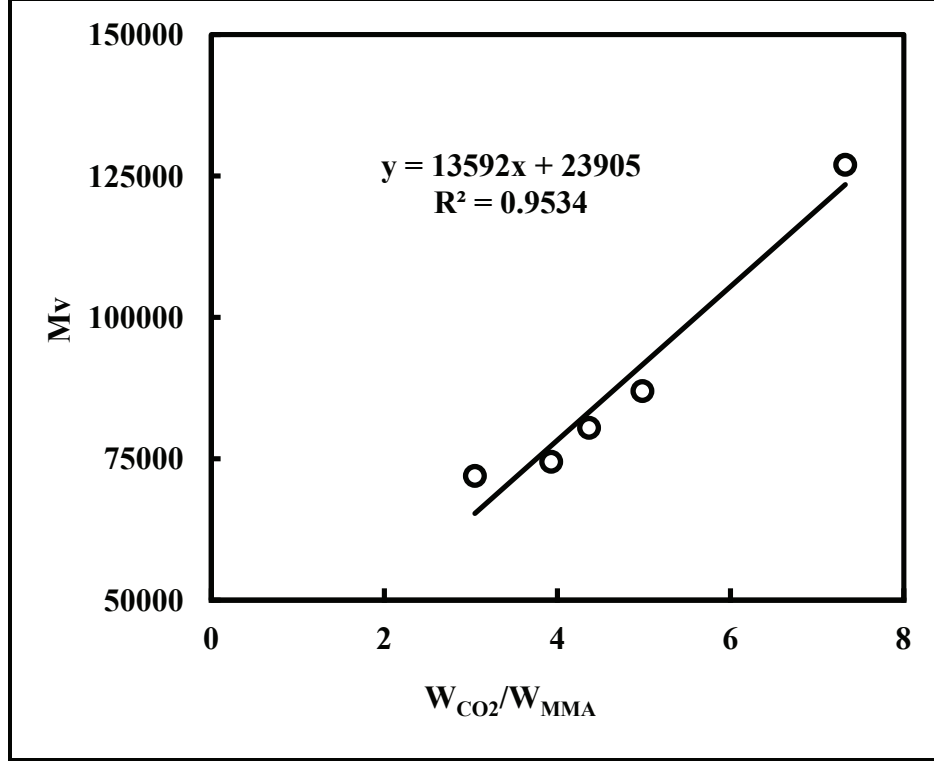
kopolimer molekül ağırlığı üzerine basıncın etkisine dair birçok çalışma rapor edilmiştir ve basıncın artması ile reaksiyon hızı ve molekül ağırlığının arttığı bulunmuştur [Teng, 2003], [Kwon et al., 2004], [Shin et al., 2007], [Wang et al., 2008]. Literatürde elde edilen bu sonuca benzer şekilde Şekil 8.6'dan görüldüğü gibi p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinde basıncın artması ile kopolimer molekül ağırlığı yüksek regresyon değerinde ($R^2 = 0.9563$) lineer şekilde artmıştır.



Şekil 8.6: Farklı basınçlarda sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerin basınç değişiminin kopolimer molekül ağırlığı ile değişimi.

Kwon ve arkadaşları, 2,2,2-trifloroetil metakrilat homopolimerini (TFEMA) değişik CO_2 bileşimlerinde serbest radikal polimerizasyonu ile sentezlemişler ve CO_2 'in ağırlıkça bileşimi ve basınç değişimi ile homopolimer molekül ağırlığının değiştiğini belirlemişlerdir [Kwon et al., 2004]. Ayrıca birim monomer başına CO_2 miktarının basınç değişimi ile nasıl etkilendiğinin belirlenmesi için W_{CO_2}/W_{TAN} oranları her bir kopolimer için hesaplanmıştır. Farklı basınçlarda sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin W_{CO_2}/W_{TAN} oranının 10.41'den 28.14'e artırılması ile kopolimer molekül ağırlığı 72.000'den 127.000 g/mol'e lineer şekilde artmıştır (Şekil 8.7). W_{CO_2}/W_{TAN} oranının artması ile daha büyük molekül ağırlıklı kopolimerlerin üretilmesinin nedeni sıvı CO_2 fazında monomer başına düşen CO_2

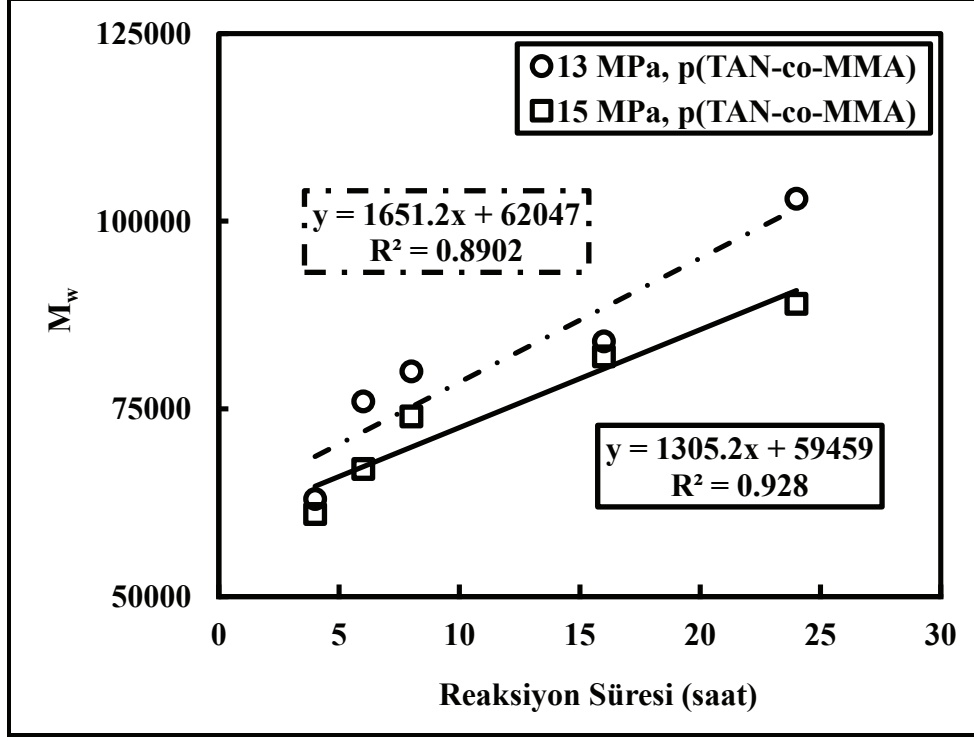
miktarının artmasından dolayı kopolimerin çökmesinin daha uzun sürede gerçekleşmesinden kaynaklanır [Teng, 2003], [Kwon et al., 2004], [Wang et al., 2008].



Şekil 8.7: Farklı basınçlarda CO₂ ortamında sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin W_{CO_2}/W_{TAN} oranı ile molekül ağırlık değişimi.

Basınç değişiminin yanı sıra kopolimerizasyon şartlarının kopolimer molekül ağırlığına etkisinin belirlenmesine yönelik tez kapsamında ayrıca kopolimerizasyon süresindeki değişim incelenmiştir. Reaksiyon süresindeki değişim polimer molekül ağırlığının ve polimerizasyon verimi üzerinde etkin parametredir ve polimer M_w ile verimi reaksiyon süresi ile doğrusal olarak değişir [Kendall et al., 1999], [Kennedy et al., 2005], [Liu et al., 2008], [Pu et al., 2010]. Reaksiyon süresinin kopolimer M_w üzerine etkisinin belirlenmesine yönelik yapılan bu çalışmada 13 (SET-4) ve 15 MPa (SET-5) reaksiyon basınçlarında, aynı Zonyl-TAN monomer bileşiminde, 80°C reaksiyon süresi ve wt % 1 AIBN konsantrasyonunda CO₂ ortamında kopolimerler sentezlenmiştir (Tablo 8.4). Her iki basınçta üretilen aynı Zonyl-TAN bileşimindeki kopolimerlerde $W_{CO_2}/W_{TAN} = 14.53$ oranı sabit tutulmuş ve reaksiyon süresi 4, 6, 8, 16 ve 24 saat olarak değiştirilmiştir. Şekil 8.8'den görüldüğü gibi reaksiyon süresinin artması ile kopolimer M_w 'i polimerizasyon hızının artmasından dolayı lineer şekilde

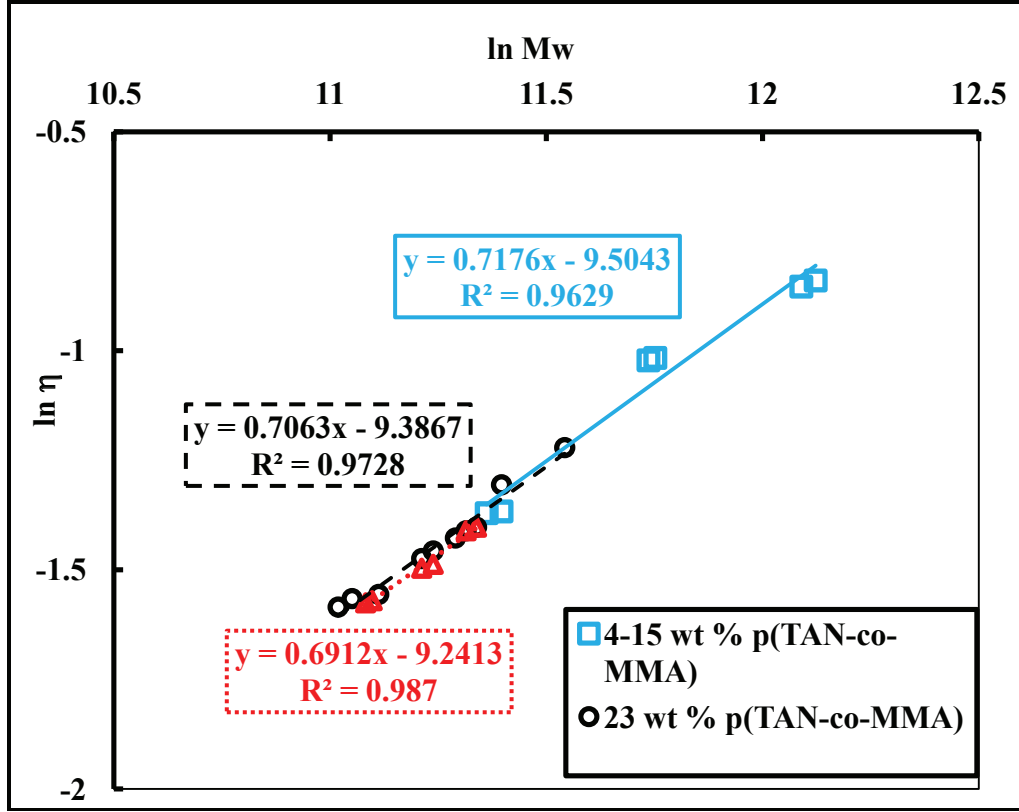
artmıştır. Ayrıca Tablo 8.4’den görüldüğü gibi kopolimer verimleri göz önüne alındığında SET-4 için 6 saat ve SET-5 için 16 saatlik reaksiyon süreleri optimum reaksiyon süreleridir.



Şekil 8.8: Farklı reaksiyon sürelerinde iki farklı basınçta CO₂ ortamında sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin reaksiyon süresi ile molekül ağırlık değişimi.

8.1.1.3. p(TAN-ran-MMA) Kopolimerlerinin Mark-Houwink Sabitlerinin Belirlenmesi

Farklı Zonyl-TAN bileşimlerinde sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin Eşitlik 7.1’de yer alan Mark-Houwink (MH) denkleminin kullanımı ile Mark-Houwink sabitleri belirlenmiştir. Tablo 8.2 ve 8.4’de p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin M_w , M_n , intrinsik viskozite sonuçları kullanılarak Şekil 8.9’da yer alan intrinsik viskoziteye karşı M_w grafiği oluşturulmuştur. Şekil 8.9’un eğim ve kesim noktalarından hesaplanan MH sabitleri Tablo 8.5’de yer almaktadır. Tablo 8.2-8.4’de yer alan viskozite-molekül ağırlıklarının (M_v) tamamı Tablo 8.5’de yer alan MH sabitlerinden hesaplanmıştır.



Şekil 8.9: Farklı Zonyl-TAN bileşimleri için p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin molekül ağırlığına ($\ln M_w$) karşı intrinstik viskozite ($\ln \eta$) değişimi.

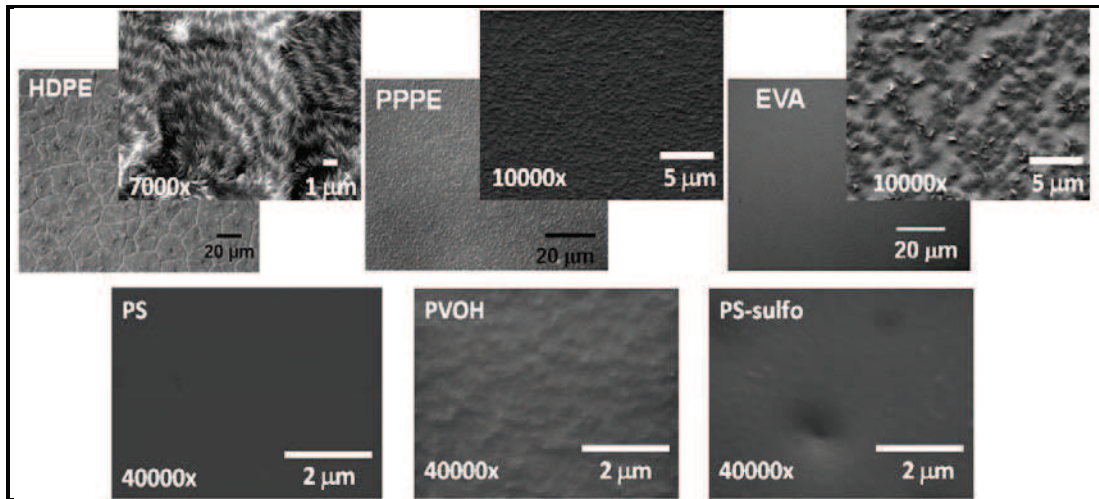
M_v genellikle M_w ile M_n arasında değer alır. Kopolimer fraksiyonlarındaki değişim MH sabitlerinin değerini değiştirdiği için Şekil 8.9'dan MH sabitlerinin belirlenmesinde yakın fraksiyonlar kendi içinde ayrı ayrı değerlendirilmiş ve bu fraksiyon aralıklarında MH sabitlerinin değişmediği varsayılmıştır. Kopolimerdeki Zonyl-TAN bileşiminin artması ile α değerinin azaldığı ve K değerinin arttığı belirlenmiştir (Tablo 8.5). Kopolimerlerdeki farklı Zonyl-TAN fraksiyonları için Şekil 8.9'dan belirlenen MH eşitlikleri şu şekilde bulunmuştur: 0.75-3 mol % Zonyl TAN fraksiyonu için $[\eta] = 7.46 \times 10^{-5} M_v^{0.717}$; 5 mol % Zonyl TAN fraksiyonu için $[\eta] = 8.39 \times 10^{-5} M_v^{0.706}$ ve 5-10 mol % Zonyl TAN fraksiyonu için $[\eta] = 9.69 \times 10^{-5} M_v^{0.691}$. Ayrıca Tablo 8.5 de yer alan PMMA ve kopolimerlerin MH sabitleri göz önüne alındığında, kopolimerdeki Zonyl-TAN bileşiminin artışı PMMA homopolimerine göre α değerinin azalmasına ve K değerinin artmasına neden olmuştur.

Tablo 8.5: PMMA ve p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin farklı Zonyl-TAN bileşim aralıkları için hesaplanmış Mark-Houwink sabitleri.

Polimer	TAN (% mol)	Wt % TAN	$K \times 10^{-5}$ (dL/g)	α	Mw (kg/mol)	Referans
PMMA	0	0	4.8	0.80	83-1500	[Wagner,1987]
p(TAN-ran-MMA)	0.75-3	4-15	7.45	0.72	86-184	Tez çalışması
p(TAN-ran-MMA)	5	23	8.38	0.71	63-103	Tez çalışması
p(TAN-ran-MMA)	5-10	23-39	9.70	0.69	65-84	Tez çalışması

8.2. Ticari Homopolimer ve Kopolimerlerden Polimerik Yüzeylerin Sentezi ve Yüzey Karakterizasyonu

Tez kapsamında ticari homopolimer ve kopolimerlerden pürüzsüz ve pürüzlü polimerik yüzeylerin sentezi gerçekleştirilmiştir. PS, PS-sulfo ve PVOH homopolimerlerinden pürüzsüz yüzeyler hazırlanmışken, HDPE homopolimeri ve PPPE ile EVA-12 kopolimerlerinden pürüzlü yüzeyler kontrollü daldırma tekniği kullanılarak faz dağılımı prosesiyle hazırlanmıştır. Hazırlanan pürüzsüz ve pürüzlü yüzeylere ait optik mikroskop ve SEM görüntüleri Şekil 8.10’da yer almaktadır.



Şekil 8.10: Pürüzsüz ve pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerinin optik mikroskop ve SEM görüntüleri.

PVOH, PS ve PS-sulfo homopolimer x40000 büyütmede dahi herhangi bir pürüzlülük görülmediği için pürüzsüz olarak kabul edilmiştir. Kaplama kalınlıkları

polimer tipi, kaplama sıcaklığı, daldırma hızı gibi kaplama parametrelerine göre değişiklik gösterir ve bu çalışmada kaplama kalınlıkları ağırlık değişimine bağlı olarak hesaplanmıştır. PVOH kaplamasının kalınlığı 1 µm'den düşük iken, PS ve PS-sulfo kaplamalarının kalınlığı 1.5-2 µm arasında değişmektedir. Pürüzsüz polimer yüzeylerinin su temas açısı sonuçları ($\pm 1^\circ$ olarak) Tablo 8.6'da verilmiştir. Tablo 8.6'dan görüldüğü gibi PVOH ve PS-sulfo'dan hazırlanan yüzeyler hidrofilik iken, PS yüzeyi hidrofobiktir. Ayrıca $CAH = \theta_{adv} - \theta_{rec}$ şeklinde hesaplanmaktadır. Pürüzsüz polimer yüzeylerde CAH değerleri $12-32^\circ$ iken, bunların yüzey enerjileri 34.8-52.5 mN/m şeklinde geniş bir aralıkta değişmektedir. Sülfolanmış PS yüzeyinde, temas açısı değerleri, PS yüzeyine göre beklendiği gibi yüzey sülfonasyonu ile oluşturulan sülfü grupları nedeniyle ciddi olarak düştüğü halde, CAH değeri neredeyse 2 kat artmıştır. CAH değerindeki bu artış yüzey kimyasal heterojenliğin PS-sulfo yüzeyinde fazlasıyla arttığını göstermektedir.

Tablo 8.6: Pürüzsüz ve pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeyleri üzerindeki temas açısı sonuçları.

Polimer Kod	Temas Açısı ($\pm 1^\circ$)				γ^{TOT} (mN/m)	R (rms)
	θ_e ($^\circ$)	θ_{adv} ($^\circ$)	θ_{rec} ($^\circ$)	CAH		
PVOH	46	48	38	12	34.8	N.A.
PS	93	96	79	17	40.6	N.A.
(PS-sulfo)	55	57	23	32	52.5	N.A.
HDPE	105	114	87	27	32.9	0.63
PPPE	106	107	83	24	30.8	1.07
EVA	85	94	81	13	34.8	0.28

Şekil 8.10'da yer alan HDPE, PPPE, ve EVA pürüzlü polimer yüzeylerinin optik mikroskop ve SEM görüntülerinden görüldüğü gibi HDPE yüzeyi üzerinde 20-40 mikron boyutta adacıklar vardır ve bu adacıklar üzerinde tüy şeklinde ince nano çıkıntılar içermektedir. Diğer pürüzlü yüzeyler üzerinde ise boncuk şeklinde mikron ve mikron altındaki boyutlarda çıkıntılar yer almaktadır. Ayrıca en pürüzlü yüzey PPPE kopolimer yüzeyi iken en az pürüzlü yüzey ise EVA kopolimer yüzeyidir. Pürüzlü yüzey veren homopolimer (HDPE) ve kopolimerlerin (PPPE ve EVA) temas açısı sonuçları, yüzey enerjisi ve yüzey profilometresinden elde edilen yüzey

pürüzlülüğü (R-rms) değerleri, Tablo 8.6’da yer almaktadır. Tablo 8.6’dan görüldüğü gibi tüm pürüzlü yüzeyler üzerindeki su temas açıları EVA haric 90 °’den büyüktür. Hidrofobluk derecesi en yüksek olan yüzeyler HDPE ve PPPE yüzeyleri iken, hidrofobluk derecesi en düşük olan yüzey sahip olduğu asetat grupları nedeniyle EVA kopolimer yüzeyidir.

8.3. CO₂ Ortamında Sentezlenen p(TAN-ran-MMA) Kopolimerinden Polimerik Yüzeylerin Sentezi ve Yüzey Karakterizasyonu

Tez kapsamında CO₂ ortamında sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerleri pürüzlülük ve hidrofobluk derecelerine bağlı olarak 3 farklı çalışma gerçekleştirilmiştir. Bunlar aşağıda maddeler halinde belirtilmiştir ve Bölüm 8.3’ün alt başlıklarında detaylandırılmıştır.

- Farklı Zonyl-TAN bileşimlerinde p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinden pürüzsüz hidrofob yüzeylerin sentezi,
- Molce % 5 Zonyl-TAN içeren p(TAN-ran-MMA) kopolimeri ile PS’nin polimer karışımlarından pürüzlü hidrofob yüzeylerin sentezi,
- Molce % 5 Zonyl-TAN içeren p(TAN-ran-MMA) kopolimeri ile PS’nin polimer karışımlarına kötü çözücü ilavesi ile pürüzlü süperhidrofobik yüzeylerin sentezi.

8.3.1. Farklı Zonyl-TAN Bileşimlerinde p(TAN-ran-MMA) Kopolimerlerinden Pürüzsüz Hidrofob Yüzeylerin Hazırlanması ve Yüzey Karakterizasyonu

Farklı Zonyl-TAN bileşimlerinde p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinden 2 farklı set için pürüzsüz hidrofob yüzeylerin hazırlanması işlemi kontrollü daldırma cihazı kullanılarak faz dağılımı prosesiyle gerçekleştirilmiştir. P(TAN-ran-MMA) kopolimerleri kullanılarak elde edilen pürüzsüz ince filmlerin denge, ilerleyen, gerileyen su damlası temas açısı ve temas açısı karmaşası (CAH) değerleri Tablo 8.7’de ve metilen iyodür (MI), α -bromo naftalin (BN), formamide (FA) ve etilen glikol (EG) damlaları ile ölçülmüş sıvı temas açıları değerleri Tablo 8.8’de verilmiştir. Kopolimerlerin serbest yüzey enerji değerleri asit-baz yaklaşımı (van

Oss-Good metodu) kullanılarak Tablo 8.8’de yer alan farklı test sıvıları için temas açısı sonuçlarından hesaplanmıştır.

Table 8.7: p(TAN-ran-MMA) kopolimer yüzeylerindeki denge, ilerleyen ve gerileyen temas açısı sonuçları.

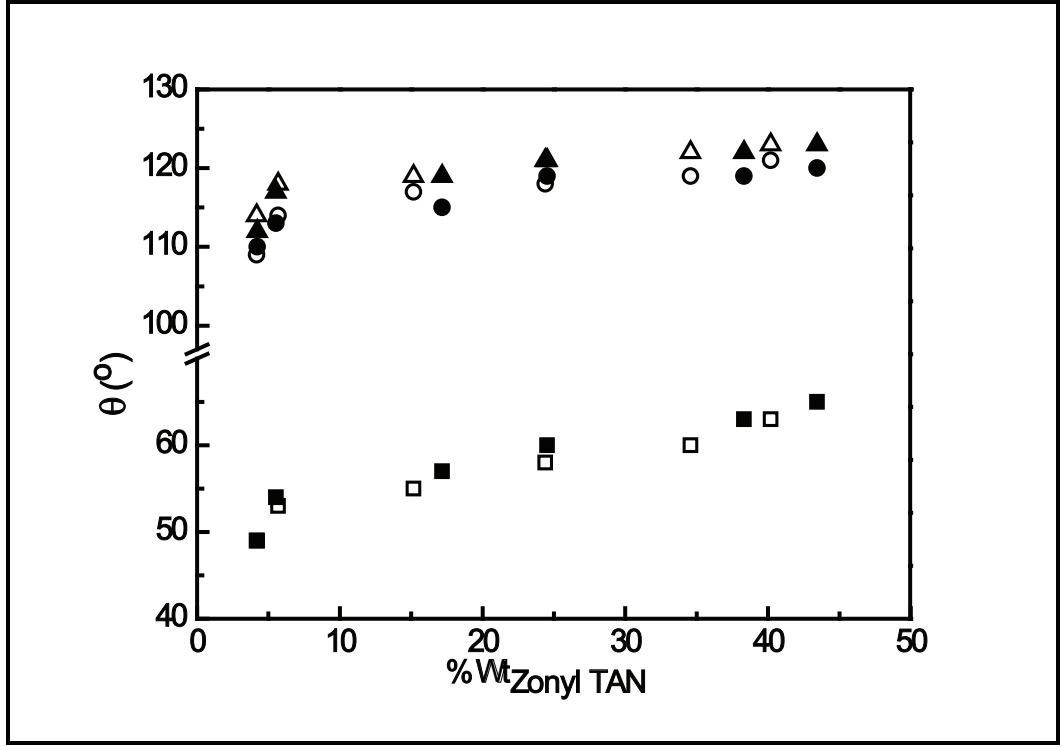
	Kopolimer Kod	$\theta_e(^{\circ})$	$\theta_a(^{\circ})$	$\theta_r(^{\circ})$	CAH
SET 1	$_{13}(\text{TAN}_4\text{-ran-MMA}_{96})_{16}$	109	114	49	80
	$_{13}(\text{TAN}_5\text{-ran-MMA}_{95})_{16}$	114	118	53	87
	$_{13}(\text{TAN}_{15}\text{-ran-MMA}_{85})_{16}$	117	119	55	92
	$_{13}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_{16}$	118	121	58	94
	$_{13}(\text{TAN}_{32}\text{-ran-MMA}_{68})_{16}$	119	122	60	95
	$_{13}(\text{TAN}_{39}\text{-ran-MMA}_{61})_{16}$	121	123	63	98
SET 2	$_{15}(\text{TAN}_4\text{-ran-MMA}_{96})_{16}$	110	112	49	79
	$_{15}(\text{TAN}_5\text{-ran-MMA}_{95})_{16}$	113	117	54	86
	$_{15}(\text{TAN}_{15}\text{-ran-MMA}_{85})_{16}$	115	119	57	92
	$_{15}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_{16}$	119	121	60	96
	$_{15}(\text{TAN}_{32}\text{-ran-MMA}_{68})_{16}$	119	122	63	97
	$_{15}(\text{TAN}_{39}\text{-ran-MMA}_{61})_{16}$	120	123	65	98

Her iki set kopolimer içinde kopolimerdeki Zonyl-TAN bileşiminin artması ile temas açısı değerleri artmıştır (Şekil 8.11) ve bu sonuç literatür ile uyumludur [Yang et al., 2006]. Ayrıca Zonyl-TAN bileşimi wt % 15 den sonra neredeyse sabit 120° temas açısına ulaşılmıştır. Chang ve arkadaşları [Chang et al., 2007], Zonyl-TAN homopolimerinin temas açısı değerini 123.3° olarak rapor etmişlerdir ve bu çalışma ile wt % 15 Zonyl-TAN bileşimi sonrasında dahi 120° ’lik temas açısı değerine ulaşılması pahalı bir monomer olan Zonyl-TAN’nın kullanım miktarını azaltması açısından önemli bir avantajdır. Ayrıca her iki set p(TAN-ran-MMA) kopolimerleri için CAH değerleri Zonyl-TAN bileşiminin artması ile 79 dan 98° ’ye artmıştır. CAH değeri kimyasal heterojenlik ve pürüzlülüğün artışına bağlı olarak artar. p(TAN-ran-MMA) kopolimerleri x40.000 büyütmedeki SEM görüntülerine göre pürüzsüzdür ve

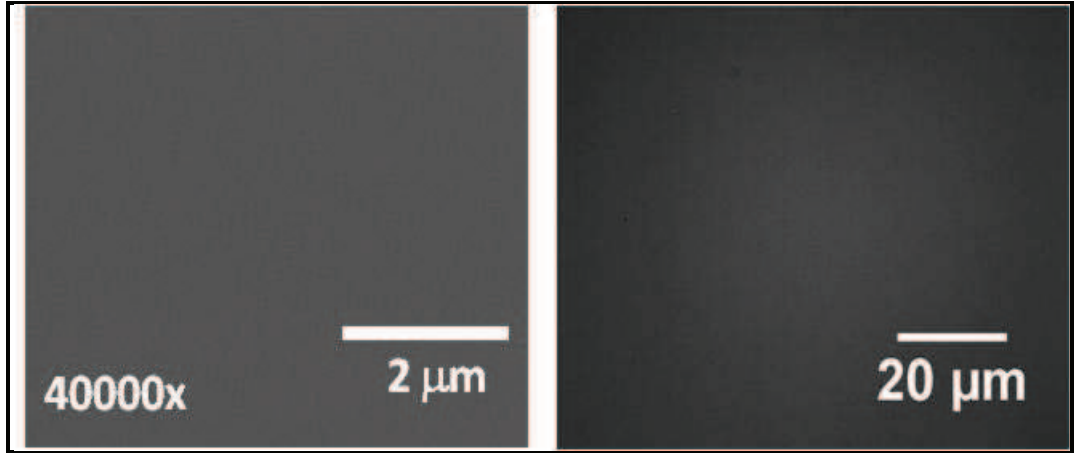
temsili SEM görüntüsü Şekil 8.12’de yer almaktadır. Dolayısıyla CAH değerindeki artış p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinde Zonyl-TAN bileşimin artması ile kimyasal heterojenliğin artmasından kaynaklanabilir. Ayrıca Zonyl-TAN polar flor gruplarına (-CF₂CF₃) sahiptir ve polar flor grupları temas açısı ölçümü sırasında su ile etkileşerek reoryantasyon hareketi yaparak gerileyen temas açısının azalması sonucunda CAH değerinin artmasına neden olur. Halbuki Tablo 8.7’den görüldüğü gibi Zonyl-TAN bileşiminin artması ile gerileyen temas açısı artmıştır ve beklenen sonuç CAH değerinin azalmasıdır. Bu nedenle artan Zonyl-TAN bileşimi ile CAH değerindeki artışın nedeni yüzeydeki kimyasal heterojenliğin artması olabilir.

Tablo 8.8: p(TAN-ran-MMA) kopolimer yüzeylerindeki metilen iyodür, α -bromo naftalin, formamid ve etilen glikol (EG) damlaları ile ölçülmüş sıvı temas açıları sonuçları.

	Kopolimer Kod	θ_{MI} (°)	θ_{BN} (°)	θ_{FA} (°)	θ_{EG} (°)
SET 1	13(TAN₄-ran-MMA₉₆)₁₆	80	74	99	94
	13(TAN₅-ran-MMA₉₅)₁₆	87	77	101	96
	13(TAN₁₅-ran-MMA₈₅)₁₆	92	82	104	99
	13(TAN₂₃-ran-MMA₇₇)₁₆	94	84	105	100
	13(TAN₃₂-ran-MMA₆₈)₁₆	95	86	106	101
	13(TAN₃₉-ran-MMA₆₁)₁₆	98	90	108	103
SET 2	15(TAN₄-ran-MMA₉₆)₁₆	79	73	98	95
	15(TAN₅-ran-MMA₉₅)₁₆	86	77	100	96
	15(TAN₁₅-ran-MMA₈₅)₁₆	92	81	103	97
	15(TAN₂₃-ran-MMA₇₇)₁₆	96	87	107	101
	15(TAN₃₂-ran-MMA₆₈)₁₆	97	87	107	101
	15(TAN₃₉-ran-MMA₆₁)₁₆	98	88	108	102



Şekil 8.11: p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin 2 farklı set için (13 ve 15 MPa) % wt Zonyl-TAN bileşiminin değişimine bağlı olarak su temas açısı sonuçlarının değişimi. 15 MPa; ●: θ_e , ▲: θ_a , ■: θ_r ve 13 MPa; ○: θ_e , △: θ_a , □: θ_r .



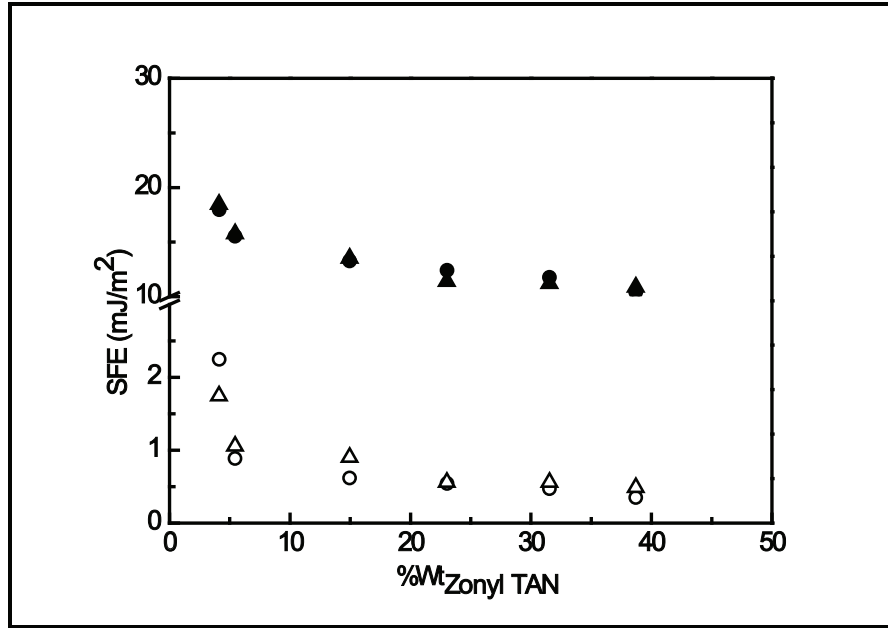
Şekil 8.12: $_{13}(\text{TAN}_{23}\text{-ran-MMA}_{77})_{16}$ kopolimerinin temsili optik mikroskop ve SEM görüntüsü.

Pürüzsüz p(TAN-ran-MMA) kopolimer filmlerinin SFE değerleri, Tablo 8.9’da görülmektedir. Kopolimerlerdeki artan Zonyl-TAN oranı ile kopolimer SFE değerleri yüzeydeki $-\text{CF}_3$ gruplarının yoğunluğunun artışından dolayı belirgin şekilde düşmektedir (Şekil 8.13). Tablo 8.9’da pürüzsüz p(TAN-ran-MMA) kopolimer film

yüzeylerinin SFE değerleri 10.41 ile 18.7 mJ/m² arasında değişmektedir. Literatürde PMMA, PFDDA, PFDA, PFOA, PFHA floro akrilat homopolimerleri ve wt % 61 floroakrilat içeren PMA-ran-PFA kopolimerinin SFE değerleri sırasıyla 40.2, 5.6, 6.9, 7.0, 12.9 ve 9.0 mJ/m² olarak rapor edilmiştir [Rark et al., 1998], [Morita et al., 1999], [Honda et al., 2005], [Chang et al., 2007]. Tez kapsamında sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerleri ağırlıkça % 4 ile 39 Zonyl-TAN bileşimlerine sahiptir ve en düşük Zonyl-TAN bileşimine sahip ₁₃(TAN₄-ran-MMA₉₆)₁₆ ve ₁₅(TAN₄-ran-MMA₉₆)₁₆ kopolimerlerinde dahi PMMA'nın SFE değerinde (40.2 mJ/m²) oldukça küçük SFE değeri bulunmuştur ve % 61 FA içeren PMA-ran-PFA kopolimerinin SFE değerine bu çalışmada sentezlenen % 39 Zonyl-TAN içeren p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinde yaklaşılmıştır. Ayrıca SFE'nin Lewis acid (γ_s^+) komponenti ve dispersiyon komponenti (γ_s^{LW}) kopolimerdeki floroakrilat (Zonyl-TAN) bileşiminin artması ile azalmıştır. Ayrıca SFE'nin Lewis acid (γ_s^+) komponenti ve dispersiyon komponenti (γ_s^{LW}) kopolimerdeki floroakrilat (Zonyl-TAN) bileşiminin artması ile azalmıştır. Sonuç olarak Zonyl-TAN uzun polar pendant flor gruplarına sahip olması nedeniyle SFE ve SFE komponentleri kopolimerdeki Zonyl-TAN bileşiminin artması ile azalmaktadır.

Tablo 8.9: p(TAN-ran-MMA) kopolimer yüzeylerinin SFE değerleri (mJ/m²).

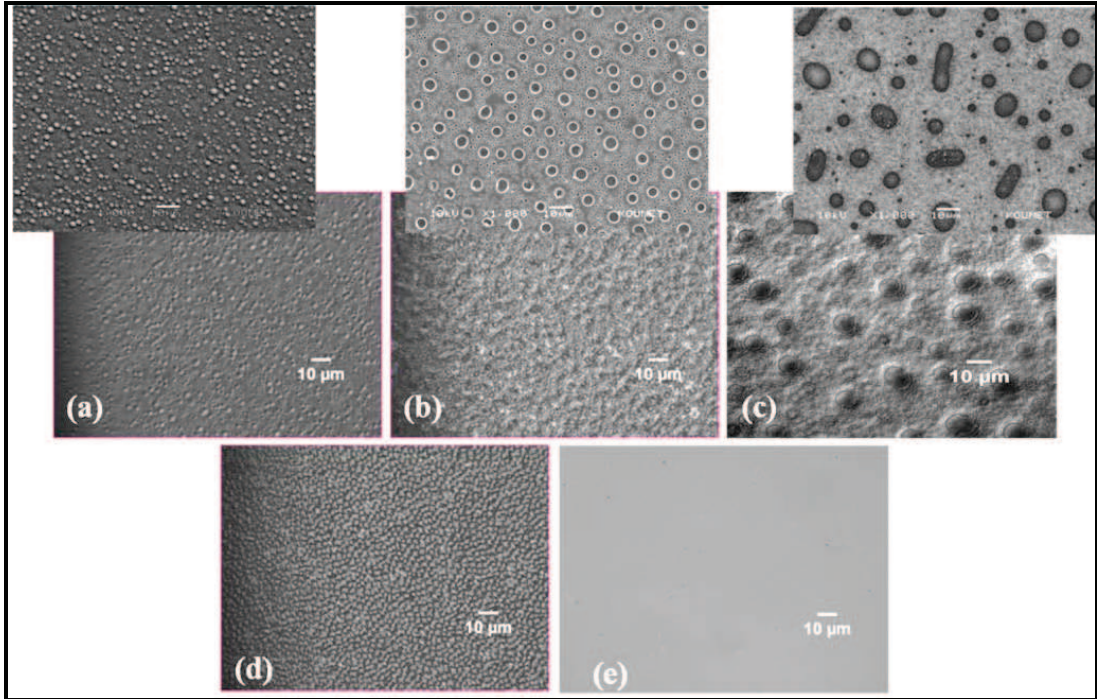
	Kopolimer Kod	γ_s^-	γ_s^+	γ_s^{AB}	γ_s^{LW}	γ_s^{tot}
SET 1	13(TAN ₄ -ran-MMA ₉₆) ₁₆	2.246	0.000	0.000	17.97	17.97
	13(TAN ₅ -ran-MMA ₉₅) ₁₆	0.886	0.000	0.000	15.53	15.53
	13(TAN ₁₅ -ran-MMA ₈₅) ₁₆	0.617	0.000	0.000	13.27	13.27
	13(TAN ₂₃ -ran-MMA ₇₇) ₁₆	0.541	0.000	0.000	12.41	12.41
	13(TAN ₃₂ -ran-MMA ₆₈) ₁₆	0.471	0.000	0.000	11.77	11.77
	13(TAN ₃₉ -ran-MMA ₆₁) ₁₆	0.350	0.005	0.041	10.37	10.41
SET 2	15(TAN ₄ -ran-MMA ₉₆) ₁₆	1.745	0.000	0.000	18.47	18.47
	15(TAN ₅ -ran-MMA ₉₅) ₁₆	1.057	0.000	0.000	15.77	15.77
	15(TAN ₁₅ -ran-MMA ₈₅) ₁₆	0.905	0.001	0.031	13.49	13.52
	15(TAN ₂₃ -ran-MMA ₇₇) ₁₆	0.560	0.003	0.041	11.37	11.41
	15(TAN ₃₂ -ran-MMA ₆₈) ₁₆	0.560	0.004	0.043	11.17	11.21
	15(TAN ₃₉ -ran-MMA ₆₁) ₁₆	0.491	0.005	0.053	10.85	10.90



Şekil 8.13: p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin 2 farklı set için (13 ve 15 MPa) % wt Zonyl-TAN bileşiminin değişimine bağlı olarak SFE değişimi. 13 MPa: ●: γ_s^{tot} , ○: γ_s^- and at 15 MPa: ▲: γ_s^{tot} , △: γ_s^- .

8.3.2. p(TAN-ran-MMA)/PS Polimer Karışımlarından Pürüzlü Hidrofob Yüzeylerin Hazırlanması ve Yüzey Karakterizasyon

Molce % 5 ve ağırlıkça % 23 Zonyl-TAN içeren p(TAN-ran-MMA) kopolimeri ile PS den farklı bileşimlerde (20/80; 50/50; 80/20) p(TAN-ran-MMA)/PS polimer karışımları hazırlanmış ve kontrollü daldırma tekniği ile ince film pürüzlü polimerik yüzeyler hazırlanmıştır. Hazırlanan p(TAN₂₃-ran-MMA₇₇)/PS polimer karışımlarına (PS/TAN₂₃) dair optik mikroskop ve SEM görüntüleri Şekil 8.14’de verilmiştir. p(TAN₂₃-ran-MMA₇₇)/PS polimer karışımları bu bölümde $A_{TAN_{23}}+PS_B$ şeklinde kodlanmıştır ve bu kodlamada A: p(TAN₂₃-ran-MMA₇₇) kopolimerinin polimer karışım içindeki ağırlıkça yüzdesini temsil ederken, B: PS’nin polimer karışım içindeki ağırlıkça yüzdesini temsil etmektedir.



Şekil 8.14: p(TAN₂₃-ran-MMA₇₇)/PS polimer karışımlarının ağırlıkça farklı karışım oranlarında karıştırılması elde edilen yüzeylerin optik mikroskop ve SEM görüntüleri. (a) $_{80}PS+_{20}TAN_{23}$, (b) $_{50}PS+_{50}TAN_{23}$, (c) $_{20}PS+_{80}TAN_{23}$, (d) $_{100}PS+_{0}TAN_{23}$, (e) $_{0}PS+_{100}TAN_{23}$.

Şekil 8.14’den görüldüğü gibi PS homopolimer yüzeyi pürüzlüyken, TAN₂₃ kopolimer yüzeyi pürüzsüzdür ve PS/TAN₂₃ polimer karışımları hem PS hem de TAN₂₃ kopolimer yüzeylerinden daha pürüzlüdür. TAN₂₃/PS polimer karışımlarının yüzeyleri farklı boyutlarda boncuk şeklinde pürüzlülükler içerir. TAN₂₃/PS polimer

karışımlarındaki TAN₂₃ bileşiminin artması ile boncuk şeklindeki pürüzlülüklerin çapı (3 µm'den 10'µm ye) ve pürüzlülükler arasındaki mesafe artmaktadır. Bunun nedeni TAN₂₃ kopolimerinin PS den daha düşük yüzey gerilimine sahip olmasından dolayı yüzeyde zenginleşme eğiliminin artmasıdır. Ayrıca PS homopolimerinin molekül ağırlığı (Mw=300000 g/mol) TAN₂₃ (Mw=84000 g/mol) kopolimerinden yüksek olması nedeniyle TAN₂₃ kopolimeri yüzeyde daha fazla zenginleşme eğilimindedir ve PS yüzeyi TAN₂₃ kopolimer yüzeyine göre daha pürüzlü olmasından dolayı TAN₂₃/PS polimer karışımlarındaki TAN₂₃ bileşiminin artması ile pürüzlülük azalmıştır. Tablo 8.10'da farklı bileşimlerdeki TAN₂₃/PS polimer karışım yüzeylerine su damlasının denge, ilerleyen ve gerileyen temas açısı sonuçları, metilen iyodür ve hekzadekan damlalarının temas açısı sonuçları ve R_{rms} pürüzlülük sonuçları görülmektedir. Ayrıca Tablo 8.10'dan görüldüğü gibi TAN₂₃/PS polimer karışımlarındaki TAN₂₃ bileşiminin artması ile R_{rms} pürüzlülük değerlerinde de azalma gözlenmiştir.

Tablo 8.10: Farklı bileşimlerdeki TAN₂₃/PS polimer karışım yüzeylerine su damlasının denge, ilerleyen ve gerileyen temas açısı sonuçları, metilen iyodür ve hekzadekan damlalarının temas açısı sonuçları ve R_{rms} pürüzlülük sonuçları.

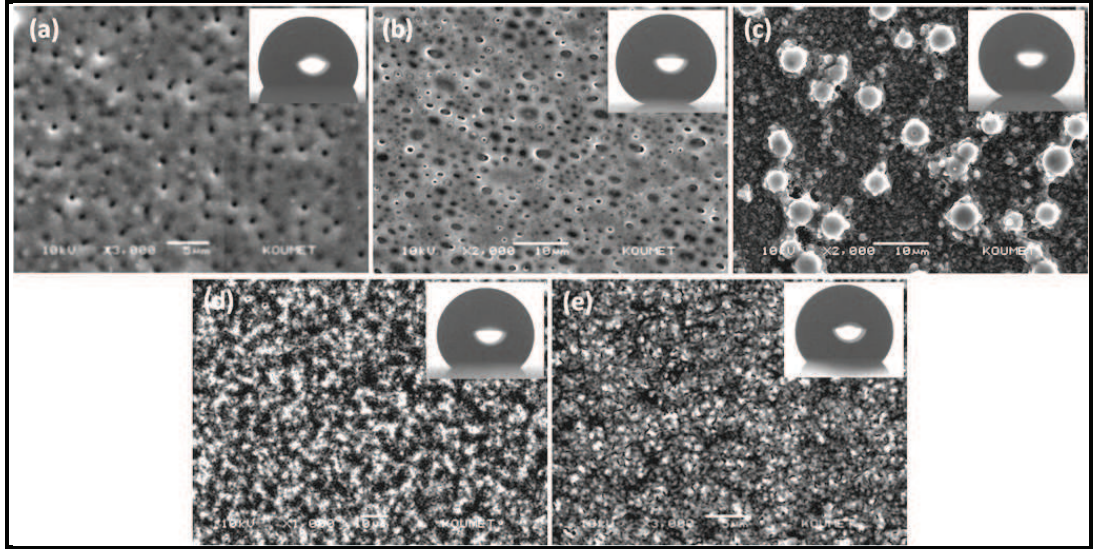
Polimer Karışım Kodu	Polimer Karışımındaki Zonyl-TAN wt %	$\theta_e(^{\circ})$	$\theta_a(^{\circ})$	$\theta_r(^{\circ})$	CAH	R _{rms} (µm)
₀ PS+ ₁₀₀ TAN ₂₃	24.4	118	121	49	72	<0.10
₂₀ PS+ ₈₀ TAN ₂₃	19.52	118	123	52	71	0.47
₅₀ PS+ ₅₀ TAN ₂₃	12.20	116	120	62	58	0.49
₈₀ PS+ ₂₀ TAN ₂₃	4.88	113	117	59	58	0.81
₁₀₀ PS+ ₀ TAN ₂₃	0	98	100	81	19	0.42

Tablo 8.10'da yer alan temas açısı sonuçlarına göre TAN₂₃ ($\theta_e=118^{\circ}$) kopolimeri PS ($\theta_e=98^{\circ}$) homopolimerine göre daha hidrofobiktir. TAN₂₃/PS polimer karışımlarındaki TAN₂₃ bileşiminin artması ile su temas açısı değerleri artmıştır ve ₂₀PS+₈₀TAN₂₃ polimer karışımında temas açısı sonuçları neredeyse TAN₂₃ kopolimer yüzeyi ile aynıdır. Ayrıca TAN₂₃/PS polimer karışımlarındaki TAN₂₃ bileşiminin

artması ile pürüzlülük azalmasına rağmen temas açısı değerlerinin arttığı belirlenmiştir bu durum TAN₂₃ kopolimerinin yüzeyde zenginleşme eğiliminin PS'e göre daha fazla olmasını ayrıca destekleyen bir sonuçtur ve TAN₂₃ kopolimerinin düşük yüzey enerjisi nedeniyle yüzeyde zenginleşme eğiliminin PS'e göre daha fazla olması literatür sonuçları ile uyumludur [Kano et al., 1997], [Huang et al., 2004] .

