

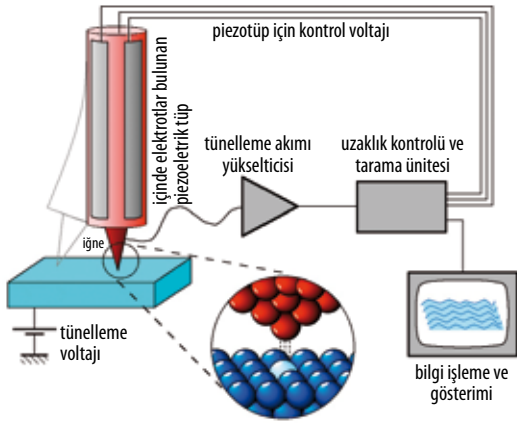
Görülmeyen Dünyalara Bakış Nanoteknolojik Görüntüleme Sistemlerinin Gelişimi



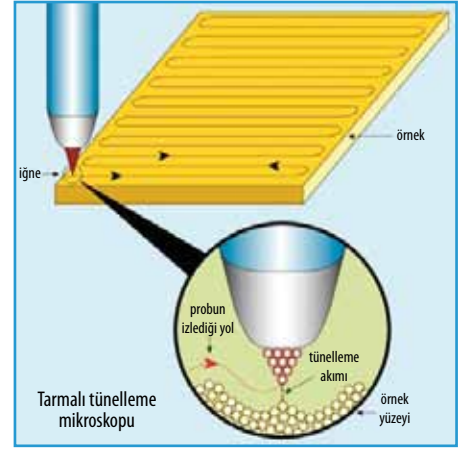
Visual Photos

Nanoteknoloji her geçen gün yeni buluşlarla günlük hayatımızda hızlı bir şekilde yer alırken gelişen görüntüleme sistemleriyle de görünmeyen dünyaların kapısını bize açıyor. Günümüzde gelişen teknolojiyle gözümüzün algılayamadığı boyutları bile görüntülemek mümkün. Bu yazımızda nanoteknolojik görüntüleme sistemlerinin tarihsel gelişimini göz önüne alarak bu yeni teknolojinin modern uygulamalarını inceleyeceğiz.

İlk geliştirilen elektron mikroskoplarından biri.



Taramalı tünelleme elektron mikroskobu (STM): Örneğin üç boyutlu görüntülenmesini sağlayan bir mikroskop türüdür. Yüzey yapısı bir iğne kullanılarak yüzeye iğne arasındaki sabit mesafede yüzeyin taramasıyla çalışılır. Son derece hassas iletken prob örneğe yakın tutulur. İğneyle yüzey arasında elektron tünelli elektirsel bir sinyal üretir. İğne gayet keskindir ve genellikle tungsten malzeme kullanılır. İğnenin ucu tek bir atomdan oluşur. İğne yavaşça örnek yüzeyini sadece bir atomun çapı uzaklığında tarar. İğne titreşim sinyalini ve uzaklığı sabit tutabilmek için yükselir ve alçalır. Böylece iğnenin dikey hareketleri kaydedilerek taranan örneğin yüzey yapısını atom - atom çalışmak mümkün hale gelir. İğnenin hareketleri örnek yüzeyini en küçük ayrıntısına kadar taramamızı sağlar. Böylece taranan yüzeyin profili çıkarılır ve bundan sonra bilgisayar, yüzeyin kontur haritasını oluşturur.



