

**BAZI FURFURAL TÜREVLERİNİN (AMİNOMETİL)POLİSTİREN'E
TAKILMASI VE ENZİM İMMOBİLİZASYON ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Zehra NehirBAĞCACIER

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MART 2013

ANKARA

Zehra Nehir BAĞCACIER tarafından hazırlanan “BAZI FURFURAL TÜREVLERİNİN (AMİNOMETİL)POLİSTRENE TAKILMASI VE ENZİM İMMOBİLİZASYON ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ” adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Nurşen SARI
Tez Danışmanı, Kimya Anabilim Dalı

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

Prof. Dr. Perihan GÜRKAN
Kimya Anabilim Dalı, G.Ü.

Prof. Dr. Yüksel TUFAN
Kimya Anabilim Dalı, G.Ü.

Doç. Dr. Nurşen SARI
Kimya Anabilim Dalı, G.Ü.

Tez Savunma Tarihi:20/03/2013

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

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

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

Zehra Nehir BAĞCACIER

**BAZI FURFURAL TÜREVLERİNİN (AMİNOMETİL)POLİSTREN'E
TAKILMASI VE ENZİM İMMOBİLİZASYON ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Zehra Nehir BAĞCACIER

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Mart 2013**

ÖZET

Bu çalışmada, öncelikle, (amimometil)polistiren (APS) ile Furfural (Fur), 5-metilfurfural (5-Fur-CH₃) ve 5-nitrofurfural'ın (5-Fur-NO₂), katılma-ayrılma reaksiyonu sonucunda üç adet yeni Schiff bazı içeren polimerler sentezlendi. Modifiye olmuş tüm polimerlerin yapısı FT-IR, GPC ve HPLC ile spektral analizleri yapıldığı gibiyüzey yapısı SEM-EDX analizi ile incelendi.

Daha sonra, (APS-Fur), (APS-Fur-CH₃) ve (APS-Fur-NO₂) kodlu modifiye olmuş polimerler, Glükoz oksidaz (GO_x) enzimi ile immobilize edildi. Serbest ve immobilize GO_x üzerine sıcaklık, pH, tekrar kullanım, depolama kararlılığı gibi parametrelerin etkisi araştırıldı. (APS-Fur) ve (APS-Fur-CH₃)'e immobilize edilen enzim için, iki adet optimum pH belirlenmiş olup, bunlar sırası ile 6,0 ve 8,0 dir. (APS-Fur-NO₂)'ya immobilize edilen enzimin optimum pH sı ise 4,0 olarak bulundu. (APS-Fur)'e immobilize edilen enzim hariç, diğer tüm polimer desteklerine tutturulan enzimin optimum sıcaklığı 80 °C olarak belirlenirken bu polimer için optimum sıcaklık 60 °C olarak belirlendi.

K_m ve V_{mak} değerleri her bir polimer desteğine tutturulan enzim için hesaplanarak, (APS-Fur) desteği için pH= 8'de 0,8245 mM ve 0,4683 mM.dak⁻¹ ve pH= 6'da 0,3740 mM ve 0,3860 mM.dak⁻¹, (APS-Fur-CH₃) desteği için pH=

8’de 0,1401 mM ve 0,2348 mM.dak⁻¹ vepH= 6’da 0,4402 mM ve 0,2817mM.dak⁻¹ ve (APS-Fur-NO₂)desteği için pH= 4’de 0,0830 mM ve 0,3032 mM.dak⁻¹olarak hesaplandı.

Bilim Kodu : 201.1.005

Anahtar Kelimeler : Schiff bazı, (aminometil)polisitiren, modifiye polimer, immobilizasyon ve glüköz oksidaz

Sayfa Adedi : 56

Tez Yöneticisi : Doç. Dr. Nurşen SARI

**POLY(STYRENE)-ATTACHED SOME FURFURAL AND THEIR
DERIVATIVES AND IMMOBILIZATION OF ENZYME**

(M.Sc. Thesis)

Zehra Nehir BAĞCACIER

**GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

March 2013

ABSTRACT

Polymer-bound Schiff-base ligands were prepared from (aminomethyl)polystyrene (APS) and furfural (Fur), 5-nitrofurfural (5-NO-Fur) and 5-methylfurfural (5-CH₃-Fur). Firstly, all of the modified polymers were characterized on the basis of FT-IR, GPC and HPLC spectral analyses studies. The changes in the surface structure of modified polymers were examined with SEM-EDX analysis.