8.3.3. p(TAN-ran-MMA)/PS Polimer Karışımlarına Kötü Çözücü İlavesi ile Süperhidrofob Yüzey Sentezi ve Yüzey Karakterizasyonu

Bölüm 8.3.2'de hazırlanan p(TAN-ran-MMA)/PS polimer karışımlarının yüzeylerinin daha fazla pürüzlendirilmesi ve temas açısı değerlerinin artırılması için aynı polimer karışım çözeltilerine (TAN₂₃/PS: 20/80, 50/50, and 80/20) kötü çözücü ilavesi süperhidrofobik pürüzlü yüzeyler sentezlenmiştir. Bu bölümde p(TAN-ran-MMA)/PS polimer karışımlarına EtOH ilavesi ile hazırlanan yüzeylerde $A_{PS}+B_{TAN_{23}}-e$ şeklinde kodlama kullanılmıştır. Burada A: polimer karışımındaki PS bileşimini, B: polimer karışımındaki TAN₂₃ kopolimer bileşimini ve “e” ise polimer karışımın EtOH ilave edilerek hazırlandığını göstermektedir. Süperhidrofobik yüzey sentezine yönelik birçok yöntem vardır ancak bu yöntemlerin pahalı olması ve geniş alanlara uygulanabilirliklerinin zor olması nedeniyle bu çalışmada ucuz ve kolay uygulanabilir olan faz dağılımı prosesi kullanılmıştır. Polimer karışım çözeltileri THF içerisinde hazırlanmış ve kötü çözücü olarak EtOH ilavesi yapılarak faz dağılımı prosesi ile çözeltinin bulanma noktası öncesinde süperhidrofobik yüzeylerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Erbil ve arkadaşları [Erbil et al., 2003] ticari polimer olan polipropileni ksilen içerisinde çözmüş ve kötü çözücü olarak metil etil keton, siklohekzanon ve izopropil alkol kullanarak faz dağılımı prosesi ile hidrofob olan PP yüzeyini bulanma noktası öncesinde yaptıkları kaplama ile süperhidrofob hale getirmişlerdir. TAN₂₃/PS polimer karışımlarından süperhidrofobik yüzey sentezinde benzer yöntem uygulanmıştır ve Şekil 8.15'de TAN₂₃/PS polimer karışımlarından hazırlanan süperhidrofobik yüzeylerin SEM görüntüleri ve yüzey üzerindeki damla profilleri yer almaktadır. Şekil 8.15'den görüldüğü gibi TAN₂₃/PS-e polimer karışımındaki TAN₂₃ bileşiminin artması ile daha pürüzlü yüzeyler elde edilmiş ve parçacıklı tabaka üzerinde çapları 2-5 µm arasında değişen boncuk şeklinde pürüzlülükler yer almaktadır.



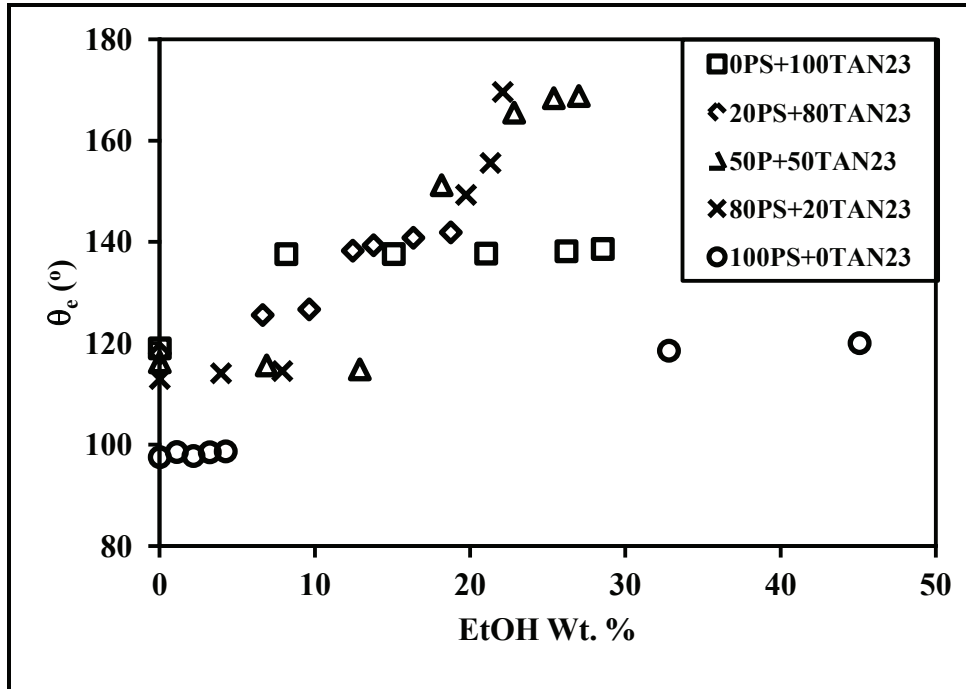
Şekil 8.15: TAN_{23}/PS polimer karışımlarına EtOH ilavesi ile hazırlanan farklı bileşimlerdeki TAN_{23}/PS -e polimer karışım yüzeylerinin SEM görüntüleri ve su damlası profilleri a) $100PS+0TAN_{23-e}$, b) $80PS+20TAN_{23-e}$, c) $50PS+50TAN_{23-e}$, d) $20PS+80TAN_{23-e}$, e) $0PS+100TAN_{23-e}$.

Tablo 8.11’de farklı bileşimlerde hazırlanan TAN_{23}/PS -e polimer karışım yüzeyleri üzerinde belirlenen denge, ilerleyen ve gerileyen temas açısı sonuçları ve R_{rms} pürüzlülük sonuçları yer almaktadır. Tablo 8.11’den görüldüğü gibi TAN_{23}/PS -e polimer karışımlarda TAN_{23} bileşiminin azalması ile daha yüksek temas açısı değerleri elde edilmiştir. Örneğin TAN_{23} bileşiminin % 80’den ($20PS+80TAN_{23-e}$) % 20’ye ($80PS+20TAN_{23-e}$) azalması ile denge temas açısı 142° ’den 170° ’ye artmıştır. Temas açısına benzer şekilde yüzey pürüzlülüğü de $20PS+80TAN_{23-e}$ yüzeyinde $0.26 \mu m$ iken, $80PS+20TAN_{23-e}$ yüzeyinde TAN_{23} bileşiminin artması ile $1.45 \mu m$ ’ye artmıştır. Ayrıca Tablo 8.10’da yer alan EtOH ilave edilmemiş $80PS+20TAN_{23}$ polimer karışım yüzeyi ile aynı polimer karışıma EtOH ilavesi ile hazırlanan $80PS+20TAN_{23-e}$ yüzeyi karşılaştırıldığında, $80PS+20TAN_{23}$ yüzeyinde yüzey pürüzlülüğü $0.81 \mu m$ iken, $80PS+20TAN_{23-e}$ yüzeyinde yüzey pürüzlülüğü 2 katına çıkmıştır. Hidrofob olan $80PS+20TAN_{23}$ yüzeyi EtOH ilavesi ile $80PS+20TAN_{23-e}$ süperhidrofob hale gelmiştir. Ayrıca EtOH ilavesiyle hazırlanmış PS/TAN_{23-e} polimer karışımlarında TAN_{23} bileşiminin artması temas açısı sonuçlarında olduğu gibi CAH değerini de düşürmüştür.

Tablo 8.11: Farklı bileşimlerde hazırlanan TAN₂₃/PS-e polimer karışım yüzeyleri üzerinde belirlenen denge, ilerleyen ve gerileyen temas açısı sonuçları ve R_{rms} pürüzlülük sonuçları.

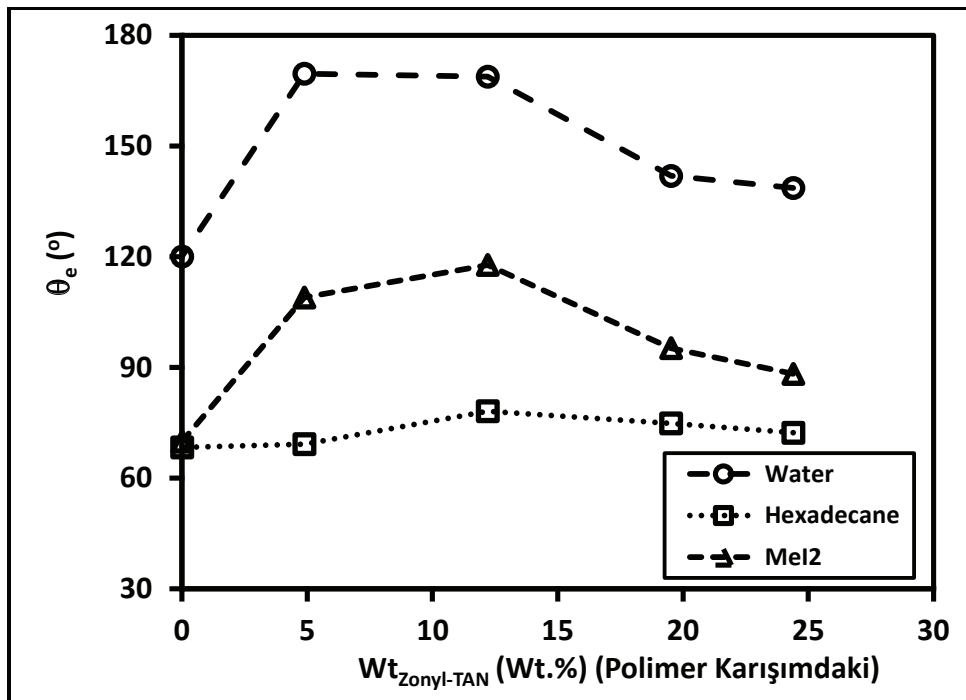
Polimer Karışım Kodu	Zonyl-TAN wt % (Polimer Karışımındaki)	W _{EtOH} %	θ_e (°)	θ_a (°)	θ_r (°)	CAH	R _{rms} (µm)
₀ PS+ ₁₀₀ TAN ₂₃ -e	24.4	16.14	139	141	132	9	0.18
₂₀ PS+ ₈₀ TAN ₂₃ -e	19.52	20.01	142	148	138	18	0.26
₅₀ PS+ ₅₀ TAN ₂₃ -e	12.20	24.28	168	176	162	14	0.68
₈₀ PS+ ₂₀ TAN ₂₃ -e	4.88	33.91	170	176	159	17	1.45
₁₀₀ PS+ ₀ TAN ₂₃ -e	0	26.52	120	127	61	66	0.17

Şekil 8.16’da farklı TAN₂₃ bileşimlerinde, EtOH ilavesi ile hazırlanan TAN₂₃/PS-e polimer karışımlarının EtOH miktarına bağlı olarak, temas açısı değişimi görülmektedir. Wt % EtOH miktarının artması ile hem PS ve TAN₂₃ polimerlerinde hem de TAN₂₃/PS polimer karışımlarında denge temas açısının faz dağılımı prosesi ile yüzey pürüzlülüğünün artmasından dolayı arttığı belirlenmiştir.



Şekil 8.16: Farklı TAN₂₃ bileşimlerinde EtOH ilavesi ile hazırlanan TAN₂₃/PS-e polimer karışımlarının EtOH ilavesi miktarına bağlı olarak temas açısı değişimi.

Şekil 8.17’de TAN₂₃/PS-e polimer karışımlarındaki Zonyl-TAN bileşiminin artışına bağlı olarak denge temas açısındaki değişim görülmektedir. Şekil 8.17’den görüldüğü gibi su, hekzadekan ve metilen iyodür test sıvıları ile belirlenen temas açısı sonuçları, polimer karışımdaki Zonyl TAN bileşiminin wt % 4.12 ile 12.2 arasındaki bölgede maksimum ve neredeyse sabit olarak bulunmuştur. Sonuç olarak polimer karışımdaki Zonyl TAN bileşiminin artması ile yüzey pürüzlülüğü bulanma noktasından önce azalmasına rağmen Zonyl TAN bileşiminin wt % 4.12 ile 12.2 arasındaki bölgede TAN₂₃ kopolimerinin yüzeyde zenginleşme eğilimi arttığı için maksimum temas açılı yüzeyler sentezlenmiştir.



Şekil 8.17: TAN₂₃/PS-e polimer karışımlarındaki Zonyl-TAN bileşiminin artışına bağlı olarak denge temas açısındaki değişim.

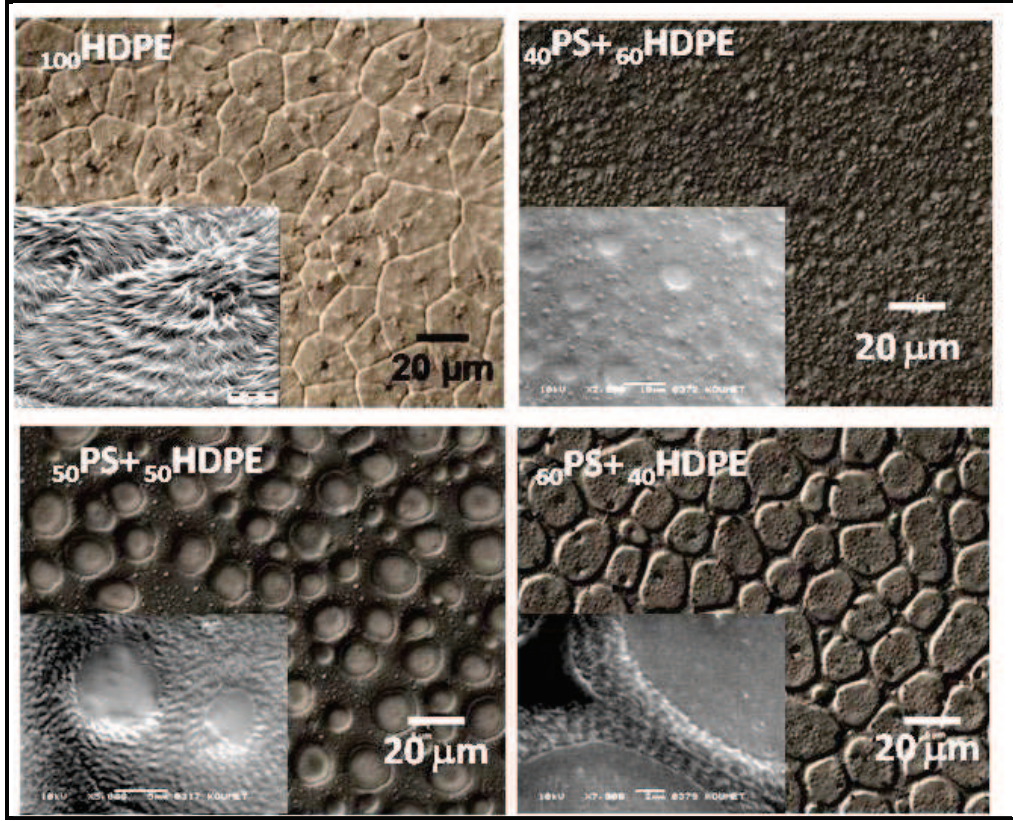
8.4. HDPE/PS Polimer Karışımlarından Mikrodeseanlı Yüzeylerin Hazırlanması ve Yüzey Karakterizasyonu

HDPE/PS polimer karışımlardan faz dağılımı prosesi ile kontrollü daldırma cihazı kullanılarak mikrodeseanlı polimerik ince film yüzeyler hazırlanmıştır. Mikrodeseanlı yüzeylerdeki mikro desen çapı ve mikro desenler arasındaki mesafenin kontrol edilebilmesi için polimer karışım bileşimi, polimer karışım konsantrasyonu, kaplama hızı, kaplama sıcaklığı, kaplama çözücüsü ve polimer molekül ağırlık

değişimi gibi kaplama parametrelerinin etkileri incelenmiştir ve Bölüm 8.4.1 ile 8.4.3 arasında detayları yer almaktadır.

8.4.1. HDPE/PS Polimer Karışımlarından Hazırlanan Mikrodeseanlı Yüzeylerde Polimer Bileşiminin Yüzey Özelliklerine Etkisi

HDPE/PS: 40/60, 50/50 ve 60/40 farklı polimer karışım bileşimlerinin yüzey pürüzlülüğüne etkisini incelemek amacıyla üç farklı polimer karışım çözeltisi ile kontrollü daldırma yöntemi ile kaplamalar oluşturulmuştur. 25 mg/mL sabit konsantrasyon, 125°C sabit sıcaklık ve 262 mm/dk daldırma hızı için ksilen içerisinde hazırlanan HDPE/PS polimer karışımların bileşimi HDPE/PS: 40/60, 50/50 ve 60/40 olarak değiştirilmiştir. Bu yüzeylerin yüzey morfolojilerindeki değişime ait optik mikroskop ve SEM görüntüleri Şekil 8.18’de verilmiştir. Bu çalışmada Tablo 7.3’de yer alan $M_w > 1.000.000$ olan HDPE ve Tablo 7.2’de yer alan $M_w = 350.000$ olan PS kullanılmıştır. Şekil 8.18’den görüldüğü HDPE/PS polimer karışımlarındaki PS miktarının artması ile mikro desen çapı artmakta ve mikro desenler arasındaki mesafe azalmaktadır. PS yüzeyi Şekil 8.10’dan da görüldüğü gibi x40.000 büyütmede çekilen SEM görüntüsünde dahi pürüzsüzken, HDPE yüzeyi adacıkların olduğu ve adacıklar üzerinde ise tüy şeklinde pürüzlerin olduğu pürüzlü bir yüzeydir. Bu nedenle HDPE/PS polimer karışım yüzeylerindeki boncuk şeklindeki mikro desenler PS iken, arada kalan tüy şeklindeki morfolojik yapı HDPE polimerine aittir [Atalay Gengec et al., 2014].



Şekil 8.18: HDPE homopolimeri ve farklı polimer karışım bileşimlerindeki HDPE/PS polimer karışımlarının optik mikroskop ve SEM görüntüleri.

Farklı bileşimlerde HDPE/PS polimer karışımlarından hazırlanan Şekil 8.18’de yer alan yüzeylere dair temas açısı sonuçları Tablo 8.12’de verilmiştir. Tablo 8.12’den görüldüğü gibi HDPE/PS polimer karışımlarında PS bileşiminin artması ile su temas açısı değerleri azalarak PS homopolimer değerine yaklaşılmaya başlamıştır ve CAH değeri ise neredeyse sabit kalmıştır. Ayrıca polimer karışımların temas açısı sonuçları HDPE ve PS homopolimerlerinin arasında bulunmuştur. PS’nin SFE değeri (40.6 mN/m) HDPE’ninkinden (32.9 mN/m) daha yüksektir. Bu nedenle düşük SFE değerinden dolayı HDPE’nin yüzeyde zenginleşme eğiliminin PS’den daha fazla olması beklenen bir durumdur ancak, temas açısı sonuçları bu beklentiyi desteklememektedir. Bu beklentinin aksi sonuçların elde edilmesinin nedeni HDPE/PS polimer karışımlarında kullanılan HDPE homopolimerinin M_w ’i PS’ninkinden neredeyse 3 katı kadar büyüktür ve bu nedenle PS’nin yüzeyde zenginleşme eğiliminin HDPE’den daha fazla olması beklenir. Sonuç olarak polimer karışımında kullanılan polimerlerin M_w farklılıkları PS’nin yüzeyde HDPE’e göre daha fazla zenginleşme eğiliminde olması sonucuna dayanarak temas açısı sonuçlarındaki trend açıklanabilir.

Tablo 8.12: HDPE, PS ve HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin temas açısı ve SFE sonuçları.

Polimer bileşimi	θ_e	θ_{adv}	θ_{rec}	CAH	γ^{TOT} (mN/m)
HDPE ₁₀₀	105	114	87	27	32.9
HDPE ₆₀ +PS ₄₀	104	109	85	24	N.A.
HDPE ₅₀ +PS ₅₀	99	106	84	22	N.A.
HDPE ₄₀ +PS ₆₀	98	105	84	21	N.A.
PS ₁₀₀	93	96	79	17	40.6

Bu bölümde verilen farklı bileşimlerdeki HDPE/PS karışımları standart camlar üzerine hazırlanmıştır. Standart cam lamaların kalınlığı (1mm) yuvarlak camlardan fazla olması nedeniyle kaplama sırasında ısı transferi değişir ve böylece faz dağılımı prosesinde farklı yüzey özelliklerinin elde edilmesine neden olur. Bu nedenle aynı yüzeylerin yuvarlak camlar üzerinde hazırlanması için optimum deney koşulları belirlenmiştir. Bu optimum deney koşulları 312 mm/dk kaplama hızı ve 10 mg/mL sabit konsantrasyon olarak belirlenmiştir.

8.4.2. HDPE/PS Polimer Karışımlarından Hazırlanan Mikrodesenli Yüzeylerde Kaplama Şartlarının Yüzey Özelliklerine Etkisi

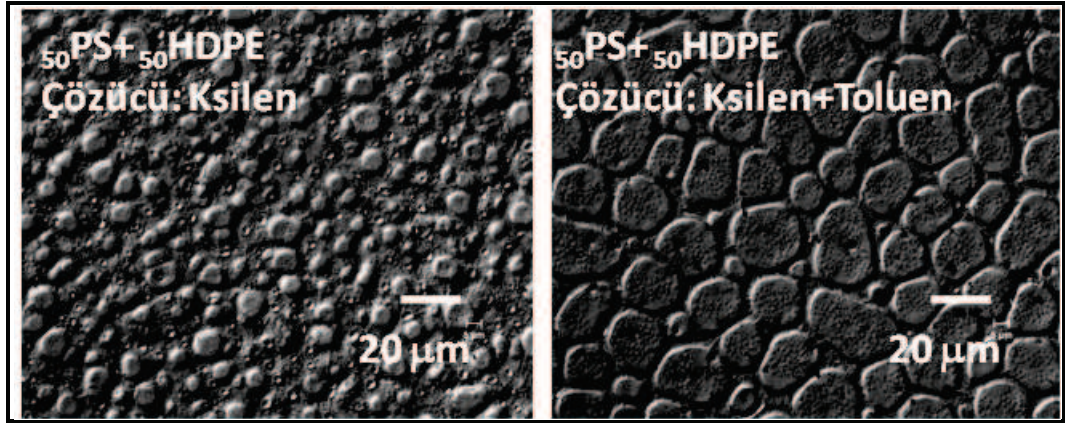
Bu çalışma, HDPE/PS polimer karışımlarından hazırlanan ince film polimerik yüzeylerin kaplama özelliklerinin yüzey morfolojisine etkisinin incelenmesi ve sentezlenen yüzeylerdeki mikro desen çapının kontrol edilmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Çözücü etkisi, kaplama konsantrasyonu etkisi, kaplama sıcaklığı etkisi ve kaplama hızının etkisi gibi kaplama şartları faz dağılımı prosesi ile kontrollü daldırma tekniği kullanılarak ayrı ayrı incelenmiş ve aşağıda alt bölümlerde detaylandırılmıştır.

8.4.2.1. Çözücü Etkisi

Polimer karışımlarında çözücünün yüzey pürüzlülüğüne etkisini incelemek amacıyla HDPE/PS polimer karışım çözeltileri iki ayrı çözücü (ksilen ve ksilen+toluen) içerisinde hazırlanarak kontrollü daldırma yöntemi ile hazırlanmıştır.

20 mg/mL sabit konsantrasyon, %50:50 HDPE/PS polimer karışımının 748 mm/dk daldırma hızı ve 125 ve 105°C sıcaklıklar için elde edilen yüzey

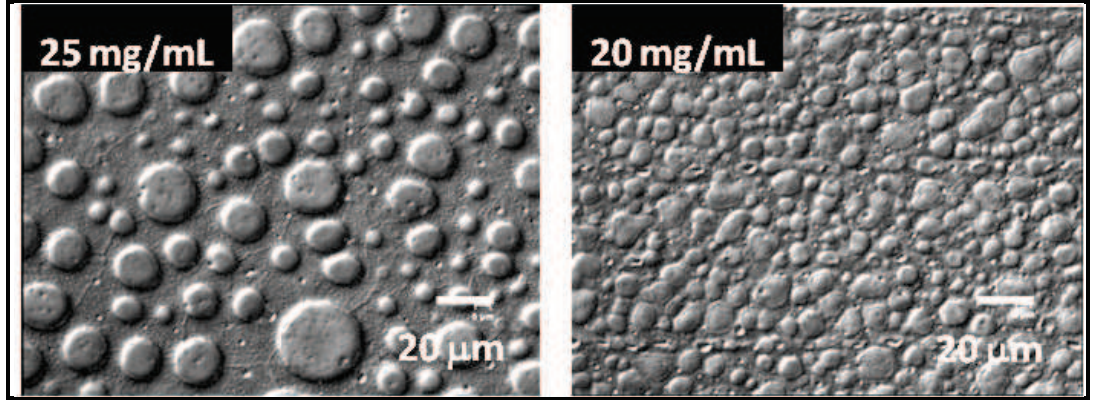
morfolojilerine dair optik mikroskop görüntüleri Şekil 8.19’da verilmiştir. Şekil 8.19’dan görüldüğü gibi, ksilen+toluen çözücü karışımlarında hazırlanan HDPE/PS polimer karışım ince filmlerinde mikro-desenlerin çapı, ksilen çözücüsü kullanılarak elde edilen ince filmlerin mikro-desen çapına göre artmıştır. Ancak farklı hız denemelerinde yapılan çalışmalarda ksilen çözücüsünün kullanımı kaplamalardaki mikro-desenlerin daha homojen dağılımını sağlamıştır. Bu nedenle bundan sonraki çalışmalarda çözücü olarak Ksilen kullanılmasına karar verilmiştir.



Şekil 8.19: Sabit konsantrasyon ve sıcaklıklarda ksilen ve ksilen+toluen çözücülerinde hazırlanan HDPE/PS (50/50) polimer karışımından 748 mm/dk daldırma hızında sentezlenen ince film kaplamaların optik mikroskop görüntüleri.

8.4.2.2. Kaplama Konsantrasyonu Etkisi

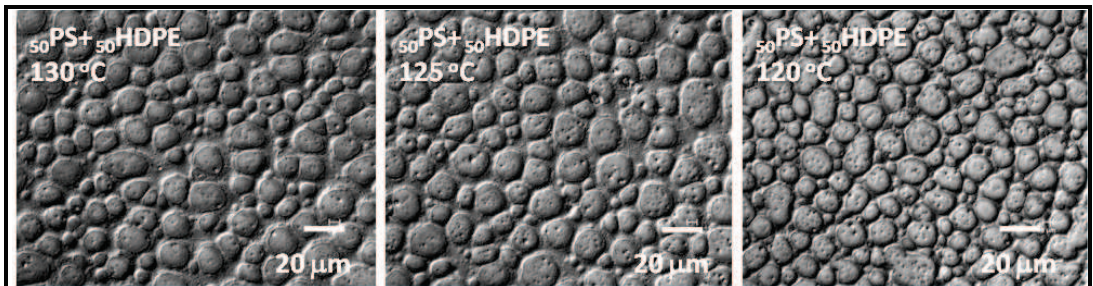
HDPE/PS (50/50) polimer karışımlarında kaplama çözeltisi konsantrasyonunun yüzey pürüzlülüğüne etkisini incelemek amacıyla polimer karışım çözeltileri iki ayrı konsantrasyonda hazırlanarak kontrollü daldırma yöntemi ile kaplamalar oluşturulmuştur. % 50:50 HDPE/PS polimer karışımının ksilen çözücüsü içerisinde 312 mm/dk sabit daldırma hızında ve 125°C sabit sıcaklık için 25 mg/mL ve 20 mg/mL kaplama konsantrasyonunda sentezlenen mikrodeseanlı yüzeylere ait optik mikroskop görüntüleri Şekil 8.20’de verilmiştir. Şekil 8.20’den görüldüğü gibi kaplama konsantrasyonunun artması ile mikro-desenlerin çapı ve mikro-desenler arası mesafe artmıştır.



Şekil 8.20: Sabit sıcaklık ve daldırma hızı için polimer karışım konsantrasyonunun değişimine bağlı olarak sentezlenen HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri.

8.4.2.3. Kaplama Sıcaklığı Etkisi

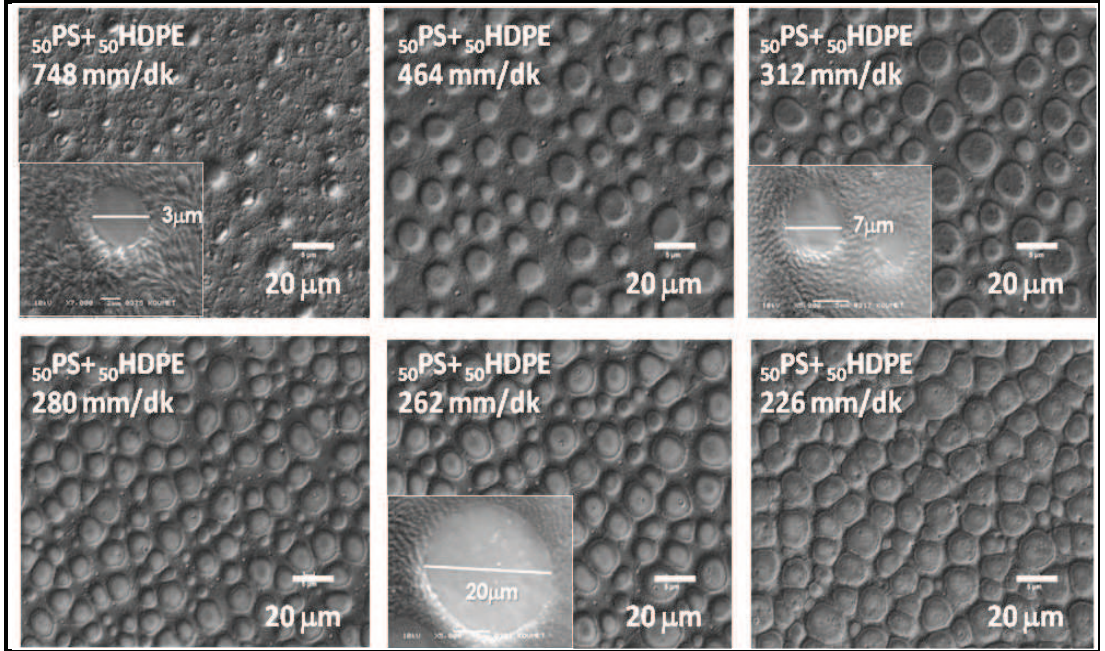
HDPE/PS (50/50) polimer karışımlarında kaplama sıcaklığının yüzey pürüzlülüğüne etkisini incelemek amacıyla polimer karışım çözeltileri 130, 125 ve 120°C olmak üzere üç ayrı sıcaklıkta kontrollü daldırma yöntemi mikro desenli polimerik yüzeyler sentezlenmiştir. % 50:50 HDPE/PS polimer karışımının ksilen çözücüsü içerisinde 113 mm/dk sabit daldırma hızında ve 25 mg/mL sabit konsantrasyon için sıcaklık değişimine bağlı olarak yüzey pürüzlülüğünün değişimi Şekil 8.21’de verilmiştir. Şekil 8.21’den görüldüğü gibi sıcaklığın artması ile mikro desenlerin çaplarında çok büyük bir değişim gözlenmezken, mikro desenler arasındaki mesafe artmaktadır.



Şekil 8.21: Sabit konsantrasyon ve daldırma hızı için kaplama sıcaklığındaki değişime bağlı olarak HDPE/PS (50/50) polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri.

8.4.2.4. Kaplama Hızı Etkisi

HDPE/PS polimer karışımlarında kaplama hızının yüzey pürüzlülüğüne etkisini incelemek amacıyla polimer karışım çözeltileri ile altı ayrı kaplama hızında kontrollü daldırma yöntemi kullanılarak ince film kaplamalar oluşturulmuştur. %50:50 HDPE/PS karışımı, 25 mg/mL sabit konsantrasyonda 130°C sabit sıcaklıkta, 748, 464, 312, 280, 262 ve 226 mm/dk daldırma hızlarındaki yüzey pürüzlülüğündeki değişim Şekil 8.22’de verilmiştir. Şekil 8.22’den görüldüğü gibi, kaplama hızının artması ile mikro desenler arasındaki mesafe artarken, mikro desen çapı azalmaktadır.



Şekil 8.22: Sabit konsantrasyon ve daldırma hızı için %50:50 HDPE/PS karışım yüzeylerinin farklı kaplama hızlarında sentezlenen ince film yüzeylerine ait optik mikroskop görüntüleri.

Kaplama hızının değişimine bağlı olarak temas açısındaki değişimi Tablo 8.13’de verilmiştir. Tablo 8.13’e göre daldırma hızının azalması ile denge, ilerleme ve gerileme temas açıları azalmıştır ve temas açısı değerleri HDPE homopolimerinden PS homopolimerine doğru değişmiştir. Ancak temas açısı karmaşası (CAH) değeri sabit kalmıştır. Temas açısı karmaşası kimyasal heterojenlik ve pürüzlülüğün bir ölçütü olduğundan, daldırma hızının azalması ile yüzey pürüzlülüğü artmıştır ancak CAH değerinde herhangi bir değişimin gözlenmemiştir.

Bu durum yüzeydeki kimyasal heterojenliğin azaldığını ve daldırma hızının artması ile yüzeyin PS’ce daha fazla zenginleştiğini göstermektedir. Bu konunun tam olarak anlaşılması için yüzeylerin XPS ölçümlerinin alınması gerekmektedir ve tez kapsamında bu çalışma yapılmamıştır.

Tablo 8.13: HDPE/PS polimer karışımlarında kaplama hızının değişimine bağlı olarak temas açısındaki değişimi.

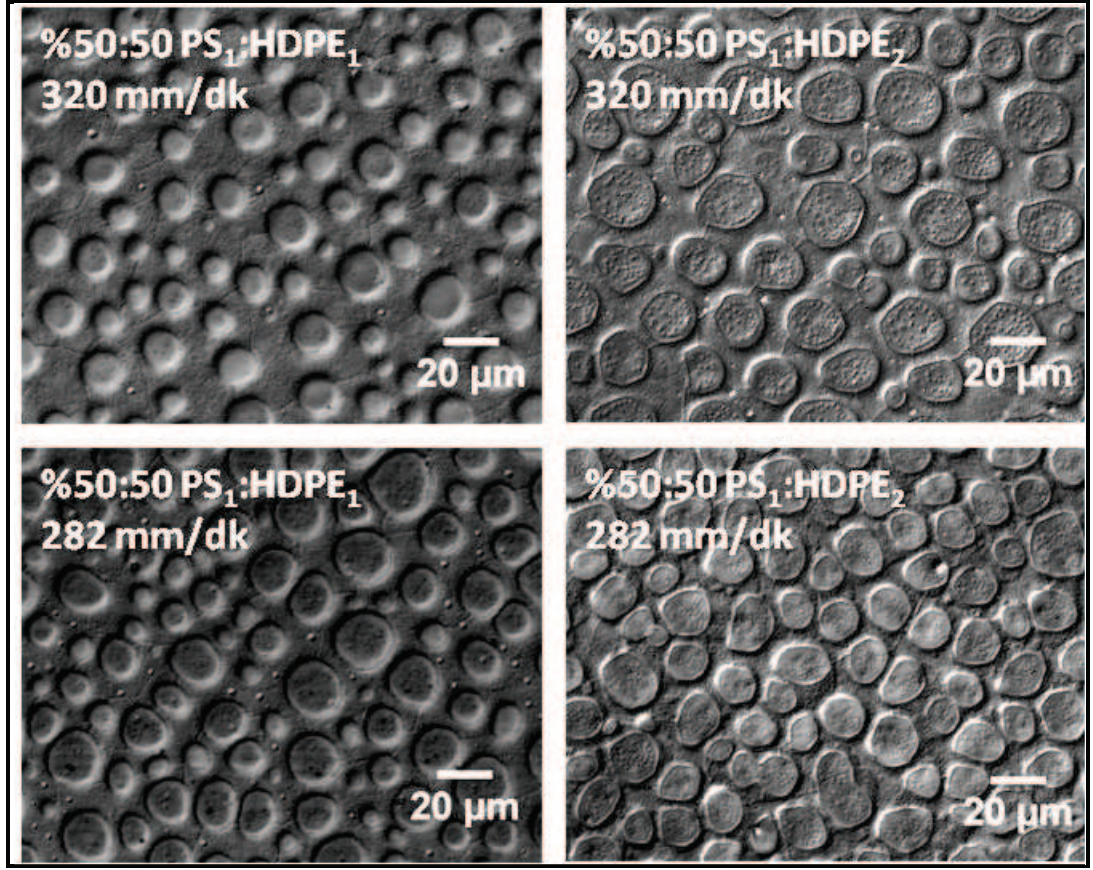
Kaplama Hızı (mm/dk)	θ_c (°)	θ_{adv} (°)	θ_{rec} (°)	CAH
748	104	110	87	23
464	102	109	86	23
312	101	107	84	23
280	100	106	83	23
262	99	106	86	23
226	98	106	83	23

8.4.3. HDPE/PS Polimer Karışımlarından Hazırlanan Mikrodesenli Yüzeylerde Polimer Molekül Ağırlığının Yüzey Özelliklerine Etkisi

Bu çalışma, HDPE/PS polimer karışımlarından hazırlanan mikrodesenli yüzeylerde polimer molekül ağırlığının yüzey özelliklerine etkisini (mikrodesen çapı ve mesafesi gibi) incelemek amacıyla gerçekleştirilmiştir ve yapılan çalışmalar Bölüm 8.4.3.1 ve 8.4.3.2’de detaylandırılmıştır. Çalışmada kullanılan PS ve HDPE için MFI değerleri Tablo 7.2 ve 7.3’de yer almaktadır ve MFI değerlerine göre bu çalışmada incelenen polimerlerin molekül ağırlıkları $PS_2 > PS_1 > PS$ ve $HDPE > HDPE_1 > HDPE_2$ sıralamasındadır. MFI değerlerine göre kullanılan polimerlerin molekül ağırlıkları $HDPE_1 > PS_1$, $PS_1 > HDPE_2$ ve $HDPE_1 > PS_2$ şeklindedir. Dolayısıyla kullanılan polimerlerin molekül ağırlığı değişimi için $HDPE_1 > PS_2 > PS_1 > HDPE_2$ olduğu söylenebilir. Denemeler, % 50:50 HDPE/PS, % 50:50 HDPE1/PS ve % 50:50 HDPE/PS1 polimer karışımları ile yapılmıştır.

8.4.3.1. PS Polimer Molekül Ağırlığı Sabitken, HDPE Molekül Ağırlığının Değişiminin Yüzey Özelliklerine Etkisi

Tablo 7.3’de yer alan HDPE₁ ve HDPE₂ ile Tablo 7.2’de yer alan PS₁ polimerlerinin karıştırılması ile % 50:50 bileşimde hazırlanan HDPE/PS polimer karışımları sabit 312 ve 280 mm/dk daldırma hızı, 125°C kaplama sıcaklığında ve 25 mg/mL konsantrasyonda kontrollü daldırma tekniği kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan HDPE/PS ince film mikrodeseanlı polimerik yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri Şekil 8.23’de verilmiştir. Şekil 8.23’de yer alan % 50:50 HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin hazırlanmasında kullanılan HDPE₁ polimerinin molekül ağırlığı HDPE₂’den büyüktür (HDPE₁ > HDPE₂) ve PS₁ molekül ağırlığı sabittir. İki ayrı hızda sentezlenen yüzeyler için HDPE molekül ağırlığının azalması ile yüzeydeki mikro desen çapı artarken, mikro desenler arası mesafe azalmakta ve yüzeyde daha homojen mikro desen oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca kaplama hızı arttıkça, HDPE polimer M_w’inin küçük olduğu durumda (HDPE₂/PS₁) mikro desen çapı ve mikro desenler arası mesafe artarken, HDPE polimer M_w’inin büyük olduğu durumda (HDPE₁/PS₁) kaplama hızı artınca mikro desen çapı azalmakta ve mikro desenler arası mesafe artmaktadır.



Şekil 8.23: Farklı molekül ağırlıklı PS₁, HDPE₁ ve HDPE₂ polimerlerinden % 50:50 HDPE/PS polimer karışım bileşiminde sabit 312 ve 280 mm/dk daldırma hızı ve 25 mg/mL konsantrasyon için hazırlanan ince film polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri.

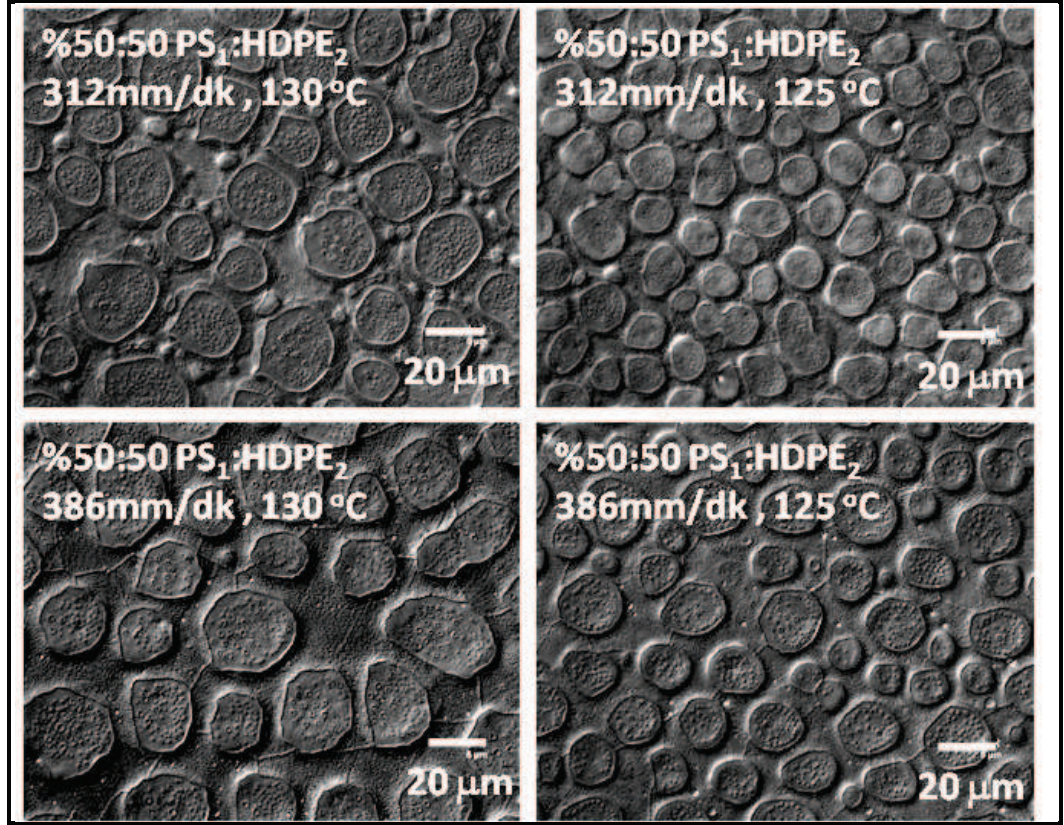
Şekil 8.23’de optik mikroskop görüntüleri yer alan farklı M_w ’li 50:50 HDPE/PS polimer karışımlarının temas açısı sonuçları Tablo 8.14’de verilmiştir. PS₁’in molekül ağırlığı HDPE₁ ve HDPE₂’nin M_w ’dan düşüktür ve bu nedenle PS’nin yüzeyde zenginleşme eğiliminin HDPE’den daha fazla olması beklenir. Ayrıca PS’nin SFE değeri (40.6 mN/m) HDPE’ninkinden (32.9 mN/m) daha yüksektir. Bu nedenle düşük SFE değerinden dolayı HDPE’nin yüzeyde zenginleşme eğiliminin PS’den daha fazla olması beklenir. Tablo 8.14’de yer alan temas açısı sonuçlarına göre aynı kaplama hızında HDPE/PS polimer karışımlarında HDPE polimerinin M_w ’i artması ile temas açısı sonuçları HDPE homopolimerininkine yaklaşmaktadır yani HDPE polimeri HDPE/PS polimer karışım yüzeyinde zenginleşme eğilimi artmaktadır. Bu durumun nedeni M_w deki değişime nazaran HDPE polimerinin SFE değerinin PS’den daha düşük olması şeklinde açıklanabilir.

Tablo 8.14: Farklı molekül ağırlıklı PS₁, HDPE₁ ve HDPE₂ polimerlerinden % 50:50 HDPE/PS polimer karışım yüzeylerine ait temas açısı sonuçları.

Polimer Kod	Daldırma Hızı (mm/dk)	Kaplama Sıcaklığı (°C)	θ_e (°)	θ_{adv} (°)	θ_{rec} (°)	CAH
₅₀ PS ₁ + ₅₀ HDPE ₁	320	125	102	109	86	23
₅₀ PS ₁ + ₅₀ HDPE ₂	320	125	96	105	83	22
₅₀ PS ₁ + ₅₀ HDPE ₁	282	125	101	107	84	23
₅₀ PS ₁ + ₅₀ HDPE ₂	282	125	98	106	84	22

Ayrıca PS₁ ve HDPE₂ polimerlerinden % 50:50 polimer karışım bileşiminde aynı kaplama hızında farklı kaplama sıcaklıklarında hazırlanan HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri Şekil 8.24’de yer almaktadır. Şekil 8.24 den görüldüğü gibi hem 312 mm/dk hem de 386 mm/dk daldırma hızlarında sıcaklığın azalması ile mikro desen çapı ve mikro desenler arasındaki mesafe azalmaktadır. Sabit sıcaklıkta ise daldırma hızının artışı ile mikro desen çapı ve mikro desenler arası mesafe artmıştır. Bu çalışmada mikro desen çapı 10-40 µm aralığında geniş bir aralıkta değişmektedir.

Şekil 8.24’de yer alan HDPE/PS yüzeylerine dair temas açısı sonuçları Tablo 8.15’de yer almaktadır. Şekil 8.24’de yer alan yüzeylerde her ne kadar kaplama sıcaklığı ve daldırma hızına bağlı olarak yüzey pürüzlülüğü değişse de, Tablo 8.15’den görüldüğü gibi temas açısı sonuçları neredeyse sabit kalmıştır ve pürüzsüz PS yüzeyinin temas açısı değerlerine yakındır. Bu nedenle düşük Mw değerinden dolayı yüzeyde PS homopolimerinin zenginleşme eğiliminin HDPE’den daha fazla olduğu söylenebilir.



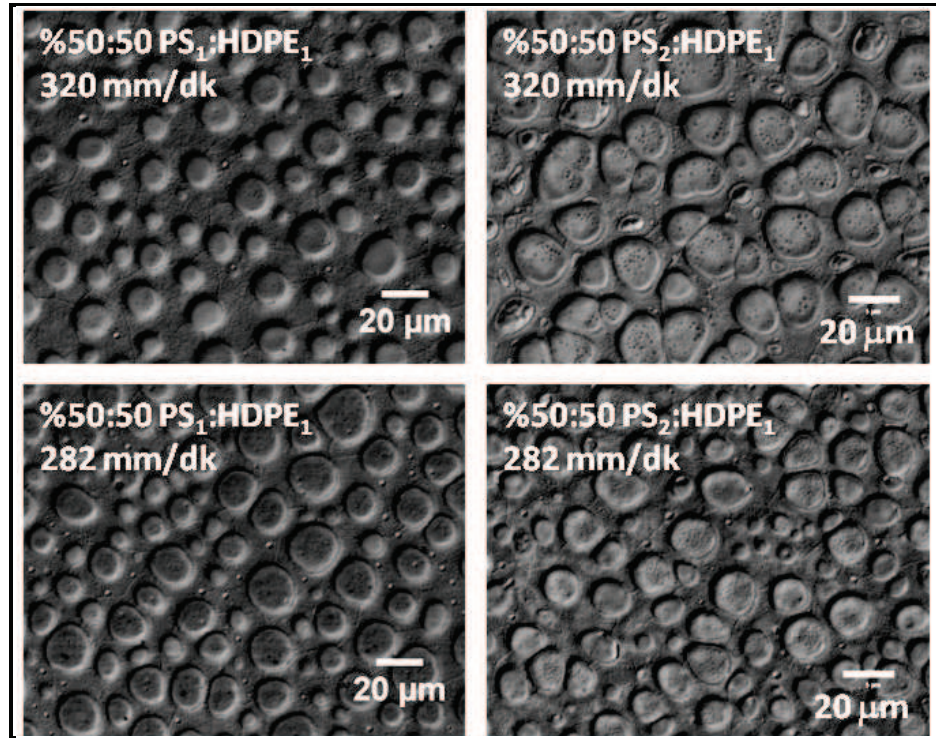
Şekil 8.24: PS₁ ve HDPE₂ polimerlerinden % 50:50 polimer karışım bileşiminde aynı kaplama hızında farklı kaplama sıcaklıklarında hazırlanan HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri.