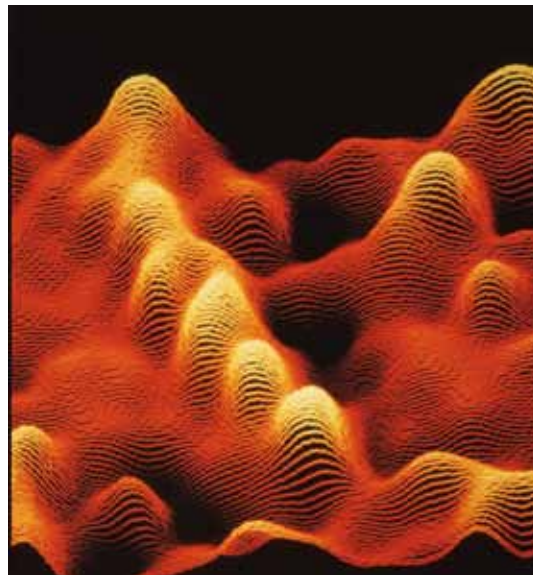
İnsanoğlunun gözle görülemeyenle ilk defa tanışması ışık mikroskobunun Antony Van Leuwenhoek tarafından 1668'de icat edilmesiyle olmuştur. Araştırmaların derinliğinin artmasıyla beraber 19. yüzyıl ortalarına gelindiğinde ışık geçirgenlik mikroskobu geliştirilmiştir. Aynı yüzyılın sonlarına doğru, florasan ve lüminesan teknolojileri yardımıyla katot ışınları artık görünür hale gelmiştir. Işınların pozitif yüklü metal bir hedefe yönlendirilmesiyle x-ışınlarını elde eden Roentgen hepimizin yakından tanıdığı görüntüleme sistemine adını vermiştir. 20. yüzyıla gelindiğinde sistemlerden istenilen sadece gözle görmek değil bunu herkesle paylaşabilmektir.

İlk görüntü 1933 yılında ultraviyole ışık ile etkileşen parlatılmış metal bir yüzeyden fotoelektronların yansınmasıyla elde edilmiştir. Bunu takip eden gelişme ise florasan görüntüleme olacaktır. Tekli katot lens sistemine yapılan elektrik yüklemesi ile elektronlar florasan ekrana düşürülerek ilk termiyonik (ısı) elektron mikroskobu oluşturulmuştur. Geçen yıllarla gelişen teknoloji, günümüz transmisyon elektron mikroskobu TEM ve taramalı elektron mikroskobu SEM gibi cihazlarının öncülleri olan çoklu katot lens sistemlerini bilim dünyasına kazandırmıştır. TEM ışık mikroskobuyla aynı temel ilkeler üzerinde çalışır ama ışın yerine elektronları kullanır. Bir ışık mikroskobuyla ne görebileceğiniz ışının dalga boyu ile sınırlıdır. TEM ışık kaynağı yerine elektronları kullanır ve TEM ile elde edilen daha düşük dalga boyları sayesinde, ışık mikroskobu ile elde edilen görüntüye oranla çözünürlüğü 1000 kat daha iyi görüntünün alınmasını mümkün kılar.

1936'da, E. W. Müller alan-elektron emisyonu icadıyla (FEM) görüntü kalitesini ve kontrastını artırmakla beraber işaretli bölgeleri büyütme imkânı sunmuştur. Bu görüntüleme cihazının çalışma prensibi tel-katod emitör ile iletken fosfor ekran arasında yüksek gerilim uygulanmasına dayanır. Hem termi-

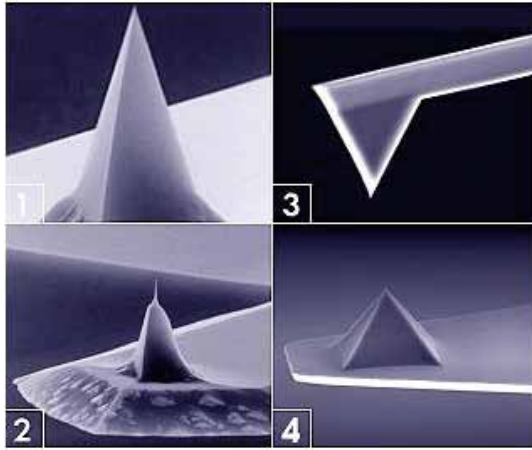
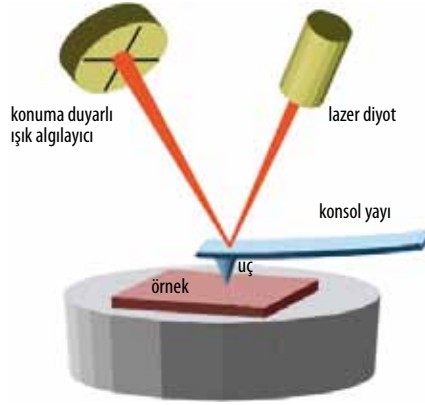
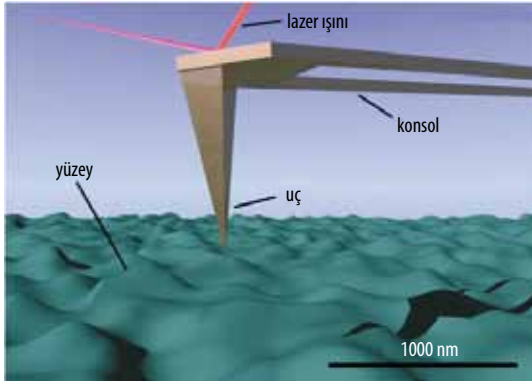
yonik hem de yüksek elektrik alan emisyonu tarafından yayılan elektronlar pozitif yüklü fosfor ekrana vakum altında düşürülür. Görüntüleme cihazının ucunun büyüklüğü yaklaşık 100 nanometre civarındadır.