After that, Glucose oxidase were immobilized onto (APS), furfural (Fur), 5-nitrofurfural (5-NO-Fur) and 5-methylfurfural (5-CH₃-Fur) modified polymer. The influence of temperature, pH and reusability, storage capacity on the free and immobilized Glucose oxidase were investigated. Kinetic parameters were calculated as (APS-Fur) support to pH= 8 at 0,8245 mM and 0,4683 mM.dak⁻¹ and pH= 6 at 0,3740 mM ve 0,3860mM.dak⁻¹, (APS-Fur-CH₃) support to pH= 8 at 0,1401 mM and 0,2348 mM.dak⁻¹ and pH= 6 at 0,4402 mM and 0,2817mM.dak⁻¹ and (APS-Fur-NO₂) support to pH= 4 at 0,0830 mM and 0,3032 mM.dak⁻¹ calculated as a.

Science code : 201.1.005

**Key Words : Polymer, Schiff-base, (aminomethyl)polystyrene, modified
polymer, immobilization, glucos oxiadase**

Number of pages : 56

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. NurşenSarı

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca gerek bilgisi gerekse tecrübesi ile beni yalnız bırakmayan ve tecrübelerini benden esirgemeyen, değerli hocam, tez danışmanım Doç. Dr. Nurşen SARI' ya teşekkürlerimi sunuyorum.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca yanımda bulunan çalışma arkadaşlarım Seda KAYHAN ve Nurbanu ÖZDEN'e teşekkür ederim.

Maddi ve manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen ve her zaman yanımda olan sevgili annem Fazilet BAĞCACIER, babam Kadir BAĞCACIER ve canım ablam Tuna BAĞCACIER'e sonsuz teşekkür ve minnetlerimi iletiyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	ix
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1.Schiff Bazları.....	3
2.2. Schiff Bazı İçeren Polimerler.....	4
2.3. Enzimler ve Enzim İmmobilizasyonu.....	11
2.3.1. Enzim.....	11
2.3.2. Glukoz oksidaz enzimi.....	13
2.3.3. Enzim immobilizasyonu.....	14
2.3.4. Enzimlerin immobilizasyon yöntemleri.....	15
3. MATERYAL VE METOT.....	20
3.1. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler, Aletler, Cihazlar ve Teknikler.....	20
3.1.1. Kimyasal maddeler.....	20
3.1.2. pH metre.....	20
3.1.3. Çalkalamalı su banyosu.....	20
3.1.4. SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu).....	21

Sayfa

3.1.5. Ultraviyole-görünür bölge spektrumları.....	21
3.1.6. GPC (Büyükölçek ayırma).....	21
4. DENEYSEL KISIM.....	22
4.1. Polimerik Schiff Bazlarının Hazırlanması (Genel Yöntem).....	22
4.1.1. (APS-Fur) polimerinin sentezi.....	22
4.1.2. (APS-Fur-CH ₃) polimerinin sentezi.....	22
4.1.3. (APS-Fur-NO ₂) polimerinin sentezi.....	23
4.2. (APS-Fur), (APS-Fur-CH ₃) ve (APS-Fur-NO ₂) Polimerlerinin İmmobilizasyon İşlemleri.....	23
4.2.1. Enzimin İmmobilizasyonu.....	23
4.2.2. Serbest β -glukoz oksidaz enziminin aktifliğine pH etkisi.....	23
4.2.3. İmmobilize edilen β -glukoz oksidazın aktifliğine pH etkisi.....	23
4.2.4. Serbest β -glukoz oksidaz enziminin aktifliğinesıcaklığın etkisi.....	24
4.2.5. İmmobilize edilen β -glukoz oksidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi.....	24
4.2.6. Serbest β -glukoz oksidaz enziminin aktifliğine substratderişiminin etkisi.....	24
4.2.7. İmmobilize edilen β -glukoz oksidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisi.....	24
4.2.8. İmmobilize edilen β -glukoz oksidazın tekrar kullanabilirliği.....	25
4.2.9. İmmobilizasyon işlemlerinde kullanılan tamponların hazırlanışı....	25
5. SONUÇLAR.....	27
5.1. Schiff Bazı Takılı Polimerin Karakterizasyonu.....	27
5.1.1 Reaksiyon Başlangıcında kullanılan (Aminometil)polistiren (APS).....	28

Sayfa

5.1.2 (APS-Fur) Polimeri.....	30
5.1.3 (APS-Fur-CH ₃) Polimeri.....	33
5.1.4 (APS-Fur-NO ₂) Polimeri.....	35
5.2. İmmobilizasyon Üzerine Çalışmalar.....	37
5.2.1. İmmobilize edilen β -glukozoksidazın aktifliğine pH etkisi.....	37
5.2.2.İmmobilize edilen β -glukozoksidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi.....	37
5.2.3.İmmobilize edilen β -glukozoksidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisi.....	39
5.2.4. İmmobilize edilen β - glukoz oksidazın tekrar kullanılabilirliği.....	43
5.2.5. İmmobilize edilen β - glukoz oksidazın depolama kararlılığı.....	45
6. SONUÇLARINDEĞERLENDİRİLMESİ.....	47
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	56

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 5.1. İmmobilize ve serbest enzim için kinetik parametreler.....	43
---	----