Tablo 8.15: Farklı molekül ağırlıklı PS₁ ve HDPE₂ polimerlerinden hazırlanan % 50:50 HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinde kaplama sıcaklığı ve hızının değişimi ile sentezlenen yüzeylerde temas açısı sonuçları.

Polimer Kod	Daldırma Hızı (mm/dk)	Kaplama Sıcaklığı (°C)	θ_e (°)	θ_{adv} (°)	θ_{rec} (°)	CAH
$_{50}PS_1+_{50}HDPE_2$	386	130	97	105	83	22
$_{50}PS_1+_{50}HDPE_2$	312	130	96	104	84	20
$_{50}PS_1+_{50}HDPE_2$	386	125	96	105	83	22
$_{50}PS_1+_{50}HDPE_2$	312	125	98	106	84	22

8.4.3.2. HDPE Polimer Molekül Ağırlığı Sabitken, PS Polimer Molekül Ağırlığının Değişiminin Yüzey Özelliklerine Etkisi

Tablo 7.3’de yer alan HDPE₁ ile Tablo 7.2’de yer alan PS₁ ve PS₂ polimerlerinin karıştırılması ile % 50:50 bileşimde hazırlanan HDPE/PS polimer karışımları, sabit 320 ve 282 mm/dk daldırma hızı, 125°C kaplama sıcaklığında ve 25 mg/mL konsantrasyonda kontrollü daldırma tekniği kullanılarak sentezlenmiştir. HDPE/PS polimer karışımlarından sentezlenen ince film mikrodeseanlı polimerik yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri Şekil 8.25’de verilmiştir ve PS₂ polimerinin molekül ağırlığı PS₁’den büyüktür ($PS_2 > PS_1$) ve HDPE₁ molekül ağırlığı sabittir ve her iki PS polimerinden büyüktür. İki ayrı hızda sentezlenen yüzeyler için PS molekül ağırlığının azalması ile yüzeydeki mikro desen çapı azalmıştır ve aynı zamanda yüzeydeki mikro desen homojenliği azalmıştır. Ayrıca kaplama hızı arttıkça, PS polimer Mw’sinin küçük olduğu durumda (PS₁/HDPE₁) mikro desen çapı azalırken mikro desenler arası mesafe artmaktadır. PS polimer Mw’sinin büyük olduğu durumda (PS₂/HDPE₁) kaplama hızı artınca mikro desen çapı artmakta ve mikro desenler arası mesafe azalmaktadır.



Şekil 8.25: Farklı M_w’li PS polimerlerinden hazırlanan % 50:50 HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri.

Şekil 8.25 de yer farklı M_w 'li PS polimerlerinden hazırlanan % 50:50 HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin temas açısı sonuçları Tablo 8.16'da verilmiştir. Tablo 8.16'dan görüldüğü gibi temas açısı değerleri dört yüzey içinde neredeyse sabittir ve pürüzsüz PS yüzeyinin temas açısı değerlerine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Pürüzlülükteki artış temas açısı değerlerini artırıcı etki göstereceğinden yüzeyde PS polimerinin HDPE'e göre daha fazla zenginleştiği söylenebilir.

Tablo 8.16: Farklı M_w 'li PS polimerlerinden hazırlanan % 50:50 HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinin temas açısı sonuçları.

Polimer Kod	Daldırma Hızı (mm/dk)	Kaplama Sıcaklığı (°C)	θ_e (°)	θ_{adv} (°)	θ_{rec} (°)	CAH
$_{50}PS_1+_{50}HDPE_1$	320	125	102	109	86	23
$_{50}PS_2+_{50}HDPE_1$	320	125	101	106	84	22
$_{50}PS_1+_{50}HDPE_1$	282	125	101	107	84	23
$_{50}PS_2+_{50}HDPE_1$	282	125	102	108	85	23

Sonuç olarak HDPE/PS polimer karışımlarında PS den daha düşük molekül ağırlıklı HDPE kullanımı mikro-desen çapını arttırarak adacıklar arası mesafenin azalmasına neden olurken, PS den daha yüksek molekül ağırlıklı HDPE kullanımı PS adacık çapını azaltarak mikro-desenler arasındaki mesafeyi arttırmaktadır. Bu sonuçlar doğrultusunda polimer molekül ağırlığının mikro-desen çapı ve mikro-desenler arası mesafe kontrolünde önemli bir parametre olduğu söylenebilir.

8.4.4. HDPE/PS Polimer Karışımlarından Hazırlanan Yüzeylerin Sülfonasyonu ve Sülfolanmış Yüzeylerin Karakterizasyonu

Bu çalışma Bölüm 8.4.1'de yer alan PS ve HDPE homopolimerleri ve homopolimerlerden hazırlanan farklı bileşimlerdeki polimer karışımlarının yüzeylerinin heterojenliğinin arttırılması amacıyla yapılmıştır. Yüzey sülfonasyon işlemi için H_2SO_4 çözeltisi kullanılmıştır. H_2SO_4 çözeltisinin konsantrasyonu homopolimer HDPE yüzeyinin sülfonlanmaması ve PS yüzeyinin sülfonlanması esas alınarak yapılan denemeler sonucunda % 40 H_2SO_4 içerikli sülfirik asit çözeltisi

olarak belirlenmiştir. Ayrıca H_2SO_4 çözeltisi içinde yüzeylerin bekletilme süreleri için yapılan denemelerde bu konsantrasyon için en uygun sülfonasyon süresi 40 dk olarak belirlenmiştir. Sabit konsantrasyon (25 mg/mL), sıcaklık ($125^\circ C$) ve daldırma hızında (262 mm/dk) sentezlenen homopolimer ve polimer karışımlarının yüzey sülfonlanasyonu sonucunda elde edilen yüzeylerin temas açısı sonuçları Tablo 8.17’de verilmiştir.

Tablo 8.17. Sülfonlanmış ve sülfonlanmamış yüzeylerde HDPE/PS polimer karışım bileşimi değişimi ile temas açısı değişimi.

Polimer Karışım Bileşimi	SÜLFONLANMIŞ	SÜLFONLANMAMIŞ			
	θ_e	θ_e	θ_{adv}	θ_{rec}	CAH
HDPE ₁₀₀	104	105	114	87	27
HDPE ₆₀ +PS ₄₀	83	104	109	85	24
HDPE ₅₀ +PS ₅₀	76	99	106	84	22
HDPE ₄₀ +PS ₆₀	73	98	105	84	21
PS ₁₀₀	61	93	96	80	16

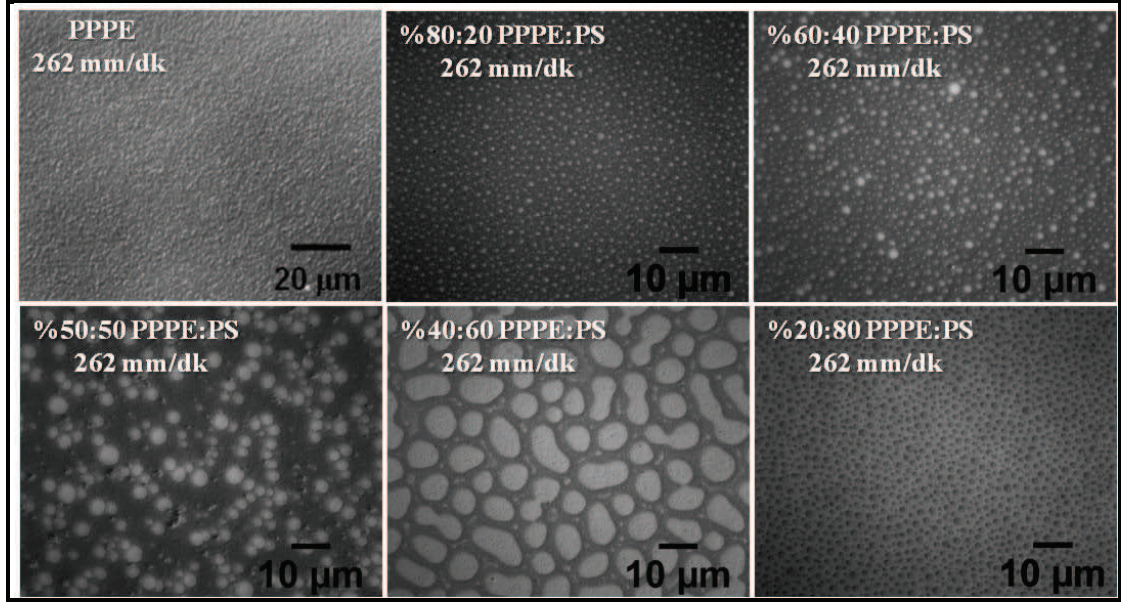
Film sülfonasyonu sonucunda PS bileşimin artması ile temas açısında azalma gözlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlarla yüzeyde hidrofil ve hidrofob grupların bir arada yer aldığı heterojen yüzey sentezi gerçekleştirilmiştir.

8.5. PPPE/PS Polimer Karışımlarından Mikrodeseanlı Yüzeylerin Hazırlanması ve Yüzey Karakterizasyon Sonuçları

PPPE/PS polimer karışımlardan faz dağılımı prosesi ile kontrollü daldırma yöntemi kullanılarak mikrodeseanlı polimerik ince film yüzeyler hazırlanmıştır. Mikrodeseanlı yüzeylerdeki mikro desen çapı ve mikro desenler arasındaki mesafenin kontrol edilebilmesi için polimer karışım bileşimi, kaplama hızı ve iyi/kötü çözücü miktarı değişimi gibi parametrelerinin etkileri incelenmiştir ve Bölüm 8.5.1 ile 8.5.3 arasında hazırlanan mikrodeseanlı yüzeylere ait detaylar yer almaktadır.

8.5.1. Farklı Bileşimlerdeki PPPE/PS Polimer Karışımlarından Mikrodeseanlı Yüzeylerin Sentezi ve Karakterizasyonu

20:80, 40:60, 50:50, 60:40 ve 80:20 PPPE/PS polimer karışım bileşimlerinde sabit kaplama konsantrasyonunda (15 mg/mL) ve kaplama hızında (262 mm/dk), 60°C kaplama sıcaklığında faz dağılımı yöntemi ile hazırlanan mikrodeseanlı ince film polimerik yüzeylere ait optik mikroskop görüntüleri Şekil 8.26'da verilmiştir. Şekil 8.26'dan görüldüğü gibi sabit kaplama şartları için polimer karışımındaki PS miktarının artması PS bileşimi % 60 olana kadar yüzeyde oluşan mikro desen çapı ve mikro desenler arasındaki mesafe artarken, % 80 PS bileşiminde mikro desen çapı azalmaktadır. Farklı bileşimlerde hazırlanan PPPE/PS polimer karışımlar için temas açısı sonuçları Tablo 8.18'de verilmiştir ve PPPE kopolimeri ($\theta_e=106^\circ$) PS homopolimerinden ($\theta_e=93^\circ$) daha hidrofobiktir ve polimer karışımların temas açısı değerleri yaklaşık olarak birbirine eşit ve PPPE kopolimerinin temas açısı değerine yakındır. Bu durumun nedeni PS ve PPPE polimerlerinin serbest yüzey enerji (SFE) değerleri sırasıyla 40 and 30 mJ/m² civarındadır. PPPE kopolimerinin SFE değeri PS homopolimerinden daha düşük olduğundan, PPPE kopolimeri katı/hava arayüzeyinde zenginleşmeyi tercih eder. Dolayısıyla Şekil 8.26'de görülen polimer karışım yüzeylerinde tepe şeklindeki pürüzlülükler PPPE kopolimerini, flat bölgeler ise PS homopolimerini oluşturduğu söylenebilir [Atalay Gengec et al., 2014]. Sonuç olarak PPPE ve PS polimerlerinin yüzey enerjisi arasındaki farklılık PPPE kopolimerinin yüzeye çıkma eğilimine neden olur ve bu yüzden polimer karışım kompozisyonuna bağlı olarak temas açısı ve temas açısı karmaşası (CAH) değerlerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir.



Şekil 8.26: Sabit kaplama hızında farklı polimer karışım bileşimlerinde hazırlanan PPPE/PS polimer karışım yüzeylerinin optik mikroskop görüntüleri.

Tablo 8.18: 262 mm/dk sabit kaplama hızında farklı polimer karışım bileşimlerinde hazırlanan PPPE/PS polimer karışım yüzeylerinin temas açısı sonuçları.

Polimer Kod	θ_e (°)	θ_{adv} (°)	θ_{rec} (°)	CAH
PPPE	106	107	83	24
₈₀ PPPE+PS ₂₀	106	112	89	23
₆₀ PPPE+PS ₄₀	106	112	88	24
₅₀ PPPE+PS ₅₀	105	111	89	23
₄₀ PPPE+PS ₆₀	105	111	91	20
₂₀ PPPE+PS ₈₀	104	111	92	19
PS	93	96	79	17

8.5.2. Farklı Bileşimlerdeki PPPE/PS Polimer Karışımlarına Sabit Miktarda Kötü Çözücü İlavesi ile Mikrodesenli Yüzeylerin Sentezi ve Karakterizasyonu

PS homopolimer ve PPPE kopolimerinin (THF) çözücüsü içerisinde 10 mg/mL konsantrasyonda ayrı ayrı çözülmesi ve farklı oranlarda karıştırılmasıyla elde edilen çözeltilere, kaplanacak ince filmlerdeki yüzey pürüzlülüğünü artırabilmek için sabit miktarda kötü çözücü (5 mL) EtOH ilave edilerek, “daldırmayla kaplama” (dip coating) metoduyla, 60°C sıcaklıkta ve sabit kaplama hızında dairesel cam lamalar

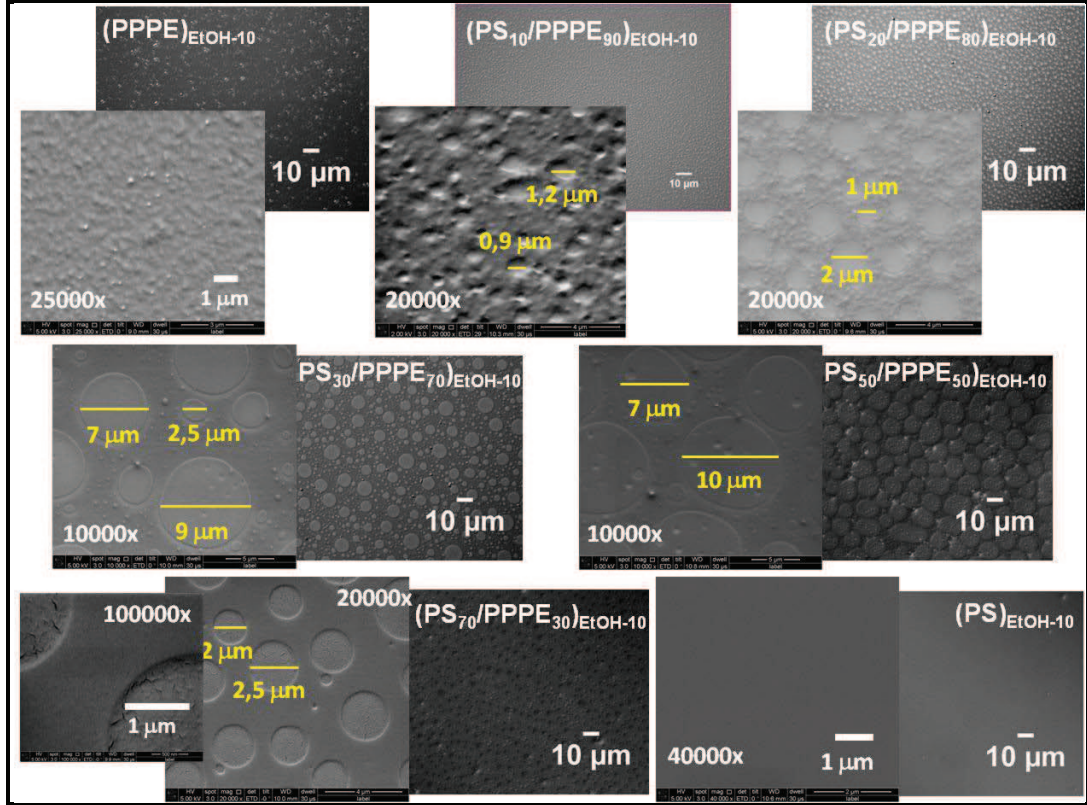
üzerine ince film kaplamalar oluşturulmuştur. Bu amaçla PS, PPPE polimerleri ve ağırlıkça % 10:90, 20:80, 30:70, 50:50 ve 70:30 kompozisyonlarında PS/PPPE karışımları kullanılmıştır. Hazırlanan tüm çözeltiler toplam hacmi 100 mL'dir ve EtOH miktarı ise 10 mL'de sabit tutulmuştur. İnce film kaplamaların sentezinde, 13 ve 15 mm'lik çaplara sahip dairesel cam lamalar kullanılmıştır. Hazırlanan yüzeylerin temas açısı sonuçları Tablo 8.19'da ve optik mikroskop fotoğrafları ve SEM görüntüleri ise Şekil 8.27'de verilmiştir.

Tablo 8.19: PS homopolimer, PPPE kopolimer ve polimer kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarının su temas açısı ($\pm 1^\circ$) ve R_{rms} pürüzlülük sonuçları.

POLİMER KODU	Su Temas Açısı ($\pm 1^\circ$)				R (rms)
	θ_e ($^\circ$)	θ_a ($^\circ$)	θ_r ($^\circ$)	CAH	
(PPPE) _{EtOH-10}	106	112	89	23	<0.13
(PS ₁₀ /PPPE ₉₀) _{EtOH-10}	106	110	85	25	0.14
(PS ₂₀ /PPPE ₈₀) _{EtOH-10}	105	111	81	30	0.15
(PS ₃₀ /PPPE ₇₀) _{EtOH-10}	106	110	90	20	0.16
(PS ₅₀ /PPPE ₅₀) _{EtOH-10}	106	109	88	21	0.18
(PS ₇₀ /PPPE ₃₀) _{EtOH-10}	107	111	87	24	0.23
(PS) _{EtOH-10}	100	101	87	13	<0.13

Tablo 8.19'dan görüldüğü gibi çözeltiliye EtOH ilave edildiğinde, PPPE ve PS homopolimer yüzeylerinin θ_e değerleri birbirine yakın çıkmıştır ve PPPE, PS yüzeylerinin CAH değerleri arasında 10° farklılık vardır. Tüm polimer karışımlarda θ_a ve θ_r değerleri birbirine çok yakındır.

Şekil 8.27'den görüldüğü gibi PPPE/PS polimer karışımlarda, 1-10 mikrometre arasında değişen çaplara sahip PS adacıkları vardır. Polimer karışımlarda yüzey pürüzlülüğü EtOH miktarına bağlı olarak değişmesine rağmen, temas açısı ve CAH değerinin neredeyse sabit kalması nedeniyle polimer karışım yüzeylerinin (PS adacıklarının üzeri dahil), PPPE polimeriyle kaplanmış olduğu söylenebilir [Atalay Gengec, et al., 2014]. Diğer taraftan PS/PPPE oranının değişimi ile yüzeydeki dairesel desenlerin çapları üzerinde bir kontrol sağlanabilmektedir. PS nin 50:50'ye kadar artışı ile PS adacık çapları artmakta bundan sonra azalmaya başlamaktadır.



Şekil 8.27: PS homopolimer, PPPE kopolimer ve polimer kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film kaplamaların optik mikroskop ve SEM görüntüleri.

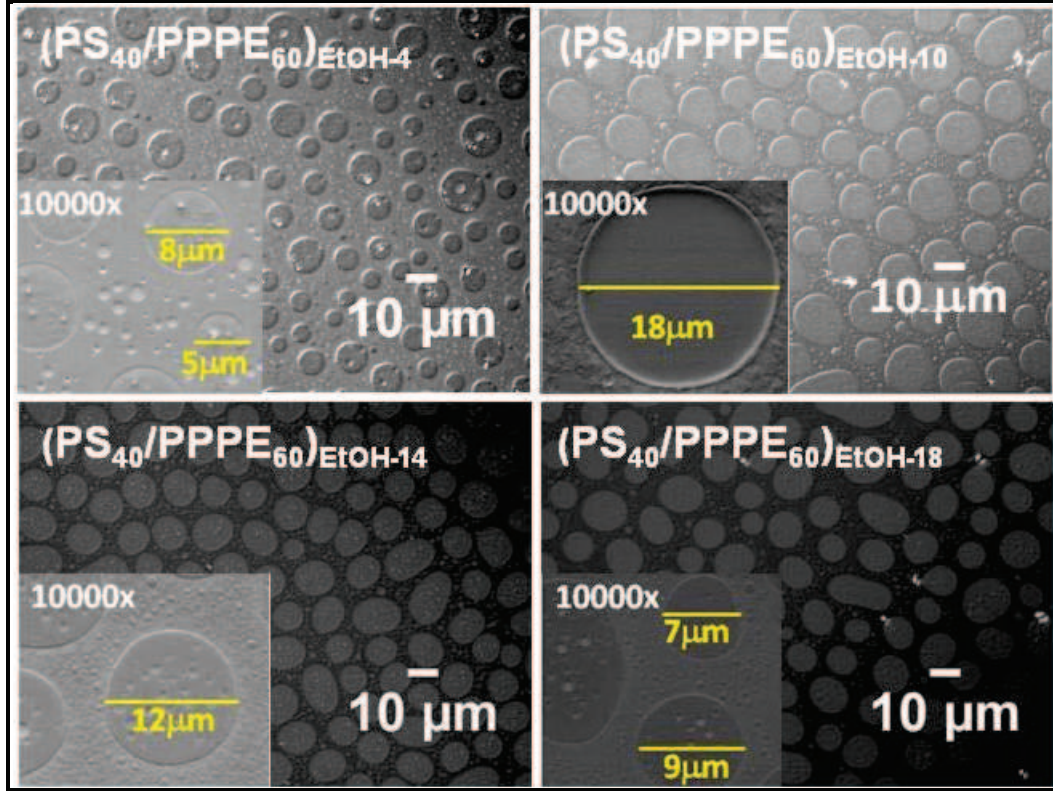
8.5.3. (60:40) ve (80:20) PPPE/PS Polimer Karışımlarına Farklı Miktarla Etanol İlavesi ile Mikrodesezli Yüzeylerin Sentezi ve Karakterizasyonu

PS ve PPPE polimerlerinin THF çözücüsü içerisinde 10 mg/mL konsantrasyonda ayrı ayrı çözülmesiyle elde edilen çözeltilerin ağırlıkça % 60:40 ve 80:20 PPPE:PS oranında karıştırılması sonrasında, oluşacak polimer kaplamanın yüzey pürüzlülüğünü artırabilmek için polimer çözeltisine farklı miktarlarda kötü çözücü etil alkol (EtOH) ilave edilerek, “daldırmayla kaplama” (dip coating) metoduyla, 60°C sıcaklıkta ve sabit kaplama hızında dairesel cam lamalar üzerine ince film kaplamalar oluşturulmuştur. PPPE/PS çözeltileri, toplam hacim 100 mL olacak şekilde hazırlanmıştır ve katılan EtOH miktarı ise 4-18 mL arasında değiştirilmiştir. İnce film kaplamaların sentezinde, 13 ve 15 mm’lik çaplara sahip dairesel cam lamalar kullanılmıştır. Hazırlanan % 60:40 ve 80:20 PPPE:PS yüzeylerinin temas açısı sonuçları Tablo 8.20’de ve optik mikroskop fotoğrafları ve SEM görüntüleri ise sırasıyla Şekil 8.28 ve 8.29’da verilmiştir.

Tablo 8.20: Farklı miktarda çöktürücü solvent ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarının su temas açısı ($\pm 1^\circ$) ve yüzey pürüzlülüğü sonuçları.

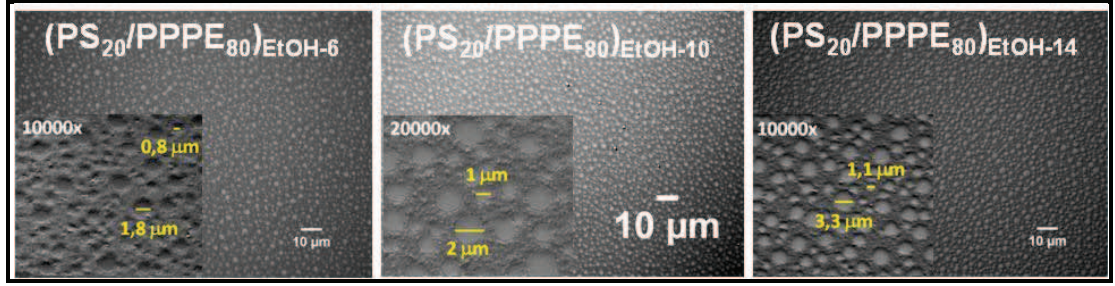
POLİMER KODU	Su Temas Açısı ($\pm 1^\circ$)				R (rms)
	θ_e ($^\circ$)	θ_a ($^\circ$)	θ_r ($^\circ$)	CAH	
(PS) _{EtOH-10} (10 mL EtOH ilaveli)	100	101	87	13	<0.13
(PPPE) _{EtOH-10} (10 mL EtOH ilaveli)	106	112	89	23	<0.13
(PS ₄₀ /PPPE ₆₀) _{EtOH-4} (4 mL EtOH ilaveli)	105	110	92	18	0.22
(PS ₄₀ /PPPE ₆₀) _{EtOH-10} (10 mL EtOH ilaveli)	105	111	87	24	1.54
(PS ₄₀ /PPPE ₆₀) _{EtOH-14} (14mL EtOH ilaveli)	105	112	86	26	0.27
(PS ₄₀ /PPPE ₆₀) _{EtOH-18} (18 mL EtOH ilaveli)	106	112	84	28	0.14
(PS ₂₀ /PPPE ₈₀) _{EtOH-6} (6 mL EtOH ilaveli)	105	112	86	26	0.16
(PS ₂₀ /PPPE ₈₀) _{EtOH-10} (10 mL EtOH ilaveli)	105	111	81	30	0.15
(PS ₂₀ /PPPE ₈₀) _{EtOH-14} (14 mL EtOH ilaveli)	106	111	80	31	0.14

Tablo 8.20’den görüldüğü gibi (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarda denge (θ_e) ve ilerleyen (θ_a) temas açısı değerleri neredeyse sabitken, EtOH ilavesi ile gerileyen (θ_r) temas açısı değerinde bir azalma eğilimi ve buna bağlı olarak CAH değerinde artış görülmektedir. Şekil 8.28’de verilen optik mikroskop ve SEM görüntülerinden görüldüğü gibi polimer karışımı yüzeylerinde, ince film oluşumu esnasında faz ayrımından kaynaklanan 5-18 mikron çaplarına sahip PS adacıklarından oluşmuş mikrodeseenler vardır. PS adacık çaplarının katılan EtOH miktarına göre önce arttığı, sonra ise yaklaşık olarak sabit kaldığı görülmüştür. θ_r ve CAH değerlerindeki değişim çok büyük farklılıklar içermediği için (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-4} dışındaki bütün yüzeylerin CAH değerleri sabit olarak kabul edilebilir.



Şekil 8.28: Farklı miktarda çöktürücü solvent EtOH ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film kaplamaların optik mikroskop ve SEM görüntüleri.

Ayrıca Tablo 8.20’den görüldüğü gibi % 20:80 PS/PPPE polimer karışımlarda θ_e ve θ_a temas açısı değerleri neredeyse sabitken, EtOH ilavesi ile gerileyen (θ_r) temas açısı değerinde azalma trendi ve buna bağlı olarak CAH değerinde artış trendi görülmektedir. Ancak gerileyen ve CAH değerlerindeki değişim çok büyük farklılıklar içermediği için bu değerler sabit olarak kabul edilebilir. Şekil 8.29’da % 20:80 PS/PPPE polimer karışım yüzeylerine ait optik mikroskop ve SEM görüntüleri sonuçlarından görüldüğü gibi polimer karışımlarında faz ayrımından kaynaklanan 0.5-4.0 mikron çaplarına sahip adacıklar vardır. Ayrıca çöktürücü solvent EtOH ilavesine bağlı olarak mikrodeseen çapları değişmektedir. CAH değeri tüm yüzeylerde neredeyse sabit olduğundan, EtOH ilavesi ile pürüzlülük artarken, kimyasal heterojenliğin azaldığı söylenebilir.



Şekil 8.29: Farklı miktarda çöktürücü solvent EtOH ilave edilmiş (20:80) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film kaplamaların optik mikroskop ve SEM görüntüleri.

8.5.4. PPPE/PS Polimer Karışımlarından Hazırlanan Yüzeylerin Sülfonasyonu ve Sülfolanmış Polimerik Yüzeylerin Karakterizasyonu

PPPE/PS polimer karışımlar Bölüm 8.5.1’de belirtildiği şekilde sentezlendi ve Şekil 8.26 da optik mikroskop görüntülerinden görüldüğü gibi polimer karışımlardan sentezlenen yüzeylerde homopolimerlere göre oldukça pürüzlü, mikrodeseanlı yüzeyler elde edildi. Sentezlenen homopolimer ve farklı bileşimlerdeki polimer karışım yüzeylerinin yüzey sülfonasyonu % 60’lık H_2SO_4 çözeltisinde 40 dakika bekletilerek gerçekleştirildi. Bu sülfonasyon prosedürü, PS yüzeyini sülfolayan ancak PPPE yüzeyini sülfolamayan H_2SO_4 konsantrasyonu ve bekletme süresi tespit edilerek yapılmıştır. Sülfolanmış ve sülfolanmamış yüzeyler üzerinde KSV CAM-200 cihazı ile temas açısı ölçümleri sonuçları Tablo 8.21’de verilmektedir. Tablo 8.21’den de görüldüğü gibi PPPE yüzeyinin sülfonasyon öncesi ve sonrasında denge temas açısı sonuçlarında herhangi bir değişiklik yer almazken, PS yüzeyinde sülfonasyon sonrasında yaklaşık 40°’lik düşme sağlanmış ve orta hidrofobluk derecesine sahip PS yüzeyi sülfonasyon sonrasında hidrofil hale getirilmiştir. Polimer karışımlar için aynı reçetenin uygulanması sonrasında, polimer karışımdaki PS miktarının artmasına bağlı olarak temas açısında azalma gözlenmiştir.

Tablo 8.21. PS, PPPE ve PPPE/PS polimer karışımlarının 262 mm/dk daldırma hızı, 15 mg/mL çözelti konsantrasyonu ve 60°C kaplama sıcaklığı için sülfolanmış ve sülfolanmamış yüzeylere ait su temas açısı sonuçları.

Polimer Kod	Sülfolanmamış				Sülfolanmış			
	θ_e (°)	θ_{adv} (°)	θ_{rec} (°)	CAH	θ_e (°)	θ_{adv} (°)	θ_{rec} (°)	CAH
PPPE	106	107	83	24	106	107	83	24
₈₀ PPPE+PS ₂₀	106	112	89	23	92	96	78	18
₆₀ PPPE+PS ₄₀	106	112	88	24	76	79	65	14
₅₀ PPPE+PS ₅₀	105	111	89	22	69	73	62	11
₄₀ PPPE+PS ₆₀	105	111	91	20	64	71	60	11
₂₀ PPPE+PS ₈₀	104	111	92	19	58	67	58	9
PS	93	96	79	17	55	64	55	9

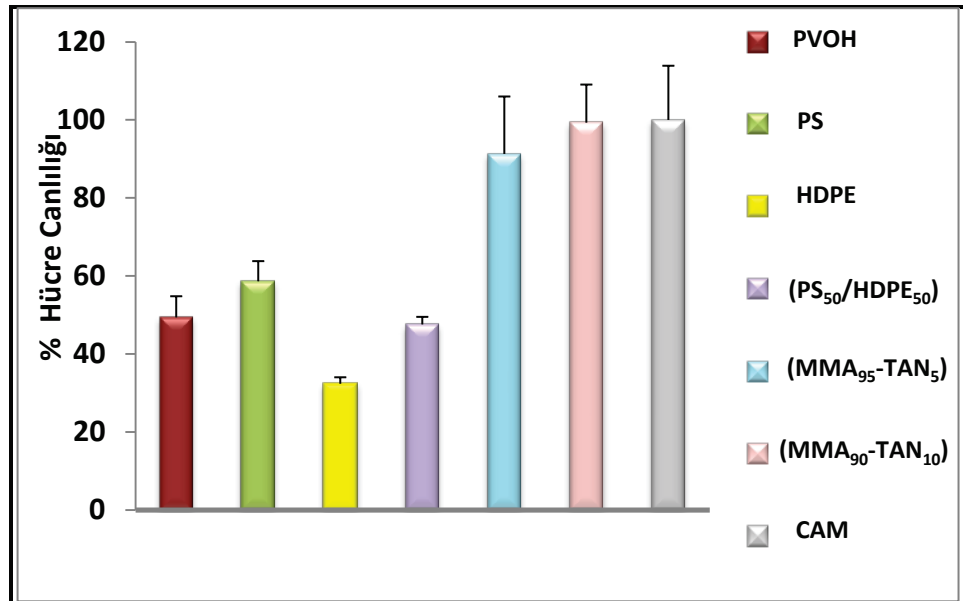
8.6. Homopolimer, Kopolimer ve Polimer Karışım Yüzeylerinin L1210/lökosit ve Saos-2/HGF Hücre Çiftlerinin Seçimli Canlılık ve Tutunma Davranışının İncelenmesi

Tez kapsamında L1210, lökosit, Saos-2 ve insan Gingival Fibroblast (HGF) hücreleri olmak üzere toplam 4 çeşit hücre ortamı kullanılmış ve bu hücrelerin farklı polimer yüzeylerine tutunma davranışlarının yanı sıra, uzun süreli kültür ortamında yüzeylerdeki morfolojileri ve hücre iskelet yapıları da incelenmiştir. Canlılık testlerinin yapılması ve seçimli tutunma denemelerinin sonuçları Bölüm 8.6'nın alt başlıklarında detaylandırılmıştır.

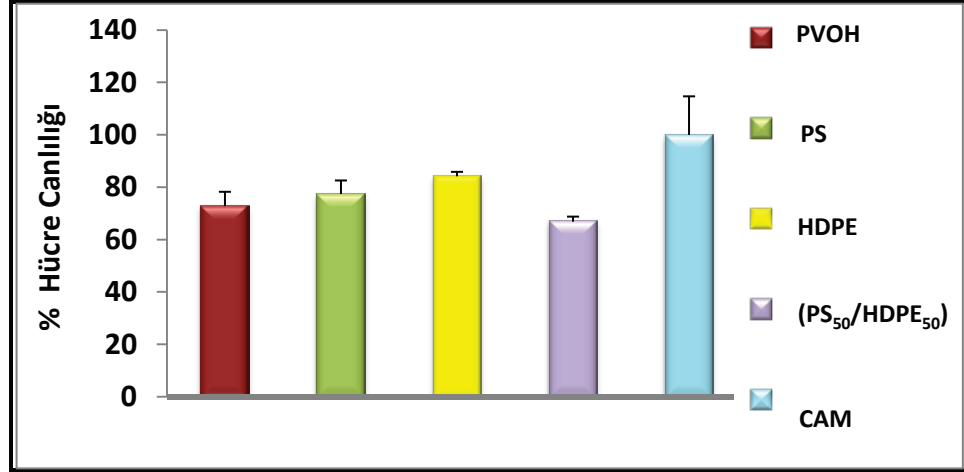
8.6.1. Yüzeylerin Hücre Canlılığına Olan Etkilerinin Belirlenmesi, Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Polimer Yüzeyler Varlığında Canlılık Testleri

Polimer yüzeylerin hücre canlılıklarına (biyoyumluluklarına) olan yanıtlarının belirlenmesi için NIH 3T3 hücreleri kullanılmıştır. Yüzeylerin biyoyumlu sayılabilmesi için % hücre canlılık değerlerinin % 60'ın üzerinde olması istenen koşuldur. Öncelikle optimizasyon çalışmaları sonucunda PVOH, PS, HDPE,

(HDPE₅₀/PS₅₀), (MMA₉₅-TAN₅) ve (MMA₉₀-TAN₁₀) polimer yüzeylerinin biyouyumluluğu NIH 3T3 hücreleri ile denenmiş ve PVOH, PS, HDPE, (HDPE₅₀/PS₅₀) yüzeylerinin hücrelerin yaşamaları için yeterince uyumlu olmadığı gözlenmiştir (Şekil 8.30). Polimer yüzeylerin biyouyumluluklarının yüksek olduğu literatürden bilinen genel bir bilgi olmasına rağmen sentezlenen 4 yüzeyin biyouyumlu olmamasının nedeni solventin iyi buharlaşmaması olduğu düşünülmüş ve bu nedenle PVOH, PS, HDPE ve (HDPE₅₀/PS₅₀) yüzeyleri yeniden sentezlenmiş ve kullanılan solvent vakum etüvünde tamamen uzaklaştırılmıştır. Solventin tamamen uzaklaştırıldığı bu yüzeyler üzerinde tekrar edilen MTT canlılık deneyi sonucunda NIH 3T3 hücrelerinin PVOH, PS, HDPE, (HDPE₅₀/PS₅₀), (MMA₉₅-TAN₅) ve (MMA₉₀-TAN₁₀) polimer yüzeylerinde canlılıklarını korudukları ve bu yüzeylerin hücre kültürü çalışmaları için biyouyumlu oldukları belirlenmiştir (Şekil 8.31).



Şekil 8.30: NIH 3T3 hücrelerinin polimer kaplı yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.



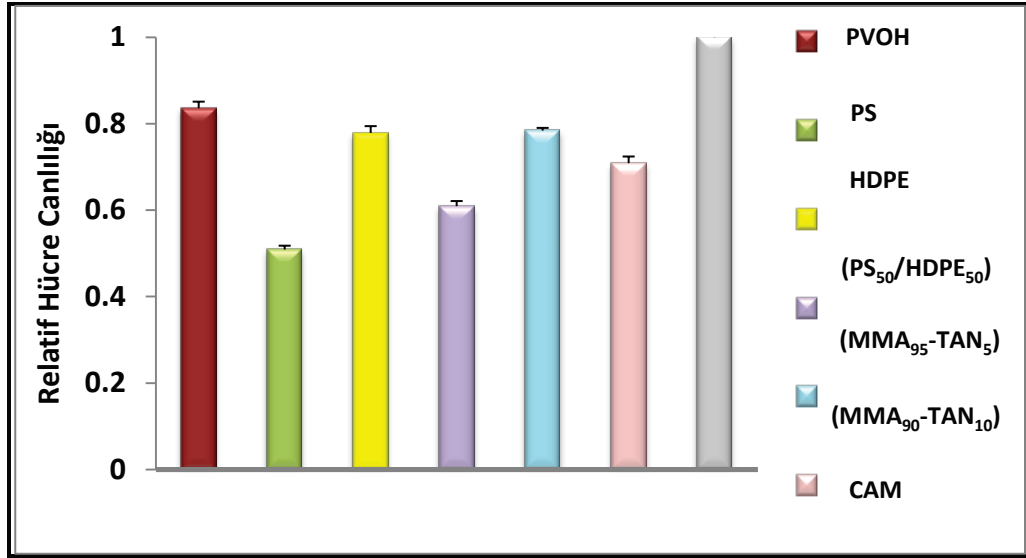
Şekil 8.31: NIH 3T3 hücrelerinin yeniden sentezlenen polimer kaplı yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.

Tez kapsamında L1210, lökosit, Saos-2 ve HGF hücrelerinin tutunma denemeleri öncesinde gerçekleştirilen biyoyumluluk denemeleri sonucunda Tablo 8.22’de sentezlenen polimer yüzeylerinin tamamı biyoyumlu olarak belirlenmiştir.

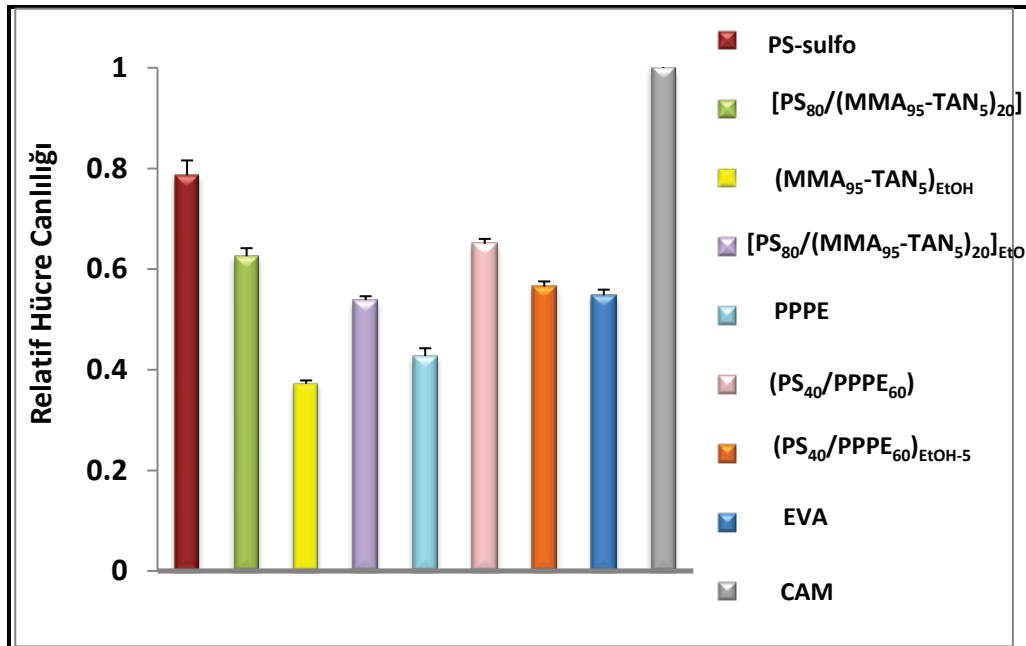
Tablo 8.22: Tutunma denemeleri için hazırlanan polimer yüzeylerin listesi.

Polimer Kompozisyonu	Polimer Kodu	(v/v) % EtOH
PVOH ₁₀₀	PVOH	0
EVA-12	EVA	0
Sulfolanmış-PS	PS-Sulfo	0
HDPE ₁₀₀	HDPE	0
PPPE ₁₀₀	PPPE	0
PS ₁₀₀	PS	0
(MMA ₉₅ -TAN ₅)	(MMA ₉₅ -ran-TAN ₅)	0
(MMA ₉₅ -TAN ₅)	(MMA ₉₅ -ran-TAN ₅) _{EtOH}	27.8
(MMA ₉₀ -TAN ₁₀)	(MMA ₉₀ -ran-TAN ₁₀)	0
PS ₈₀ /(TAN ₅) ₂₀	[PS ₈₀ /(MMA ₉₅ -ran-TAN ₅) ₂₀]	0
PS ₈₀ /(TAN ₅) ₂₀	[PS ₈₀ /(MMA ₉₅ -TAN ₅) ₂₀] _{EtOH}	26.3
PS ₅₀ /HDPE ₅₀	(PS ₅₀ /HDPE ₅₀)	0
PS ₄₀ /PPPE ₆₀	(PS ₄₀ /PPPE ₆₀)	0
PS ₄₀ /PPPE ₆₀	(PS ₄₀ /PPPE ₆₀) _{EtOH-4}	4
PS ₄₀ /PPPE ₆₀	(PS ₄₀ /PPPE ₆₀) _{EtOH-10}	10
PS ₄₀ /PPPE ₆₀	(PS ₄₀ /PPPE ₆₀) _{EtOH-14}	14
PS ₄₀ /PPPE ₆₀	(PS ₄₀ /PPPE ₆₀) _{EtOH-18}	18
PPPE ₁₀₀	(PPPE) _{EtOH-10}	10
PS ₂₀ /PPPE ₈₀	(PS ₂₀ /PPPE ₈₀) _{EtOH-10}	10
PS ₃₀ /PPPE ₇₀	(PS ₃₀ /PPPE ₇₀) _{EtOH-10}	10
PS ₅₀ /PPPE ₅₀	(PS ₅₀ /PPPE ₅₀) _{EtOH-10}	10
PS ₇₀ /PPPE ₃₀	(PS ₇₀ /PPPE ₃₀) _{EtOH-10}	10
PS ₁₀₀	(PS) _{EtOH-10}	10

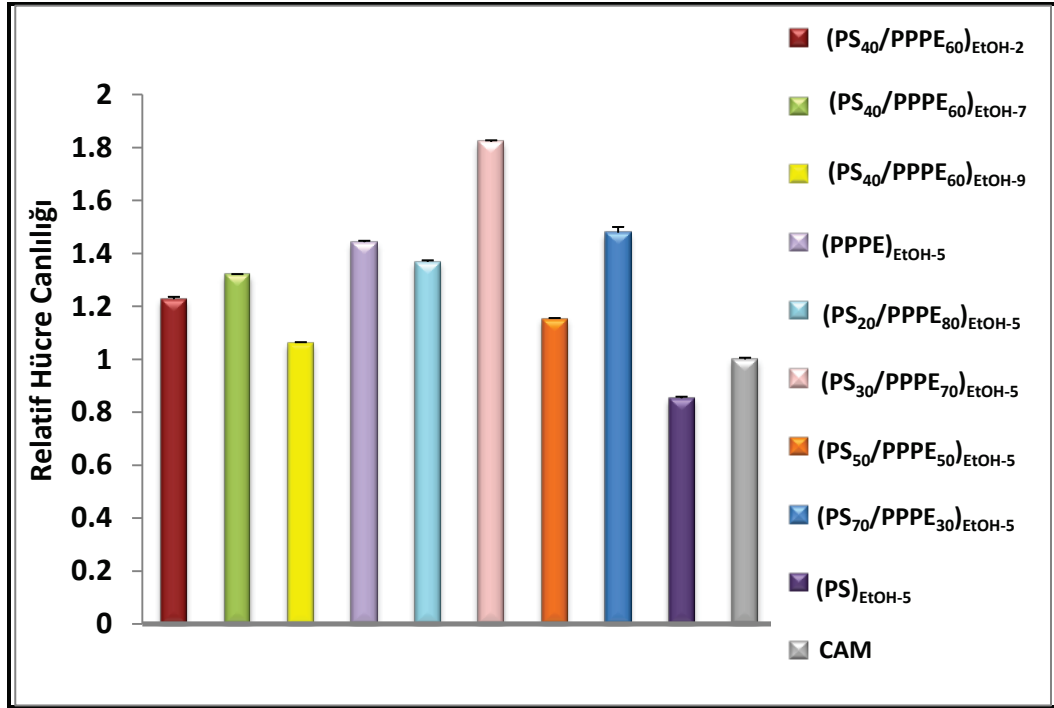
NIH 3T3 hücreleri ile yapılan canlılık deneyleri, ayrıca Saos-2 ve HGF hücreleri ile de tekrarlanmış ve sentezlenen tüm yüzeylerin biyouyumluluğu bu iki hücre çeşidi ile denenmiştir. Canlılık deneyleri, Saos-2 ve HGF hücrelerinin polimer yüzeylerdeki 24 saatlik inkübasyonları sonucunda yapılmıştır. Saos-2 (Şekil 8.32-35) ve HGF (Şekil 8.36-38) hücrelerinin tüm yüzeylerdeki canlılık testleri Şekil 8.32 ile Şekil 8.38 arasında verilmiştir.