Bundan 20 yıl sonra 1956'da yine E. W. Müller tarafında alan-iyon mikroskobu (FIM) icat edilir. Temelde FEM ile çalışma prensibi aynıdır. Ancak FIM'da yüksek gerilimin vakum altında uygulanması yerine iyonlaşabilen gaz ortamında uygulanması söz konusudur. Çalışma prensibi, pozitif yüklü tel uç ve negatif yüklü fosfor ekran arasında bulunan ortam gazının iyonlaşması sonucu tel ucu terk eden elektronların fosfor ekrana çarparak görüntü oluşturmasına dayanır. Genelde çevre gazı olarak 1×10^{-3} – 3×10^{-3} mbar basınca sahip Helyum ve Neon kullanılmıştır. Ucu ön tarafındaki örnek, sıvı azot sıcaklığına veya daha düşük sıcaklıklara soğutulur. Bunun için genellikle yaklaşık 20 K'de sıvılaştırılmış Hidrojen veya 2 K'de sıvılaştırılmış Helyum kullanılır. Böylece iyon projeksiyonuna düşen görüntü daha net oluşturulur.



Yüzey çalışmaları bilimin bir çok alanı için çok önemlidir. Örneğin fizikte yarı iletken malzemelerin çeşitli uygulamalarında ve mikro elektroniklerde büyük önem taşır. Ayrıca yüzeye organik molekülleri sabitlemeyi ve bunların yapılarıyla çalışmayı mümkün kılar. Örneğin günümüzde bu teknikle DNA molekülleri çalışılmıştır.

Tip (uç) yarıçapı 1 ile 10 μm aralığında değişmektedir. AFM tiplerinin ana özellikleri yüzey enerjileri ve yarıçaplarıdır. Tipin yarıçapı ve büyüklüğü, yapılan deneyler sonucunda adhezyon kuvvetlerine göre değiştiğini göstermektedir. Genelde tip ve konsol malzemesi olarak silikon kullanılmaktadır. Malzemeler genellikle atmosfer yani hava ortamında durduğu için konsol ve uç ince bir silikon oksit tabakasıyla kaplanabilir. Silikon tipin yüzey enerjisi 1 ile 1.4 N/m arasında değişmektedir. Silikon nitrat tiplerin ise yüzey enerjileri 0.7 N/m olarak bilinmektedir.



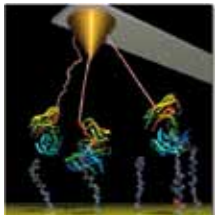
1960'larda E. W. Müller'in öğrencisi olan R. D. Young tarafından FEM ve FIM'de bulunmayan tünelleme özelliği geliştirilmiştir. İnce metal folyo ve emitör uç arasında tünelleme akım ve voltaj karakteristiğini saptamak amacıyla tungsten alan iyon emitör ucu kullanmıştır. Böylece metal yüzeylerin çıkarılacak üç boyutlu topografi haritalarının gelişmesine öncülük etmiştir. Örneğin, 1978'de H. Rohrer ve G. Binnig tarafından ince bir tarayıcı ucunun yüzeyinde oluşan elektron kümesinden yüzeyin girinti ve çıkıntılarını açığa çıkaran ve bunu bir bilgisayar ortamına aktaran bir uçlu elektron mikroskopuyla yüzey görüntüsüne ulaşılmıştır. Bu sistem taramalı tünelleme mikroskopu (STM) adını alarak, 1986 yılında Gerd Binnig & Heinrich Rohrer No-