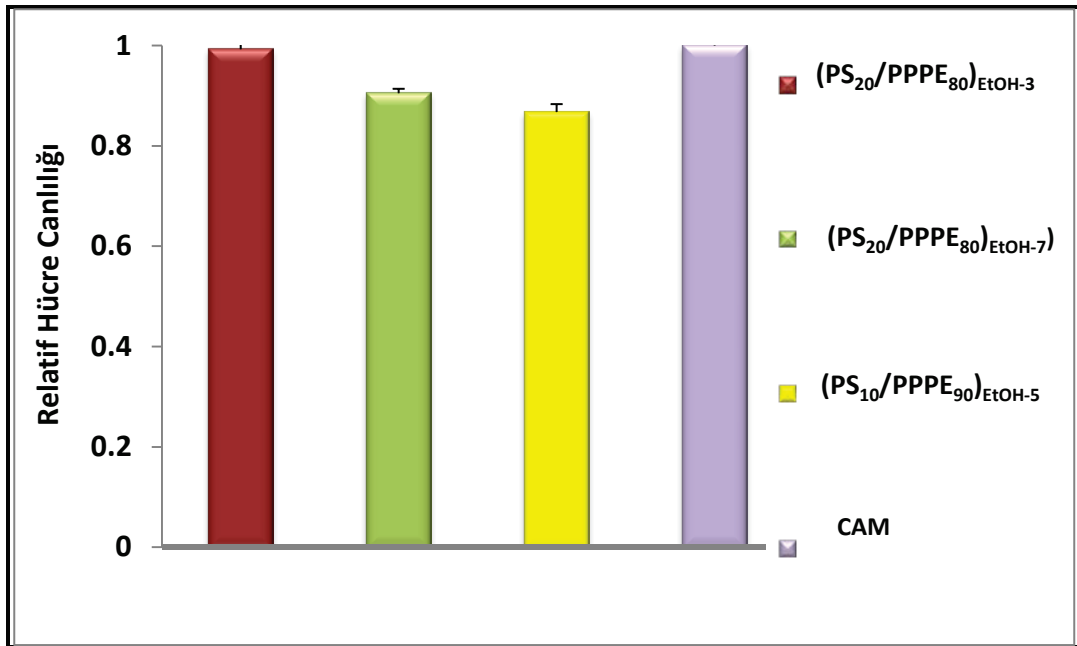
Şekil 8.32: Saos-2 hücrelerinin pürüzsüz ve pürüzlü polimerik yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.



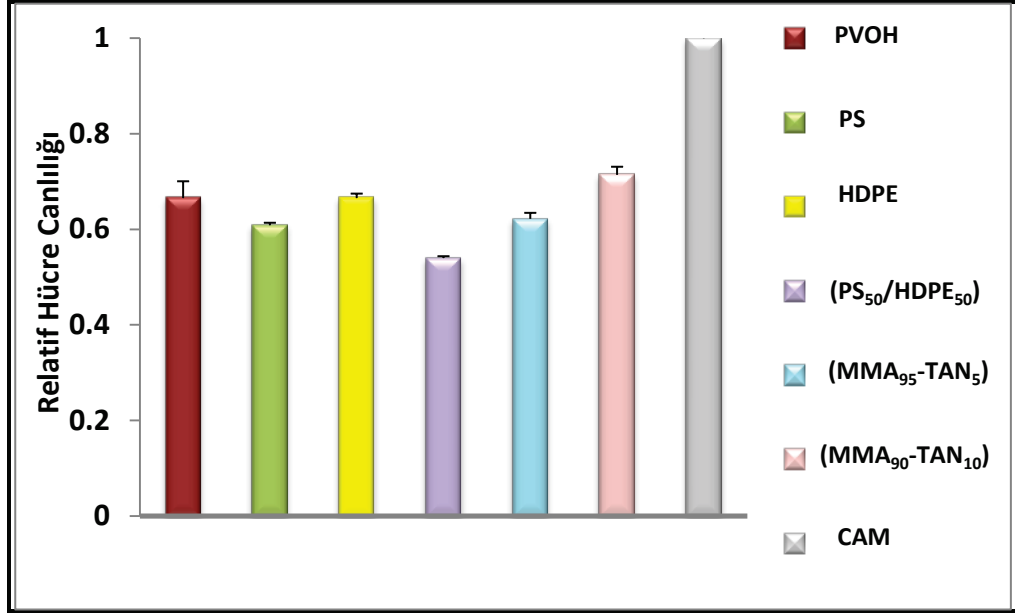
Şekil 8.33: Saos-2 hücrelerinin pürüzlü polimerik yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.



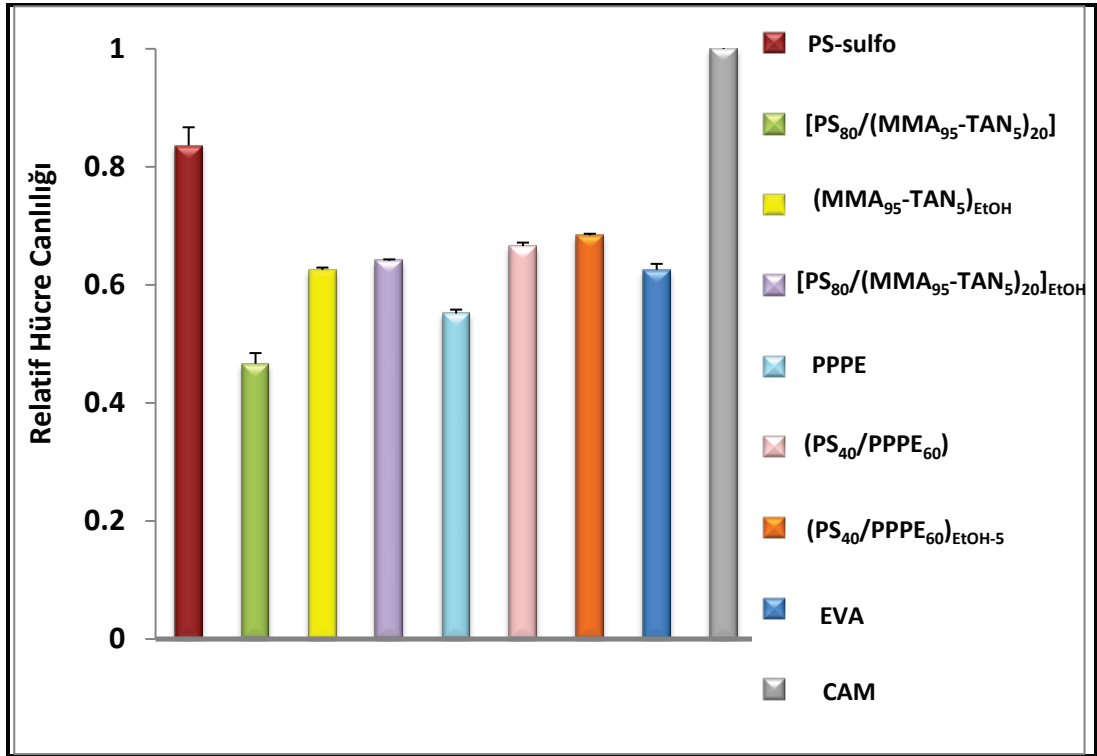
Şekil 8.34: Saos-2 hücrelerinin farklı bileşimlerdeki PPPE/PS polimer karışım polimerik yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.



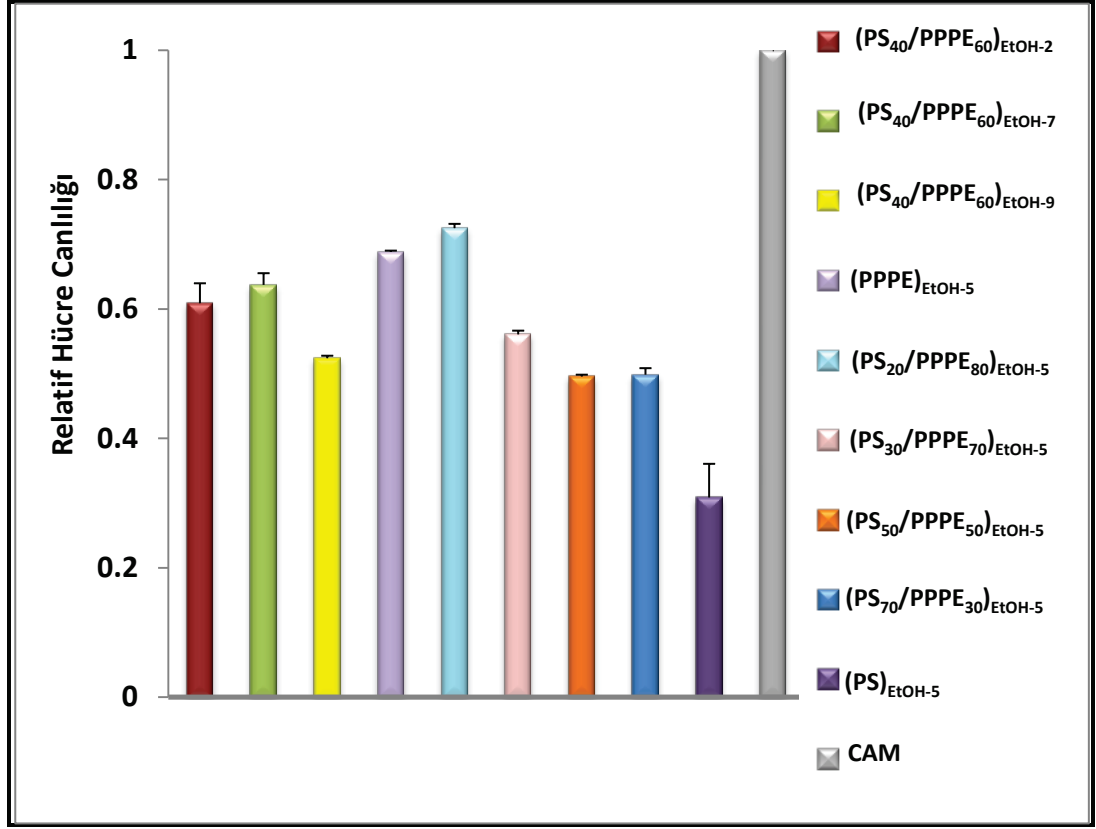
Şekil 8.35: Saos-2 hücrelerinin PPPE/PS polimer karışım polimerik yüzeyleri üzerindeki canlılık testleri.



Şekil 8.36: HGF hücrelerinin polimerik yüzeyler üzerindeki canlılık testi sonuçları.



Şekil 8.37: HGF hücrelerinin pürüzlü polimerik yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.



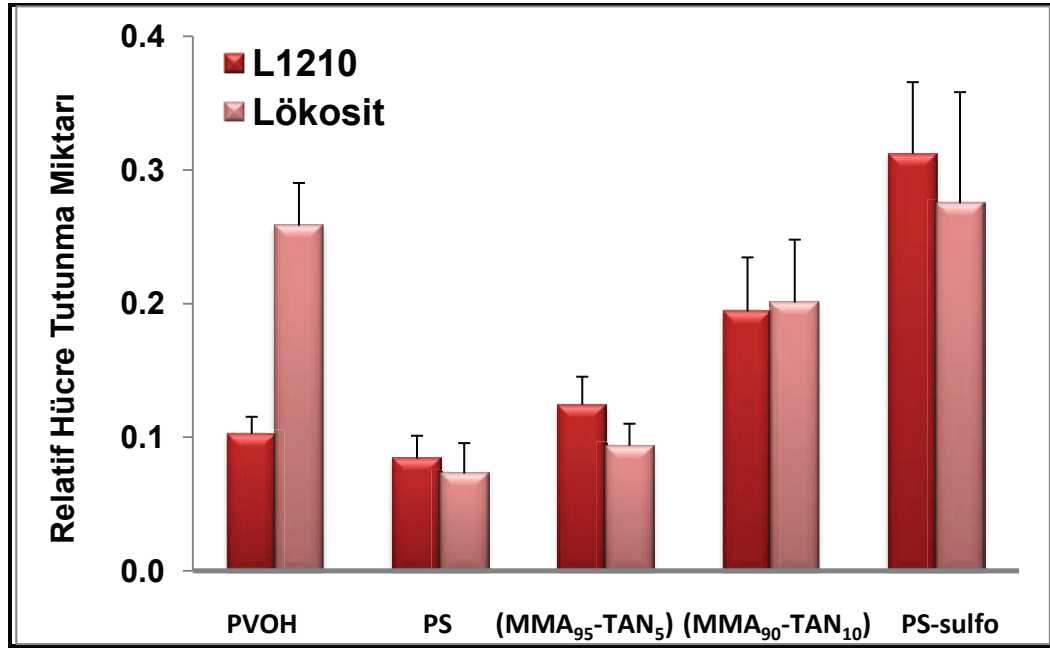
Şekil 8.38: HGF hücrelerinin farklı bileşimde PPPE/PS polimer karışım polimerik yüzeyler üzerindeki canlılık testleri.

Yapılan testler sonucunda hem Saos-2 hem de HGF hücrelerinin polimer yüzeyleri üzerinde 24 saat inkübasyonları sonucuna canlılıklarını korudukları gözlenmiştir. Böylece hücrelerin yüzeyler üzerindeki yapışma, yayılma ve morfoloji çalışmaları gerçekleştirilebilmiştir.

8.6.2. Homopolimer ve Kopolimer Yüzeylerine L1210 ve Lökosit Hücrelerinin Tutunma Davranışı

2 saatlik hücre inkübasyonu sonrasında ayrı ayrı yapılan denemelerde, L1210 ve sağlıklı lökosit hücrelerinin Bölüm 8.2’de verilen çok az pürüzlü polimer yüzeylerine tutunma sonuçları Şekil 8.39’da verilmiştir. Bu şekilde görüldüğü gibi, hidrofilik olan PVOH ve PS-sulfo yüzeylerine hem L1210, hem de sağlıklı lökosit hücre tutunmasının fazla olduğu ve hidrofobik yüzeylere ise fazla bir hücre tutunması olmadığı saptanmıştır. Buradaki (MMA-TAN) kopolimerlerinde, TAN oranı arttıkça hem L1210, hem de sağlıklı lökosit hücre tutunması artmaktadır. PVOH hariç bu test edilen düz yüzeyler üzerinde bir hücre seçimliliği yoktur. En fazla seçimli tutunma, en hidrofilik olan PVOH yüzeyinde gözlenmiştir. Ancak bu

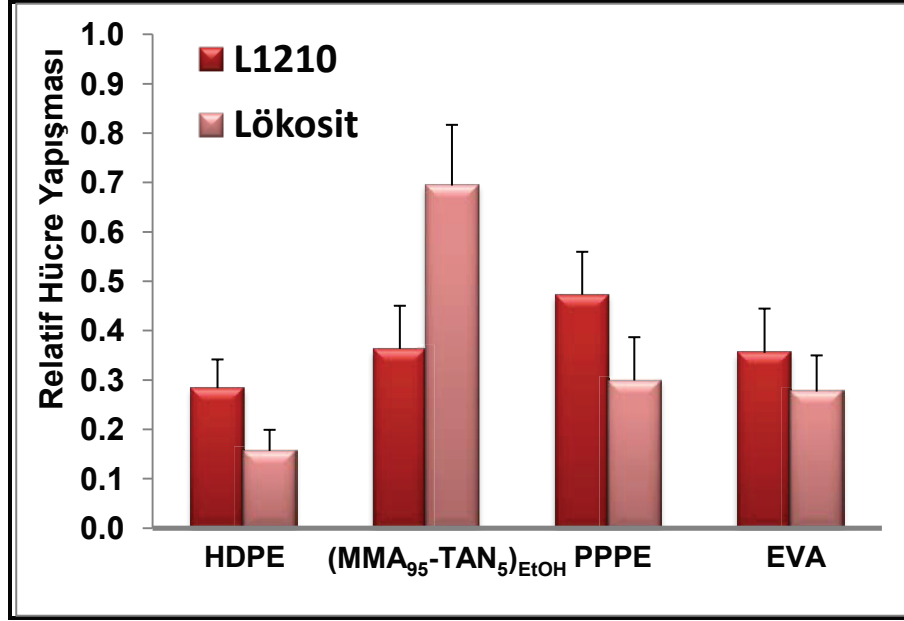
yüzeye bağlanan sağlıklı lökosit oranı, L1210 den daha fazladır. Projede amacımız L1210 hücrelerinin daha fazla bağlandığı ve sağlıklı lökosit hücrelerinin ise tutunmadığı yüzeylerin hazırlanmasıdır ve PVOH yüzeyi her ne kadar seçimli tutunma davranışı gösterse de, verdiği sonuç amaca terstir. Amaca uygun seçimli tutunma biraz ($\text{MMA}_{95}\text{-TAN}_5$) ve PS-sülfo yüzeylerinde gerçekleşmiştir ama buradaki seçimlilik oranı çok düşüktür.



Şekil 8.39: Çok az pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerine L1210 ve sağlıklı lökosit hücre tutunma sonuçları.

PVOH yüzeyi incelenen diğer homopolimer ve kopolimer yüzeyler arasında CAH değeri en düşük olan yüzeydir. PVOH yüzeyi neredeyse pürüzsüz olduğundan CAH değerindeki bu değişim sadece kimyasal heterojenlikten kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak sağlıklı lökosit hücrelerinin kimyasal heterojenliğin düşük olduğu, düz kabul edilebilecek hidrofil yüzeylere tutunma eğiliminin L1210 hücrelerine göre daha fazla olduğu saptanmıştır.

Bölüm 8.2’de yüzey özellikleri verilen pürüzlü yüzey elde edebilmek için sadece hidrofob polimerlerin kullanılması gerekmiştir. Şekil 8.40’da pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerine L1210 ve lökosit tutunma sonuçları verilmektedir.

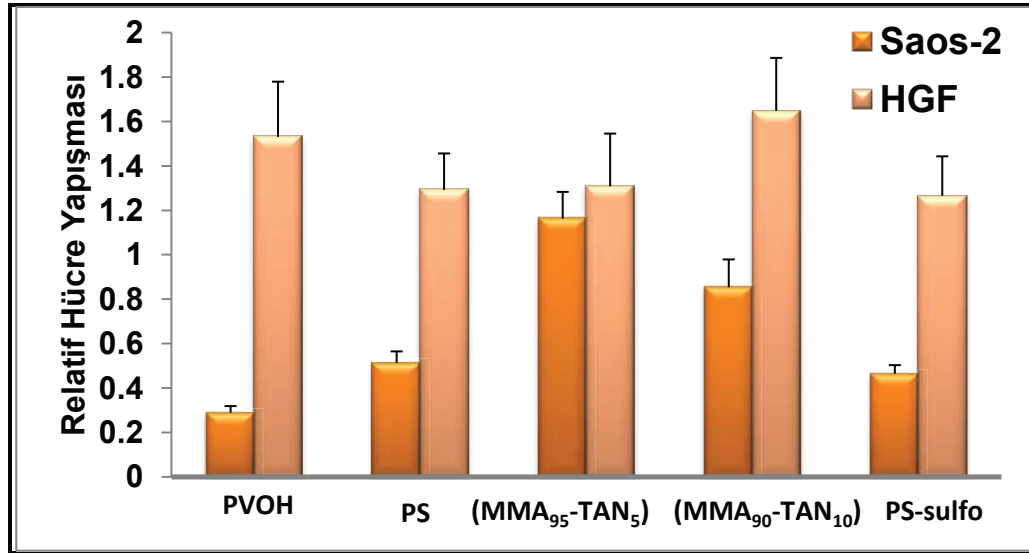


Şekil 8.40: Pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerine L1210 ve Lökosit hücrelerinin hücre yapışması davranışı.

Şekil 8.40’da ilk gözlenen sonuç, pürüzlü yüzeylere relatif hücre yapışmasının, çok az pürüzlü olanlara göre daha fazla olmasıdır. 0.15 altında değere sahip düz (MMA₉₅-TAN₅) değerleri burada (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH} için 0.75’e çıkmıştır. Bu artış özellikle sağlıklı lökosit hücrelerinin tutunması için geçerlidir. Ancak burada düz (MMA₉₅-TAN₅) için gözlenen ufak olumlu seçimlilik tersine dönmüştür. Öte yandan, diğer 3 hidrofob yüzey üzerinde ise olumlu seçimlilik görülmüştür: HDPE ile PPPE polimer yüzeylerinde L1210’nın tutunma performansı, lökosit tutunma performansına göre yaklaşık 2 kat fazladır. Burada kullanılan PPPE yüzeyi HDPE yüzeyine göre daha pürüzlüdür ve PPPE yüzeyine hem sağlıklı lökosit hem de L1210 hücreleri HDPE den daha fazla tutunmaktadır. Buradan yüzey pürüzlülüğündeki artışın, L1210 hücrelerinin sağlıklı lökositlere göre biraz daha seçimli tutunma etkisi gösterdiği söylenebilir. Sonuç olarak pürüzlü yüzeylerde istenilen doğrultuda seçimli tutunma gerçekleştiği ancak tutunma oranları arasındaki farkın yetersiz olduğu görülmüştür ve bu nedenle homopolimer ve kopolimer yerine, polimer karışımlar kullanılarak daha pürüzlü yüzeylerin hazırlanmasına ve bu yüzeylerdeki tutunma performanslarının incelenmesine karar verilmiştir.

8.6.3. Homopolimer ve Kopolimer Yüzeylerine Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Tutunma Davranışı

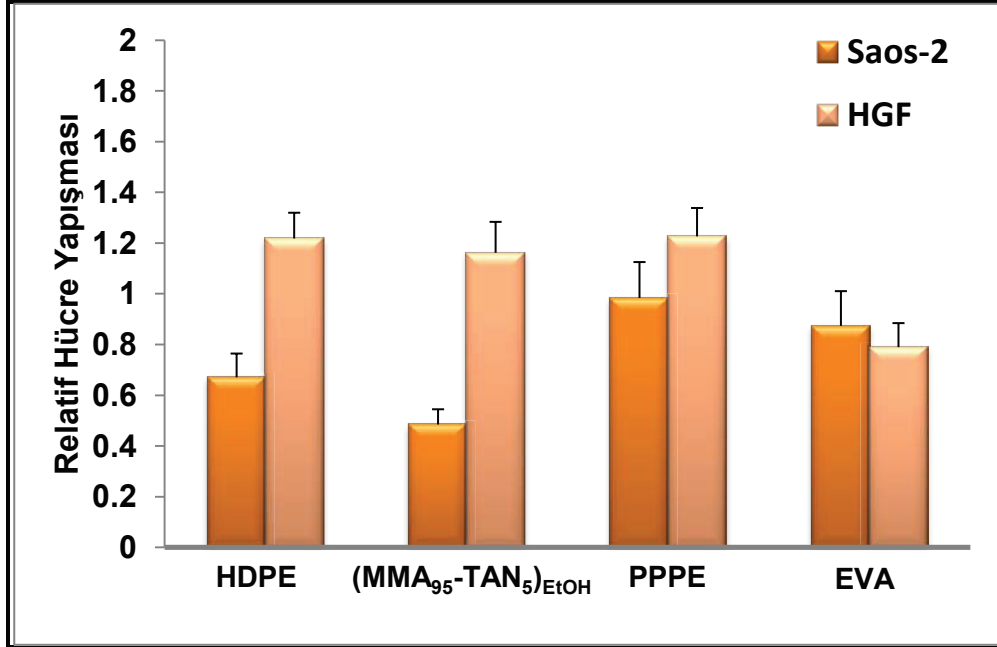
Saos-2 hücreleri osteojenik hücrelerdir. Gingival fibroblastlar (HGF) ise dişetinde bulunan fibroblast yapıda hücrelerdir. Özellikle diş implantlarında HGF'ler implantın etraflarını kaplayıp, yumuşak bağ doku oluşturarak bu implantın çeneye uyum sağlamasını engellerler. Saos-2 hücreleri ve HGF hücrelerinin, polimer yüzeylere tutunma davranışlarını karşılaştırarak, Saos-2 hücrelerinin yapıştığı ve HGF hücrelerinin yapışmadığı, seçimli tutunma gösteren uygun yüzeylerin saptanması hedeflenmiştir. Bölüm 8.2'de yüzey özellikleri verilen çok az pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerine Saos-2 ve Gingival fibroblast (HGF) hücrelerinin hücre yapışması davranışı Şekil 8.41'de görülmektedir.



Şekil 8.41: Çok az pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerine Saos-2 ve Gingival Fibroblast (HGF) hücrelerinin yapışma sonuçları.

Şekil 8.41'den görüldüğü gibi HGF hücreleri bütün düz yüzeylerde yüksek bir yapışma göstermiş, ancak Saos-2 hücreleri sadece hidrofob ve flor içeren yüzeylere karşı bir yapışma sağlamışlardır. Bu yüzden hidrofilik olan PVOH ve PS-sulfo yüzeyler üzerinde HGF/Saos-2 seçimlilik oranı fazladır. Ancak Saos-2/HGF oranının fazla olması hedeflenen durumuna ters bir seçimlilik gözleendiğinden bu yüzeylerin amaca uygun olarak kullanımı söz konusu değildir ve bu seçimlilik olumsuzdur. PS ve (MMA₉₀-TAN₁₀) yüzeylerinde de gerçekleşen seçimli tutunma davranışı da amaca ters olarak gerçekleşmiştir.

Ayrıca Bölüm 8.2’de yüzey özellikleri verilen pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerine Saos-2 ve HGF hücrelerinin yapışma davranışı Şekil 8.42’de görülmektedir.



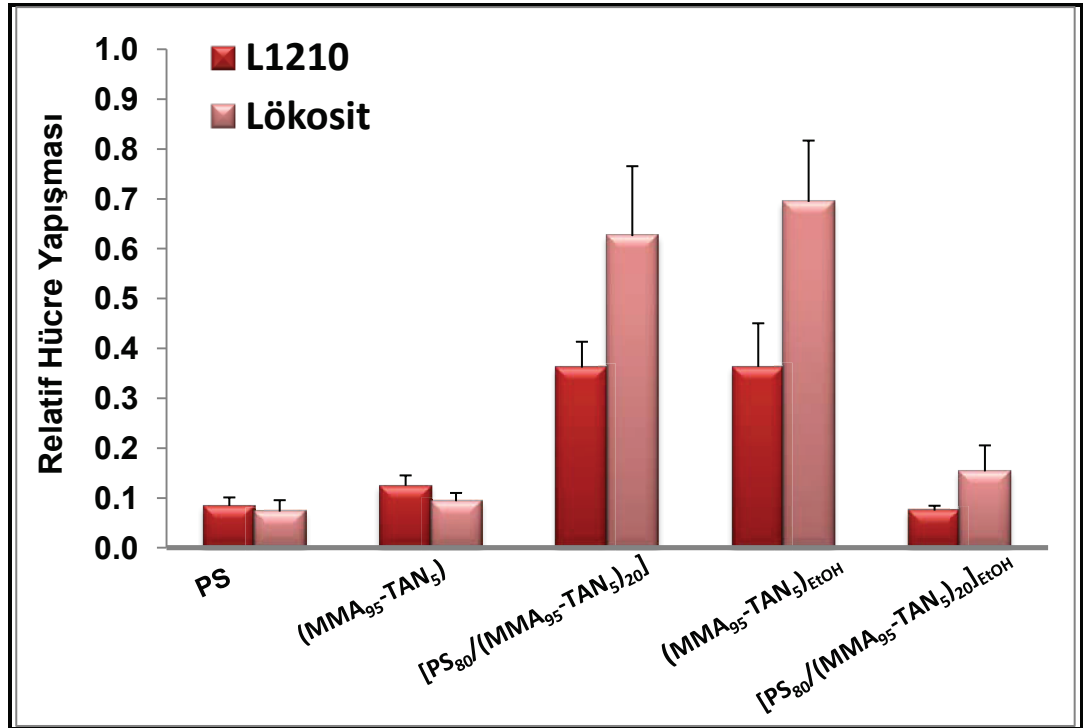
Şekil 8.42: Pürüzlü homopolimer ve kopolimer yüzeylerine Saos-2 ve Gingival Fibroblast (HGF) hücrelerinin yapışması sonuçları.

Şekil 8.42’den görüldüğü gibi pürüzlü yüzeylerde de amaçlanan eğilimde bir seçimli tutunma gözlenmemiştir. Pürüzlülüğün artması ile genelde bütün HGF hücresi tutunmalarında % 25 civarında düşüş gözlenmiştir. Saos-2 için sonuçlarda büyük bir fark yoktur. İstisna olarak, (MMA₉₅-TAN₅) ve pürüzlü (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH} yüzeyleri karşılaştırıldığında, Saos-2 hücre tutunmasının yarı yarıya düştüğü gözlenmiştir.

8.6.4. PS/(MMA-ZONYL TAN) Polimer Karışımlarından Sentezlenen Yüzeylere L1210 ve Lökosit Hücrelerinin Tutunma Davranışı

Bölüm 8.3’de yüzey özellikleri verilen PS, (MMA₉₅-TAN₅) kopolimer, PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀ polimer karışım, [PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀]_{EtOH} polimer karışım ve (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH} yüzeylerinin, L1210 ve lökosit hücre çifti ile tutunma sonuçları Şekil 8.43’de verilmektedir. Bu şekilde görüldüğü gibi sadece pürüzlü olan yüzeylerde, yani (PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀, [PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀]_{EtOH} ve (MMA₉₅-

TAN₅)_{EtOH}) yüzeylerinde seçimli tutunma davranışı gözlenmiştir. Ancak bu seçimlilik amaca terstir, yani lökosit hücrelerinin bağlandığı ve L1210 hücrelerinin tutunmadığı yüzeyler elde edilmiştir. Bu yüzeylere, EtOH ilavesi esnasında, TAN içinde mevcut -CF₂- gruplarının yüzey segregasyonu sonucunda yüzeyde artması, bunların üzerine sağlıklı lökositleri fazla tutunması ile sonuçlanmıştır. L1210 hücreleri de pürüzlü ve flor içeren yüzeylere daha fazla tutunmaktadır ama bunların oranı lökositlere göre düşüktür.

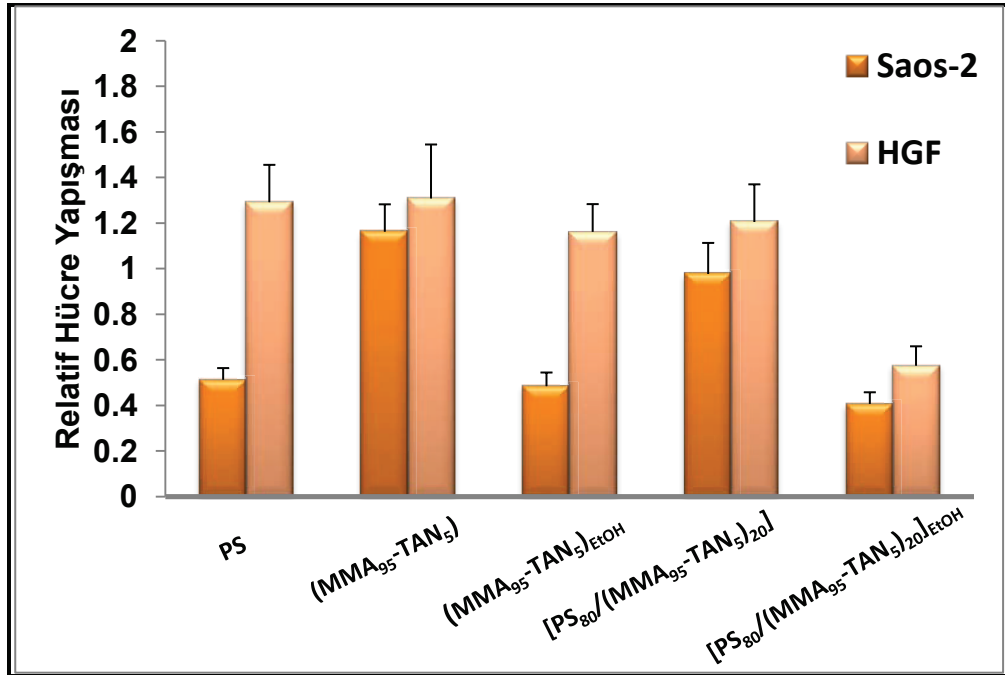


Şekil 8.43: PS/(MMA₉₅-TAN₅) polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine L1210 ve lökosit hücre yapışması.

Diğer taraftan, buradaki [PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀]_{EtOH} numunesi için düşük lökosit tutunması, düşük CAH ve çok yüksek θ_r varlığında gerçekleşmiştir, çünkü (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH} ve (PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀) yüzeylerinde CAH yüksek ve θ_r düşüktür.

8.6.5. PS/(MMA-ZONYL TAN) Polimer Karışımlarından Sentezlenen Yüzeylere Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Tutunma Davranışı

Bölüm 8.3’de yüzey özellikleri detaylı olarak verilen Zonyl TAN-MMA/PS polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine, Saos-2 ve HGF hücre yapışması davranışı sonuçları Şekil 8.44’de yer almaktadır.

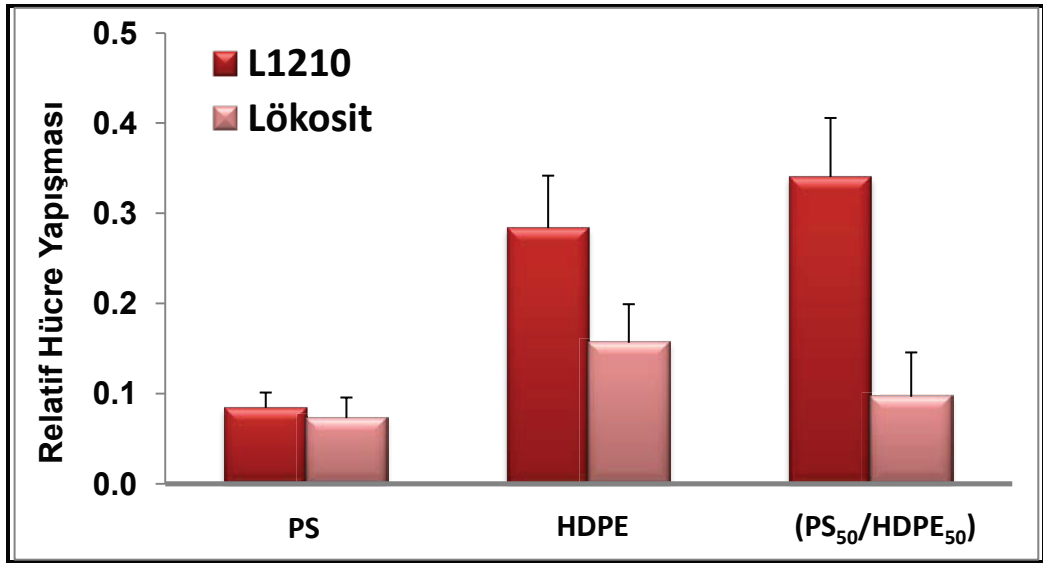


Şekil 8.44: PS/(MMA₉₅-TAN₅) polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine Saos-2 ve HGF hücre yapışması.

Şekil 8.44’den görüldüğü gibi [PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀]_{EtOH} hariç bütün yüzeylerde HGF hücresi tutunma performansı birbirine yakındır. Saos-2 tutunma performansı ise yüzeye göre fark etmekte ve bu yüzden denenen bütün yüzeylerde hedeflenen eğilimin tersi bir seçimli davranış gözlenmiştir, yani HGF tutunması Saos-2 en daha fazladır. Bu ters seçimlilik en fazla (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH} yüzeyinde gözlenmiştir. Bu yüzeyde CAH değeri 90° olup çok büyüktür. Burada mevcut -CF₂- içeren uzun grupların, test sıvısı içinde hareketli olmasından dolayı, deneme esnasında Saos-2 hücreleri bu yüzeye bağlanamamış olabilir.

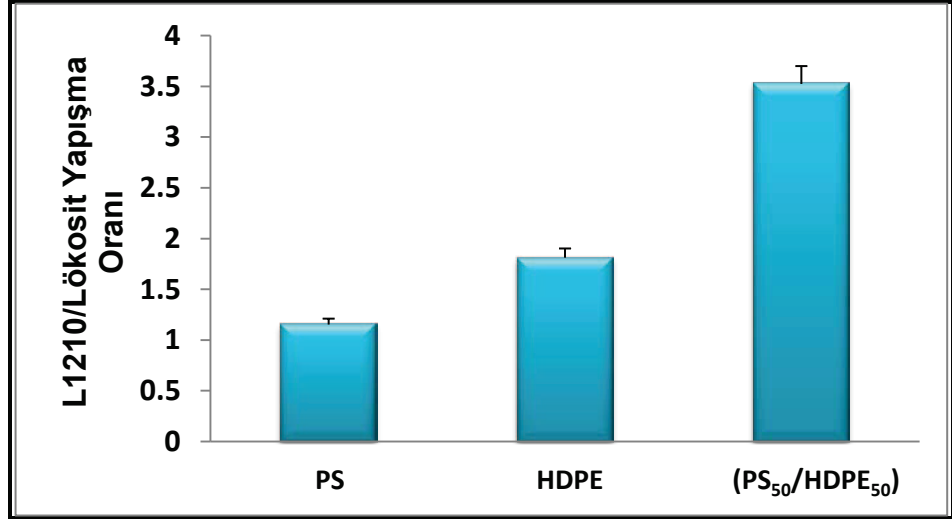
8.6.6. PS, HDPE Homopolimerleri ve (50:50) HDPE/PS Polimer Karışım Yüzeylerine L1210 ve Lökosit Hücrelerinin Tutunma Davranışı

Bölüm 8.4’de yüzey özellikleri verilen PS, HDPE homopolimerleri ve PS₅₀/HDPE₅₀ polimer karışımından oluşturulan yüzeylere, L1210 ve sağlıklı lökosit hücre çifti ile tutunma davranışı sonuçları Şekil 8.45’de verilmiştir.



Şekil 8.45: PS, HDPE homopolimerleri ve PS₅₀/HDPE₅₀ polimer karışımından hazırlanan ince film polimer yüzeylerine L1210 ve Lökosit hücre yapışması.

Şekil 8.45’de görüldüğü gibi, çok az pürüzlü PS yüzeyinde hem L1210 hem de lökosit için çok düşük tutunma davranışı gözlenirken, pürüzlü HDPE yüzeyine yapışan L1210 hücre sayısının PS ye nazaran 3 kat kadar artması yüzünden, olumlu bir seçimlilik vardır. Bu seçimlilik oranı Şekil 8.46’dan görüldüğü gibi 2’den biraz daha azdır. Diğer taraftan, 5-15 µm arasında değişen çaplara sahip PS mikro adacıklara sahip PS₅₀/HDPE₅₀ polimer karışımından hazırlanan yüzeyde, iyi bir L1210 hücresi seçimli tutunması gözlenmiştir. Burada, L1210 hücrelerinin yüzeye tutunma performansı PS ye nazaran 4 kat, HDPE’ye nazaran ise % 30 fazladır. Bu yüzeyde, sağlıklı lökosit tutunma miktarı ise HDPE’ye nazaran azalmaktadır ki bu durum projemizin hedefiyle uyumludur. Şekil 8.46’dan görüldüğü gibi mikro desenli PS₅₀/HDPE₅₀ yüzeyinde, L1210 hücresinin lökosit nazaran seçimli tutunma oranı yaklaşık 3.5’tir.

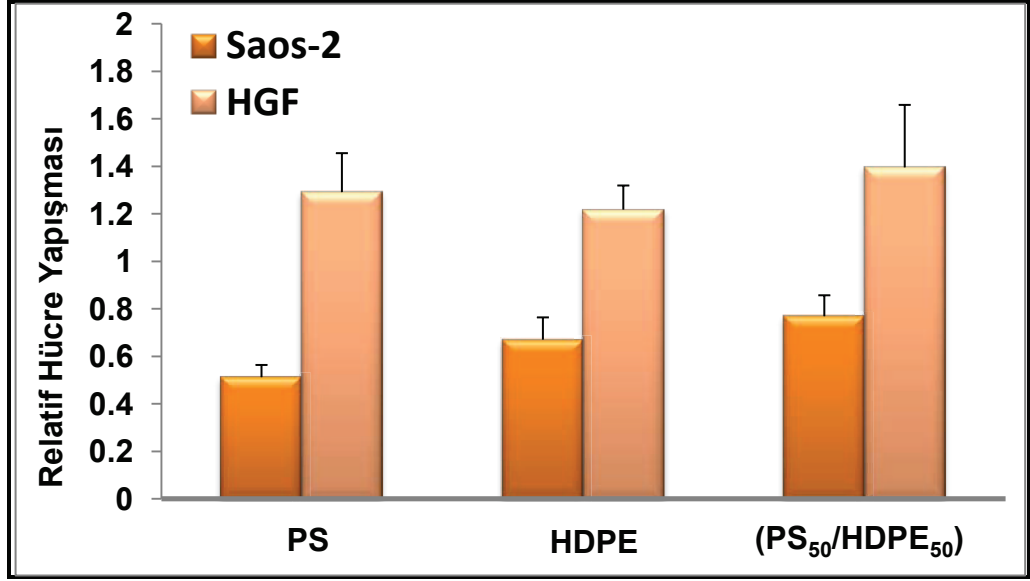


Şekil 8.46: PS, HDPE homopolimerleri ve PS₅₀/HDPE₅₀ polimer karışımından hazırlanan ince film polimer yüzeylerine L1210/Lökosit hücre yapışması oranı.

L1210 hücrelerinin, 5-15 µm arasında değişen çaplara sahip PS mikro adacıklara sahip PS₅₀/HDPE₅₀ yüzeyin hangi bölgelerini ve neden tercih ettikleri denel olarak belli değildir. Ancak PS adacıkları arasında kalan HDPE yüzeylerini tercih ettikleri ileri sürülebilir, çünkü L1210 hücreleri düz PS yüzeylerini hiç sevmemektedir [Atalay Gengec, et al., 2014]. Durumun anlaşılması için mikrodeseanlı yüzeylerde hücre morfolojisi denemeleri yapılması gerekmektedir ancak tez kapsamında bu denemelere yer verilmemiştir.

8.6.7. PS, HDPE Homopolimerleri ve (50:50) HDPE/PS Polimer Karışım Yüzeylerine Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Tutunma Davranışı

Bölüm 8.4’de yüzey özellikleri verilen PS, HDPE homopolimerleri ve PS₅₀/HDPE₅₀ polimer karışımından oluşturulan yüzeylere, Saos-2 ve HGF hücre çifti ile tutunma davranışı sonuçları Şekil 8.47’de verilmektedir.

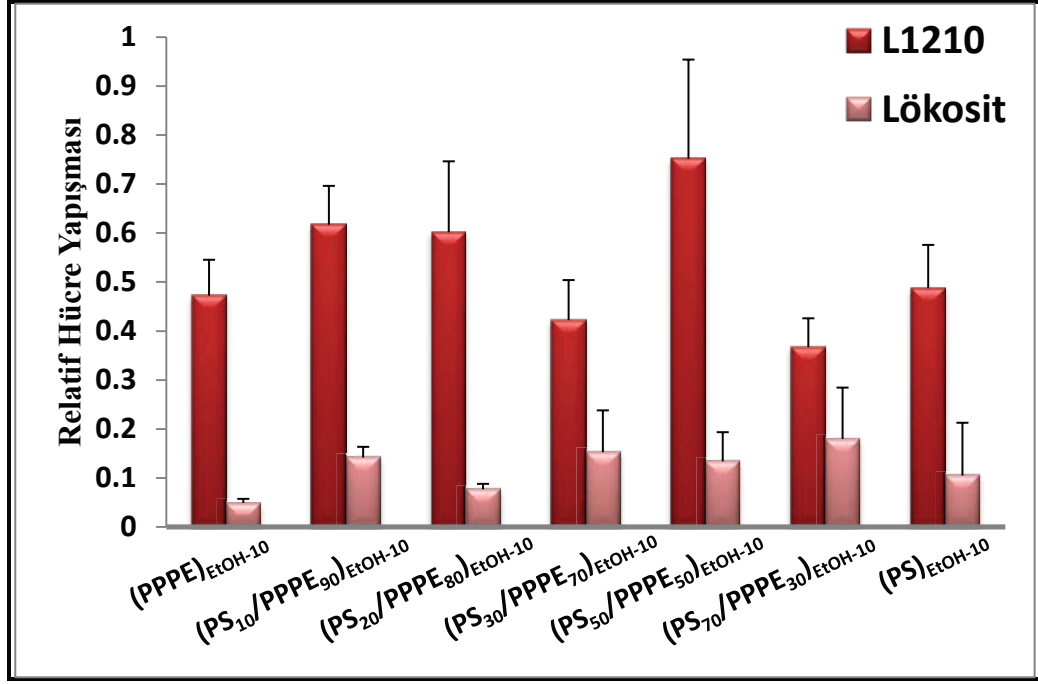


Şekil 8.47: PS, HDPE ve PS₅₀/HDPE₅₀ polimer karışımından hazırlanan ince film polimer yüzeylerine Saos-2 ve HGF hücre yapışması.

Şekil 8.47’de görüldüğü gibi HGF hücreleri hazırlanan 3 yüzeye de birbirine yakın miktarda yüksek bir yapışma göstermiş, ancak Saos-2 hücreleri HDPE içeren yüzeylerde daha yüksek bir yapışma sağlamışlardır. 3 yüzeyde de istenilen eğilimde yani, Saos-2 hücrelerinin bağlandığı, ancak HGF hücrelerinin tutunmadığı seçimli tutunma davranışı gözlenmemiştir, hepsinde seçimlilik terstir.

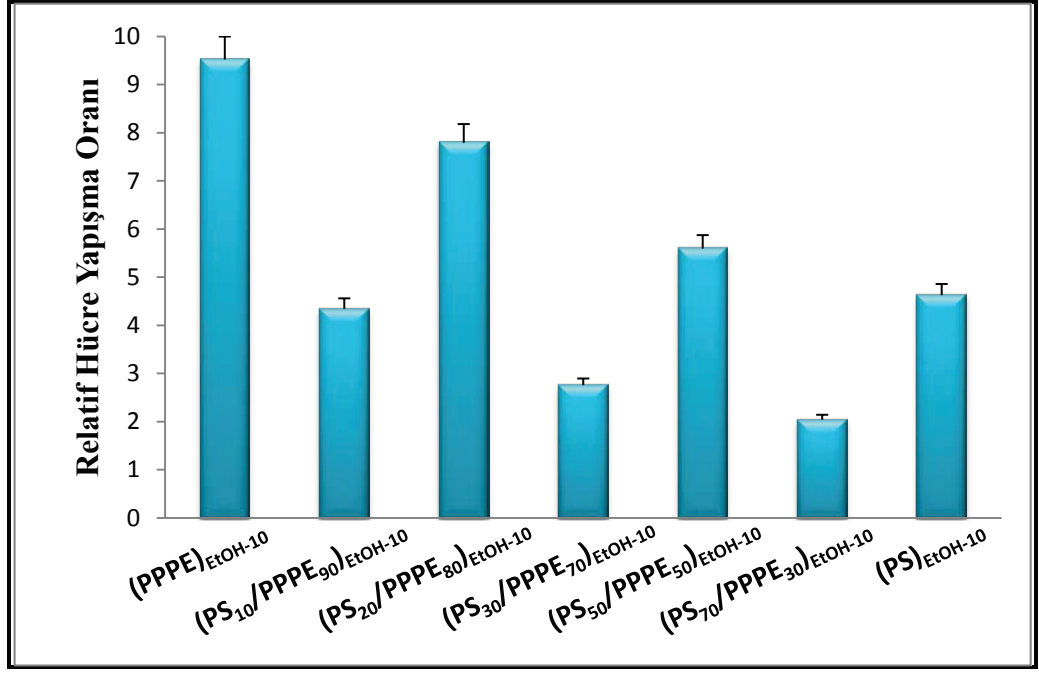
8.6.8. Farklı Kompozisyonlardaki PPPE/PS Polimer Karışımlarına Aynı Miktarda Kötü Solvent İlavesi ile Sentezlenen Yüzeylerin L1210 ve Lökosit Hücreleriyle Tutunma Davranışı

Bölüm 8.5.2’de yüzey özellikleri verilen PS homopolimer, PPPE kopolimer ve kompozisyonu değiştirilen PPPE/PS polimer karışımlarından hazırlanan mikrodeseanlı ince film yüzeylerine L1210 ve lökosit hücre yapışması sonuçları Şekil 8.48’de verilmektedir. Bu şekilden görüldüğü gibi, sabit miktarda (10 mL EtOH) çöktürücü solvent ilave edilmiş PPPE)_{EtOH-10}, (PS)_{EtOH-10} polimerleri ile (PS₁₀/PPPE₉₀)_{EtOH-10}, (PS₂₀/PPPE₈₀)_{EtOH-10}, (PS₅₀/PPPE₅₀)_{EtOH-10} polimer karışım ince film yüzeylerinde, L1210 hücresinin tutunmasının fazla ve lökosit tutunmasının az olduğu gözlenmiştir.



Şekil 8.48: PS homopolimer, PPPE kopolimer ve polimer kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine L1210 ve lökosit hücre yapışması.

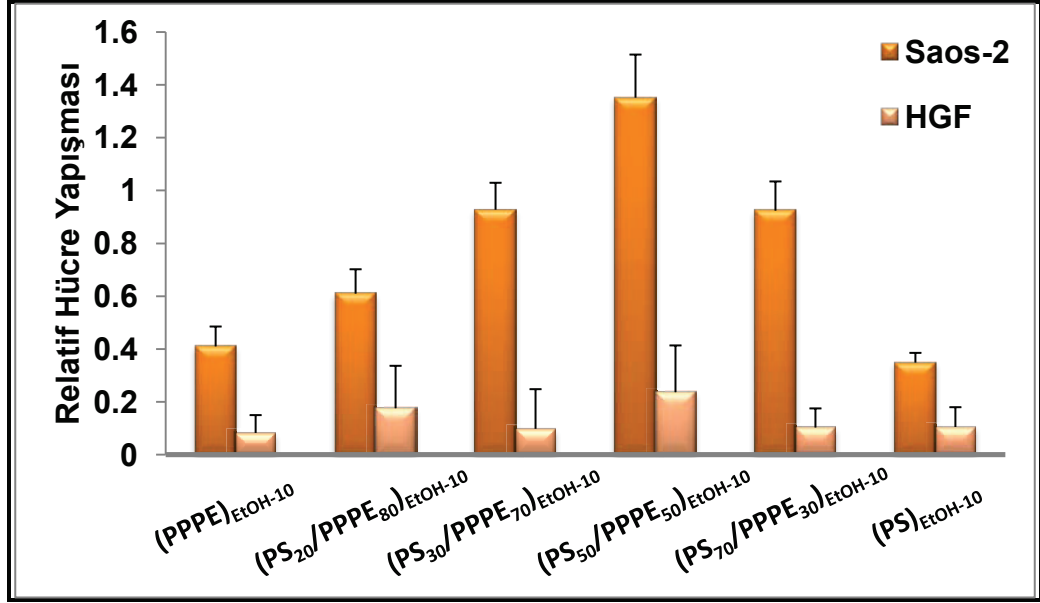
Ayrıca Şekil 8.48'deki yapışma miktarlarından hesaplanan L1210/Lökosit hücre yapışma oranları Şekil 8.49'de verilmiştir. Şekil 8.49'dan görüldüğü gibi en fazla olumlu seçimlilik gösteren yüzey (PPPE)_{EtOH-10}'dir ve sağlıklı lökosit nazaran 9.5 kat daha fazla L1210 hücresi bu yüzeye yapışmıştır. Bundan sonraki en başarılı yüzey ise 7.8 kat seçimlilik gösteren (PS₂₀/PPPE₈₀)_{EtOH-10}, yüzeyidir. Burada ayrıca adacık çaplarının küçük olmasının L1210 yapışmasında bir avantaj sağladığı söylenebilir [Atalay Gengec, et al., 2014].



Şekil 8.49: PS homopolimer, PPPE kopolimer ve polimer kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine L1210/lökosit tutunma oranı.

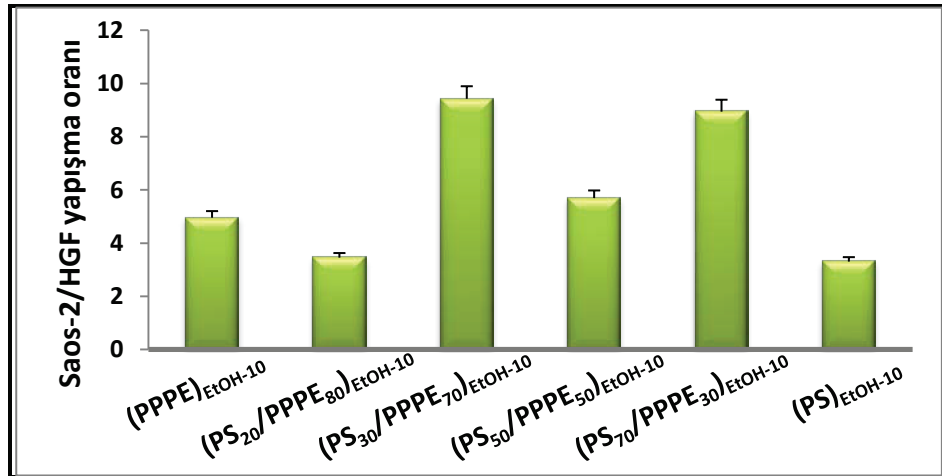
8.6.9. Farklı Kompozisyonlardaki PPPE/PS Polimer Karışımlarına Aynı Miktarda Kötü Çözücü (ETOH) İlavesi ile Sentezlenen Yüzeylere Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Tutunma Davranışı

Bölüm 8.5.2’de yüzey özellikleri verilen PS homopolimer, PPPE kopolimer ve kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine Saos-2 ve HGF hücre yapışması sonuçları Şekil 8.50’de verilmektedir. Şekil 8.50’den görüldüğü gibi tüm PS/PPPE mikrodensli pürüzlü yüzeylerine Saos-2 hücrelerinin bağlandığı ancak HGF hücrelerinin az bağlandığı olumlu seçimli tutunma davranışı gözlenmiştir.



Şekil 8.50: PS homopolimer, PPPE kopolimer ve polimer kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine Saos-2 ve HGF hücre yapışması.

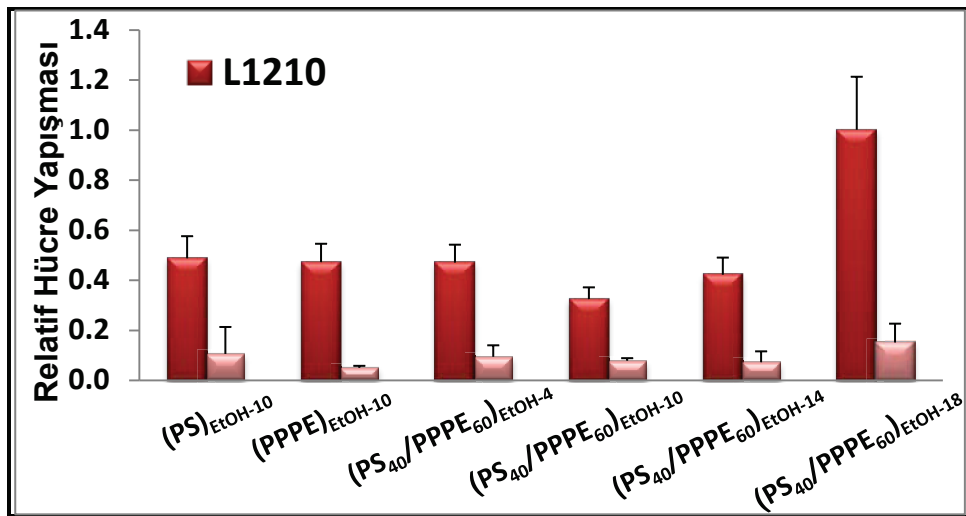
Şekil 8.50'deki yüzeylere hücrelerin relatif yapışma miktarından hesaplanan Saos-2/HGF hücre yapışma oranları ise Şekil 8.51'de verilmektedir. Burada en fazla olumlu seçimlilik gösteren yüzey (PS₃₀/PPPE₇₀)_{EtOH-10} dir, HGF'ye lökosit nazaran 9.3 kat daha fazla Saos-2 hücresi bu yüzeye yapışmıştır. Bundan sonraki en başarılı yüzey ise 8.9 kat seçimlilik gösteren (PS₇₀/PPPE₃₀)_{EtOH-10} yüzeyidir. Burada da adacık çaplarının küçük olmasının Saos-2 yapışma seçimliliğinde bir avantaj getirdiği belirlenmiştir.



Şekil 8.51: Farklı PS homopolimer, PPPE kopolimer ve polimer kompozisyonu değiştirilen PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine Saos-2/ HGF hücre yapışma oranı.

8.6.10. (40:60) ve (20:80) PS/PPPE Polimer Karışımlarına Farklı Miktarda Etanol İlavesi ile Sentezlenen Yüzeylerde L1210 ve Lökosit Hücrelerinin Tutunma Davranışı

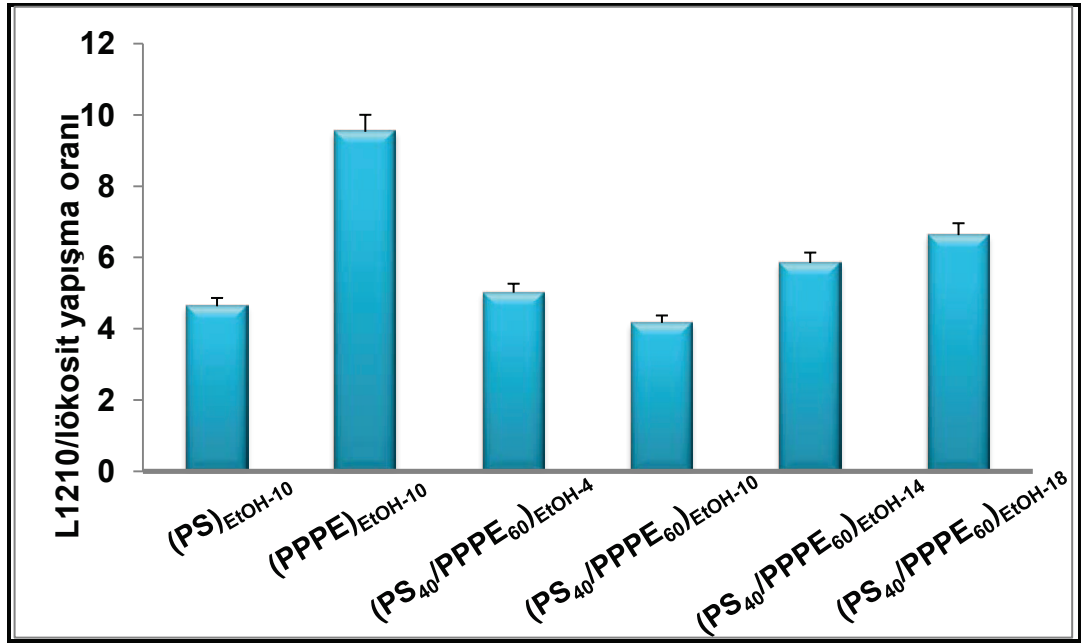
PS, PPPE, ve farklı miktarda EtOH kullanılarak farklı mikrodeseen çapı ve mesafesinde Bölüm 8.5.3’de yüzey özellikleri verilen (PS₄₀/PPPE₆₀) ve (PS₂₀/PPPE₈₀) polimer karışım yüzeylerinin, L1210 ve lökosit hücre çifti ile tutunma sonuçları Şekil 8.52 ile 8.55’de verilmiştir.



Şekil 8.52: Farklı miktarda çöktürücü solvent EtOH ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine L1210 ve lökosit hücre yapışması.

Şekil 8.52’den görüldüğü gibi, farklı miktarda çöktürücü solvent ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan, (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-4}, (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-10}, (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-14} ve (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-18} yüzeylerinde, L1210/lökosit hücre çifti için olumlu seçimli tutunma davranışı gözlenmiştir. L1210 hücrelerinin daha fazla bağlandığı ve lökosit hücrelerinin az bağlandığı yüzeyler seçimli tutunma davranışı için hedeflenen yüzeylerdir ve bu hedefe, Şekil 8.40’da verilen PPPE, Şekil 8.45’de verilen HDPE ve PS/HDPE yüzeylerinden sonra, Şekil 8.52’de verilen 6 yüzeyde de ulaşılmıştır. Şekil 8.52’deki yüzeyler üzerinde, sağlıklı lökosit yapışma oranlarının az olduğu ve fazla fark etmediği, ancak L1210 hücrelerinin özellikle (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-18} yüzeyine çok fazla yapıştığı görülmektedir. Şekil 8.52’deki lökosit ve L1210 hücre yapışma miktarlarından

hesaplanan L1210/Lökosit hücre yapışma oranları ise Şekil 8.53’de ayrıca verilmiştir.

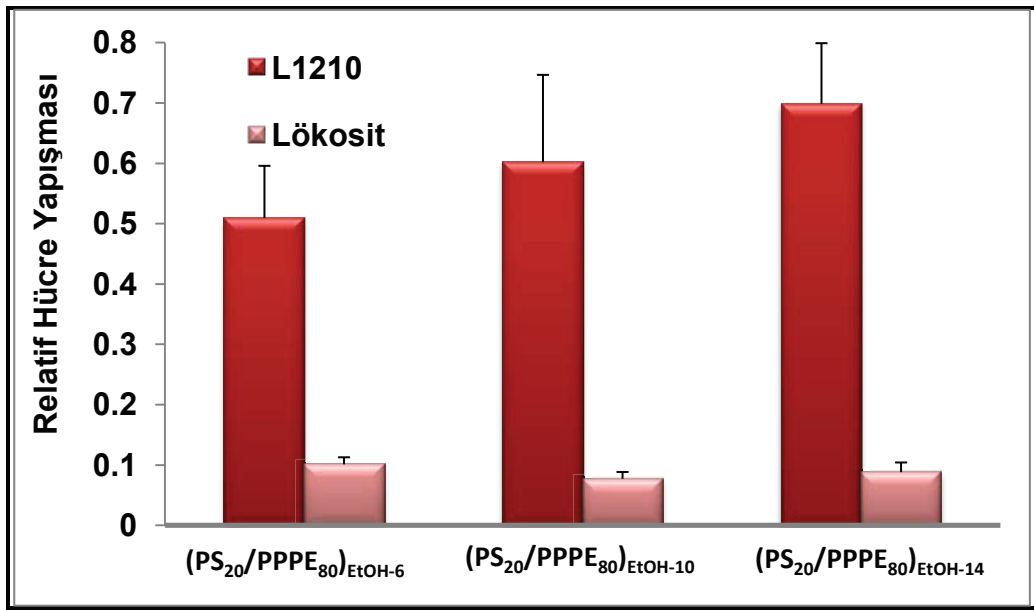


Şekil 8.53: Farklı miktarda çöktürücü solvent EtOH ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine L1210/Lökosit hücre yapışma oranı.

Şekil 8.53’de verilen L1210/lökosit yapışma oranları 4.2-9.6 arasında olup, daha önce elde edilen ve Şekil 8.40’da verilen PPPE’ye ait 1.6 ve Şekil 10’da verilen PS₅₀/HDPE₅₀’ye ait 3.5 oranından fazlasıyla iyidir. Seçimli tutunmanın en fazla gözlemlendiği yüzey (PPPE)_{EtOH} ve (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-18} yüzeyleridir. Bu durum, (40:60) PS/PPPE yüzeylerinde, ince film oluşumu esnasında kimyasal grupların yüzeyde faz ayrımı yapması esnasında, hem PS adacıkları üzerinde hem de bunların dışında kalan alanlardaki yüzey heterojenliğinin ve yüzey pürüzlülüğünün, polimer çözeltisinde kullanılan EtOH miktarına bağlı olarak artmasından kaynaklanmaktadır. (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-18} yüzeyindeki PS adacıkları üzerinde beliren yeni pürüzleri oluşturan polimerin de PPPE olduğu düşünülmektedir. Çünkü PS homopolimer çözeltisi üzerinde fazla miktarda EtOH ilave edilmesinde bile bir pürüzlülük oluşmadığından, bu pürüzlü polimerin PS olması ihtimal dışıdır. Diğer taraftan, Tablo 8.17’te PPPE kopolimeri için, gerileyen (θ_r) temas açısı değeri 83° olarak bulunmuş olup, bu da Tablo 8.18’de verilen (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-18} yüzeyine ait gerileyen temas açısı 84° değerine çok yakındır. Bu sonuç da, PS adacıkları üzerinde

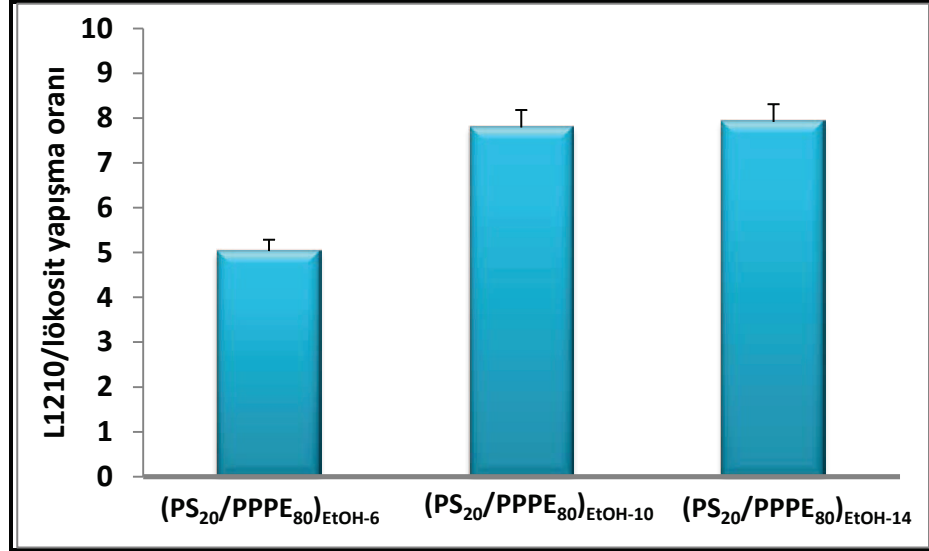
PS değil de PPPE polimerinden oluşan pürüzler olduğu hakkındaki öngörüyü desteklemektedir [Atalay Gengec, et al., 2014].

Ayrıca PS₄₀/PPPE₆₀ yüzeylerine ilaveten aynı karışım oranına sahip (ağırlıkça % 20:80 PS/PPPE) ve farklı miktarda çöktürücü solvent (EtOH) ilave edilmiş polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine L1210 ve lökosit tutunma sonuçları Şekil 8.54’de verilmiştir. Şekil 8.54’den görüldüğü gibi (PS₂₀/PPPE₈₀)_{EtOH-6}, (PS₂₀/PPPE₈₀)_{EtOH-10}, ve (PS₂₀/PPPE₈₀)_{EtOH-14} yüzeylerinin hepsinde L1210 hücrelerinin çok bağlandığı ve lökosit hücrelerinin az bağlandığı olumlu seçimli tutunma davranışı gözlenmiştir.



Şekil 8.54: (20:80) PS/PPPE polimer karışımlarına farklı miktarda kötü çözücü (EtOH) ilavesiyle hazırlanan ince film yüzeylerine L1210 ve lökosit hücre yapışması.

Şekil 8.54’den görüldüğü (20:80) PS/PPPE polimer karışımlarına 6 mL den 14 mL’ye artan EtOH ilave edilmesiyle, L1210 tutunmasında doğrusal bir artış trendi gözlenmiştir. Ayrıca Şekil 8.54’de yer alan lökosit ve L1210 hücrelerinin yapışma miktarlarından hesaplanan L1210/Lökosit hücre yapışma oranları ise Şekil 8.55’de verilmiştir.

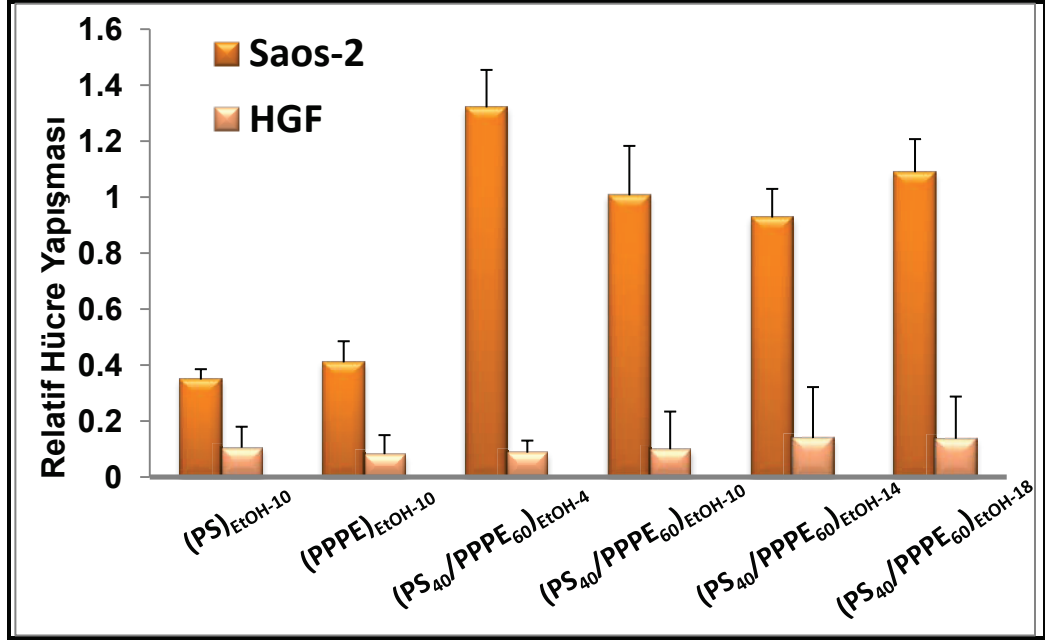


Şekil 8.55: (20:80) PS/PPPE polimer karışımlarına farklı miktarda kötü çözücü (EtOH) ilavesiyle hazırlanan ince film yüzeylerine L1210/Lökosit hücre yapışması oranı.

Şekil 8.55’den görüldüğü gibi (20:80) PS/PPPE polimer karışımlarına 6 mL den 14 mL ye artan EtOH ilave edilmesiyle, L1210/lökosit tutunma oranında 8 kat civarında bir plato verecek şekilde bir artış trendi gözlenmiştir. Bu durumda, % 20:80 PS/PPPE yüzeylerinde EtOH miktarının artması ile yüzey pürüzlülüğünün artmasının, L1210 hücrelerinin yapışma eğilimini artırması yönünde pozitif etki sağladığı söylenebilir.

8.6.11. (40:60) PS/PPPE Polimer Karışımlarına Farklı Miktarda Etanol İlavesi ile Sentezlenen Yüzeylerde Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Tutunma Davranışı

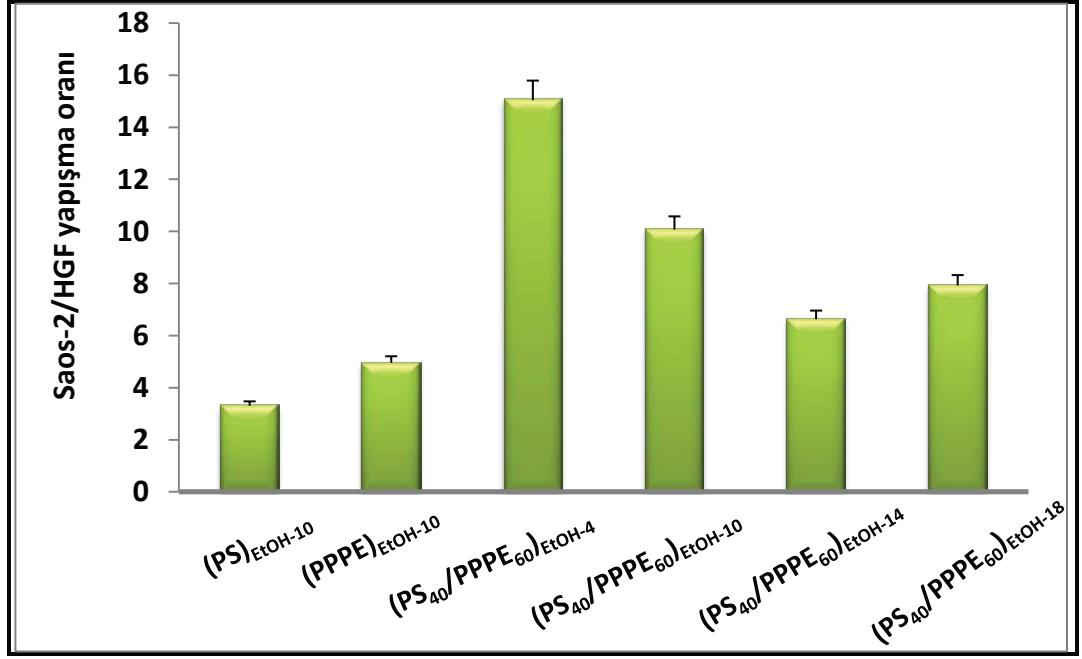
Bölüm 8.5.3’de yüzey özellikleri verilen PS, PPPE, ve farklı miktarda EtOH ilavesi ile oluşturulan (PS₄₀/PPPE₆₀) yüzeylerinin, Saos-2 ve HGF hücre çifti ile tutunma sonuçları Şekil 8.56’da verilmiştir.



Şekil 8.56: Farklı miktarda çöktürücü solvent EtOH ilave edilmiş %40:60 PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine Saos-2 ve HGF hücre yapışması.

Şekil 8.56'dan görüldüğü gibi farklı miktarda çöktürücü solvent ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeyleri arasında (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-4} ve (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-18} yüzeylerinde yüksek oranda Saos-2 tutunması gerçekleşmesine rağmen, bu yüzeylere HGF hücrelerinin oldukça az bağlandığı için büyük bir olumlu seçimli tutunma davranışı gözlenmiştir. Yani bu yüzeyler seçimli olarak HGF yerine Saos-2 hücresi tutunmasını sağlamaktadırlar.

Şekil 8.56'da yer alan lökosit ve L1210 hücrelerinin yapışma miktarlarından hesaplanan Saos-2/HGF hücre yapışma oranları ise Şekil 8.57'de verilmiştir. Şekil 8.57'ye göre, seçimli tutunmanın en fazla gözlemlendiği polimer karışım yüzeyi (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-4} ve en az gözlemlendiği yüzey ise (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-14}'dir. Bu da yüzeydeki dairesel adacıklardan oluşan desenin özellikle Saos-2 hücrelerinin yapışma performansını etkili bir şekilde arttırdığını göstermektedir.



Şekil 8.57: Farklı miktarda çöktürücü solvent EtOH ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine Saos-2/HGF hücre yapışma oranı.

Şekil 8.57’den görüldüğü gibi (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-4} yüzeyinde 15 kattan fazla, (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-10} yüzeyinde 10 kat ve (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-18} yüzeyinde 8 kat, Saos-2 hücrelerinin seçimli bağlandığı, HGF hücrelerinin ise pek az bağlandığı olumlu tutunma davranışı bulunmuştur.

8.7. PVOH, PS, S-PS, PPPE ve Zonyl TAN-MMA Kopolimer Yüzeylerine Fibronektin Tutunması ve Yüzey Karakterizasyonu

Bölüm 8.2’de ticari polimerlerin (PVOH, PS, PS-sulfo ve PPPE) direkt kullanımı ile ve Bölüm 8.3’de CO₂ ortamında sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin kullanımı ile hazırlanan yüzeylerin yüzey özellikleri verilmiştir. Bölüm 8.2 ve 8.3’de yüzey özellikleri verilen PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve (MMA₉₅-TAN₅) polimer yüzeylerine fibronektin (FN) tutunma denemelerine dair detaylar ise aşağıda detaylandırılmıştır.

İki kez destile edilmiş su içinde 1 mg/mL konsantrasyonda -20°C da donmuş halde saklanan FN çözeltisi oda sıcaklığına getirilerek, PBS (fosfat tamponlu tuz) çözeltisi ile 10 µg/mL konsantrasyona seyreltilmiştir. 24 kuyucuklu tabakalar içerisine polimer kaplanmış camlar ve referans olarak kullanılan kaplanmamış

camlar en az 3 tekrar olacak şekilde yerleştirilmiş ve 400 μL /kuyu olacak şekilde FN çözeltisi mikropipetle tabaka içerisine yerleştirilmiştir. 37°C da 1 saat etüvde bekletilmiş ve etüvden çıkarılan 24 kuyucuklu mikrolaka içerisindeki FN çözeltisi mikropipetle çekilerek, 5 kez steril ultra saf su ile yıkanmıştır. Polimer yüzeylerdeki FN tutunmasının homojen şekilde olup olmadığını kontrol etmek amacıyla yüzeylerin temas açısı ölçülmüş ve ayrıca 500 büyütmede optik fotoğraf çekilmiştir. 3 farklı FN çözeltisi konsantrasyonunda PS ve PPPE yüzeylerine FN tutunması sonrasında elde edilen yüzeylerin optik mikroskop görüntülerinde, polimer kaplı yüzeylerden farklı bir yüzey görüntüsü bulunamamıştır ve optik mikroskopla FN kaplama görüntüsü saptanamayacağı anlaşılmıştır. Yüzeyler üzerinde ölçülen denge su temas açısı sonuçları Tablo 8.23’de verilmiştir.

Tablo 8.23: PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve MMA₉₅-TAN₅ kopolimer yüzeylerine fibronektin tutunması sonrasında ölçülen su denge, ilerleme ve gerileme temas açısı (± 1) sonuçları.

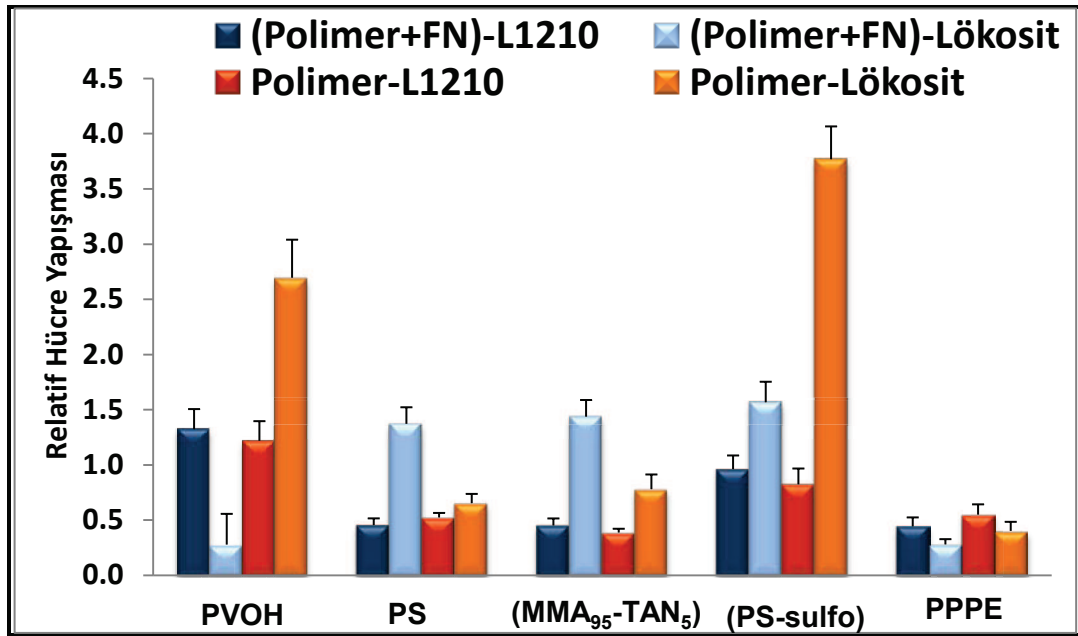
POLİMER	FİBRONEKTİN TUTUNMUŞ				FİBRONEKTİN TUTUNMAMIŞ	
	θ_e (°)	θ_a (°)	θ_r (°)	CAH	θ_e (°)	CAH
PVOH	35	38	23	15	46	10
PS-sulfo	54	65	35	30	20	<20
PS	68	78	64	14	93	17
PPPE	83	86	73	13	106	24
MMA ₉₅ -TAN ₅	93	110	90	20	118	72

Tablo 8.23’den görüldüğü gibi PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve MMA₉₅-TAN₅ kopolimer yüzeylerine fibronektin tutunması gerçekleşmiştir. Hidrofil olan PVOH ve PS-sulfo yüzeylerinde θ_e değerleri fibronektin tutunması sonrasında 35-54° arasında kalırken, hidrofob olan PS, PPPE ve MMA₉₅-TAN₅ yüzeylerine fibronektin tutunması sonrasında θ_e değerleri 68-93° arasında bulunmuştur. Hidrofob yüzeyler üzerinde CAH değeri azalmıştır. Bu sonuçlar FN tutunmasının bütün yüzeyler üzerinde gerçekleştiğini ancak her yüzeyin ne kadarının tamamen FN ile kaplandığının belli olmadığını göstermektedir. Sonuçta FN kaplamanın homojen olmadığı ve alttaki polimer yüzeye bağlı olarak hem yüzey kaplamasında boşluklar

olduğu hem de fibronektin içindeki kimyasal grupların yeniden yönlendirme (re-structuring) yaparak en yukarıya farklı kimyasal grupları çıkardığı düşünülmektedir.

8.7.1. Fibronektin Tutunmuş PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve Zonyl TAN-MMA Kopolimer Yüzeylerine L1210 ve Lökosit Hücrelerinin Tutunma Davranışı

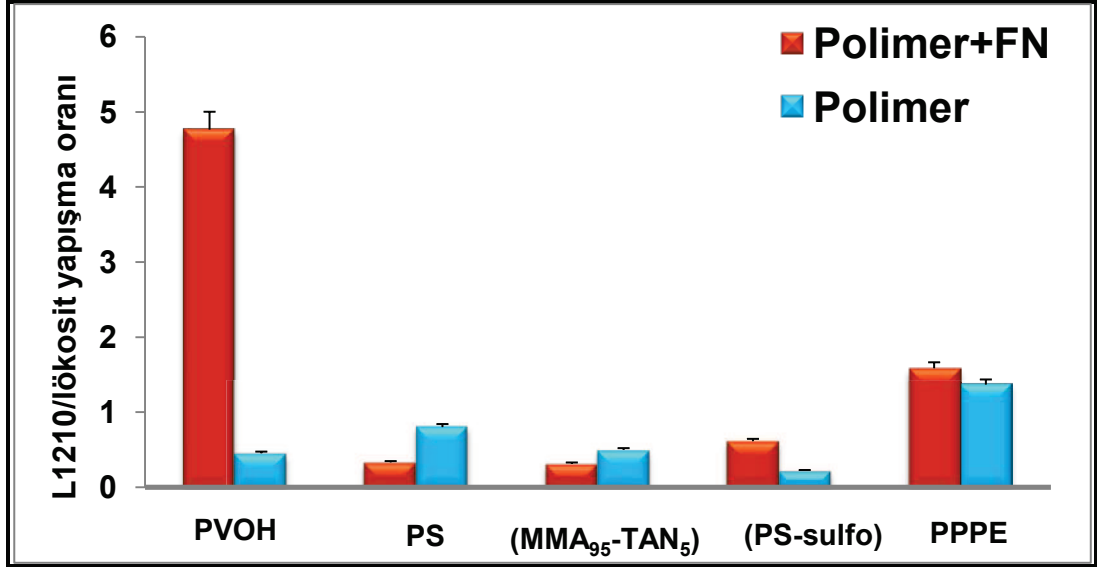
L1210 ve lökosit hücrelerinin, FN tutunmamış çıplak PVOH, PS, MMA₉₅-TAN₅, PS-sulfo ve PPPE yüzeylerine ve bu yüzeylerin FN tutunduktan sonraki, (PVOH+FN), (PS+FN), [(MMA₉₅-TAN₅)+FN], (PS-sulf+FN), (PPPE+FN) numunelerine tutunma denemesi sonuçları Şekil 8.58’de yer almaktadır.



Şekil 8.58: Fibronektin tutunmamış ve fibronektin tutunmuş PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve MMA₉₅-TAN₅ yüzeylerine L1210 ve lökosit hücrelerinin tutunma davranışı.

Şekil 8.58’den görüldüğü gibi Fibronektin tutunmuş yüzeyler içerisinde (PVOH+FN) ve (PPPE+FN) yüzeylerinde istenilen eğilimde seçimli tutunma gözlenirken, PS+FN), [(MMA₉₅-TAN₅)+FN] ve (PS-sulf+FN) yüzeylerinde ise ters seçimlilik söz konusudur. Ayrıca fibronektin tutunmamış polimer yüzeylerinde PVOH, MMA₉₅-TAN₅ ve PS-sulfo yüzeylerinde de ters seçimlilik gözlenmiştir. Sadece PVOH yüzeyine fibronektin tutunması istenilen eğilimde seçimliliğe neden olurken, (PS+FN) ile [(MMA₉₅-TAN₅)+FN] yüzeylerinde lökosit tutunmasını artırıcı etki yaratmaktadır. Şekil 8.58 de verilen fibronektin tutunmuş [(PVOH+FN),

(PS+FN), [(MMA₉₅-TAN₅)+FN], (PS-sulf+FN), (PPPE+FN)] ve tutunmamış (PVOH, PS, MMA₉₅-TAN₅, PS-sulfo ve PPPE) polimer yüzeylerine L1210 ve lökosit tutunma miktarlarından hesaplanan L1210/lökosit tutunma oranı Şekil 8.59’da verilmiştir.

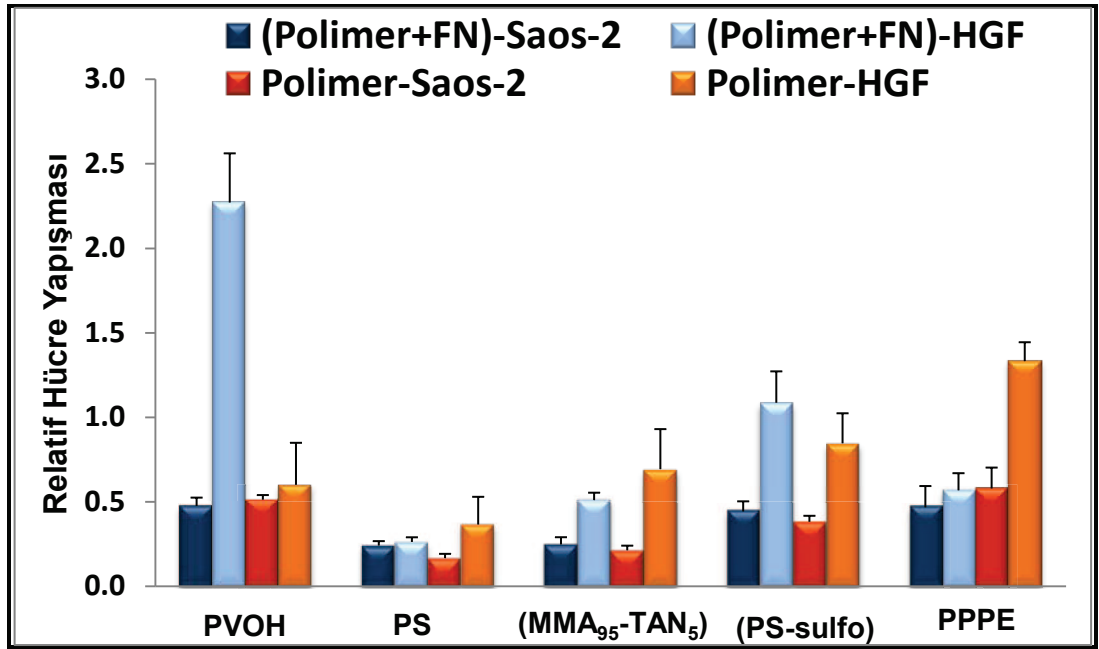


Şekil 8.59: Fibronektin tutunmamış ve fibronektin tutunmuş PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve MMA₉₅-TAN₅ yüzeylerine L1210/lökosit tutunma oranı.

Şekil 8.59’den görüldüğü gibi fibronektin tutunmuş (PVOH+FN) yüzeyinde, fibronektin tutunmamış PVOH yüzeyine göre yaklaşık 4.8 kat fazla seçimli tutunma eğilimi gözlenmiştir. Fibronektinin PVOH yüzeyine geniş bir alanda tutunduğu ve olumlu seçimlilik sağladığı saptanmıştır.

8.7.2. Fibronektin Tutunmuş PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve Zonyl TAN-MMA Kopolimer Yüzeylerine Saos-2 ve HGF Hücrelerinin Tutunma Davranışı

FN tutunmamış PVOH, PS, MMA₉₅-TAN₅, PS-sulfo ve PPPE yüzeylerine ve bu yüzeylerin FN tutunduktan sonraki, (PVOH+FN), (PS+FN), [(MMA₉₅-TAN₅)+FN], (PS-sulf+FN), (PPPE+FN) numunelerine Saos-2 ve HGF hücrelerinin tutunma denemesi sonuçları Şekil 8.60’da yer almaktadır. Şekil 8.60’dan görüldüğü gibi, Saos-2 hücrelerinin tutunma eğilimlerinin fibronektin tutunmuş ve tutunmamış yüzeylerde anlamlı bir farklılık göstermediği ancak HGF hücrelerinin yapışma eğilimleri PVOH ve PS-sulfo yüzeyinin fibronektin ile tutunması sonucunda artış gösterirken, diğer yüzeylerde anlamlı bir fark göstermediği gözlenmiştir.

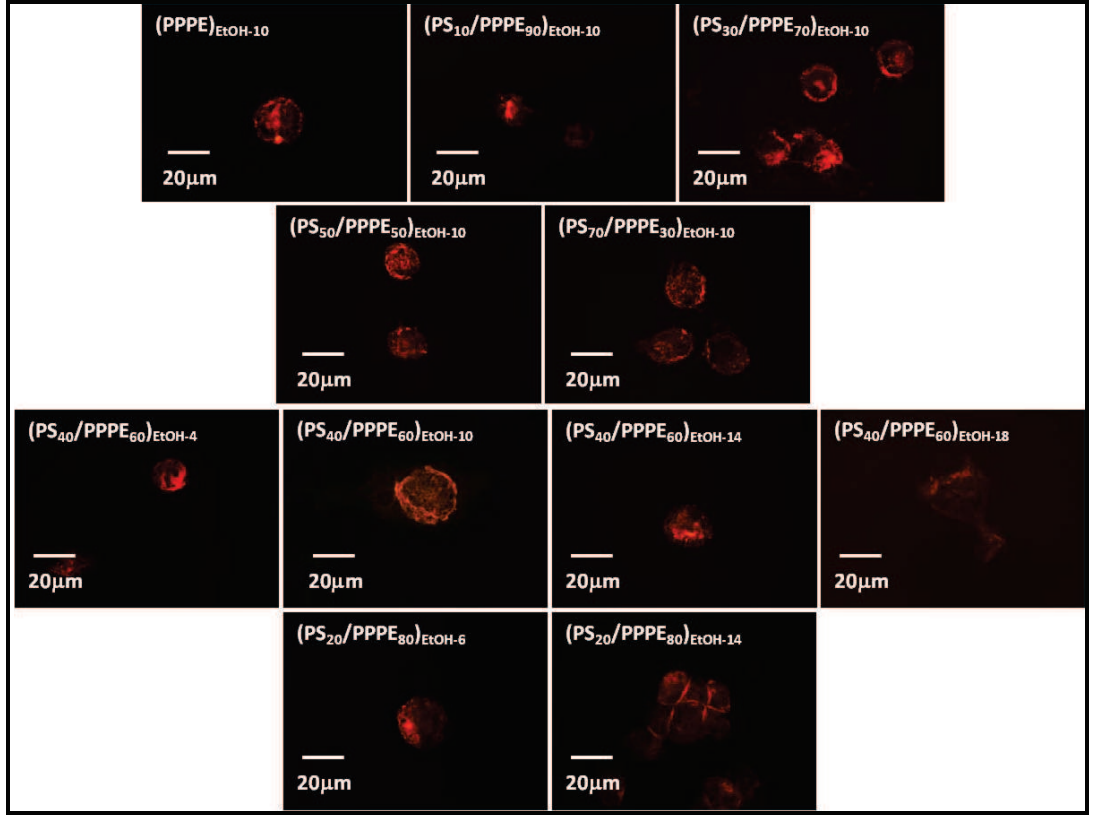


Şekil 8.60: Saos-2 ve Gingival fibroblast fibronektin tutunmuş ve tutunmamış PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve (MMA₉₅-TAN₅) yüzeylerine Saos-2 ve Gingival fibroblast (HGF) hücrelerinin tutunma davranışı.

Yüzeylere fibronektin tutunması ile elde edilen yüzeylerde yapılan çalışma sonucunda Saos-2 hücrelerinin HGF hücrelerine göre anlamlı olarak daha fazla yapıştığı bir yüzey elde edilememiştir. Bununla beraber, FN'nin PVOH yüzeyinde geniş bir alanda tutunduğu kabul edilirse, bu durumun HGF hücrelerinin seçimli yapışmasına yol açtığı saptanmıştır.

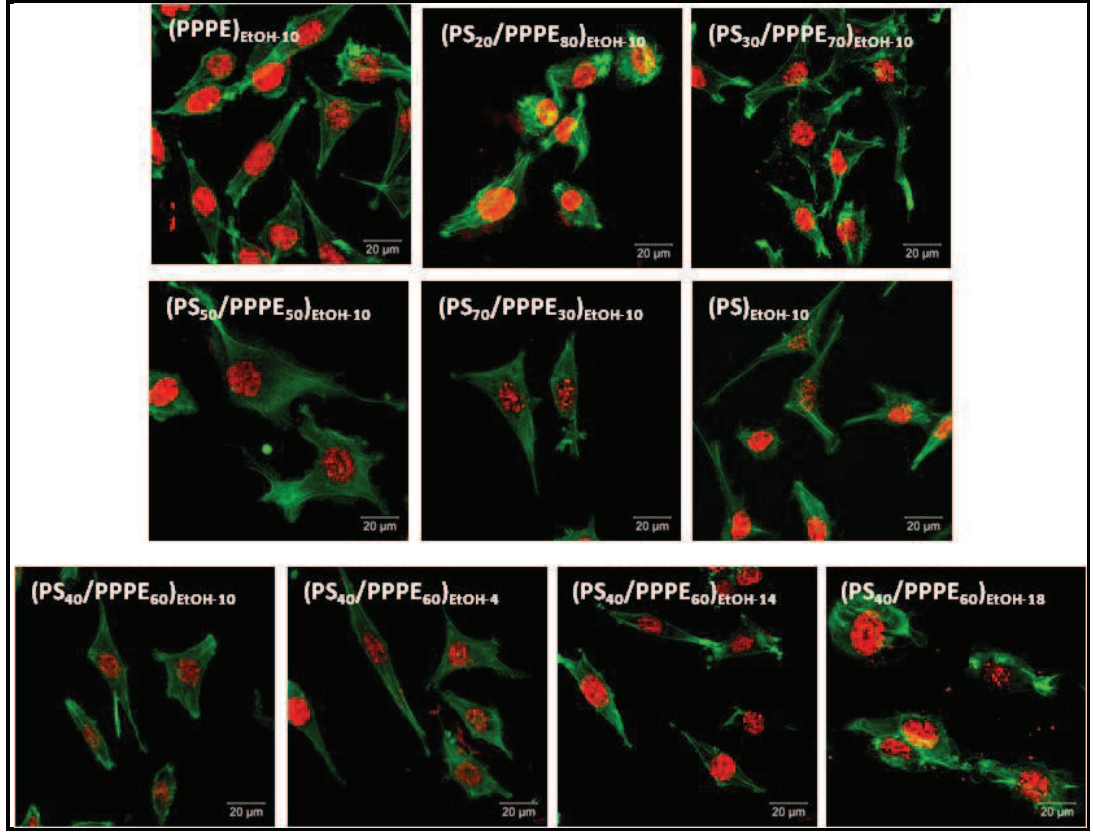
8.8. Hücre Boyanması ile Hücre Morfolojisinin Belirlenmesi

Hücreler bir yüzey üzerine bağlandıktan sonra kendi hücreler arası matrislerini sentezler ve hücrelerin uzun vadedeki davranışları bu matrisde bulunan proteinlerin hücreler ile olan etkileşimlerine bağlıdır. Hücreler arası matrisde bulunan liganların hücre üzerindeki reseptörler ile etkileşimleri sonucunda hücrelerin iskelet yapıları belirlenir. Hücrelerin yüzeyler üzerindeki aktin iskeletini görüntülemek için hücreler falloidin ile boyanmıştır. L1210 hücrelerinin 48 saat sonucunda morfolojilerini koruduğu ve düzgün aktin ipliklerine sahip oldukları gözlenmiştir (Şekil 8.61).



Şekil 8.61: L1210 hücrelerinin actin boyamaları (Kırmızı: falloidin).