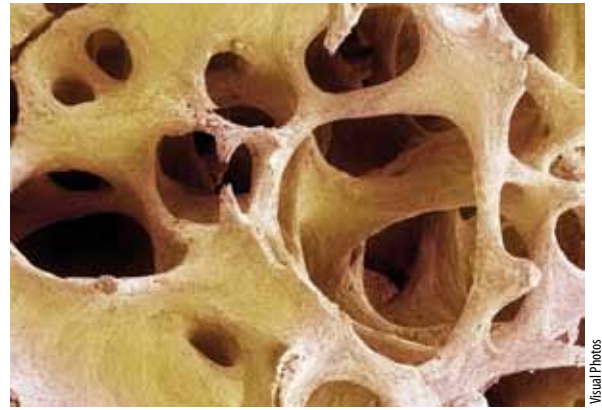
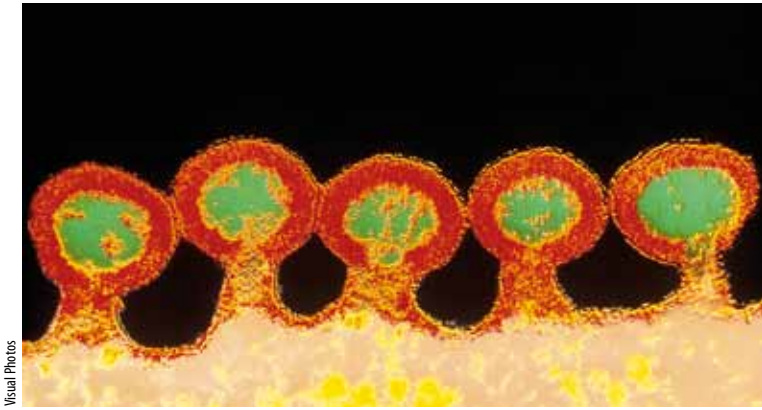
bel Fizik Ödülü'ne layık görülmüştür ve ticari ürün olarak satılmaya başlanmıştır. Tünelleme mikroskopu, 0,1 nm düzlemsel, 0,01 nm derinlik çözünürlüğünde görüntüleme yapmaya elverişlidir. Sadece yüksek vakum ortamında değil, çeşitli sıvı ve gaz ortamlarında da geniş bir sıcaklık aralığında rahatlıkla kullanılabilir. Bu sayede yüzeyin üç boyutlu yapısını gösteren yüksek çözünürlükte, radyasyona, özel merceklere, ışığa veya elektron kaynağına hiç ihtiyaç duymayan güçlü bir mikroskop kullanma avantajı yakalamış olur.

Takip eden yıllarda görüntüleme ucu olarak elmas kullanılması ile yüzeye zarar vermeden atomlar arası kuvvete duyarlı ölçümler yapılması düşünülmüştür. Tünelleme mikroskopu kullanarak sadece iletken örneklerden verimli sonuç alınabilir olması, farklı bir sistem geliştirilmesi ihtiyacını doğurmuştur. Bu düşünce, ucun yüzeye olan dik uzaklığın ölçülmesi ile atomik çözünürlükte görüntü alınması yoluyla atomik kuvvet mikroskopu (AFM) olarak adlandırılan cihazda hayat bulmuştur. Günümüzde amacına ve görüntüsü alınacak yüzeyin özelliklerine göre silikon, silikon nitrat, altın kaplı veya biyotinli, partiküllü tipin yüzeye olan dik uzaklığın ayarlanmasıyla atomik çözünürlükte görüntü alınması prensibiyle geliştirilen atomik kuvvet mikroskopu, yüzey topografisini örnek üzerinden geri besleme sinyali olarak angstrom (metrenin on milyarda biri) seviyelerine kadar görüntüleyebilmektedir. Tünelleme mikroskopundan farklı olarak en büyük avantajı analiz edilen örneğin iletken olmasını gerektirmemesidir. Diğer elektron mikroskoplarına karşı en büyük avantajı ise hava ve sıvı içerisinde örnekler bakılabilmemesinin yanında örneklerin analizden önce dehidrasyon, sabitleme ve kaplama gibi ön hazırlığa tabi tutulmasına ihtiyaç duyulmaması nedeniyle özellikle biyolojik örneklerin görüntülenmesine uygun olmasıdır. Buna karşılık, AFM ile ancak mikron boyutlarında tarama alanı yapılabilirken, milimetre mertebesinde görüntüleme alanına sahip SEM'de bu şekilde bir kısıtlama yoktur.