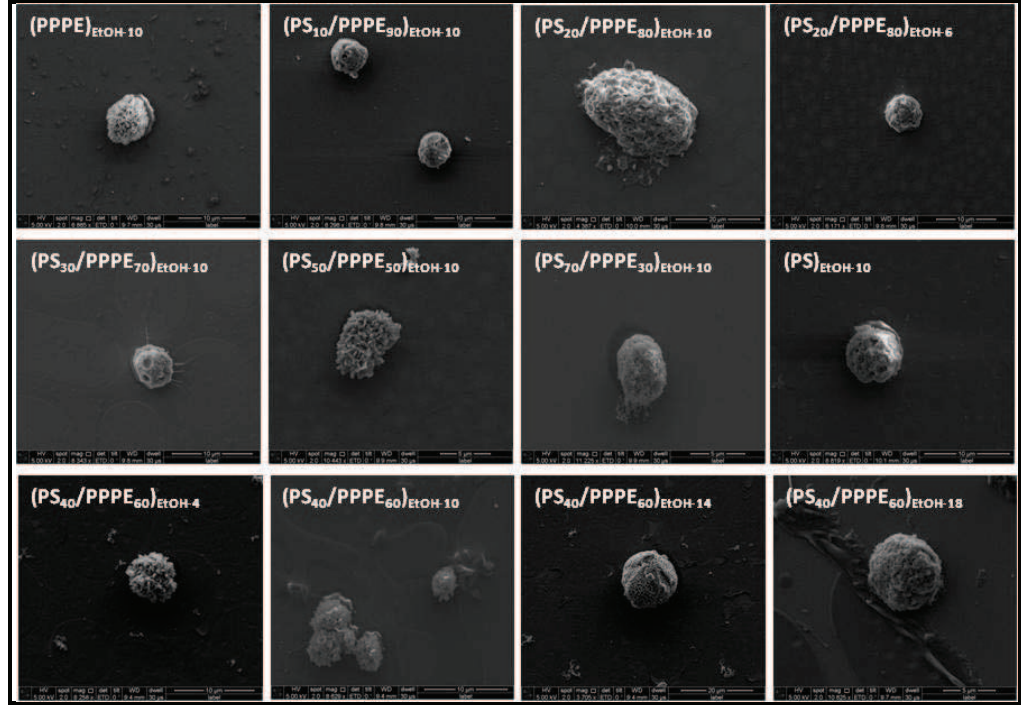
Saos-2 hücreleri de falloidin ve TO-PRO ile boyanmışlardır. Boyamadan 48 saat sonra çekilen görüntüler Şekil 8.62’de verilmektedir. 48 saat sonucunda Saos-2 hücrelerinde de organize olmuş aktin iplikleri ve stres fiberleri görülmüştür.



Şekil 8.62: Saos-2 hücrelerinin falloidin boyamaları. Yeşil: falloidin, Kırmızı: TO-PRO.

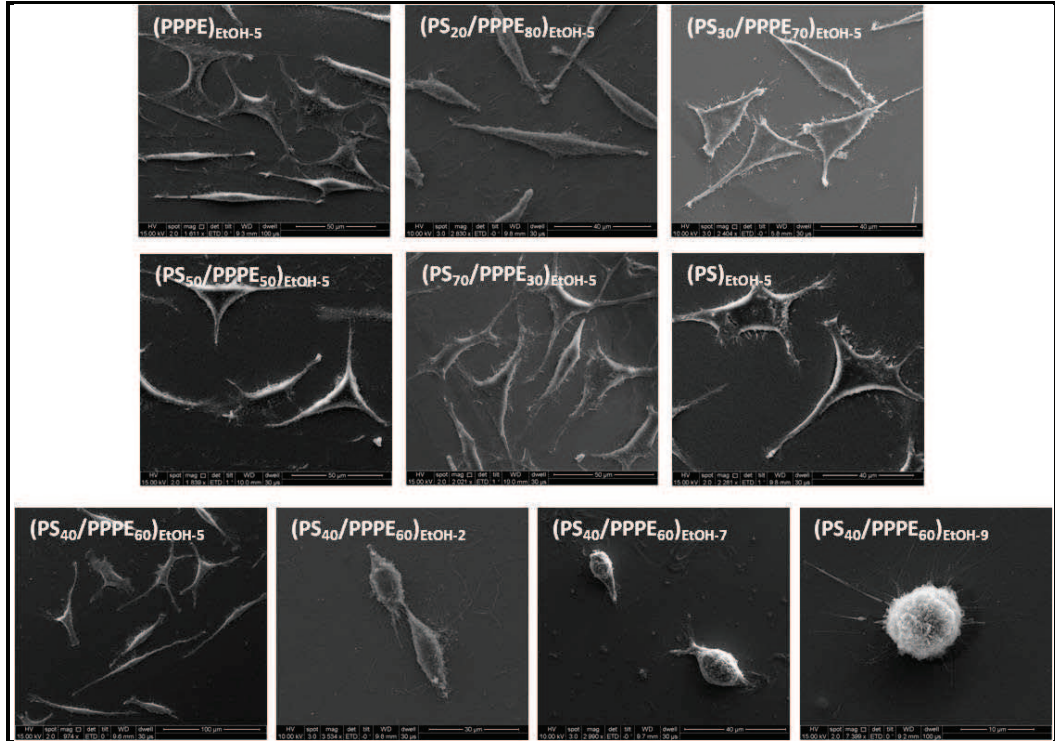
Şekil 8.62’den görüldüğü gibi aktin iplikleri $(PS_{20}/PPPE_{80})_{EtOH-10}$ ve $(PS_{40}/PPPE_{60})_{EtOH-10}$ yüzeylerinde daha az organize iken diğer yüzeylerde aktin iplikleri daha düzenli ve hücreler daha yayılmış gözükmemektedir.

Yüzeylerin hücreler için uyumluluğunun daha detaylı incelenmesi için SEM analizleri gerçekleştirilmiştir. Bunun için yüzeyler üzerine 50.000 L1210 veya 30.000 Saos-2 veya 30.000 Gingival fibroblast hücresi ekilmiştir. 48 saat sonucunda tutunmayan hücreler HBSS ile yıkanmış ve kalan hücreler 1 saat boyunca %2’lik gluteraldehit solüsyonu içerisinde fikslenmiştir. Hücreler artan alkol konsantrasyonlarında (%20, %40, %60, %80, %100) 5’er dakika dehidre edilmiş ve kritik nokta kurutucusunda (Tourismis Autosamdri®-815B) kurutulmuştur. Hücreler SEM’de (FEI Quanta 200 FEG) analiz edilmiştir. Bu analizler sonucunda L1210 hücrelerinin tüm yüzeyler üzerinde morfolojilerini korudukları gözlenmiştir (Şekil 8.63).



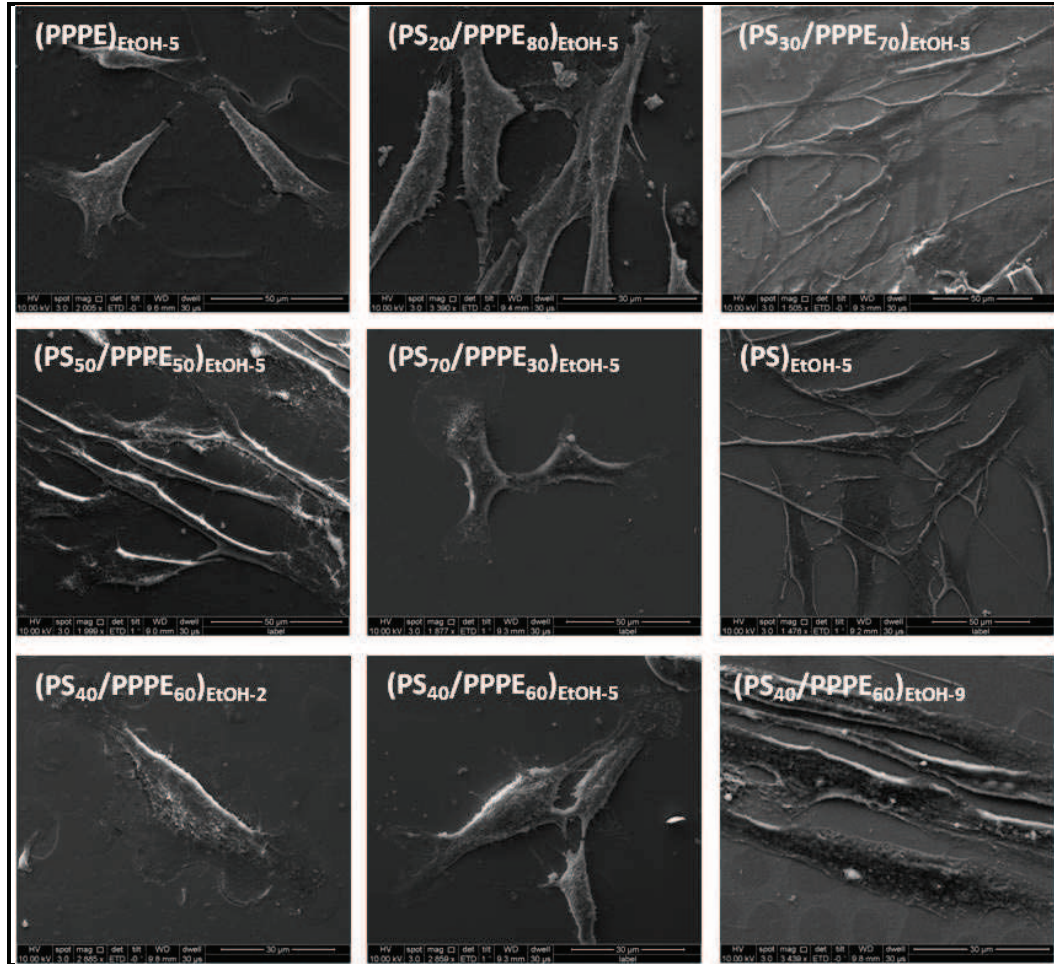
Şekil 8.63: L1210 hücrelerinin polimer yüzeyler üzerindeki SEM görüntüleri.

Saos-2 hücrelerinin yüzey üzerindeki SEM görüntüleri ise Şekil 8.64’de verilmiştir.



Şekil 8.64: Saos-2 hücrelerinin polimer yüzeyler üzerindeki SEM görüntüleri.

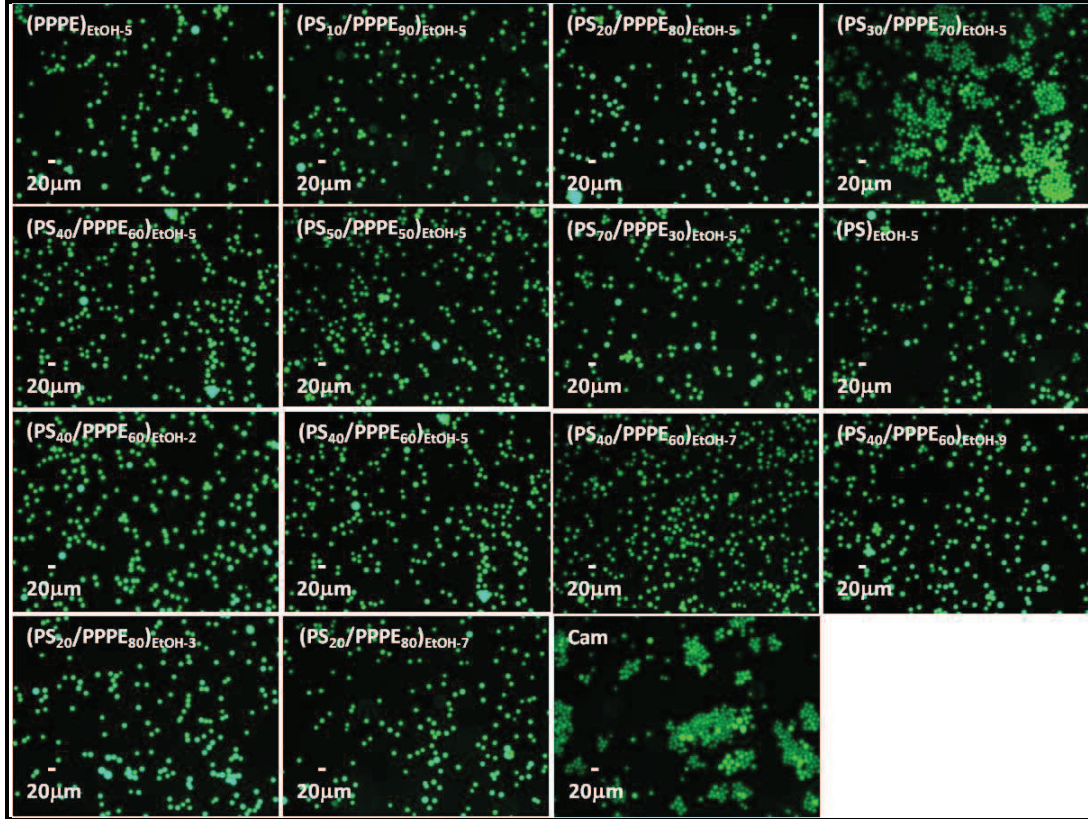
Saos-2 hücrelerinin $(PS_{40}/PPPE_{60})_{EtOH-4}$, $(PS_{40}/PPPE_{60})_{EtOH-14}$ ve $(PS_{40}/PPPE_{60})_{EtOH-18}$ yüzeyleri dışındaki yüzeylerde tipik morfolojilerini korudukları, bu yüzeylerde ise yayılamadıkları gözlenmiştir (Şekil 8.64). HGF hücrelerinin polimer yüzeyler üzerindeki SEM görüntüleri Şekil 8.65’de verilmektedir.



Şekil 8.65: HGF hücrelerinin polimer yüzeyler üzerindeki SEM görüntüleri.

Şekil 8.65’den görüldüğü gibi HGF hücrelerinin 48 saat sonucunda şişkin hücre gövdesi ve uzun sitoplazmaları ile iğ şeklindeki tipik fibroblastik morfolojilerine kavuştukları ve yayıldıkları gözlenmektedir. Yapılan bu morfoloji çalışmaları sonucunda hücrelerin yüzeyler üzerinde sağlıklı bir şekilde yaşayabildikleri, 48 saat sonunda beklenen morfolojilerini kazandıkları ve hücre içi iskelet yapılarının düzgün bir şekilde korunduğu görülmüştür. Buda deneyeler sentezlenen polimer ince filmlerinin, hücre çalışmaları için uygun biyouyumlu yüzeyler oluşturduklarını göstermektedir.

L1210 hücrelerinin morfolojilerinin belirlenmesi için hematoksilen-eosin boyaması yerine Calcein-AM boyaması yapılmıştır. Bunun için 50.000 L1210 hücresi polimer kaplı yüzeyler üzerinde 3 gün boyunca inkübe edilmiş, 3 gün sonunda hücreler HBSS ile yıkanmış ve 30 dakika süre ile Calcein solüsyonunda boyanmıştır. Boyama sonucunda L1210 hücrelerinin aynı morfolojilerini korudukları gözlenmiştir (Şekil 8.66).



Şekil 8.66: L1210 hücrelerinin 3 günlük inkübasyon sonundaki Calcein boyamaları.

Bunun sonucunda hücrelerin 3 günün sonucunda sağlıklı bir şekilde morfolojilerini korudukları ve polimer kaplı yüzeylere homojen bir şekilde dağılarak bağlandıkları görülmüştür.

Şuana kadar ayrı kültür ortamlarında biyotutunma denemeleri yapılarak L1210 ve lökosit hücrelerinin seçimli tutunma davranışının incelenmiştir. Bu incelemeler sonucunda olumlu seçimlilik gösteren yüzeylerde hücre çiftinin bir arada bulunduğu şartlarda denemeler gerçekleştirilerek gerçek şartlarda bu seçimliliğin olup olmayacağı tespit edilmesi ayrıca amaçlanmıştır. L1210 ve lökosit hücrelerinin birlikte bulundukları ortamda hücre yapışma davranışlarının incelenmesi için

hücreler Qtracker® Hücre Boyama Kiti (Invitrogen) ile firma protokolüne uygun olarak boyanmıştır. L1210 ve lökosit hücreleri aynı eksitasyon değerinde (405-485 nm) iki farklı emisyon değeri (L1210-525 nm, lökosit-585nm) verecek şekilde sırasıyla Qtracker® 525 Hücre Boyama Kiti ve Qtracker® 585 Hücre Boyama Kiti ile boyanmışlardır. Buradaki amaç kültürlenmiş hücrelerin içlerine Qdot nanokristallerini alarak güçlü bir floresans ışına yapmalarını sağlamak ve iki farklı hücre çeşidini aynı ortamda ayırt edebilmektir. Qdot nanokristalleri hücre sitoplazmasına girerek burada floresans ışına yaparlar ve bu kristallerin bölünen hücrelerde de bulundukları ve en az 1 hafta boyunca hücre içerisinde kaldıkları bilinmektedir. Kitte belirtildiği üzere Qdot nanokristallerinin hücre içine alınma süreleri hücre çeşidine göre 45 dakika ile 24 saat arasında değişmektedir. Kit daha önce çeşitli çalışmalarda CHO, HeLa, 3T3, HUVEC gibi hücre hatlarında denenmiştir ve optimal hücre alım süreleri bilinmektedir. Ancak yapılan literatür çalışmaları sonucunda L1210 veya lökosit hücrelerine bu tür bir çalışmaya rastlanmamıştır, bu yüzden önce optimal hücre alım süresinin belirlenmesi için deneme çalışmaları yapılmıştır. Bunun için kit içerisinde çıkan boyama solüsyonları olan Komponent A ve Komponent B her birinden 1µl olacak şekilde karıştırılmış ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra üzerine 0.2 mL taze hücre besiyeri eklenmiş ve 30 saniye boyunca vortekslenmiştir. Boyama solüsyonunun üzerine 1×10^6 hücre (L1210 veya lökosit) eklenmiştir ve hücrelerin Qdot kristallerini içlerine alarak floresans boyama yapmalarını sağlamak için, hücreler standart hücre kültür koşullarında (37°C, %5 CO₂, %95 nemlilik) inkübe edilmiştir. İlk 1 saat içerisinde L1210 veya lökositlerin Qdot nanokristallerini içlerine almadıkları gözlenmiştir. Hücreler 24 saat boyunca inkübe edilmiş ve bu çalışmanın sonucunda hücrelerin 24 saat sonucunda floresans ışına vermeye başladıkları gözlenmiş, ama tüm hücrelerin boyanmadıkları fark edilmiştir. Bu nedenle hücreler 48 saat ve 72 saat boyunca da gözlemlenmeye devam edilmiş ancak yine de kültürdeki tüm hücrelerin homojen bir şekilde boyanmadıkları fark edilmiştir. Bu durumun L1210 ve lökosit hücrelerinin hücre dışı ortamla yaptıkları madde alışverişindeki (endocytosis) farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Karşılaşılan bu sorun nedeni ile L1210 ve lökosit hücrelerinin aynı ortamda yapışma davranışları tez kapsamında incelenememiştir.

9. TARTIŞMALAR

9.1. CO₂ Ortamında Sentezlenen Kopolimerlerin Kopolimer Bileşimi ve Reaksiyon Şartlarının Kopolimer Molekül Ağırlığına Etkisi ve Kopolimer Filmlerinin Yüzey Özellikleri

Tez kapsamında CO₂ ortamında polimerizasyonlarda monomer olarak Zonyl-TAN ve MMA kullanılmıştır. Zonyl-TAN floroakrilat pendant gruplarına sahip pahalı bir monomerken, MMA ucuz bir monomerdir. Bu nedenle Zonyl-TAN monomerinin minimum miktarda kullanımı istenilen amaca uygun yüzey özelliklerinde materyaller hazırlanmasında ekonomik olarak avantajlı hale gelmesini sağlayarak, endüstriyel olarak bu monomerin önemini artırır. Bu amaçla CO₂ ortamında Zonyl-TAN monomeri MMA ile kopolimerleştirilerek minimum miktarda Zonyl-TAN kullanılarak p(TAN-ran-MMA) kopolimerleri sentezlenmiştir. Ayrıca polimer molekül ağırlığının kontrol edilebilmesi polimerin kullanım alanını etkiler. Bu nedenle CO₂ ortamında sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin kopolimer bileşimi ile monomer konsantrasyonu, CO₂/TAN monomer oranı, reaksiyon basıncı ve reaksiyon süresi gibi reaksiyon şartlarının kopolimer molekül ağırlığına olan etkisi incelenmiştir.

p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinin CO₂ ortamında sentezi MMA'nın mevcut reaksiyon şartlarında (T= 80°C ve P= 12-200 MPa) çözünmemesi nedeniyle heterojen ortamda gerçekleşir. CO₂-genişletilmiş monomer ortamında heterojen kopolimerizasyonunun gerçekleşmesine bağlı olarak polimer molekül ağırlığı ortamda var olan çözücü CO₂ in miktarı ve CO₂ ortamında çözünen Zonyl-TAN miktarına bağlı olarak değişir [Zwolak and Lucien, 2008], [Cengiz et al., 2013]. Polimerizasyon ortamındaki CO₂ miktarının artması ile kopolimerlerin çökme süreleri değişir ve çökme süresindeki değişime bağlı olarak da kopolimer molekül ağırlığı değişir. Ayrıca Zonyl-TAN monomeri uzun floroakrilat yan zincirlerine sahiptir ve bu uzun yan zincirler polimerizasyon ilerledikçe birbiriyle etkileşerek kopolimer çökme süresini değiştirir. Monomer konsantrasyonu [(w/w %) TAN/(TAN+MMA)] ve monomer/CO₂ [(w/w %) CO₂/TAN] oranlarının kopolimer molekül ağırlıkları üzerine etkisini belirlemek için, 13 ve 15 MPa iki farklı reaksiyon basıncında kopolimerler sentezlenmiştir. Her iki reaksiyon basıncında sentezlenen

kopolimerler için Zonyl-TAN konsantrasyonunun artırılması ile kopolimer çökme süresinin azalmasından dolayı kopolimer molekül ağırlıkları (M_w) azalmıştır (Şekil 8.4). Ayrıca monomer/ CO_2 (W_{CO_2}/W_{TAN}) oranının kopolimer molekül ağırlığı ile her iki basınçtaki kopolimerler için yüksek regrasyon değerlerinde lineer olarak artmıştır ve reaksiyon basınçları farklı olmasına rağmen, aynı Zonyl-TAN bileşiminde polimer zincirleri etrafını saran CO_2 miktarı sabit olmasından dolayı kopolimer M_w 'lerinin de neredeyse sabit olduğu belirlenmiştir (Şekil 8.5).

Zonyl-TAN ve MMA CO_2 -genişletilmiş monomer ortamında 5 farklı basınçta sabit Zonyl-TAN monomer oranında kopolimerleştirilmesi sonucunda p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinde basıncın artması ile kopolimer molekül ağırlığı yüksek regrasyon değerinde lineer şekilde artmıştır (Şekil 8.6). Literatürde sk- CO_2 ortamında basıncın artması ile reaksiyon hızı ve molekül ağırlığının arttığı belirtilmiştir ve bizim sonuçlarımızda bu sonuçlarla uyum içerisinde [Teng, 2003], [Kwon et al., 2004], [Shin et al., 2007], [Wang et al., 2008].

Reaksiyon süresinin kopolimer M_w üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla 13 ve 15 MPa reaksiyon basınçlarında, sabit Zonyl-TAN monomer bileşiminde, reaksiyon süresinde ve AIBN konsantrasyonunda CO_2 ortamında kopolimerler sentezlenmiştir. Her iki basınçta üretilen aynı Zonyl-TAN bileşimindeki kopolimerlerde $W_{CO_2}/W_{TAN} = 14.53$ oranı sabit tutulmuş ve reaksiyon süresinin artması ile kopolimer M_w 'i polimerizasyon hızının artmasından dolayı lineer şekilde artmıştır (Şekil 8.8). Reaksiyon süresindeki değişim polimer molekül ağırlığının ve polimerizasyon verimi üzerinde etkin parametredir ve polimer M_w ile verimi reaksiyon süresi ile doğrusal olarak değişir [Kendall et al., 1999], [Kennedy et al., 2005], [Liu et al., 2008], [Pu et al., 2010].

Tez kapsamında CO_2 ortamında sentezlenen p(TAN-ran-MMA) kopolimerlerinden hazırlanan ince filmlerin yüzey özellikleri belirlenmiştir (Şekil 8.11, 8.12, 8.13). Hazırlanan tüm p(TAN-ran-MMA) kopolimer yüzeylerinin pürüzsüz olduğu (Şekil 8.12) ve kopolimer bileşimindeki Zonyl TAN bileşiminin artması ile Zonyl-TAN'nın sahip olduğu pendant flor gruplarından dolayı temas açısı değerinde bir artış, SFE enerjisinde bir azalma belirlenmiştir. Ayrıca temas açısı ve SFE değerlerinde her ne kadar artış ve azalma trendi gözlense de, wt % 15 (% 3 molce) Zonyl TAN gibi düşük bileşiminde bir plato değerine ulaşmaktadır, bu nedenle kopolimer uygulamalarında wt % 15 Zonyl TAN bileşimine sahip kopolimerlerin kullanımının avantajlı olacağı belirlenmiştir.

9.2. Polimer ve Polimer Karışımlardan Hazırlanan İnce Film Polimerik Yüzeylerin Özellikleri ve Mikrodeseanlı Polimerik Yüzeylerin Sentezinde Kaplama Şartlarının Yüzey Özelliklerinin Kontrolüne Etkisi

Ticari homopolimer, kopolimerler ve polimer karışımlardan kontrollü daldırma tekniği kullanılarak faz dağılımı prosesi ile pürüzsüz, pürüzlü ve mikrodeseanlı pürüzlü polimerik yüzeylerin sentezi gerçekleştirilmiştir. PS, PS-sulfo, PVOH, (MMA₉₅-TAN₅) ve (MMA₉₀-TAN₁₀) polimerlerinden pürüzsüz yüzeyler hazırlanmışken (Şekil 8.10, 8.12), HDPE, PPPE, EVA-12, (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH} polimerlerinden pürüzlü yüzeyler (Şekil 8.10, 8.14) ve PS/TAN, PPPE/PS ile HDPE/PS polimer karışımlardan ise mikrodeseanlı pürüzlü polimerik yüzeyler (Şekil 8.14, 8.15, 8.18-8.29) hazırlanmıştır.

Pürüzsüz yüzeylerin temas açısı ölçümlerinden belirlenen denge temas açısı sonuçlarına göre PVOH ve PS-sulfo'dan hazırlanan yüzeyler hidrofilik iken, PS, (MMA₉₅-TAN₅) ve (MMA₉₀-TAN₁₀) yüzeyleri hidrofobiktir. Pürüzsüz polimer yüzeylerde CAH değerleri 12-72° arasındayken, bunların yüzey enerjileri 12.3-52.5 mN/m şeklinde geniş bir aralıkta değiştiği belirlenmiştir. Sülfolanmış PS yüzeyinde, temas açısı değerleri, PS yüzeyine göre yüzey sülfonasyonu ile oluşturulan sülfogrupları nedeniyle ciddi olarak düştüğü halde, yüzeydeki kimyasal heterojenliğin artmasından dolayı CAH değeri neredeyse 2 kat artmıştır.

HDPE, PPPE, EVA ve (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH} pürüzlü polimer yüzeyleridir ve HDPE yüzeyi üzerinde 20-40 mikron boyutta adacıklar vardır ve bu adacıklar üzerinde tüy şeklinde ince nano çıkıntılar içerdiği SEM görüntülemeleri sonucunda belirlenmiştir (Şekil 8.10). Diğer pürüzlü yüzeyler üzerinde ise boncuk şeklinde mikron ve mikron altındaki boyutlarda çıkıntılar yer almaktadır. Ayrıca en pürüzlü yüzey PPPE kopolimer yüzeyi iken en az pürüzlü yüzey ise EVA kopolimer yüzeyidir. Tüm pürüzlü yüzeyler üzerindeki su temas açıları EVA hariç 90°'den büyüktür. Hidrofobluk derecesi en yüksek olan yüzey uzun -CF₂- içeren gruplara sahip yan kolları sayesinde (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH} yüzeyi iken, hidrofobluk derecesi en düşük olan yüzey sahip olduğu asetat grupları nedeniyle EVA kopolimer yüzeyidir.

Mikro desanlı polimer yüzeylerin hazırlanmasında yüzey topografyasının kontrol edilebilmesi için polimer karışımlar kullanılmıştır. Polimer karışımlardan hazırlanan mikrodeseanlı yüzeylerde kaplama şartları ile solvent miktar/çeşidine bağlı

olarak mikrodeseen çapı ve mesafesi faz dağılımı prosesi ile kontrol edilmiştir. Tez kapsamında PS homopolimer ile (MMA₉₅-TAN₅) kopolimer, HDPE ve PPPE kopolimerlerini içeren 3 farklı grup polimer karışımının kontrollü daldırma tekniği ile mikrodeseenli polimer yüzeylerin hazırlanmasına olanak sağlamıştır.

(MMA₉₅-TAN₅) ve PS homopolimerden hazırlanan flor içeren birinci gruptaki polimer karışımın polimer çözeltisine çöktürücü solvent (EtOH) ilaveli/ilavesiz olarak, kontrollü daldırma tekniği kullanılarak sentezlenmiştir. Polimer özeltisine EtOH ilavesiyle, pürüzsüz olan TAN-MMA kopolimer yüzeyleri (Şekil 8.12), pürüzlü ve daha yüksek su itme özelliğine sahip hale getirilmiştir (Şekil 8.15). PS ve (MMA₉₅-TAN₅) kopolimer yüzeyleri çok az pürüzlü iken, EtOH ilaveli/ilavesiz PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀, PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀EtOH ve (MMA₉₅-TAN₅)EtOH polimer karışım yüzeyleri ise pürüzlüdür (Şekil 8.14 ve 8.15). Ayrıca PS, TAN, MMA₉₅-TAN₅, PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀ ve (MMA₉₅-TAN₅)EtOH kopolimer yüzeyleri hidrofobik iken, [PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀]EtOH yüzeyi ise süperhidrofobiktir (Şekil 8.16). PS, MMA₉₅-TAN₅ ve PS/MMA₉₅-TAN₅ polimer karışımında CAH değerleri 15-90° şeklinde ve serbest yüzey enerjisi değeri 12-41 mN/m şeklinde geniş bir aralıkta değişmektedir. (MMA₉₅-TAN₅) kopolimerine EtOH ilavesiyle ile yüzey pürüzlölüğü (R_{rms}) ve CAH değeri, faz dağılımından dolayı yüzeydeki flor gruplarının yoğunluğunun artması nedeniyle artmaktadır.

HDPE ve PPPE polimerlerinin PS ile polimer karışımından hazırlanan ikinci ve üçüncü grup polimer karışımın mikrodeseen çapı ve mesafesinin en iyi kontrol edildiği polimer karışımın olarak belirlenmiştir. HDPE ile PS polimerlerinin karıştırılması elde edilen polimer karışımında polimer karışım bileşimi, polimer molekül ağırlıklarındaki farklılık ve kaplama çözücüsü, konsantrasyonu, daldırma hızı ve sıcaklığı gibi kaplama özelliklerinin değişimine bağlı olarak mikrodeseen çapı ve mikrodeseenler arası mesafe başarılı şekilde kontrol edildiği ince film polimerik yüzeyler sentezlenmiştir. HDPE/PS polimer karışımında mikrodeseen çapı ve mikrodeseenler arası mesafenin kontrolünde kaplama şartlarının etkisine yönelik yapılan çalışmalara dair tartışmalar aşağıda alt başlıklar halinde özetlenmiştir:

i) Polimer karışım bileşiminin etkisi: Sabit konsantrasyon, sıcaklık ve daldırma hızı için HDPE/PS: 40/60, 50/50 ve 60/40 farklı polimer karışım bileşimlerinin yüzey pürüzlölüğüne etkisini incelemek amacıyla kontrollü daldırma yöntemi ile ince film kaplamalar oluşturulmuştur. Bu alışmada HDPE molekül ağırlığı (M_w

>1.000.000) PS molekül ağırlığından ($M_w = 350.000$) yaklaşık 3 kat fazladır. HDPE/PS polimer karışımların hepsinde boncuk şeklinde çapları 8-20 μm arasında değişen ve mikrodeseenler arasındaki mesafenin 2-10 μm arasında değiştiği mikrodeseenli yüzeyler hazırlanmıştır (Şekil 8.18). Ayrıca HDPE/PS polimer karışımlarındaki PS miktarının artması ile mikrodeseen çapının arttığı ve mikrodeseenler arasındaki mesafenin azaldığı belirlenmiştir. Yüzeydeki boncuk şeklindeki mikrodeseenlerin PS'dir çünkü PS yüzeyi pürüzsüzken, HDPE yüzeyi adacıkların olduğu ve adacıklar üzerinde ise tüy şeklinde pürüzlerin olduğu pürüzlü bir yüzeydir. Bu nedenle HDPE/PS polimer karışım yüzeylerindeki boncuk şeklindeki mikrodeseenler PS iken, arada kalan tüy şeklindeki morfolojik yapının HDPE polimerine ait olduğu incelenen SEM görüntülerinden anlaşılmıştır. Ayrıca HDPE/PS polimer karışımlarında kullanılan HDPE homopolimerinin M_w 'i PS'ninkinden neredeyse 3 katı kadar büyüktür ve bu nedenle PS nin yüzeyde zenginleşme eğiliminin HDPE'den daha fazla olması literatüre göre de beklenen bir durumdur [Affrossman et al., 1996], [Tanaka et al., 1998], [Kawaguchi et al., 2007]. Farklı bileşimlerde HDPE/PS polimer karışımlarından hazırlanan yüzeylere dair temas açısı sonuçlarına göre HDPE/PS polimer karışımlarında PS bileşiminin artması ile su temas açısı değerleri azalarak PS homopolimer değerine yaklaşmaya başlar ve CAH değeri ise neredeyse sabit kalır. PS'nin SFE değeri (40.6 mN/m) HDPE'ninkinden (32.9 mN/m) daha yüksektir. Bu nedenle düşük SFE değerinden dolayı HDPE nin yüzeyde zenginleşme eğiliminin PS'den daha fazla olması literatürde yer alan çalışmalara göre beklenen bir durumdur [Tanaka et al., 1998], ancak temas açısı sonuçları bu beklentiyi desteklememektedir. Bu beklentinin aksi sonuçların elde edilmesinin nedeni, HDPE/PS polimer karışımlarında kullanılan HDPE homopolimerinin M_w 'i PS'ninkinden yüksek olması nedeniyle PS'nin yüzeyde zenginleşme eğiliminin fazla olmasıdır.

ii) Çözücünün etkisi: Polimer karışımlarında çözücünün yüzey pürüzlülüğüne etkisini incelemek amacıyla HDPE/PS polimer karışım çözeltileri iki ayrı çözücü (ksilen ve ksilen+toluen) içerisinde kontrollü daldırma yöntemi ile hazırlanmıştır. Ksilen+toluen çözücü karışımlarında hazırlanan HDPE/PS polimer karışım ince filmlerinde mikro-desenlerin çapı, ksilen çözücüsü kullanılarak elde edilen ince filmlerin mikro-desen çapına göre artmıştır (Şekil 8.19). Bu durumun nedeni ksilen+toluen solvent karışımında çözücünün buharlaşma hızı ksilen çözücüsüne

göre daha düşüktür ve bu solvent karışımının daha yavaş buharlaşması sonucunda faz dağılımı prosesinin daha yavaş gerçekleşmekte ve pürüzlülüğün daha az olmaktadır.

iii) Polimer çözeltisi konsantrasyonunun etkisi: HDPE/PS polimer karışımlarında kaplama çözeltisi konsantrasyonunun yüzey pürüzlülüğüne etkisini incelemek amacıyla polimer karışım çözeltileri 25 mg/mL ve 20 mg/mL olmak üzere iki ayrı konsantrasyonda hazırlanarak ince film mikrodeseanlı polimerik yüzeyler oluşturulmuştur (Şekil 8.20). Kaplama konsantrasyonunun artması ile mikro-desenlerin çapı ve mikro-desenler arası mesafe artmıştır. Bu durumun nedeni faz dağılımı prosesinde konsantrasyonunun artması ile daha viskoz olan polimer çözeltisindeki polimer zincirlerinin daha sıkı şekilde birbirini tutması sonucunda daha kararlı olması ve daha pürüzlü yüzeyler elde edilmesine olanak sağlamasıdır.

iv) Polimer çözeltisi sıcaklığının etkisi: HDPE/PS (50/50) polimer karışımlarında kaplama sıcaklığının yüzey pürüzlülüğüne etkisini incelemek amacıyla polimer karışım çözeltileri 120, 125 ve 130 °C olmak üzere üç ayrı sıcaklıkta kontrollü daldırma yöntemi ile mikrodeseanlı pürüzlü polimerik yüzeyler sentezlenmiştir (Şekil 8.21). HDPE/PS polimer karışımlarda sıcaklığın artması ile mikro-desenlerin çaplarında çok büyük bir değişim gözlenmezken, mikro-desenler arasındaki mesafenin arttığı belirlenmiştir. Bunun nedeni polimer çözeltisinin viskozitesindeki azalma sonucunda solventin buharlaşma hızının daha yavaş olması ve daha az pürüzlü yüzeylerin elde edilmesidir.

v) Daldırma hızının etkisi: %50:50 HDPE/PS polimer karışımlarında kaplama hızının yüzey pürüzlülüğüne etkisini incelemek amacıyla polimer karışım çözeltileri ile 226, 262, 280, 312, 464 ve 748 mm/dk olmak üzere altı ayrı kaplama hızında kontrollü daldırma yöntemi kullanılarak ince film kaplamalar oluşturulmuştur (Şekil 8.22). Kaplama hızının artması ile faz dağılımı prosesinde çözücünün buharlaşma hızındaki farklılıktan dolayı mikrodeseanlı arasındaki mesafe artarken, mikrodeseanlı çapı azalmaktadır. Kaplama hızının azalmasına bağlı olarak denge, ilerleme ve gerileme temas açıları azalmıştır ve temas açısı değerleri HDPE homopolimerinden PS homopolimerine doğru değişmiştir. Ancak temas açısı karmaşası (CAH) değeri sabit kalmıştır. Temas açısı karmaşası kimyasal heterojenlik ve pürüzlülüğün bir ölçütüdür ve CAH değerinde herhangi bir değişimin gözlenmemesi yüzeydeki kimyasal heterojenliğin azaldığını ve daldırma hızının artması ile yüzeyin PS’ce daha fazla zenginleştiğini göstermektedir.

vi) Polimer molekül ağırlığının etkisi: HDPE/PS polimer karışımlarından hazırlanan mikrodeseanlı yüzeylerde polimer molekül ağırlığının mikrodesean çapı ve mesafesi gibi yüzey özelliklerine etkisini incelemek amacıyla farklı molekül ağırlıkları olan 6 farklı PS ve HDPE kullanılmıştır. Bunların MFI sıralaması $PS_2 > PS_1 > PS$ ve $HDPE > HDPE_1 > HDPE_2$ şeklindedir. Ayrıca MFI sıralaması değerlerine göre çift olarak kullanılan polimerlerin molekül ağırlıkları $HDPE_1 > PS_1$, $PS_1 > HDPE_2$, $HDPE_1 > PS_2$ ve $HDPE_1 > PS_2 > PS_1 > HDPE_2$ şeklinde değişmektedir. % 50:50 bileşiminde hazırlanan HDPE/PS, $HDPE_1/PS$ ve $HDPE/PS_1$ polimer karışımlardan mikrodesean çapı 10-40 μm aralığında geniş bir aralıkta değiştiği yüzeyler hazırlanmıştır (Şekil 8.23, 8.24). HDPE molekül ağırlığının azalması ile yüzeydeki mikrodesean çapı artarken, mikrodeseanlar arası mesafe azalmaktadır. PS_1 'in molekül ağırlığı $HDPE_1$ ve $HDPE_2$ nin M_w 'dan düşüktür ve bu nedenle PS'nin yüzeyde zenginleşme eğiliminin HDPE'den daha fazla olması beklenir. PS'nin SFE değeri (40.6 mN/m) HDPE'ninkinden (32.9 mN/m) daha yüksektir. Bu nedenle düşük SFE değerinden dolayı HDPE nin yüzeyde zenginleşme eğilimi PS'den daha fazladır. Temas açısı sonuçlarına göre aynı kaplama hızında HDPE/PS polimer karışımlarında HDPE polimerinin M_w 'i artması ile temas açısı sonuçları HDPE homopolimerininkine yaklaşmaktadır yani HDPE/PS polimer karışım yüzeyinde HDPE polimerinin zenginleşme eğilimi artmaktadır. Bu durumun nedeni M_w deki değişime nazaran HDPE polimerinin SFE değerinin PS'den daha düşük olmasıdır.

$HDPE_1$ ile PS_1 ve PS_2 polimerlerinin karıştırılması ile % 50:50 bileşimde hazırlanan mikrodeseanlı HDPE/PS polimer karışımları kontrollü daldırma tekniği kullanılarak sentezlenmiştir (Şekil 8.25). PS_2 polimerinin molekül ağırlığı PS_1 'den büyüktür ve $HDPE_1$ molekül ağırlığı sabittir ve $HDPE_1$ M_w 'si her iki PS polimerinden büyüktür. PS molekül ağırlığının azalması ile yüzeydeki mikrodesean çapı azalmıştır ve aynı zamanda yüzeydeki mikrodesean homojenliği azalmıştır. Bu polimer karışımlar için temas açısı değerleri neredeyse sabittir ve pürüzsüz PS yüzeyinin temas açısı değerlerine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Pürüzlülükteki artış temas açısı değerlerini artırıcı etki göstereceğinden yüzeyde PS polimeri HDPE'e göre daha fazla zenginleşir. Sonuç olarak HDPE/PS polimer karışımlarında PS den daha düşük molekül ağırlıklı HDPE kullanımı mikro-desean çapını arttırarak adacıklar arası mesafenin azalmasına neden olurken, PS den daha yüksek molekül ağırlıklı

HDPE kullanımı PS adacık çapını azaltarak mikro-desenler arasındaki mesafeyi arttırmaktadır. Bu sonuçlar doğrultusunda polimer molekül ağırlığının mikro-desen çapı ve mikro-desenler arası mesafe kontrolünde önemli bir parametredir.

Mikrodesenli polimerik yüzeylerin sentezinde kullanılan HDPE ve PPPE polimerlerinden HDPE polimeri soğukta çözünmediği için kullandığımız çözücülerin yüksek sıcaklıklarda çalışılmasını gerektirmektedir ve bu nedenle daha düşük sıcaklıklarda kaplama yapılmasına olanak sağlayan PPPE polimeri ile mikrodesenli polimerik yüzeylerin sentezi tercih edilmiştir. 20:80, 40:60, 50:50, 60:40 ve 80:20 PPPE/PS polimer karışım bileşimlerinde sabit kaplama konsantrasyonunda (15 mg/mL) ve kaplama hızında (262 mm/dk), 60 °C kaplama sıcaklığında faz dağılımı yöntemi ile mikrodesenli ince film polimerik yüzeyler hazırlanmıştır ve polimer karışımındaki PS miktarının artması PS bileşimi % 60 olana kadar yüzeyde oluşan mikrodesen çapı ve mikrodesenler arasındaki mesafe artarken, % 80 PS bileşiminde mikrodesen çapı azalmaktadır (Şekil 8.26). Farklı bileşimlerde hazırlanan PPPE/PS polimer karışımlar için temas açısı sonuçlarına göre PPPE komopolimer θ ($\epsilon=106^\circ$) PS homopolimerinden ($\theta_e=93^\circ$) daha hidrofobiktir ve polimer karışımların temas açısı değerleri yaklaşık olarak birbirine eşit ve PPPE kopolimerinin temas açısı değerine yakındır. PPPE kopolimerinin SFE değeri PS homopolimerinden daha düşük olduğundan, PPPE kopolimeri katı/hava ara yüzeyinde zenginleşmektedir. Dolayısıyla polimer karışım yüzeylerinde tepe şeklindeki pürüzlülükler PPPE kopolimerini, düz bölgeler ise PS homopolimerinden oluşmaktadır. Sonuç olarak PPPE ve PS polimerlerinin yüzey enerjisi arasındaki farklılık PPPE kopolimerinin yüzeye çıkma eğilimine neden olmaktadır ve bu yüzden polimer karışım kompozisyonuna bağlı olarak temas açısı ve temas açısı karmaşası (CAH) değerlerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir.

PS homopolimer ve PPPE kopolimerinin (THF) çözücüsü içerisinde 10 mg/mL konsantrasyonda ayrı ayrı çözülmesi ve farklı oranlarda karıştırılmasıyla (ağırlıkça % 10:90, 20:80, 30:70, 50:50 ve 70:30 kompozisyonlarında PS/PPPE) elde edilen çözeltilere, kaplanacak ince filmlerdeki yüzey pürüzlülüğünü artırabilmek için sabit miktarda kötü çözücü EtOH ilave edilerek ince film mikrodesenli polimerik yüzeyler oluşturulmuştur [Şekil 8.27]. PPPE/PS polimer karışımlarda, 1-10 mikrometre arasında değişen çaplara sahip PS adacıkları vardır. PS'nin 50:50 ye kadar artışı ile PS adacık çapları artmakta bundan sonra azalmaya başlamaktadır. PS/PPPE polimer karışım çözeltilisine EtOH ilave edildiğinde, PPPE ve PS homopolimer yüzeylerinin

θ_e değerleri birbirine yakın bulunmuştur ve PPPE, PS yüzeylerinin CAH değerleri arasında 10° farklılık vardır ve tüm polimer karışımlarda θ_a ve θ_r değerleri birbirine çok yakındır. Polimer karışımlarda yüzey pürüzlülüğü EtOH miktarına bağlı olarak değişmesine rağmen, temas açısı ve CAH değerinin neredeyse sabit kalması nedeniyle polimer karışım yüzeylerinin (PS adacıklarının üzeri dahil), PPPE polimeriyle kaplanmış olduğu temas açısı sonuçlarına göre öngörülebilir [Atalay Gengeç et al., 2014].

PS ve PPPE polimerlerinin THF çözücüsü içerisinde 10 mg/mL konsantrasyonda ayrı ayrı çözülmesiyle elde edilen çözeltilerin ağırlıkça % 60:40 ve 80:20 PPPE:PS oranında karıştırılması sonrasında, oluşacak polimer kaplamanın yüzey pürüzlülüğünü artırabilmek için polimer çözeltisine farklı miktarlarda kötü çözücü EtOH (4-18 mL) ilave edilerek ince film mikrodeseenli polimerik yüzeyler oluşturulmuştur. (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarda denge ve ilerleyen temas açısı değerleri neredeyse sabitken, EtOH ilavesi ile gerileyen temas açısı değerinde bir azalma eğilimi ve buna bağlı olarak CAH değerinde artış görülmektedir. PS/PPPE polimer karışımı yüzeylerinde, ince film oluşumu esnasında faz ayırımından kaynaklanan 4-18 mikron çaplarına sahip PS adacıklarından oluşmuş mikrodeseenler yer almaktadır (Şekil 8.28). PS adacık çaplarının katılan EtOH miktarına göre önce arttığı, sonra ise yaklaşık olarak sabit kaldığı görülmüştür. θ_r ve CAH değerlerindeki değişim çok büyük farklılıklar içermediği için $(PS_{40}/PPPE_{60})_{EtOH-4}$ dışındaki bütün yüzeylerin CAH değerleri sabit olarak kabul edilebilir. Ayrıca % 20:80 PS/PPPE polimer karışımlarda θ_e ve θ_a temas açısı değerleri neredeyse sabitken, EtOH ilavesi ile gerileyen (θ_r) temas açısı değerinde azalma trendi ve buna bağlı olarak CAH değerinde artış trendi görülmektedir. Ancak gerileyen ve CAH değerlerindeki değişim çok büyük farklılıklar içermediği için bu değerler sabit olarak kabul edilebilir. % 20:80 PS/PPPE polimer karışımlarında faz ayırımından kaynaklanan 0.5-4.0 mikron çaplarına sahip adacıklar vardır (Şekil 8.29). Ayrıca çöktürücü solvent EtOH ilavesine bağlı olarak mikrodeseen çapları değişmektedir. CAH değeri tüm yüzeylerde neredeyse sabit olduğundan, EtOH ilavesi ile pürüzlülük artarken, kimyasal heterojenlik azalmaktadır.

9.3. Hazırlanan Polimer Yüzeylerin L1210/Lökosit Hücreleri ile Seçimli Tutunma Sonuçları

L1210 ve lökosit hücrelerinin tutunma denemelerinde kullanılan tüm polimerik yüzeylerin toksik olmadığı yapılan toksisite denemeleri sonucunda belirlenmiştir. Tez çalışmasında polimerik yüzeylere seçimli tutunma davranışına dair amacımız L1210 hücrelerinin sağlıklı lökosit hücrelerinden daha fazla bağlandığı yüzeylerin belirlenmesidir. Bu amaç doğrultusunda seçimli tutunma denemelerinde kullanılan polimerik yüzeyler yüzey özelliklerine göre pürüzsüz, pürüzlü ve mikrodeseanlı olarak ayrı ayrı sınıflarda incelenmiştir ve aşağıda alt başlıklar halinde detayları verilmiştir.

i) Pürüzsüz Polimerik Yüzeylere Seçimli Tutunma Sonuçları: 2 saatlik hücre inkübasyonu sonrasında ayrı ayrı yapılan denemelerde, L1210 ve sağlıklı lökosit hücrelerinin çok az pürüzlü (pürüzsüz) polimer yüzeylerine tutunma sonuçlarına göre, hidrofilik olan PVOH ve PS-sulfo yüzeylerine hem L1210 hem de sağlıklı lökosit hücre tutunmasının fazla olduğu ve hidrofobik yüzeylere ise fazla hücre tutunması olmadığı saptanmıştır (Şekil 8.39). Pürüzsüz (MMA-TAN) kopolimerlerinde, TAN monomer oranı arttıkça hem L1210, hem de sağlıklı lökosit hücre tutunması artmaktadır (Şekil 8.39). En fazla seçimli tutunma, en hidrofilik olan PVOH yüzeyinde gözlenmiştir ve PVOH hariç test edilen düz yüzeyler üzerinde hücre seçimliliği belirlenmemiştir. Ancak PVOH yüzeyine bağlanan sağlıklı lökosit oranı, L1210 den daha fazladır ve tez çalışmamızın amacına ters bir seçimlilik gözlenmiştir. Amaca uygun seçimli tutunma (MMA₉₅-TAN₅) ve PS-sülfo yüzeylerinde gerçekleşmiştir ama buradaki seçimlilik oranı çok düşüktür. PVOH yüzeyi incelenen diğer homopolimer ve kopolimer yüzeyler arasında CAH değeri en düşük olan yüzeydir. PVOH yüzeyi neredeyse pürüzsüz olduğundan CAH değerindeki bu değişim sadece kimyasal heterojenlikten kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak sağlıklı lökosit hücrelerinin kimyasal heterojenliğin düşük olduğu, düz kabul edilebilecek hidrofil yüzeylere tutunma eğiliminin L1210 hücrelerine göre daha fazla olduğu saptanmıştır.

ii) Pürüzlü Polimerik Yüzeylere Seçimli Tutunma Sonuçları: 2 saatlik hücre inkübasyonu sonrasında ayrı ayrı yapılan denemelerde, L1210 ve sağlıklı lökosit hücrelerinin (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH}, HDPE ve PPPE pürüzlü polimer yüzeylerine

tutunma sonuçlarına göre hidrofob özellikteki pürüzlü yüzeylere bağlı hücre yapışmasının, pürüzsüz yüzeylere göre daha fazla olduğu belirlenmiştir (Şekil 8.40). Ancak örneğin pürüzsüz (MMA₉₅-TAN₅) yüzeyindeki seçimli tutunma davranışı pürüzlü (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH} yüzeyinde yaklaşık 3 kat artmıştır ama seçimlilik trendi tersine dönmüştür yani lökosit hücreleri L1210 hücrelerinden daha fazla bağlanmıştır. HDPE ile PPPE polimer yüzeylerinde L1210'nın tutunma performansı, lökosit tutunma performansına göre yaklaşık 2 kat fazladır. Burada kullanılan PPPE yüzeyi HDPE yüzeyine göre daha pürüzlüdür ve PPPE yüzeyine hem sağlıklı lökosit hem de L1210 hücreleri HDPE den daha fazla tutunmaktadır. Yüzey pürüzlülüğündeki artışın, L1210 hücrelerinin sağlıklı lökositlere göre daha fazla seçimli tutunma etkisi gösterdiği söylenebilir. Sonuç olarak pürüzlü yüzeylerde istenilen doğrultuda seçimli tutunma gerçekleştiği ancak tutunma oranları arasındaki farkın yetersiz olduğu görülmüştür ve bu nedenle homopolimer ve kopolimer yerine, polimer karışımlar kullanılarak daha pürüzlü mikrodeseanlı polimerik yüzeyler hazırlanmıştır.

iii) Mikrodeseanlı Polimerik Yüzeylere Seçimli Tutunma Sonuçları: Mikrodeseanlı polimerik yüzeylere seçimli tutunma davranışında etkin olan parametrenin belirlenmesi amacıyla PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀, [PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀]_{EtOH}, PS₅₀/HDPE₅₀, ve farklı polimer karışım bileşimlerinde ve kötü çözücü (EtOH) miktarında hazırlanan PS/PPPE polimer karışımlar kullanılmıştır. Pürüzsüz PS, (MMA₉₅-TAN₅) kopolimer yüzeyleri ile pürüzlü (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH} yüzeyi ve mikrodeseanlı PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀, [PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀]_{EtOH} yüzeylerinin seçimli tutunma sonuçlarına göre, mikrodeseanlı (PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀, ile [PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀]_{EtOH} ve pürüzlü (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH} yüzeylerinde pürüzsüz PS ve (MMA₉₅-TAN₅) yüzeylerine göre daha etkili seçimli tutunma davranışı belirlenmiştir (Şekil 8.43). [PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀]_{EtOH} mikrodeseanlı polimer karışım yüzeyi için düşük lökosit tutunması, düşük CAH ve çok yüksek θ_r varlığında gerçekleşmiştir. Ancak lökosit hücrelerinin bağlandığı ve L1210 hücrelerinin tutunmadığı yüzeyler elde edilmiştir ve bu seçimlilik amaca ters trend göstermektedir.

Çok az pürüzlü PS yüzeyinde hem L1210 hem de lökosit için çok düşük tutunma davranışı gözlenirken, pürüzlü HDPE yüzeyine yapışan L1210 hücre sayısının PS ye nazaran 3 kat kadar artması yüzünden, olumlu bir seçimlilik vardır

(Şekil 8.45). Diğer taraftan, 5-15 µm arasında değişen çaplara sahip PS mikro adacıkları içeren PS₅₀/HDPE₅₀ polimer karışım yüzeyinde, L1210 hücrelerinin yüzeye tutunma performansı PS ye nazaran 4 kat, HDPE'ye nazaran ise % 30 fazladır (Şekil 8.45, 8.46). Mikrodeseanlı PS₅₀/HDPE₅₀ yüzeyinde, L1210 hücresinin lökosit nazaran seçimli tutunma oranı yaklaşık 3.5' kat artmaktadır. Sağlıklı lökosit tutunma miktarı ise HDPE'ye nazaran azalmaktadır. L1210 hücrelerinin, mikrodeseanlı PS₅₀/HDPE₅₀ polimer karışım yüzeyinin hangi bölgelerini ve neden tercih ettikleri denel olarak belli değildir. Ancak L1210 hücreleri PS adacıkları arasında kalan pürüzlü HDPE yüzeylerini düz PS yüzeylerine göre daha fazla tercih eder [Atalay Gengeç et al. 2014].

PS, PPPE ve farklı kompozisyonlardaki PPPE/PS polimer karışımlarından hazırlanan mikrodeseanlı ince film yüzeylerine L1210 ve lökosit hücre yapışması sonuçlarına göre sabit miktarda çöktürücü solvent ilave edilmiş PPPE)_{EtOH-10}, (PS)_{EtOH-10} polimerleri ile (PS₁₀/PPPE₉₀)_{EtOH-10}, (PS₂₀/PPPE₈₀)_{EtOH-10}, (PS₅₀/PPPE₅₀)_{EtOH-10} polimer karışım ince film yüzeylerinde, L1210 hücresinin tutunmasının fazla ve lökosit tutunmasının az olduğu belirlenmiştir. (Şekil 8.48) Ayrıca L1210/Lökosit hücre yapışma oranlarına göre en fazla olumlu seçimlilik gösteren yüzeyler (PPPE)_{EtOH-10} ve (PS₂₀/PPPE₈₀)_{EtOH-10}'dir ve sırasıyla sağlıklı lökosit nazaran 9.5 ve 7.8 kat daha fazla L1210 hücresi bu yüzeylere yapışmıştır [Şekil 8.49]. Bu yüzeylerden elde edilen tutunma sonucu sonuçlarına göre adacık çaplarının küçük olmasının L1210 yapışmasında bir avantaj sağladığı belirlenmiştir.

Farklı miktarda çöktürücü solvent ilave edilmiş (40:60) PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan, (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-4}, (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-10}, (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-14} ve (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-18} yüzeylerinde L1210/lökosit hücre çifti için amaca uygun trendde seçimli tutunma davranışı gözlenmiştir ve L1210/lökosit yapışma oranlarının 4.2-9.6 aralığında olduğu belirlenmiştir (Şekil 8.52, 8.53). Mikrodeseanlı yüzeyler arasında seçimlilik hedefine yani L1210 hücrelerinin bağlandığı lökosit hücrelerinin tutunmadığı/az bağlandığı tutunma eğilimine en fazla (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-18} yüzeyinde ulaşılmıştır. (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-18} yüzeyindeki PS adacıkları üzerinde beliren yeni pürüzleri oluşturan polimer de PPPE'dir. Çünkü PS homopolimer çözeltisi üzerinde fazla miktarda EtOH ilave edilmesinde bile pürüzlülük oluşmamakta ve bu nedenle pürüzlü polimerin PS olması ihtimal dışıdır. Diğer taraftan PPPE kopolimer yüzeyi ($\theta_r=83^\circ$) ve (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-18} polimer karışım yüzeylerinin ($\theta_r=84^\circ$) gerileyen temas açısı değerleri çok yakındır

ve bu nedenle de PS adacıkları üzerinde PS değil de PPPE polimerinden oluşan pürüzler olduğu öngörüsünü temas açısı sonuçları desteklemektedir. Sonuç olarak, (40:60) PS/PPPE yüzeylerinde, ince film oluşumu esnasında kimyasal grupların yüzeyde faz ayrımı yapması esnasında, hem PS adacıkları üzerinde hem de bunların dışında kalan alanlardaki yüzey heterojenliğinin ve yüzey pürüzlülüğünün, polimer çözeltisinde kullanılan EtOH miktarına bağlı olarak artmasından dolayı seçimlilik artmıştır.

Farklı miktarda çöktürücü solvent (6-14 mL EtOH) ilave edilmiş, aynı karışım oranına sahip ağırlıkça % 20:80 PS/PPPE polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine L1210 ve lökosit tutunma davranışları sonuçlarına göre, $(PS_{20}/PPPE_{80})_{EtOH-6}$, $(PS_{20}/PPPE_{80})_{EtOH-10}$, ve $(PS_{20}/PPPE_{80})_{EtOH-14}$ yüzeylerinin hepsinde olumlu seçimli tutunma davranışı gözlenmiştir (Şekil 8.54). (20:80) PS/PPPE polimer karışımlarına 6 mL den 14 mL ye artan EtOH ilave edilmesiyle, L1210 tutunmasında doğrusal bir artış trendi gözlenirken, L1210/lökosit tutunma oranında 8 kat civarında bir plato verecek şekilde bir artış trendi belirlenmiştir. Sonuç olarak, % 20:80 PS/PPPE yüzeylerinde EtOH miktarının artması ile yüzey pürüzlülüğünün artmasının, L1210 hücrelerinin yapışma eğilimini artırıcı pozitif etki sağlamıştır.

9.4. Hazırlanan Polimer Yüzeylerin Saos-2/HGF Hücreleri ile Seçimli Tutunma Sonuçları

L1210/lökosit hücre çiftine ilaveten Saos-2 hücreleri ve HGF hücrelerinde, pürüzsüz, pürüzlü ve mikrodeseanlı polimerik yüzeylere seçimli tutunma davranışları belirlenmiştir. Çünkü Saos-2 hücrelerinin yapıştığı ve HGF hücrelerinin yapışmadığı, seçimli tutunma gösteren uygun yüzeyler diş implantlarında kullanılmaktadır. HGF hücreleri bütün düz yüzeylerde (PVOH, PS, PS-sulfo, $MMA_{90}-TAN_{10}$) yüksek yapışma eğilimi gösterirken, Saos-2 hücreleri sadece hidrofob (PS) ve flor içeren ($MMA_{90}-TAN_{10}$) yüzeylerine yapışma eğilimi göstermiştir (Şekil 8.41) ve bu nedenle de hidrofilik PVOH ve PS-sulfo yüzeylerinde HGF/Saos-2 seçimlilik oranı fazladır. Ancak hem PVOH ve PS-sulfo yüzeylerinde hemde PS ve ($MMA_{90}-TAN_{10}$) yüzeylerinde de gerçekleşen seçimli tutunma davranışı amaca ters olarak gerçekleşmiştir.

(MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH}, HDPE, PPPE ve EVA pürüzlü yüzeylerinde incelenen seçimli tutunma davranışı sonuçlarına göre de amaçlanan eğilim ve derecede bir seçimli tutunma gözlenmemiştir (Şekil 8.42). Ancak pürüzlü yüzeyler pürüzsüz yüzeylerle karşılaştırıldığında, pürüzlülüğün artması ile HGF hücresi tutunmalarında % 25 civarında düşüş gözlenmiştir. Flor içeren (MMA₉₅-TAN₅) pürüzsüz ve (MMA₉₅-TAN₅)_{EtOH} pürüzlü yüzeyleri karşılaştırıldığında ise Saos-2 hücre tutunmasının yarı yarıya düşmektedir. Sonuç olarak Saos-2 hücrelerinin yapıştığı HGF hücrelerinin yapışmadığı istenilen eğilimdeki seçimlilik davranışında pürüzlülükteki artış etkili olsa da daha pürüzlü yüzeylere olan ihtiyaçtan dolayı (TAN-MMA/PS, HDPE/PS ve PPPE/PS) polimer karışımlardan mikrodeseenli pürüzlü yüzeyler hazırlanmıştır ve bu yüzeylere dair Saos-2/HGF hücrelerinin tutunma sonuçları aşağıda detaylandırılmıştır:

Zonyl TAN-MMA/PS polimer karışımlarından hazırlanan ince film yüzeylerine, Saos-2 ve HGF hücre yapışması davranışı sonuçlarına göre [PS₈₀/(MMA₉₅-TAN₅)₂₀]_{EtOH} hariç bütün yüzeylerde HGF hücresi tutunma performansı birbirine yakın bulunmuştur. Saos-2 hücresinde ise tutunma performansı yüzey pürüzlülüğüne bağlı olarak değişmektedir ve bütün Zonyl TAN-MMA/PS polimer karışım yüzeylerinde hedeflenen eğilimin tersi bir seçimlilik davranış gözlenmiştir (Şekil 8.44).

PS, HDPE ve PS₅₀/HDPE₅₀ polimer karışımından oluşturulan yüzeylere, Saos-2 ve HGF hücre çifti ile tutunma davranışı sonuçlarına göre HGF hücreleri hazırlanan 3 yüzeye de birbirine yakın miktarda yüksek bir yapışma göstermişken, Saos-2 hücreleri HDPE içeren yüzeylerde daha yüksek bir yapışma sağlamışlardır (Şekil 8.47). PS, HDPE ve PS₅₀/HDPE₅₀ yüzeylerinin hepsinde istenilen eğilimde seçimli tutunma davranışı gözlenmemiştir.

PS, PPPE ve farklı bileşimlerdeki PS/PPPE polimer karışımlarına sabit miktarda EtOH ilave edilerek hazırlanan mikrodeseenli pürüzlü polimer yüzeylerinin tamamında Saos-2 hücrelerinin bağlandığı ancak HGF hücrelerinin az bağlandığı olumlu seçimli tutunma davranışı gözlenmiştir. (PS₃₀/PPPE₇₀)_{EtOH-10} ve (PS₇₀/PPPE₃₀)_{EtOH-10} yüzeylerinde ise Saos-2/HGF hücre yapışma oranları yaklaşık % 90'lık farklılık göstermiştir ve seçimliliğin en yüksek olduğu yüzeylerdir (Şekil 8.50). Burada da tıpkı L1210/lökosit hücrelerinin seçimli tutunma davranışı sonuçlarından elde edildiği gibi adacık çaplarının küçük olmasının istenilen doğrultuda seçimliliğin elde edilmesini sağladığı belirlenmiştir.

PS, PPPE ve farklı miktarda EtOH ilavesi ile oluşturulan (PS₄₀/PPPE₆₀) polimer karışım yüzeylerinin, Saos-2 ve HGF hücreleri ile tutunma sonuçlarına göre, (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-4}, (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-10} ve (PS₄₀/PPPE₆₀)_{EtOH-18} yüzeylerinde 8-15 kat arasında değişen yüksek oranda seçimli tutunma davranışı gözlenmiştir (Şekil 8.56 ve 8.57). Yüzeydeki dairesel adacıklardan oluşan mikrodelenlerin özellikle Saos-2 hücrelerinin yapışma performansını etkili bir şekilde arttırdığı bulunmuştur.

9.5. Polimer Yüzeylere Fibronektin Tutunması Sonucu Elde Edilen Yüzeyler ve Bu Yüzeylerin L1210/Lökosit ile Saos-2/HGF Hücre Çiftleri ile Seçimli Tutunma Sonuçları

Protein tutunmasının L1210 ve lökosit hücre çifti ile Saos-2 ve HGF hücre çiftlerinin polimerik yüzeylere seçimli tutunma davranışını artırıcı etki yapıp yapmayacağının belirlenmesi amacıyla bir glikoprotein olan fibronektinin (FN) pürüzsüz ve pürüzlü polimerik yüzeylere tutunma davranışı belirlenmiştir. Polimerik yüzey olarak PVOH, PS, PS-sulfo, PPPE ve (MMA₉₅-TAN₅) kullanılmıştır. Hidrofil olan PVOH ve PS-sulfo yüzeylerinde θ_e değerleri fibronektin tutunması sonrasında 35-54° arasında kalırken, hidrofob olan PS, PPPE ve MMA₉₅-TAN₅ yüzeylerinde ise fibronektin tutunması sonrasında θ_e değerleri 68-93 arasında bulunmuştur. Hidrofob yüzeyler üzerinde CAH değeri azalmıştır. Temas açısı sonuçlarındaki farklılıklardan dolayı FN tutunmasının bütün yüzeyler üzerinde gerçekleştiği, ancak yüzeylerin tamamen FN ile kaplanmadığı belirlenmiştir. Sonuçta FN kaplamanın homojen olmadığı ve alttaki polimer yüzeye bağlı olarak hem yüzey kaplamasında boşluklar olduğu hem de fibronektin içindeki kimyasal grupların yeniden yönelme yaparak yüzeye farklı kimyasal grupları çıkarmıştır. L1210 ve lökosit hücrelerinin, FN tutunmamış / tutunmuş PVOH, PS, MMA₉₅-TAN₅, PS-sulfo ve PPPE yüzeylerine tutunma denemesi sonuçlarına göre, (PVOH+FN) ve (PPPE+FN) yüzeylerinde istenilen eğilimde seçimli tutunma gözlenirken, (PS+FN), [(MMA₉₅-TAN₅)+FN] ve (PS-sulf+FN) yüzeylerinde ters seçimlilik söz konusudur (Şekil 8.58). Sadece PVOH yüzeyine fibronektin tutunması istenilen eğilimde seçimliliğe neden olurken, (PS+FN) ile [(MMA₉₅-TAN₅)+FN] yüzeylerinde lökosit tutunmasını artırıcı etki yaratmaktadır. Fibronektin tutunmuş (PVOH+FN) yüzeyinde, fibronektin tutunmamış PVOH yüzeyine göre yaklaşık 4.8 kat fazla seçimli tutunma eğilimi gözlenmiştir (Şekil 8.59). Saos-2 hücrelerinin tutunma eğilimlerinin fibronektin

tutunmuş ve tutunmamış yüzeylerde anlamlı bir farklılık göstermediği ancak HGF hücrelerinin yapışma eğilimleri PVOH ve PS-sulfo yüzeyinin fibronektin ile tutunması sonucunda artış gösterdiği, diğer yüzeylerde anlamlı bir fark göstermediği saptanmıştır (Şekil 8.60).

9.6. Hücre Boyama ile Hücre Morfolojisi Sonuçları

Hücrelerin yüzeyler üzerindeki aktin iskeletini görüntülemek amacıyla hücreler falloidin/TO-PRO ile boyanmıştır. L1210 hücrelerinin 48 saat sonucunda morfolojilerini koruduğu ve düzgün aktin ipliklerine sahip oldukları gözlenmiştir (Şekil 8.61). Saos-2 hücrelerinin falloidin ve TO-PRO ile boyanmalarından 48 saat sonra çekilen görüntüler sonucunda Saos-2 hücrelerinde de organize olmuş aktin iplikleri ve stres fiberleri görülmüştür (Şekil 8.62). Aktin iplikleri $(PS_{20}/PPPE_{80})_{EtOH-10}$ ve $(PS_{40}/PPPE_{60})_{EtOH-10}$ $(PS)_{EtOH-10}$ yüzeylerinde daha az organize iken diğer yüzeylerde daha düzenli ve hücreler daha yayılmış oldukları belirlenmiştir. Saos-2 hücrelerinin $(PS_{40}/PPPE_{60})_{EtOH-4}$, $(PS_{40}/PPPE_{60})_{EtOH-14}$ ve $(PS_{40}/PPPE_{60})_{EtOH-18}$ yüzeyleri dışındaki yüzeylerde tipik morfolojilerini korudukları ve yayılamadıkları gözlenmiştir (Şekil 8.64). HGF hücrelerinin 48 saat sonucunda şişkin hücre gövdesi ve uzun sitoplazmaları ile iğ şeklindeki tipik fibroblastik morfolojilerine kavuştukları ve yayıldıkları belirlenmiştir (Şekil 8.65). Morfoloji çalışmaları sonucunda hücrelerin yüzeyler üzerinde sağlıklı bir şekilde yaşayabildikleri, 48 saat sonunda beklenen morfolojilerini kazandıkları ve hücre içi iskelet yapılarının düzgün bir şekilde korunduğu görülmüştür.

L1210 hücrelerinin morfolojilerinin belirlenmesi için hematoksilen-eosin boyaması yerine ayrıca Calcein-AM boyaması yapılmıştır. Boyama sonucunda L1210 hücrelerinin aynı morfolojilerini korudukları gözlenmiştir (Şekil 8.63). Bunun sonucunda hücrelerin 3 günün sonucunda sağlıklı bir şekilde morfolojilerini korudukları ve polimer kaplı yüzeylere homojen bir şekilde dağılarak bağlandıkları görülmüştür.

10. SONUÇLAR

Pahalı bir monomer olan Zonyl TAN'nın MMA ile CO₂ ortamında polimerleştirilmesinde minimum miktarda Zonyl TAN (ağırlıkça % 15) kullanılmış ve yapısındaki flor içeren grupların, kopolimerden oluşturulan ince film üzerinde su damlası temas açısını 118°'ye çıkardığı, yani neredeyse yüzeyin -CF₃ grupları ile tamamen kaplandığında elde edilen 120° temas açısı değerlerine ulaşılması için gerekli koşullar belirlenmiştir. Ayrıca başlatıcı miktarının azalmasıyla, reaksiyon süresinin artması ve basıncın artmasıyla kopolimer M_w'sinin arttığı tespit edilmiştir. CO₂/monomer oranının artması ile kopolimer M_w'nin lineer olarak arttığı ve basınç değişse de CO₂/monomer oranı sabit tutulduğunda kopolimerlerin M_w'nin sabit kaldığı ilk kez bu tez kapsamında saptanmıştır.

(MMA₉₅-TAN₅) kopolimeri ile PS'nin farklı bileşimlerde karıştırılması ile elde edilen (MMA₉₅-TAN₅)/PS polimer karışımlarından temas açıları 98 ile 170° arasında değişen mikrodeseenli hidrofobik ve süperhidrofobik yüzeyler faz ayrımı prosesinde kötü çözücü kullanımı ile hazırlanmıştır. Polimer karışımının bileşimi, cam lam üzerine kaplama sıcaklığı, polimer konsantrasyonu, daldırma hızı ve çözücü çeşidi gibi özelliklerin oluşan ince filmin mikrodeseen çapı ve mikrodeseenler arası mesafenin kontrolünde etkin parametreler olduğu belirlenmiştir:

i) HDPE/PS polimer karışımlarda PS miktarının artması ile mikrodeseen çapı artarken, mikrodeseenler arasındaki mesafe azalır.

ii) Farklı M_w'li PS ve HDPE ile hazırlanan HDPE/PS polimer karışımlarda ise PS'den daha düşük M_w'li HDPE kullanımı, mikrodeseen çapının artmasına ve mikrodeseenler arası mesafenin azalmasına neden olurken, PS'den daha yüksek M_w'li HDPE kullanımında ise mikrodeseen çapının azalmasına ve mikrodeseenler arası mesafenin artmasına neden olur.

iii) Polimerleri çözme gücü daha yüksek olan ksilen çözücüsünün tek başına kullanıldığı HDPE/PS polimer karışımlarından oluşan kaplamalarda, ksilen+toluen çözücü karışımının kullanılmasıyla hazırlanan kaplama yüzeylerine göre mikrodeseen çapı azalırken, mikrodeseenler arası mesafe artmaktadır.

iv) HDPE/PS polimer karışımlarında ksilen içindeki polimer konsantrasyonunun artması ile çözeltilinin viskozitesinin artmasına bağlı olarak çözücünün buharlaşma hızı azalır ve bu nedenle mikrodeseen çapı ve mikrodeseenler arası mesafe artar.

v) HDPE/PS polimer karışımlarda polimer çözeltilisine daldırma ve çekme hızının artması ile faz dağılımı prosesinde çözücünün buharlaşma hızındaki farklılıktan dolayı mikrodeseen çapı azalırken, mikrodeseenler arası mesafe artar.

Diğer taraftan oda sıcaklığında THF çözücüsünde çözünebilen PPPE/PS polimer karışım ile yapılan ince film oluşumu çalışmasında hazırlanan yüzeylerde de tıpkı HDPE/PS polimer karışım yüzeylerinde olduğu gibi kaplama şartlarının değişimine bağlı olarak mikrodeseen çapı ve mikrodeseenler arası mesafe başarılı şekilde kontrol edilmiştir. PPPE/PS karışımlarında, PS miktarının artmasına bağlı olarak PS miktarı ağırlıkça % 60'a kadar mikrodeseen çapı ile mikrodeseenler arası mesafenin arttığı ve daha yüksek PS oranlarında ise mikrodeseen çapı ile mikrodeseenler arası mesafenin azaldığı belirlenmiştir. PPPE/PS polimer karışımlarda polimer bileşimine bağlı olarak pürüzlülük değişmesine rağmen, temas açısı ve CAH değerinin neredeyse sabittir ve bu nedenle PS mikrodeseenlerinin üzeri dahil PPPE/PS karışım yüzeyleri PPPE polimeriyle kaplanmıştır. PPPE kopolimerinin SFE değeri PS den düşükken, M_w 'i PS den yüksektir ve PPPE düşük SFE değerinden dolayı ve PS düşük M_w 'e sahip olduğu için yüzeyde zenginleşme eğilimi gösterir. Bu nedenle PPPE/PS polimer karışımlarda bu iki polimer özelliğinin hangisinin baskın olacağına polimer karışım bileşimi etkilidir ve PPPE/PS karışımlarda PS bileşimi % 60'a kadar PS mikordeseenlerinin çapı artar ve üzerini PPPE polimeri kaplanır. PS bileşimi % 60'dan sonra PS polimeri yüksek M_w 'inden dolayı daha baskın hale geçerek yüzeyde zenginleşme eğilimi artar ancak PPPE polimeride düşük SFE değerinden dolayı yüzeyde zenginleşme isteği olduğundan mikrodeseen çapı azalır.

Farklı polimer bileşimlerinde sabit miktarda kötü çözücü (EtOH) ilavesi ile hazırlanan PPPE/PS karışımlarında ise mikrodeseen çapının % 50 PS bileşimine kadar arttığı, sonrasında ise azaldığı saptanmıştır. Aynı polimer karışım bileşimlerinde (60:40 ve 80:20) hazırlanan PPPE/PS polimer karışımlarına farklı miktarlarda kötü çözücü ilavesinin faz ayırımından kaynaklı olarak mikrodeseen çapını artırıcı etki gösterdiği belirlenmiştir. HDPE ve PPPE polimerlerinden PS ile hazırlanan polimer karışımlarda, HDPE/PS polimer karışımların daha büyük mikrodeseen çapına sahip (8-40 μm) yüzeylerin hazırlanmasında avantaj sağlarken, PPPE/PS polimer

karışımlar daha düşük mikrodeseen çapına sahip (0.5-18  m) yüzeylerin kontrollü olarak hazırlanmasında avantajlı olduğu saptanmıştır.

Tez çalışmamızın amaçlarından birisi L1210 lösemi hücresi ve sağlıklı lökosit hücrelerinin seçimli tutunma davranışı göstereceği yüzeylerin belirlenmesi böylece belli periyotlarla kan değiştirme zorunlulukları olan lösemi hastalarının kan değişimi yerine kendi kanlarının temizlenerek tekrar kullanabilecekleri cihazların geliştirilmesine katkı sağlamaktır. Bu amaç doğrultusunda L1210 lösemi hücrelerinin sağlıklı lökosit hücrelerinden daha fazla bağlandığı seçimli tutunma gösteren polimerik yüzeyler belirlenmiştir. Seçimli tutunma davranışı pürüzsüz ve p r z l  yüzeylerde istenilen eğilim ve oranda gözlenmezken, PPPE/PS polimer karışımlarından hazırlanan mikrodeseenli yüzeylerde istenilen eğilim ve oranda seçimli tutunma davranışı gösteren yüzeyler tespit edilmiştir. Mikrodeseen çapının küçük olduğu yüzeylere L1210 hücrelerinin tutunma eğilimi lökosit hücrelerine göre daha fazladır ve L1210 ile lökosit hücrelerinin mikrodeseen çapları 0.5-9  m arasında değişen PPPE/PS polimer karışım yüzeylerine tutunma eğilimi en fazladır. Orta hidrofobluk derecesine sahip yüzeylerde L1210/lökosit seçimli tutunma davranışı gözlenme eğiliminin, hidrof l ya da süperhidrofob yüzeylere göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Mikrodeseenli yüzeylerde kimyasal heterojenlik ve yüzey pürüzlülüğünün artması L1210 ve lökosit hücre çiftinin seçimli tutunma davranışını artırıcı etki gösterdiği belirlenmiştir. Hücreler kendi büyüklüklerine yakın mikrodeseenler içeren yüzeylere sıkı tutunma eğilimi gösterirler. Bu nedenle pürüzsüz ve p r z l  yüzeylere göre mikrodeseenli p r z l  yüzeylere daha fazla tutunma eğilimi gösterirler. Ayrıca hücreler yüzeylere salgıladıkları proteinlerle bağlanırlar ve bu proteinlerin y nlenmelerinde yüzeydeki kimyasal gruplar etkilidir. Bu nedenle kimyasal heterojenlikteki artış yüzeylere tutunma eğilimini artırır.

L1210/lökosit hücre çiftine ilaveten paralel bir çalışma olarak Saos-2/HGF hücre çifti ile de pürüzsüz, p r z l  ve mikrodeseenli p r z l  polimerik yüzeylere seçimli tutunma davranışı olup olmadığı test edilmiştir. Saos-2/HGF hücre çiftinin tutunma davranışı diş implantlarında kullanılacak biyomalzemelerin tespitinde önemlidir ve Saos-2 hücrelerinin yapıştığı, HGF hücrelerinin yapışmadığı seçimli tutunma davranışı bu tespit için hedeflenen durumdur. Tez kapsamında gerçekleştirilen Saos-2/HGF hücre çifti tutunma denemeleri sonuçlarına göre tıpkı L1210/lökosit hücre çiftinde olduğu gibi Saos-2/HGF hücre çiftinde de pürüzsüz ve p r z l  yüzeylere istenilen eğilim ve oranda seçimli tutunma davranışı

gözenmemiştir. Mikrodeseenli polimerik yüzeylerde ise tıpkı L1210/lökosit hücre çiftinde olduğu gibi Saos-2/HGF hücre çiftinde de istenilen eğilim ve orandaki seçimli tutunma davranışı PPPE/PS polimer karışımlardan hazırlanan yüzeylerde saptanmıştır ve Saos-2 hücrelerinin mikrodeseen çapları 2.5-9 µm arasında değişen PPPE/PS polimer karışım yüzeylerine tutunma eğilimi en fazladır. Saos-2 hücreleri yapışkan hücrelerdir ve hücre çekirdekleri deformasyona uğrayarak 2-5 mikron arasındaki mikrodeseen boşluklarına dahi bağlanabilirler.

İleride yapılacak çalışmalarda, PPPE içeren farklı polimer karışımlarından farklı mikrodeseen çapı ve mesafelerinde kötü çözücü olarak EtOH veya başka solventler kullanılarak yeni yüzeyler hazırlanabilir ve L1210/lökosit ve Saos-2/HGF hücre çiftlerinde olumlu seçimlilik gösterip göstermedikleri test edilebilir. Ayrıca bu yüzeylerde, hücrelerin o yüzeyin hangi bölgelerini tercih ettiklerinin belirlenmesi için hücre boyanması ve boyanan hücrelerin floresans mikroskop ile görüntülenmesi gerçekleştirilebilir.

KAYNAKLAR

Affrossman S., Bertrand P., Hartshorne M., Kiff T., Leonard D., Pethrick R. A., & Richards R. W., (1996), "Surface segregation in blends of polystyrene and perfluorohexane double end capped polystyrene studied by static SIMS, ISS, and XPS", *Macromolecules*, 29 (16), 5432-5437.

Ahmed T. S., DeSimone J. M., Roberts G. W., (2009), "Kinetics of the homopolymerization of vinylidene fluoride and its copolymerization with hexafluoropropylene in supercritical carbon dioxide: The locus of polymerization", *Macromolecules*, 42 (1), 148-155.

Almeida C. A., Barry S. A., (2010), "Cancer: basic science and clinical aspects", 1st Edition, Wiley-Backwell.

Arima Y., Iwata H., (2007), "Effect of wettability and surface functional groups on protein adsorption and cell adhesion using well-defined mixed self-assembled monolayers", *Biomaterials*, 28 (20), 3074-3082.

Ashar B. V., (1987), "Characterization and Testing of Biomaterials and Medical Devices", *MD&DI*, 1, 57-63.

Aytekin C., İkinciogulları A., (2004), "Lökosit Adezyonu ve Lökosit Adezyon Defekti Sendromları", *Astım Allerji İmmünoloji*, 2 (3), 157-166.

Atalay Gengec, N., Gulsuner H. U., Erbil H. Y., Tekinay A. B., (2014), "Selective adsorption of L1210 leukemia cells/human leukocytes on micropatterned surfaces prepared from polystyrene/polypropylene-polyethylene blends", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 113, 403-411.

Banerjee R., Nageswari K., Puniyani R. R., (1997), "Hemorheological aspects of biocompatibility", *Journal of Biomaterials Applications*, 12, 57-76.

Baujard-Lamotte L., Noinville S., Goubard F., Marqueb P., Pauthe E., (2008), "Kinetics of conformational changes of fibronectin adsorbed onto model surfaces", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 63, 129-137.

Beckman E. J. J., (2004), "Supercritical and Near-Critical CO₂ in Green Chemical Synthesis and Processing", *J. Supercritical Fluids*, 28 (2-3), 121-191.

Bel C. L., Peppas N., (1996), "Water, Solute and Protein Diffusion in Physiologically-Responsive Hydrogels of Poly(methacrylic acid-g-ethylene glycol)", *Biomaterials*, 17, 1203-1218.

Bhatia Q. S., Pan D. H., Koberstein J. T., (1988), "Preferential surface adsorption in miscible blends of polystyrene and polyvinyl methyl-ether", *Macromolecules*, 21, 2166-2175.

Bhushan B., Jung Y. C., (2011), "Natural and Biomimetic Artificial Surfaces for Superhydrophobicity, Self-Cleaning, Low Adhesion, and Drag Reduction", *Progress in Materials Science*, 56, 1-108.

Bhushan B., Jung Y.C., Niemietz A., Koch K., (2009), "Lotus like Hierarchical Structures developed by Self-assembly of Tubular Plant Waxes", *Langmuir*, 25, 1659-1666.

Bhushan B., Jung Y. C., (2006), "Micro and Nanoscale Characterization of Hydrophobic and Hydrophilic Leaf Surface", *Nanotechnology*, 17, 2758-2772.

Bischof P., Redard M., Gindre P., Vassilakos P., Campana A., (1993), "Localization of alpha 2, alpha 5 and alpha 6 integrin subunits in human endometrium, decidua and trophoblast", *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 29, 217-226.

Blanco E. M., Horton M. A., Mesquida P., (2008), "Simultaneous investigation of the influence of topography and charge on protein adsorption using artificial nanopatterns", *Langmuir*, 24 (6), 2284-2287.

Boinon B., Ainad-Tabet D., Montheard J. P., (1989), "Chlorination Studies on polystyrene", *Polym. Deg. Stab.*, 27, 2539-2547.

Bruil A., Terlingen, J., Beugeling T, Vanaken W, Feijen J., (1992), "In vitro leucocyte adhesion to modified polyurethane surfaces", *Biomaterials*, 13(13), 915-923.

Brusatori M., (2001), "Protein Adsorption Kinetics Under an Applied Electric Field: An Optical Waveguide Lightmode Spectroscopy Study", *Doktora Tezi*, Wayne State University, Michigan.

Budkowski A., Bernasik A., Cyganik P., Raczowska J., Penc B., Bergues B., Kowalski K., Rysz J., Janik J., (2003), "Substrate-determined shape of free surface profiles in spin-cast polymer blend films", *Macromolecules*, 36, 4060-4067.

Burger C., Hsiao B. S., Chu B., (2006), "Nanofibrous Materials and Their Applications", *Annual Review of Materials Research*, 36, 333-368.

Busscher H. J., Stokroos I., Golverdingen J. G., Schakenraad J. M., (1991), "Adhesion And Spreading Of Human Fibroblast On Superhydrophobic FEP-Teflon", *Cells Mater.*, 1, 243-249.

Callow M. E., Callow J. A., (2002), "Marine biofouling: a sticky problem", *Biologist*, 49, 1-5.

Canales D. A., DeSimone J. M., (1997), "Polymerizations in Liquid and Supercritical Carbon Dioxide", *Advance in Polymer Science*, 133, 103-140.

Cansız A., Coşkun M., Özdemir E., (1991), "Preparation of arylsulfone derivative of polystyrene with p-Toluene sulfonyl chloride", J.M.S. Macromolecular Reports, A28 (2), 193-150.

Caprani A., (1995), "Fr. Demande", Fr. Patent, 2714529.

Cassie A. B. D., Baxter S., (1944), "Wettability of porous surfaces", Trans. Faraday Soc., 40, 546-551.

Cengiz U., Gengec N. A., Erbil H. Y., (2013), "Surface characterization of flat and rough films of perfluoromethacrylate-methylmethacrylate statistical copolymers synthesized in CO₂-expanded monomers", Colloid Polym Sci., 291, 641-652.

Cengiz U., Gengec N. A., Kaya N. U., Erbil H. Y., Sarac S., (2011), "Mechanical and thermal properties of perfluoroalkyl ethyl methacrylate-methyl methacrylate statistical copolymers synthesized in supercritical carbon dioxide", J. Fluorine Chem., 132, 348-355.

Chanda M., Roy K. S., (2007), "Plastic Technology Handbook", Teylor and Francis Group, Boca Raton, 1-125.

Chang K. C., Chen H., Huang C. K., Huang S. I., (2007), "Preparation of super-hydrophobic film with fluorinated-copolymer", Journal of Applied Polymer Science, 104, 1646-1653.

Chen W., Fadeev A. Y., Hsieh M. C., Öner D., Youngblood J., McCarthy T., (1999), "Ultrahydrophobic and ultralyophobic surfaces: some comments and examples", Langmuir, 15, 3395-3399.

Chen C. S., Mrksich M., Huang S., Whitesides G. M., Ingber D. E., (1997), "Geometric Control of Cell Life and Death", Science, 276, 1425-1428.

Chien Y. W., (1985), "The use of biocompatible polymers in rate controlled drug delivery systems", Pharmaceutical Technology, 50-66.

Choi D., Yeom E. H., Park M., Kim J. K., Kim B. C., (2004), "Preparation and Properties of Methyl Methacrylate and Fluoroacrylate Copolymers for Plastic Optical Fiber Cladding", Journal of Applied Polymer Science, 93, 2082-2089.

Chou L. S., Firth J. D., Uitto V. J., Brunette D. M., (1995), "Substratum Surface-Topography Alters Cell-Shape And Regulates Fibronectin Messenger-Rna Level, Messenger-Rna Stability, Secretion And Assembly in Human Fibroblasts", J. Cell Sci., 108, 1563-1573.

Ciapetti G., Cenni E., Pratelli L., Pizzoferrato A., (1993), "In vitro evaluation of cell/biomaterial interaction by MTT assay", Biomaterials, 14, 359-364.

Coleman M. M., Graf J. F., Painter P. C., (1991), "Specific interactions and miscibility of polymer blends", 1st Edition, Technomic Publishing Co. Inc., Lancaster, PA.

Coşkun M., Özdemir E., Cansız A., Akovalı G., (1991), "Structure and thermal stability of nitrated polystyrene", *Doğa- Tr. J. Chem*, 15, 185-196.

Cooper A. I., (2000), "Polymer synthesis and processing using supercritical carbon dioxide", *J. Mater. Chem.*, 10, 207-234.

Cui L., Ding Y., Li X., Wang Z., Han Y., (2006), "Solvent and polymer concentration effects on the surface morphology evolution of immiscible polystyrene/poly(methyl methacrylate) blends", *Thin Solid Films*, 515, 2038-2048.

Curtis A. S. G., Forrester J. V., Clark P., (1986), "Substrate Hydroxylation And Cell Adhesion", *J. Cell Sci.*, 86, 9-24.

Darnel J., (1995), "Molecular Cell Biology", Chapter: 24, Scientific American Books, Oxford, 1124-1197.

Davidson P. M., Ozcelik H., Hasirci V., Reiter G., Anselme K., (2009), "Microstructured Surfaces Cause Severe but Non-Detrimental Deformation of the Cell Nucleus", *Adv. Mater.*, 21, 3586-3590.

Dean, J. R., "Applications of Supercritical Fluids in Industrial Analysis", (1993), Boca Raton: Chapman & Hall.

Demirer, S., Marakoğlu, I., (2001), "Periodontolojide Fibronektinin Önemi ve Kullanımı", *Cumhuriyet Üniversitesi Dişhekimliği Fakültesi Dergisi*, 4, 1-2.

Den Braber E. T., de Ruijter J. E., Ginsel L. A., von Recum A. F., Jansen J. A. (1998), Orientation of ECM protein deposition, fibroblast cytoskeleton, and attachment complex components on silicone microgrooved surfaces", *J., Biomed. Mater. Res.*, 40, 291-300.

Deng X., Mammen L., Butt H. J., Vollmer, D., (2012), "Candle soot as a template for a transparent robust superamphiphobic coating", *Science*, 335, 67-70.

DeSimone J. M., Guan Z. C. S., (1992), "Synthesis of Fluoropolymers in Supercritical Carbon Dioxide", *Science*, 257, 945-947.

DeSimone J. M., Maury E. E., Menciloglu Y. Z., McClain J. B., Romack T. J., Combes J. R., (1994), "Dispersion polymerizations in supercritical carbon dioxide", *Science* 265, 356-359.

DeSimone J. M., Tumas W., (2003), "Green Chemistry Using Liquid and Supercritical Carbon Dioxide", 1st Edition, Oxford University Press: New York.

Dobkowski J., Kolos R., Kaminski J., Kowalczyńska H. M., (1999), "Cell adhesion to polymeric surfaces: Experimental study and simple theoretical approach", *J Biomed Mater Res*, 47, 234-242.

- Durigon P. E. R., Petri D. F. S., Drings H., Schimmel T., Bruns M., (2001), "Characterization and modification of polymer blend films", *Colloid Polym. Sci.*, 279, 1013-1019.
- Eckert C. A., Bush D., Brown J. S., Liotta C. L., (2000), "Tuning Solvents for Sustainable Technology", *Ind. Eng. Chem. Res.*, 39, 4615-4621.
- Erbil H. Y., Demirel A. L., Avci, Y., Mert, O., (2003), "Transformation of a Simple Plastic into a Super-Hydrophobic Surface", *Science*, 299, 1377-1380.
- Erbil H. Y., (2006), "Surface Chemistry of Solid and Liquid Interfaces", Blackwell.
- Erbil H. Y., (2013), "Bioadhesion to solids: contact angle hysteresis effect", *Colloid and Polymer Science* 291, 355-360.
- Evans R. D., Perkins V. C., Henry A., Stephens P. E., Robinson M. K., Watt F. M., (2003), "A tumor associated $\beta 1$ integrin mutation that abrogates epithelial differentiation control", *J Cell Biol* 169, 589-596.
- Evans C. W., (1992), "Cell-Adhesion and Metastasis", *Cell Biol. Int. Rep.*, 16, 1-10.
- Flory P. J., (1953), "Principles of Polymer Chemistry", Cornell Univ.Press.
- Fowkes F. M., (1964), "Attractive forces at interfaces", *Industrial and Engineering Chemistry*, 56 (12), 40-52.
- Frechet J. M., De Smet M. D., Farrall M. J., (1979), "Poly (ip*i*-tert-butoxycarbonyloxystyrene): a convenient precursor to ip*i*-hydroxystyrene resins", *J. Org. Chem.*, 44, 1774-1802.
- Frenette P. S., Denisa D., Wagner D. D., (1996), "Adhesion molecules", *J Med.* 334, 1527-1529.
- Fuente B. D. L, Peters J. C., de Swaan Arons C. J. J. (2000), *J. Supercrit. Fluids*, 17, 13-23.
- Fuse Y., Hirata I., Kurihara H., Okazaki M., (2007), "Cell adhesion and proliferation patterns on mixed self-assembled monolayers carrying various ratios of hydroxyl and methyl groups", *Dent. Mater. J.*, 26, 814-819.
- Gallagher P. M., Coffey M. P. Krukoni V. J., Klasutis N., (1989), "Gas Antisolvent Recrystallization: New Process To Recrystallize Compounds Insoluble in Supercritical Fluids" chap 22, American Chemical Symposium Series 406, American Chemical Society, Washington, D.C. .P. Johnston, J.M.L. Penninger, ed., ACS Publishing.
- Genzer J., Efimenko K., (2006), "Recent developments in superhydrophobic surfaces and their relevance to marine fouling: a review", *Biofouling*, 22, 339-360.

Gibson H. W., Bailey F. C., (1980), "Chemical Modification of Polymers. XIII. Sulfonation of Polystyrene Surfaces", *Macromolecules*, 13, 34-41.

Gristina A. G., Oga M., Webb L. X., Hobgood C. D., (1985), "Adherent bacterial colonization in the pathogenesis of osteomyelitis", *Science*, 228, 990-993.

Goncalves I. C., Martins M. L., Barbosa M. A., Ratner B. D., (2005), "Protein adsorption on 18-alkyl chains immobilized on hydroxyl-terminated self-assembled monolayers" *Biomaterials*, 26, 3891-3899.

Guan J. L., Hynes R. O., (1990), "Lymphoid cells recognize an alternatively spliced segment of fibronectin via the integrin receptor $\alpha 4/\beta 1$ ", *Cell*, 60, 53-61.

Guo J., Andre P., Adam M., Panyukov S., Rubinstein M., DeSimone J. M., (2006), "Solution properties of a fluorinated alkyl methacrylate polymer in carbon dioxide", *Macromolecules*, 39, 3427-3434.

Guo Z. G., Liu W. M., (2007), "Biomimic from the superhydrophobic plant leaves in nature: Binary structure and unitary structure", *Plant Sci.* 172, 1103-1112.

Gutowska A., Bae Y. H., Jacobs H., Feijen J., Kim S. W., (1994), "Thermosensitive interpenetrating polymer networks. Characterization and macromolecular release", *Macromolecules*, 27, 4167-4175.

Haas T. A., Plow E. F., (1994), "Integrin-Ligand Interactions: A Year In Review", *Curr. Opin Cell Biol.*, 6, 656-662.

Hall D. E., Reichardt L. F., Crowley E., Holley B., Moezzi H., Sonenberg A., (1990), "The $\alpha 6/\beta 1$ integrin heterodimers mediate cell attachment to distinct sites on laminin", *J Cell Biol.*, 10, 2175-2184.

Hanks C. T., Wataha J. C., Sun Z., (1996), "In vitro models of biocompatibility: a review", *Dental Materials*, 12, 186-193.

Handin, R. I., Lux, S. E., Stossel, T. P., (2003), "Blood: principles and practice of hematology", Lippicott Williams&Wilkins, Second edition, Philadelphia, PA 19106 USA.

Harkins W. D., (1952), "The Physical Chemistry of Surface Films", Reinhold Publishing Corp, New York.