AFM'de farklı uçlar kullanılarak, örnek tiplerine göre üç farklı şekilde tarama yapabilmek mümkün. Temaslı ölçüm bunlardan ilk geliştirilen yöntem olup, yüzeyle fiziksel temasta bulunarak taramayı gerçekleştirir. Temastan ötürü bir sürtünme hatası ortaya çıkmaması için bu yöntem daha çok sert yüzeylerde iyi sonuç verir. Yarı temaslı ölçüm, ucun belli bir salınım yaparak kısıtlı bir temas ile tarama gerçekleştirilmesine bağlı bir yöntemdir. Yarı temaslı ölçümde, temaslı ölçüme kıyasla daha düşük kuvvet uygulanır. Temasız ölçüm yöntemin-

Atomik kuvvet mikroskopu (AFM) tipinin ucuna reaksiyon verecek moleküllü veya yüzeye bağlamak istediğimiz moleküllü takip kullanabiliriz. Örneğin yüzey aktivasyonu için uç grup olarak -OH veya istediğimiz reaksiyona göre bu molekülleri çeşitlendirebiliriz.





Şekilde transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ile çekilmiş ve renklendirilmiş HIV virüsünün fotoğrafını görmekteyiz.

Taramalı elektron mikroskobuyla çekilen ve renklendirilen görüntü kemik dokusu.

de ise ucun örnekten bir miktar uzakta tutulmasıyla arada etkin olan van der Waals kuvvetlerinden yararlanılarak geri besleme alınır. Bu yöntem ile AFM ucu hasar görmez ve yumuşak yüzeylerde daha iyi ölçüm yapılabilir.

Çeşitli alanlarda üretilen malzemelerin SEM taramalı elektron mikroskobu, akla gelebilecek birçok ürünün 10.000 kat kadar büyütülmüş görüntüsünü ve ileri teknoloji malzemelerinin yüzey görüntüsünü alabilmektedir. Piyasada ticari olarak çok çeşitli modelleri mevcuttur ve fotoğraflanmak istenilen malzemelerin eş zamanlı olarak bize görüntüsünü sağlar. Bu sayede ürettiğimiz ürünlerin veya çeşitli malzemelerin üzerindeki makro ve mikro yapıları rahatlıkla değerlendirebiliriz. Örneğin, biyomühendisliğin alt dallarından doku mühendisliği için üretilen doku iskelelerinin gözenek yapılarını veya cansız dokuları görüntüleyebiliriz. Bunun yanı sıra renklendirilmiş SEM görüntüleri sayesinde birçok dokuyu hızlıca ve rahatlıkla inceleyebiliriz.

TEM mikroskoplarının uygulama alanlarına hücrelerin ayrıntılı görüntülenmesi veya farklı malzemelerin yaklaşık atomik seviyelerde görüntülerinin alınması örnek olarak verilebilir. TEM yönteminin sağlamış olduğu yüksek çözünürlüğün getirdiği olanaklar, hem tıp ve biyoloji araştırmalarında hem de malzeme bilimi araştırmalarında çok çeşitli şekillerde kullanılmaktadır.

Bu yeni görüntüleme sistemleri sadece nano - biyoteknoloji alanında değil, malzeme bilimi alanında da kullanılan önemli sistemlerdir. Örneğin AFM, malzeme yüzeyini atomik boyutta haritalandırarak geliştirilen yeni bir malzemenin veya seri üretimdeki malzeme yüzeyinin kalite kontrol amacıyla en ufak ayrıntılarına kadar görüntülenmesi ile bu tür yüksek teknoloji malzemelerinin kalite kontrolü de daha hatasız bir biçimde sağlanır.