Hay J. N., (1999), "Macromonomer surfactants for the polymerisation of methyl methacrylate in supercritical CO₂" *Polymer*, 41, 6715-6721.

Helfand E., Wasserman Z. R., (1976), "Block copolymer theory. 4. Narrow interphase approximation", *Macromolecules*, 9, 879-887.

Hemler M. E., (1990), "VLA proteins in the integrin family: structures, functions, and their role on leukocytes" *Annu Rev Immunol*, 8, 365-400.

Herman F. M., (1989), "Encyclopedia of Polymer Science and Engineering", 2nd ed. Wiley: New York.

Herrwerth S., Eck W., Reinhardt S., Grunze M., (2003), "Factors that determine the protein resistance of oligoether self-assembled monolayers - internal hydrophilicity, terminal hydrophilicity, and lateral packing density J. Am. Chem. Soc., 125, 9359-9366.

Hobbs S. Y., Dekkers M. E. J., Watkins W. H. J., (1988), "Toughened blends of poly(butylene terephthalate) and BPA polycarbonate", Mater.Sci., 23, 1219-1224.

Hoffman A. S., (1995), "Surface modification of polymers, chinese journal of polymer science", Chinese Journal of Polymer Science, 13, 195-203.

Holtfreter J., (1948), "Significance of the cell membrane in embrionic processes", Ann NYAcad Sci., 49, 709-760.

Honda K., Morita M., Otsuka H., Takahara A., (2005), "Molecular Aggregation Structure and Surface Properties of Poly(fluoroalkyl acrylate) Thin Films", Macromolecules, 38, 5699-5705.

Horak D., Metalova M., Rypacek F., (1997), "New radiopaque polyHEM A-based hydrogel particles", J. Biomed. Mater. Res., 34, 183-188.

Hormia M., Kononen M., (1994), "Immunolocalization of fibronectin and vitronection receptors in human gingival fibroblasts spreading on titanium surfaces", J Periodontal Res., 29, 146-152.

Hu H., He T., Feng J., Chen M., Cheng R., (2002), "Synthesis of fluorocarbon-modified poly(acrylic acid) in supercritical carbon dioxide", Polymer, 43, 6357-6361.

Huang H. L., Goh S. H., Lai D. M. Y., Huan C. H. A., Wee A. T. S., (2004), "Surface properties of miscible poly(1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropyl methacrylate)/phenoxy blends", J. Appl. Polym. Sci., 91, 1798-1805.

Hubbel J. A., (1994), "Chemical Modification of Polymer Surfaces to Improve Biocompatibility", TRIP, 2 (1), 20-25.

Hwang H., Kim H. J., Jeong Y. T., Gal Y. S., Lim K. T., (2004), "Synthesis and Properties of Semifluorinated Copolymers of Oligo(ethylene glycol) Methacrylate and 1H,1H,2H,2H-Perfluorooctyl Methacrylate", Macromolecules, 37, 9821-9825.

Hynes R. O., (1992), "Integrins, versatility, modulation and signalling in cell adhesion", Cell, 69, 11-25.

Ikada Y., (1994), "Surface Modification of Polymers for Medical Applications", Biomaterials, 15, 725-736.

Jackson S. T., Short R. D., (1992), "Surface morphology of PVC/PMMA blends", *J. Mater Chem*, 2, 259-260.

Jayaraman K., Kotaki M., Zhang Y. Z., Mo X. M., Ramakrishna S., (2004), "Recent Advances in Polymer Nanofibers", *Journal of Nano-science and Nanotechnology*, 4, 52-65.

Johnson Jr, R. E., Dettre R. H., (1963), "Contact angle hysteresis: contact angle measurements on. 257 rough surfaces", *Adv Chem Ser.*, 43, 112-144.

Jones R. A. L., Kramer E. J., Rafailovich M.H., Sokolov J., Schwarz, S.A., (1989), "Surface enrichment in an isotopic polymer blend", *Phys. Rev. Lett.*, 62, 280-283.

Kaladhar K., Sharma C. P., (2004), "Supported cell mimetic monolayers and their interaction with blood", *Langmuir*, 20, 11115-11122.

Kano Y., Katayama Y., Akiyama S., Kitazaklb Y., Kasemura T., (1997), "Segregation behavior found in poly(2-ethylexyl acrylate)/poly-(vinylidene fluoride-co-hexafluoro acetone) blends", *J Adhesion*, 62, 75-92.

Kawaguchi D., Tanaka K., Torikai N., Takahara A., Kajiyama T., (2007), "Surface and interfacial segregation in blends of polystyrene with functional end groups and deuterated polystyrene", *Langmuir*, 23, 7269-7275.

Kemere M. F., Meyer T., (2005), "Supercritical carbon dioxide in polymer reaction engineering", Willey Publishing.

Kendall J. L., Canelas D. A., Young J. L., DeSimone J.M., (1999), "Polymerizations in Supercritical Carbon Dioxide", *J M Chem Rev*, 99, 543-563.

Kennedy K. A., Roberts G. W., DeSimone J. M., (2005), "Heterogeneous Polymerization of Fluoroolefins in Supercritical Carbon Dioxide", *Adv Polym Sci.*, 175, 329-346.

Kennedy S. B., Washburn N. R., Simon C. G. J., Amis E. J., (2006), "Combinatorial screen of the effect of surface energy on fibronectin-mediated osteoblast adhesion, spreading and proliferation", *Biomaterials*, 27, 3817-3824.

Kenyon W. O., Whaugh, P. G., (1958), "Polysinglacetophenone: Preparation, Rections and Depolymerization", *J. Polym. Sci.*, 32, 83-88.

Khayet M., Vazquez A. M., Khulbe K. C., Matsuura T., (2007), "Preferential surface segregation of homopolymer and copolymer blend films", *Surface Science*, 601, 885-895.

Kim J., McClain J. B., Carbonell R. G., (2007), "Deposition of poly[2-(perfluorooctyl)ethyl acrylate] on silicon wafers by the displacement of two immiscible supercritical phases (DISP)", *Journal of Supercritical Fluids*, 43, 139-149.

Kim P., Kim D. H., Kim B., Choi S. K., Lee S. H., Khademhosseini A., Langer L., Suh K. Y., (2005), "Fabrication of nanostructures of polyethylene glycol for applications to protein adsorption and cell adhesion" *Nanotechnology*, 16, 2420-2426.

Klosterman L., (2006), "Leukemia", Marshall Cavendish Benchmark, Tarrytown, New York.

Koch K., Bhushan B., Barthlott W., (2008), "Diversity of structure, morphology and wetting of plant surfaces", *Soft Matter*, 4, 1943-1963.

Koch K., Bhushan B., Jung Y. C., Barthlott W., (2009), "Fabrication of artificial Lotus leaves and significance of hierarchical structure for superhydrophobicity and low adhesion", *Soft Matter*, 5, 1386-1393.

Koistinen, P., Heino, J., (2002), "Integrins in Cancer Cell Invasion, Cancer Metastasis", *Madame Curie Bioscience Database, Bookshelf*.

Korohoda W., Madeja Z., (1997), "Contact of sarcoma cells with aligned fibroblasts accelerates their displacement: computer-assisted analysis of tumour cell locomotion in co-culture", *Biochem Cell Biol*, 75, 263-276.

Kowalczyńska H. M., (1995), "Adhesion of L1210 cells to sulfonated styrene copolymer surfaces in the absence of serum", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 4, 137-149.

Kowalczyńska H. M., Inkielman M., Nowak-Wyrzykowska M. G., Owska L. S., Doroszewski J., (2003), "Interaction of L1210 cells with sulfonated polystyrene in the absence of serum: adhesion and three-dimensional cell shape", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 30, 193-206.

Kowalczyńska H. M., Nowak-Wyrzykowska M., Kołos R., Dobkowski J., Kaminski J., (2005), "Fibronectin adsorption and arrangement on copolymer surfaces and their significance in cell adhesion", *J Biomed Mater Res*, 72, 228-236.

Kowalczyńska H. M., Nowak-Wyrzykowska M., Kołos R., Dobkowski J., Kaminski J., (2008), "Semiquantitative evaluation of fibronectin adsorption on unmodified and sulfonated polystyrene, as related to cell adhesion", *J Biomed Mater Res* 87, 944-956.

Kottkemarchant K., Veenstra A. A., Marchant R. E., (1996), "Human endothelial cell growth and coagulant function varies with respect to interfacial properties of polymeric substrates", *J. Biomed. Mater. Res.*, 30, 209-220.

Kumacheva E., Li L., Winnik M. A., Shinozaki D. M., Cheng P. C., (1997), "Direct Imaging of Surface and Bulk Structures in Solvent Cast Polymer Blend Films", *Langmuir*, 13, 2483-2489.

Kumar S. K., Russell T. P., (1991), "Behavior of Isotopic, Binary Polymer Blends in the Vicinity of Neutral Surfaces: The Effects of Chain-Length Disparity", *Macromolecules*, 24, 3816-3820.

Kwon S., Bae W., Kim H., (2004), "The Effect of CO₂ in Free-radical Polymerization of 2,2,2-Trifluoroethyl Methacrylate", *J Chem Eng*, 21, 910-914.

Kwon S., Lee K., Bae W., Kim H., (2008), "Precipitation Polymerization of 2-Methylene-1,3-dioxepane in Supercritical Carbon Dioxide", *Polymer Journal*, 40, 332-338.

Lampin M., Warocquier-Clerout R., Legris C., Degrange M., Sigot-Luizard M. F., (1997), "Correlation between substratum roughness and wettability, cell adhesion, and cell migration", *J. Biomed.Mater. Res.*, 36, 99-108.

Langer R., Peppas N. A., (1981), "Present and Application of Biomaterials in Controlled Drug Delivery Systems" *Biomaterials*, 2, 201-214.

Langer R., Cima L. G.Tamada J. A.,Wintermantel E., (1990), "Future Directions in Biomaterials", *Biomaterials*, 11, 738-745.

Lensen M. C., Schulte V. A., Salber J., Diez M., Menges F., Möller M., (2008), "Cellular responses to novel, micropatterned biomaterials", *Pure Appl. Chem.*, 80, 2479-2487.

Lee J. H., Lee J. W., Khang G., Lee H. B., (1997), "Interaction of cells on chargeable functional group gradient surfaces", *Biomaterials*, 18, 351-358.

Lee J. H., Khang G., Lee J. W., Lee H. B., (1998), "Interaction of different types of cells on polymer surfaces with wettability gradient", *J Colloid Interface Sci.*, 205, 323-330.

Lee W., Jin M. K., Yoo W. C., Lee J. K., (2004), "Nanostructuring of a polymeric substrate with well-defined nanometer-scale topography and tailored surface wettability", *Langmuir*, 20, 7665-7669.

Li P., Ehrhardt C., Loebach C., Lehr C. M., Bakowsky U., (2003), "Tissue Engineering, Surface Coating and Pharmaceutical Nanotechnology", *Proceedings of the International School on Advanced Material Science and Technology*, 26-41.

Li X., Xing R., Zhang Y., Han Y., An L., (2004), "Molecular weight effects on the phase morphology of PS/P4VP blend films on homogeneous SAM and heterogeneous SAM/Au substrates", *Polymer*, 45, 1637-1646.

Li X., Ding B., Lin J., Yu J., Sun G., (2009), "Enhanced Mechanical Properties of Superhydrophobic Microfibrous Polystyrene Mats via Polyamide 6 Nanofibers", *J. Phys. Chem. C*, 113, 20452-20457.

Li X. M., Reinhoudt D., Crego-Calama M., (2007), "What do we need for a superhydrophobic surface? A review on the recent progress in the preparation of superhydrophobic surfaces", *Chem. Soc. Rev.*, 36, 1350-1368.

Li Y., Yang Y., Yo F., Dong L., (2006), "Surface and Interface Morphology of Polystyrene/Poly(methyl methacrylate) Thin-Film Blends and Bilayers", *J Polym Sci Part B: Polym Phys*, 44, 9-21.

Liu J., Han B., Liu Z., Wang J., Huo Q., (2001), "Polymerization of styrene in solutions with compressed carbon dioxide as antisolvent", *Journal of Supercritical Fluids*, 20, 171-176.

Liu J., Han B., Zhang R., Liu Z., Jiang T., Yang G., (2003), "Effect of antisolvent carbon dioxide on the polymerization of methyl methacrylate in different solvents", *Journal of Supercritical Fluids*, 25, 91-97.

Liu D., Yang P., Luscombe C.K., (2008), "Preparation of Titanium Oxide Pillars on Glass Substrates and Ultrathin Titanium Oxide Layer using PMMA/PS Blend Films", *J. Phys. Chem. C*, 112, 7886-7894.

Liu Z. T., Chen J. G., Liu Z.W., Lu J., (2008), "New Process for Synthesizing Fluorinated Polymers in Supercritical Carbon Dioxide", *Macromolecules*, 41, 6987-6992.

Lu X. Y., Zhang J. L., Zhang C. C., Han Y. C., (2005), "Low-Density Polyethylene (LDPE) Surface With a Wettability Gradient by Tuning its Microstructures", *Macromol. Rapid Commun.*, 26, 637-642.

Ma M. L., Gupta M., Li Z., Zhai L., Gleason K. K., Cohen R. E., Rubner M. F., Rutledge G. C., (2007), "Superhydrophobic Fabrics Produced by Electrospinning and Chemical Vapor Deposition", *Advanced Materials*, 19, 255-259.

Magnusson M. K., Mosher D. F., (1998), "Fibronectin Structure, Assembly, and Cardiovascular Implications", *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.*, 18, 1363-1370.

Makowski H. S., Lundberg R. D., Singhal G. S., (1975), U.S. Patent, 3, 870, 847.

Maury E. E., Batten H. J., Killian S. K., Menciloglu Y. Z., Combes J. R., DeSimone J.M., (1993), "Supercritical carbon dioxide: formation of polymers with bimodal molecular weight distributions", *Polym. Preprints* 34, 664-665.

Maruoka A., Saito M., Sakai H., Sugano N., Hino K., (1994), "Safety Assessment of Hydroxyapatite Composite Resin, A New Bioactive Bone Cement", *Bioceramics*, 7, ed. Andersson, O.H., Yli-Urpo, Proceedings of the 7th International Symposium on Ceramics in Medicine, Turku, Finland July, 284-291.

Mawson S., Johnston K. P., Combes J. R., DeSimone J. M., (1995), "Formation of poly(1,1,2,2-tetrahydroperfluorodecyl acrylate) submicron fibers and particles from supercritical carbon dioxide solutions", *Macromolecules*, 28 (9), 3182-3191.

Mc Clellan S. J., Franses E. I., (2005), "Adsorption of bovine serum albumin at solid/aqueous interfaces", *Colloids Surf. A*, 260, 265-275.

Mc Neill C., Coşkun M., (1986), "Structure and stability of halogenated polymers: Part 3-Ring-Brominated Polystyrene", *Polym. Deg. Stab.*, 23, 175-183.

Mc Neill C., Coşkun M., (1987), "Structure and stability of halogenated polymers; Part 2 chain chlorinated polystyrene", *Polym. Deg. Stab.*, 18, 213-224.

Mc Neill C., Coşkun M., (1987), "Structure and stability of halogenated polymers; Part 1 chain chlorinated polystyrene", *Polym. Deg. Stab.*, 17, 347-357.

Mosmann T., (1983), "Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays", *Journal of Immunological Methods* 65, 55-63.

Motornov M., Minko S., Nitschke M., Grundke K., Stamm M., (2002), "Hierarchically structured self-adaptive surfaces more" *Polymer Preprints*, 43, 379-380.

Morita M., Ogisu H., Kubo M., (1999), "Surface properties of perfluoroalkylethyl acrylate/n-alkyl acrylate copolymers", *J Appl Polym Sci.*, 73, 1741-1749.

Myllymaa K., Myllymaa S., Korhonen H., Lammi M. J., Tiitu V., Lappalainen, R., (2009), "Improved adherence and spreading of Saos-2 cells on polypropylene surfaces achieved by surface texturing and carbon nitride coating", *Diamond & Related Materials* 18, 1294-1300.

Nakajima A., Hashimoto K., Watanabe T., (1999), "Recent Studies on Super-Hydrophobic Films", *Bull Jpn Photochem Assoc* 30, 199.

Neinhuis C., Barthlott W., (1997), "Characterization and Distribution of Water-repellent, Self-cleaning Plant Surfaces", *Ann Bot.*, 79 (6), 667-677.

Niklason L. E., Gao J., Abbott W. M., Hirschi K. K., Houser S., Marini R., Langer R., (1999), "Functional arteries grown in vitro", *Science*, 284 (5413), 489-493.

Nishino T., Meguro M., Nakamae K., Matsushita M., Ueda Y., (1999), "The Lowest Surface Free Energy Based on -CF₃ Alignment", *Langmuir*, 15 (13), 4321-4323.

Nishino T., Urushihara Y., Meguro M., Nakamae K., (2004), "Surface properties and structures of diblock and random copolymers with perfluoroalkyl side chains", *J Colloid Interface Sci.*, 279 (2), 364-369.

Noinville V., Vidal-Madjar C., Seville B., (1995), "Modeling of protein adsorption on polymer surface: computation of adsorption potential", *J. Phys. Chem.*, 99, 1516-1522.

Onda T., Shibuichi N., Satoh N., Tsuji K., (1996), "Super-water- repellent fractal surfaces", *Langmuir*, 12, 2125-2127.

Orend G., Chiquet-Ehrismann R., (2000), "Adhesion modulation by antiadhesive molecules of the extracellular matrix", *Exp. Cell Res.*, 261, 104-110.

Osada Y., Nakogava T., (1992). "Membrane Science and Technology", Marcel Dekker Inc. USA., 3-57.

Ostuni E., Chapman R. G., Holmlin R. E., Takayama S., Whitesides G. M., (2001), "A Survey of Structure - Property Relationships of Surfaces that Resist the Adsorption of Protein", *Langmuir*, 17, 5605-5620.

Overney R. M., Leta D. P., Fetters L. J., Liu Y., Rafailovich M. H., Sokolov J., (1996), "Dewetting dynamics and nucleation of polymers observed by elastic and friction force microscopy", *J. Vac. Sci. Technol. B*, 14, 1276-1279.

Ozcan C., Zorlutuna P., Hasirci V., Hasirci N., (2008), "Influence of Oxygen Plasma Modification on Surface Free Energy of PMMA Films and Cell Attachment", *Macromol. Symp.*, 269, 128-137.

Owens D. K., Wendt R. C., (1969), "Estimation of the surface free energy of polymers", *J Appl Polym Sci.*, 13, 1741-1747.

Öner D., McCarthy T., (2000), "Ultrahydrophobic surfaces. Effects of topography length scales on wettability", *Langmuir*, 16, 7777-7782.

Park J. B., (1979), "Biomaterials An Introduction", Plenum Press, N.Y.

Park I. J., Lee S. B., Choi C. K., (1998), "Surface properties of the fluorine-containing graft copolymer of poly(perfluoroalkyl)ethyl methacrylate)-g-poly(methyl methacrylate)", *Macromolecules*, 31, 7555-7558.

Patankar N. A., (2004), "Transition between Superhydrophobic States on Rough Surfaces", *Langmuir*, 20, 7097-7102.

Paul D. R., Newman, S., (1978), "Interfacial Agents for Polymer Blends", Academic Press, New York.

Peppas N. A., Langer R., (1994), "New challenges in biomaterials" *Science*, 263, 1715-1720.

Plantefaber L. C., Hynes R. O., (1989), "Changes in integrin receptors on oncogenically transformed cells", *Cell.*, 56, 281-290.

Pu D. W., Lucien F. P., Zetterlund P. B., (2010), "Nitroxide-mediated radical polymerization of carbon dioxide-expanded methyl methacrylate", *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, 48 (23), 5636-5641.

Ravati S., Favis B. D., (2010), "Morphological states for a ternary polymer blend demonstrating complete wetting", *Polymer*, 51, 4547-4561.

Ramakrishna S., Mayer J., Wintermantel E., Leong Kam W., (2001), "Biomedical applications of polymer-composite materials: a review", *Composites Science and Technology*, 61, 1189-1224.

Ramesh, S., Yahaya, A.H., Arof, A.K., (2002), "Miscibility studies of PVC blends (PVC/PMMA and PVC/PEO) based polymer electrolytes", *Solid State Ionics*, 148, 483-486.

Ratner B. D., Hoffmann F. J., Schoen J. E., Lemons F., (1996), "Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine", Academic Press: New York.

Renault B., Cloutet E., Cramail H., (2008), "Synthesis of Polyurethane/Poly(1,1,2,2-tetrahydroperfluorodecyl acrylate) Particles in Supercritical Carbon Dioxide", *Macromol. Chem. Phys.*, 209, 535-543.

Rindfleisch F., DiNoia T., McHugh M.A., (1996), "Solubility of polymers and copolymers in supercritical Cop: why high pressures and temperatures are needed", *Polym. Mater. Sci. Eng.*, 74, 178-179.

Robert I. H., Samuel E. L., Thomas P. S., (2003), "Blood: principles and practice of hematology", Lippicott Williams&Wilkins, Second edition, Philadelphia, PA 19106 USA,.

Romack T. J., DeSimone J. M., (1995), "Synthesis of Tetrafluoroethylene-Based, Nonaqueous Fluoropolymers in Supercritical Carbon Dioxide", *Macromolecules*, 28, 8429-8431.

Salt Y., Dinçer S., (2006), "An Option for Special Separation Operations: Membrane Processes", *Yıldız Teknik Üniversitesi Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, Invited Review Paper, İstanbul.

Schakenraad J. M., Busscher H. J., Wildevuur C. R. H., Arends J., (1986), "The influence of substratum surface free energy on growth and spreading of human fibroblasts in the presence and absence of serum proteins", *J Biomed Mater Res.*, 20, 773-784.

Scholsky K. M., (1993), "Polymerization reactions at high pressure and supercritical conditions", *The Journal of Supercritical Fluids*, 6, 103-127.

Schwendel D., Dahint R., Herrwerth S., Schloerholz M., Eck W., Grunze M., (2001), "Temperature dependence of the protein resistance of poly- and oligo(ethylene glycol)-terminated alkanethiolate monolayers", *Langmuir*, 17, 5717-5720.

Sgouras D., Duncan R., (1990), "Methods for the evaluation of biocompatibility of soluble synthetic polymers which have potential for biomedical use:1-Use of tetrazolium-based colorimetric assay (MTT) as a preliminary screen for evaluation of in vitro cytotoxicity", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 1, 61-68.

Shaffer K. A., Jones T. A., Canelas D. A., DeSimone J. M., Wilkinson S. P., (1996), "Dispersion Polymerizations in Carbon Dioxide Using Siloxane-Based Stabilizers", *Macromolecules*, 29, 2704-2706.

Shin J., Lee Y. W., Kim H., (2006), "High-Pressure Phase Behavior of Carbon Dioxide + Heptadecafluorodecyl Acrylate + Poly(heptadecafluorodecyl acrylate) System", *J.Chem. Eng. Data*, 51, 1571-1575.

Shin J., Bae W., Lee Y. W., Kim H., (2007), "Kinetics for free radical solution polymerization of heptadecafluorodecyl (meth)acrylate in supercritical carbon dioxide", *Korean J. Chem. Eng.*, 24, 664-669.

Shin J., Oh K. S., Bae W., Lee Y. W., Kim H., (2008), "Dispersion Polymerization of Methyl Methacrylate using Poly(HDFDMA-co-MMA) as a Surfactant in Supercritical Carbon Dioxide", *Ind. Eng. Chem. Res.*, 47, 5680-5685.

Shimizu Y., Rose D. M., Ginsber M. H., (1999), "Integrins in the immune system", *Adv. Immunol.*, 72, 325-381.

Sims T. N., Dustin M. L., (2002), "The immunological synapse: integrins take the stage", *Immunological Reviews*, 186, 100-117.

Sorribas H., Padeste C., Tiefenauer L., (2002), "Photolithographic generation of protein micropatterns for neuron culture applications", *Biomaterials*, 23, 893-900.

Span R., Wagner W., (1996), "A new equation of state for carbon dioxide covering the fluid region from the triple point temperature to 1100 K at pressures up to 800 MPa", *J. Phys. Chem. Ref. Data.*, 25, 1509-1596.

Spatz J. P., Roescher A., Möller M., (1996), "Gold nanoparticles in micellar poly(styrene)-b-poly(ethylene oxide) films-size and interparticle distance control in monoparticulate films", *Adv. Mater.*, 8, 337-340.

Srinivasan S., Chhatre S. S., Mabry J. M., Cohen R. E., McKinley G. H., (2011), "Solution spraying of poly(methyl methacrylate) blends to fabricate microtextured, superoleophobic surfaces", *Polymer* 52, 3209-3218.

Steinberg M. S., (1970), "Does differential adhesion govern self-assembly process in histogenesis? Equilibrium configurations and the emergence of a hierarchy among populations of embrionic cells", *J Exp Zool.*, 173, 395-434.

Stevens M. M., (2008), "Biomaterials for bone tissue engineering", *Materials Today*, 11, 18-25.

Sugurmann B., Young E. J., (1984), "Infections Associated with Prosthetic Devices", CRS Press, Boca Raton, FL.

Sun T., Tan H., Han D., Fu Q., Jiang L., (2005), "No Platelet Can Adhere-Largely Improved Blood Compatibility on Nanostructured Superhydrophobic Surfaces", *Small*, 10, 959-963.

Tamada Y., Ikada Y., Chiellini E, Giusti P, Migliaresi C, Nicolais L, (1986), "Cell attachment to various polymer surfaces." *Polymers in medicine II*. New York: Plenum Press;. 101-115.

Tamada Y., Ikada Y., (1993), "Effect of preadsorbed proteins on cell adhesion to polymer surfaces", *J Colloid Interface Sci.*, 155, 334–339.

Tamada Y., Ikada Y., (1994), "Fibroblast Growth on Polymer Surfaces and Biosynthesis of Collagen", *J. Biomed. Mater. Res.*, 28, 783-789.

Tanaka K., Takahara A., Kajiyama T., (1996), "Film Thickness Dependence of the Surface Structure of Immiscible Polystyrene/Poly(methyl methacrylate) Blends", *Macromolecules*, 29, 3232-3239.

Tanaka K., Takahara A., Kajiyama T., (1998), "Surface molecular aggregation structure and surface molecular motions of high-molecularweight polystyrene/low-molecular-weight poly(methyl methacrylate) blend films", *Macromolecules*, 31, 863-869.

Teng X. R., (2003), "Molecular Weight and Spinnability of Polyacrylonitrile Produced by Precipitation Polymerization in Supercritical CO₂", *J. Appl. Polym. Sci.*, 87 (5), 1393-1398.

Timmerman R., Greyson W., (1962), "The predominant reaction of some fluorinated polymers to ionizing radiation", *J Appl Polym Sci.*, 6 (22), 456-460.

Tsujii K., Yamamoto T., Onda T., Shibuichi S., (1997), "Super Oil-Repellent Surfaces", *Angew Chem Int Ed Engl.*, 36, 1011-1012.

Tsukagoshi, T., Kondo, Y., Yoshino, N., (2007), "Protein adsorption on polymer-modified silica particle surface", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 54, 101-107.

Torres A. J., Wu M., Holowka D., Baird B., (2008), "Nanobiotechnology and cell biology: Micro- and nanofabricated surfaces to investigate receptor-mediated signaling", *Annual Review of Biophysics*, 37, 265-288.

Toworfe G. K., Composto R. J., Adams C. S., Shapiro I. M., Ducheyne P., (2004), "Fibronectin adsorption on surface-activated poly(dimethylsiloxane) and its effect on cellular function", *J. Biomed. Mater. Res.*, 71 (3), 449-461.

Turner A. M. P., Dowell N., Turner S. W. P., Kam L., Isaacson M., Turner J. N., Craighead H. G., Shain W., (2000), "Attachment of astroglial cells to microfabricated pillar arrays of different geometries", *J. Biomed. Mater. Res.*, 51, 430-441.

Ucar I. O., Cansoy C. E., Erbil H. Y., Pettitt M. E., Callow M. E., Callow J. A., (2010), "Effect of contact angle hysteresis on the removal of the sporelings of the green alga *Ulva* from the fouling-release coatings synthesized from polyolefin polymers", *Biointerphases*, 5 (3), 75-84.

van-de Grampel R. D., Ming W., Gildenpfennig A., van Gennip W. J. H., Laven J., Niemantsverdriet J. W., Brongersma H.H., deWith G., van der Linde R., (2004), "The Outermost Atomic Layer of Thin Films of Fluorinated Polymethacrylates", *Langmuir*, 20 (15), 6344-6351.

Van Der Valk P., van Pelt A. W. J., Busscher H. J., de Jong H. P., Wildevuur C. R. H., Arends, J., (1983), "Interaction of fibroblasts and polymer surfaces: relationship between surface free energy and fibroblast spreading", *J Biomed Mater Res.*, 17, 807-817.

Van Kooten T. G., von Recum A. F., (1999), "Cell adhesion to textured silicone surfaces: The influence of time of adhesion and texture on focal contact and fibronectin fibril formation", *Tiss. Eng.*, 5, 223-240.

Van Oss C. J., Chaudhury M. K., Good R. J., (1988), "Polar interfacial interactions, hydration pressure and membrane fusion", *Chem. Rev.*, 88, 927-941.

Van Oss C. J., Good R. J., (1992), "Prediction of the solubility of polar polymers by means of interfacial tension combining rules", *Langmuir*, 8, 2877-2879.

Van Wachem P. B., Beugeling T., Feijen J., Bantjes A., Detmers J. P., van Aken W. G., (1985), "Interaction of cultured human endothelial cells with polymeric surfaces of different wettabilities", *Biomaterials*, 6, 403-408.

Van Wachem P. B., Hogt A. H., Beugeling T., Feijen J., Bantje, A., Detmers J. P., (1987), "Adhesion of cultured human endothelial cells onto methacrylate polymers with varying surface wettability and charge", *Biomaterials*, 8, 323-328.

Velzenberger E., Kirat K. E., Legeay G., Nagel M. D., Pezron I., (2009), "Characterization of biomaterials polar interactions in physiological conditions using liquid-liquid contact angle measurements Relation to fibronectin adsorption", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 68, 238-244.

Verreck G., Chun I., Rosenblatt J., Peeters J., Van Dijck A., Mensch J., Noppe M., Brewster M. E., (2003), "Incorporation of drugs in an amorphous state into electrospun nanofibers composed of a water-insoluble, nonbiodegradable polymer", *Journal of Controlled Release*, 92 (3), 349-360.

Vogelaar L. L., Lammertink R. G. H., Wessling M., (2006), "Superhydrophobic Surfaces Having Two-Fold Adjustable Roughness Prepared in a Single Step", *Langmuir*, 22, 3125-3130.

Yabu H., Shimomura M., (2005), "Single-step fabrication of transparent superhydrophobic porous polymer films", *Chem. Mater.*, 17, 5231-5234.

Yamada K. M., (1991), "Fibronectin and other cell interactive glycoproteins. Cell biology of extracellular matrix", Second edition, Ed. Elizabeth D. Hay, Plenum Press. New York, Chapter 4, 111-146.

Yan Y. Y., Gao N., Barthlott W., (2011), "Mimicking natural superhydrophobic surfaces and grasping the wetting process: A review on recent progress in preparing superhydrophobic surfaces", *Advances in Colloid and Interface Science*, 169 (2), 80-105.

Yan C., Sun J., Ding J., (2011), "Critical areas of cell adhesion on micropatterned surfaces", *Biomaterials*, 32, 3931-3938.

Yang F., Murugan R., Wang S., Ramakrishna S., (2005), "Electrospinning of nano/micro scale poly(L-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering", *Biomaterials*, 26 (15), 2603-2610.

Yang T., Yao L., Peng H., Cheng S., (2006), "Characterization of a low-wettable surface based on perfluoroalkyl acrylate copolymers", *J Fluorine Chem.*, 127 (8), 1105-1110.

Ye W., DeSimone J. M., (2005), "Emulsion polymerization of N- ethylacrylamide in supercritical carbon dioxide", *Macromolecules*, 38 (6), 2180-2190.

Young T., (1805), "An Essay on the Cohesion of Fluid", *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, 95, 65-87.

Yu F., Li P., Shen H., Mathur S., Lehr C. M., Bakowsky U., Mücklich F., (2005), "Laser Interference lithography as a new and efficient technique for micropatterning of biopolymer surface", *Biomaterials*, 26, 2307-2312.

Zetterlund P. B., Aldabbagh F., Okubo M., (2009), "Controlled/Living Heterogeneous Radical Polymerization in Supercritical Carbon Dioxide", *Journal of Polymer Science: Part A: Polymer Chemistry*, 47, 3711-3728.

Zhang H., Annich G. M., Miskulin J., Stankiewicz K., Osterholzer K., Merz S. I., Bartlett R. H., Meyerhoff M. E., (2003), "Nitric oxide-releasing fumed silica particles: Synthesis, characterization, and biomedical application", *J. Am. Chem. Soc.*, 125, 5015-5024.

Zhang L., Zhou Z. L., Cheng B., (2006), "Superhydrophobic behavior of a perfluoropolyether lotus-leaf-like topography", *Langmuir*, 22, 8576-8580.

Zhang Y., Chai C., Song Jiang, X., Teoh S. H., Leong K. W., (2007), "Fibronectin immobilized by covalent conjugation or physical adsorption shows different bioactivity on aminated-PET", *Materials Science and Engineering C*, 27, 213-219.

Zhao N., Weng L. H., Zhang X. Y., (2006), "A lotus-leaf-like superhydrophobic surface prepared by solvent-induced crystallization", *Chem. Phys. Chem.*, 7, 824-827.

Zhou D., Teng H., Koike K., Koike Y., Okamoto Y., (2008), "Copolymers of methyl methacrylate and fluoroalkyl methacrylates: Effects of fluoroalkyl groups on the thermal and optical properties of the copolymers", *J Polym Sci Part A: Polym Chem*, 46 (14), 4748-4755.

Zucco F., De Angelis I., Stamatii A., (1998), "Cellular models for in vitro toxicity testing", in *Animal Cell Culture Techniques*, edited by M. Clynes, Springer, Berlin-Heidelberg, 414.

Zwolak G., Lioe L., Lucien F. P., (2005), "Vapor-Liquid Equilibria of Carbon Dioxide + Methyl Methacrylate at 308, 313, 323, and 333 K", *Ind. Eng. Chem. Res.*, 44, 1021-1026.

Zwolak G., Jayasinghe N. S., Lucien F. P., (2006), "Catalytic chain transfer polymerisation of CO₂-expanded methyl methacrylate", *J Supercritical Fluids*, 38, 420-426.

Zwolak G., Lucien F. P., (2008), "Molecular Weight Evolution in the Catalytic Chain Transfer Polymerization of CO₂-Expanded Methyl Methacrylate", *Macromolecules*, 41, 5141-5147.

Wagner H. L., (1987), "The Mark-Houwink-Sakurada relation for poly(methyl methacrylate)", *J Phys Chem Ref Data*, 16, 165-173.

Walheim S., Böltau M., Mlynek J., Krausch G., Steiner U., (1997), "Structure Formation via Polymer Demixing in Spin-Cast Films", *Macromolecules*, 30, 4995-5003.

Wang Y., Liu Z., Han B., Sun Z., Zhang J., Sun D., (2005), "Phase-Separation-Included Micropatterned Polymer Surfaces and Their Applications", *Adv. Funct. Mater.*, 15, 655-663.

Wang Z., Yang Y. J., Dong Q. Z., Hu C. P., (2008), "Free radical polymerizations of some vinyl monomers in carbon dioxide fluid", *J Appl Polym Sci.*, 110, 468-474.

Wang Y. C., Ho C. C., (2004), "Micropatterning of proteins and mammalian cells on biomaterials", *The FASEB Journal*, 18, 525-527.

Wattenberger M. R., Chan H. S., Evans D. F., Bloomfield V. A., Dill K. A., (1990), "Surface-induced enhancement of internal structure in polymers and proteins", *J. Chem. Phys.*, 93 (11), 8343-8351.

Web 1, (2009) <http://ie.technion.ac.il/Academ/Grad/STdep/crystal.php> (Erişim Tarihi: 12/8/2009)

Web 2, (2009) <https://encrypted-tbn3.gstatic.com> (Erişim Tarihi: 13/8/2009)

Web 3, (2011) <http://www.psrc.usm.edu/macrog/index.htm> (Erişim Tarihi: 16/4/2011)

Web 4, (2013) <http://biyomedikal.kocaeli.edu.tr> (Erişim Tarihi: 23/11/2013)

Web 5, (2010) <http://tip.sdu.edu.tr> (Erişim Tarihi: 20/6/2010)

Web 6, (2009) www.aof.anadolu.edu.tr (Erişim Tarihi: 12/8/2009)

Web 7, (2009) http://w20.uludag.edu.tr/~sahinas/giris_kan_dokusu.ppt (Erişim Tarihi: 12/8/2009)

Web 8, (2009) www.dupont.com (Erişim Tarihi: 24/5/2009)

Web 9, (2014) <http://rsbweb.nih.gov/ij/> (Erişim Tarihi: 10/1/2014)

Wei Z. J., Liu W. L., Tian D., Xiao C. L., Wang X. Q., (2010), "Preparation of lotus-like superhydrophobic fluoropolymer films", *Applied Surface Science*, 256, 3972-3976.

Wells S. L., DeSimone J. M., (2001), "CO₂ technology platform: an important tool for environmental problem solving", *Angew. Chem. Int. Ed.*, 40, 518-527.

Wenzel R. N., (1936), "Resistance of solid surfaces to wetting by water", *Industrial and Engineering Chemistry*, 28 (8), 988-994.

Whitesides G. M., Ostuni E., Takayama S., Jiang X. Y., Ingber D. E., (2001), "Soft Litography in biology and biochemistry", *Annual Review of Biomedical Engineering*, 3, 335-373.

Wong J. Y., Bronzino J. D. , (2007), "Biomaterials", CRS pres.

Wojciak B., Korohoda W., (1990), "Ehrlich ascites tumour cells show tissue-specific adherence and modify their shape upon contact with embryonic fibroblasts and myotubes", *J. Cell Sci.*, 97, 433-438.

Wu J., Zhang M., Wang X., Li S., Wen W., (2011), "A Simple Approach for Local Contact Angle Determination on a Heterogeneous Surface", *Langmuir*, 27, 5705-5708.

Xie, X., Yang, H., (2001), "Phase structure control of epoxy/polysulfone blends-effects of molecular weight of epoxy resins", *Materials and Design*, 22, 7-9.

Xie Y., Sproule T., Li Y., Powell H., Lannutti J. J., Kniss D. A., (2002), "Nanoscale modifications of PET polymer surfaces via oxygen-plasma discharge yield minimal changes in attachment and growth of mammalian epithelial and mesenchymal cells in vitro", *J Biomed Mater Res*, 61, 234-245.

Xie Q. D., Xu J., Feng L., Jiang L., Tang W. H., Luo X. D., Han C. C., (2004), "Facile Creation of a Bionic Super-Hydrophobic Block Copolymer Surface", *Adv. Mater.*, 16, 302-305.

Xu Q., Han B., Yan H., (2003), "Precipitation polymerization of methyl methacrylate in tetrahydrofuran with compressed CO₂ as antisolvent", *Journal of Applied Polymer Science*, 88, 2427-2433.

Quintero-Ortega I. A., Vivaldo-Lima E., Gupta R. B., Luna-Barcenas G., Penlidis A., (2007), "Modeling of the Homogeneous Free-Radical Copolymerization Kinetics of

Fluoromonomers in Carbon Dioxide at Supercritical Conditions”, *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry* 44, 205-213.

ÖZGEÇMİŞ

Nevin ATALAY GENGEÇ, 1978 yılında İstanbul'da doğdu. İlköğrenimini Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okulunda, orta öğrenimini Bahçelievler Ortaokulunda ve lise öğrenimini Pertevniyal Lisesi'nde tamamladı. 1997 yılında başladığı Kocaeli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'ndeki lisans eğitimini 2002 yılında tamamlayarak, aynı yıl Kocaeli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nde yüksek lisans eğitimine başladı ve 2004 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı. 2005 yılı Eylül ayında Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Kimya Mühendisliği Bölümü'nde doktora eğitimine başladı. Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Haziran 2005 ile 2012 yılları arasında Proje Asistanı olarak çalıştı.

EKLER

Ek A: Tez Çalışması Kapsamında Yapılan Yayınlar

Atalay Gengec N., Gulsuner H. U., Erbil H. Y., Tekinay A. B., (2014), “Selective adsorption of L1210 leukemia cells/human leukocytes on micropatterned surfaces prepared from polystyrene/polypropylene-polyethylene blends”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 113, 403-411.

Cengiz U., Atalay Gengec N., Erbil H. Y., (2013), “Surface characterization of flat and rough films of perfluoromethacrylate-methylmethacrylate statistical copolymers synthesized in CO₂-expanded monomers”, *Colloid Polym. Sci.*, 291, 641-652.

Gulsuner H. U., Atalay Gengec N., Kilinc M., Erbil H. Y., Tekinay A. B., (2014) “Osteoselection Supported by Phase Separated Polymer Blend Films”, *Journal of Biomedical Materials Research: Part A*, (Accepted-7-Mar-2014).

Atalay Gengec N., Cengiz U., Erbil H. Y., “The Effect of CO₂/monomer ratio on Copolymer Molecular Weight at Copolymerization Fluorinated Acrylate with Methyl Methacrylate in CO₂ medium”, *Polymer*, (submitted March 2014).

Cengiz U., Atalay Gengec N., Kaya N. U., Erbil H. Y., Sarac A. S., (2011), “Mechanical and Thermal Properties of Fluoromethacrylate-Methylmethacrylate Statistical Copolymers Synthesized in Supercritical Carbon Dioxide”, *Journal of Fluorine Chemistry*, 132, 348-355.

Erbil H. Y., Atalay Gengec N., Ucar I. O., Dandan M., Cansoy C. E., (2008), “Fabrication of Large Area Micro-patterned Polyolefin Blend Coatings Having Foul Release Properties”, 14th International Congress on Marine Corrosion and Fouling, Kobe, Japan, 27-31 July.

Erbil H. Y., Ucar I. O., Cansoy C. E., Atalay Gengec N., Dandan M., Cengiz U., (2009), “Heterogeneous Surface Coatings: Water Contact Angle and Wetting Hysteresis Relation with the Foul-Release Properties of Marine Organisms”, 13th IACIS International Conference on Surface and Colloid Science and the 83rd ACS Colloid and Surface Science Symposium, New York, USA 14-19 June.

Atalay Gengec N., Dandan M., Cengiz U., Erbil H. Y., (2009), “Use of Perfluoroacrylate-MMA flat and rough surfaces for removal of *Ulva* and *Navicula*”, A Workshop organized under the auspices of the US Office of Naval Research (ONR) and AMBIO, St. Petersburg, Florida-USA 8-10 December.

Atalay Gengec N., and Erbil H. Y., (2009), “Large Area Micro Patterned Polymer Surface Synthesis from Polystyrene and High Density Polyethylene”, 13th European Conference on Applications of Surface and Interface Analysis, Antalya- Turkey, October 18-23.

Atalay Gengeç N., Uçar İ. O., Kocabaş N. S., Erbil H. Y., (2008), “Polipropilen (PP), Polipropilen-Polietilen (PP-PE), Yüksek Yoğunluklu Polietilen (HDPE), Polimerleriyle Siklik Olefin Kopolimer (COC) Karışımlarından Yüzey Pürüzlülüğünün Kontrolü ve Karakterizasyonu”, 22. Ulusal Kimya Kongresi, Doğu Akdeniz Üniversitesi, Kıbrıs 6-10 Ekim.

Atalay Gengeç N., Erbil H. Y., (2008), “Süperkritik CO₂ Ortamında Perfloroalkil Akrilat Esteri (Zonyl TA-N) ve Metil Methakrilatın (MMA) Kopolimerizasyonu, Film oluşumu ve Yüzey Karakterizasyonu”, VIII. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, İnönü Üniversitesi, Malatya, 26-29 Ağustos.

Atalay Gengeç N., Cengiz U., Erbil H. Y., (2009), “Perfloroalkil Akrilat (Zonyl TA-N) and Methil Methakrilat (MMA) Monomerlerinin Süperkritik CO₂ Ortamında Kopolimerizasyonu ve Kopolimer Molekül Ağırlığı Üzerine CO₂ mol Sayısının Etkisi”, 23. Ulusal Kimya Kongresi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas, 16-20 Haziran.

Cengiz U., Atalay Gengeç N., Erbil H. Y., (2009), “Perfluoroalkil metakrilat ve metil metakrilat monomerlerinin scCO₂ ortamında kopolimerizasyonu ve kopolimer molekül ağırlığı üzerine CO₂ miktarının etkisi”, 23. Ulusal Kimya Kongresi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas, 16-20 Haziran.

Atalay Gengeç N., ve Erbil H. Y., (2010), “Polistiren ve Yüksek Yoğunluklu Polietilen Karışımlarından Sentezlenen Yüzeylerde Polimer Molekül Ağırlığının Yüzey Morfolojisine Etkisi”, 3. Ulusal Polimer Bilimi ve Teknoloji Kongresi, Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli, 12-14 Mayıs.

Atalay Gengeç N., ve Erbil H. Y., (2010), “PS ve PP-PE kopolimer karışımlarından Geniş Alan Mikrodeseanlı Polimer Yüzey Sentezi”, 6. Nanobilim ve Nanoteknoloji Konferansı, İYTE, İzmir, 15-18 Haziran.

Atalay Gengeç N., and Erbil H. Y., (2010), “Large Area Micropatterned Polymer Surfaces from Polypropylene/Polyethylene Copolymer and Polystyrene Blends”, 6th Nanoscience and Nanotechnology Conference, Izmir Institute of Technology, İzmir, 15-18 June.

Atalay Gengeç N., ve Erbil H. Y., (2010), “Süperkritik Karbon Dioksitte Sentezlenen Flooakrilat-Metil Methakrilat Kopolimerlerine Non-Solvent İlavesi ile Süperhidrofobik Yüzey Sentezi”, 9. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 22-25 Haziran.

Atalay Gengeç N., ve Erbil H. Y., (2010), “Polistiren ve Yüksek Yoğunluklu Polietilen Karışımından Sentezlenen Mikrodeseanlı Yüzeylerin Hidrofil Hale Getirilmesi”, 24. Ulusal Kimya Kongresi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Zonguldak, 29 Haziran - 2 Temmuz.

Cengiz U., Atalay Gengeç N., Kaya N. U., Erbil H. Y., Sarac A. S., (2011), “Süper Kritik CO₂ İçerisinde Sentezlenmiş Perfluora alkil etil metakrilat (Zonyl-TM)-Metil metakrilat (MMA) İstatiksel Kopolimerlerin Mekanik ve Termal Özellikleri Üzerine Kopolimer Serbest Hacmi Etkisinin İncelenmesi”, 25. Ulusal Kimya Kongresi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 27 Haziran-2 Temmuz.

Atalay Gengec N., and Erbil H. Y., (2011), “Large Area Micro Patterned Polymer Surfaces from Sulfonated Polystyrene and Polypropylene-Polyethylene Copolymer Blends”, NanoTRVII, Sabanci Universitesi, İstanbul, 27 Haziran-1 Temmuz.

Cengiz U., Atalay Gengec N., Kaya N. U., Erbil H. Y., Sarac A. S., (2011), “Superkritikal CO₂ de Sentezlenen Perfloro alkil etil methakrilat (Zonyl-TM) - Methyl methakrilat (MMA) İstatistiksel Kopolymerlerinin Mekanik ve Termal Özellikleri Üzerine Serbest Hacmin Etkisinin Araştırılması”, 25. National Chemistry Congress, Atatürk University, Erzurum, 27 Haziran – 2 Temmuz.

Atalay Gengeç N., Tuncer B., Erbil H. Y., (2012), “Eritrositlerin Farklı Polimer Yüzeylere Yapışması Üzerine Yüzey Özelliklerinin Etkisi”, 10. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, Koç Üniversitesi, İstanbul, 3-6 Eylül.

Atalay Gengec N., Unal H., Kılınç M., Erbil H. Y., Tekinay A. B., (2012), “Selective Adhesion and Osseointegration Supported by Micro-Structured Heterogeneous Polypropylene-Polyethylene/Polystyrene Blends”, Nanotr-VIII, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 25-29 Haziran.

Atalay Gengec N., Unal H., Erbil H. Y., Tekinay A. B., (2012), “Selective adsorption of L1210/leukocyte cells on morphologically and compositionally varied surfaces prepared from PPPE/PS blends”, Nanotr-VIII, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 25-29 Haziran.