AFM teknolojisindeki gelişmeler, bu cihazın örneğin faz modu ile yüzeydeki değişik yapıdaki mo-

lekülleri ayırt etmek, farklı türdeki uygulamalar için manyetik ölçümler, elektrik ölçümleri gibi farklı teknikler ile atomik ölçekte analiz yapmak mümkündür. Ayrıca biyolojik amaçlı uygulamalar için geliştirilmiş olan bio-AFM çeşitleriyle, hücre biyolojisinin 50 nm altında bir çözünürlükte ve biyomalzemelerin ise 2 nm altında bir çözünürlükte görüntülenebilmesi mümkün hale gelmiştir.

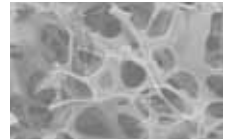
Bu görüntüleme cihazlarının desenleme sistemi olarak da kullanılması mümkündür. Nanolitografi (nano baskılama) yöntemlerinden birisi, AFM uçlarına yüksek kuvvet uygulanması ile yüzeyde desen elde edilmesi şeklindedir. Böylece isteğe göre farklı geometrik şekillerde, mikro ve nano yapılar oluşturulabilmektedir. Bu yapılar sayesinde, çoklu dizi (array) teknolojileri ve tek yongada laboratuvar (lab on a chip) olarak adlandırılan yeni teknolojilerin kapılarını açmaktadır. Bu teknolojiler sayesinde tek bir analiz yongası ile bir çok molekülün tayin edildiği tanı kitleri üretmek mümkün hale gelmiştir. AFM ucuyla açılan her bir kuyucuğa, farklı moleküllü tanıyan veya özel bir moleküle duyarlı tanı molekülleri yerleştirilerek elde edilebilecek bu tanı kitleri sayesinde küçük bir kan damlasıyla, kanda aranan birkaç proteini veya maddeyi aynı anda dakikalar içinde nicel olarak tayin etmek mümkün hale gelecektir.

Bu yazımızda sizlerle beraber nanoteknolojik görüntüleme sistemlerinin ışık mikroskobundan çıkan gelişim sürecini inceledik. Ayrıca günümüzde gözün bile algılayamadığı hücre içi detaylardan tutun bir çipin kıvrımlarına kadar görüntüleme yapabileceğimiz noktalara geldiğimizi paylaştık. Nano teknolojik görüntüleme sistemleri gelişen teknolojiyle hızla gelişmekte ve bize büyük kolaylıklar sunmaya devam etmektedir.

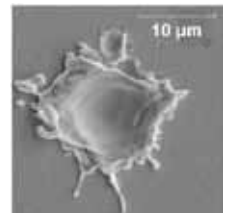
Kaynaklar

Murr, L. E., "Imaging systems and materials characterization." *Materials Characterization*, Cilt 60, Sayı 5, Mayıs 2009, Sf. 397-414.

Nader ve Karthik Laxminarayana, "A review of atomic force microscopy imaging systems: application to molecular metrology and biological sciences." *Mechatronics*, Cilt 14, Sayı 8, Ekim 2004, Sf. 907-945.



Taramalı elektron mikroskobuyla çekilen bu görüntü, üniversitemiz bünyesinde doku mühendisliği alanında geliştirdiğimiz kemik dokusunu büyüme amaçlı sentezlediğimiz doku iskelesidir. Ürettiğimiz malzemelerin dokularla olan benzerliğini gördükten sonra ki aşamalarda hücre ekimlerini yaparak uygun şartlarda doku büyütüyoruz ve daha sonra gene bu teknolojik görüntüleme sistemleri sayesinde ürettiğimiz dokuların fotoğraflarını gerçek dokuların fotoğraflarıyla karşılaştırma imkanı yakalıyoruz.



Şekilde metal yüzeyinde mikron seviyesinde meydana gelmiş bir hata gösterilmektedir. Malzeme üzerinde meydana gelebilecek en küçük ayrıntıya kadar görüntüleme yapıp böylece yüzeyin pürüzsüzlüğünden emin olabiliyoruz.