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Schiff bazının oluşum mekanizması.....	4
Şekil 2.2. (PSOPD) ve (PSHQAD) kodlu Schiff bazlarının sentezi.....	5
Şekil 2.3. Dört dişli ligant ve o'nun Co(II) kompleksinin sentez rotası.....	6
Şekil 2.4. Poli (2-aminoetil) akrilamid'in hazırlanışı.....	7
Şekil 2.5. Porhibrin şelatın yapısı.....	8
Şekil 2.6. HY-Zeolit üzerindeki bağırsız ATPSSal Schiff bazı (A) ve HY-OTS zeolit üzerindeki kısmi modifiye olmuş ATPSSal bağırsız Schiff bazı (B).....	8
Şekil 2.7 İnorganik yüzeye bağlı şelat grupları için öngörülen yapılar.....	9
Şekil 2.8. 2-tert-bütül-4-metil-6{(E)-[(2S)-1-(1-arilmetil)pirolidinil]imino} metilfenolden hazırlanan Schiff bazı-Pd kompleksinin yapısı.....	9
Şekil 2.9. Sentezlenen polimer içindeki tiazolin (A) ve (B) formu.....	10
Şekil 2.10. 1,4-bis(2'-hidroksifenilazometin)kompleksinin yapısı.....	10
Şekil 2.11. (a) Stiren ve çeşitli çapraz bağlayıcılar (b) Polistirenin klorometilasyonu.....	11
Şekil 2.12. Glukoz oksidaz enziminin elde edildiği küfler.....	13
Şekil 2.13. Kovalent bağlanma ile immobilizasyonun gösterimi.....	16
Şekil 2.14. Çapraz bağlanma ile immobilizasyonun gösterimi.....	16
Şekil 2.15. Adsorpsiyon yöntemi ile immobilizasyonun gösterimi.....	17
Şekil 2.16. Enzimin bir taşıyıcı içerisinde tutuklanması.....	18
Şekil 2.17. Enzimin bir kapsül içinde hapsedilmesi.....	19
Şekil 5.1. Sentezlenen polimerlerin katı haldeki fotoğrafları.....	27
Şekil 5.2. (APS) polimerinin FTIR spektrumu.....	29

Şekil	Sayfa
Şekil 5.3. (APS) polimerinin EDS spektrumu.....	30
Şekil 5.4. (APS-Fur) polimerinin FTIR spektrumu.....	31
Şekil 5.5. (APS-Fur) polimerinin EDS spektrumu.....	32
Şekil 5.6. (APS-Fur-CH ₃) polimerinin FTIR spektrumu.....	33
Şekil 5.7. (APS-Fur-CH ₃) polimerinin EDS spektrumu.....	34
Şekil 5.8. (APS-Fur-NO ₂) polimerinin FTIR spektrumu.....	35
Şekil 5.9. (APS-Fur-NO ₂) polimerinin EDS spektrumu.....	36
Şekil 5.10.(APS-Fur), (APS-Fur-CH ₃), (APS-Fur-NO ₂) kodlu polimerlere ait optimum pH grafiği.....	37
Şekil 5.11. (APS-Fur) kodlu polimerin pH= 6 ve pH=8 deki optimum sıcaklık grafiği ve çalışılan sıcaklıklarda oluşan ürüne ait görüntüleri.....	38
Şekil 5.12. (APS-Fur) kodlu polimer için pH=4, (APS-Fur-CH ₃) kodlu polimer için pH=6 deki optimum sıcaklık grafikleri ve çalışılan sıcaklıklarda oluşan ürüne ait görüntüleri.....	38
Şekil 5.13. (APS-Fur-CH ₃) kodlu polimerin pH deki optimum sıcaklık grafikleri ve çalışılan sıcaklıklarda oluşan ürüne ait görüntüleri.....	39
Şekil 5.14. (APS-Fur) kodlu polimerin pH= 8, t= 80 °C (A) ve pH= 6, t= 60 °C (B) deki Lineweaver-Burk grafiği.....	40
Şekil 5.15. (APS-Fur-CH ₃) kodlu polimerin pH= 6, t= 80 °C (A) ve pH= 8, t= 80 °C (B) deki Lineweaver-Burk grafiği.....	41
Şekil 5.16. (APS-Fur-NO ₂) kodlu polimerin pH= 4, t= 80 °C deki Lineweaver-Burk grafiği.....	42
Şekil 5.17. (APS-Fur-NO ₂) kodlu polimerin pH= 4, t= 80 °C deki tekrar kullanılabilirlik grafiği.....	44
Şekil 5.18. (APS-Fur) kodlu polimerin pH= 8, t= 80 °C ve pH= 6, t= 60 °C deki tekrar kullanılabilirlik grafiği.....	44
Şekil 5.19. (APS-Fur-CH ₃) kodlu polimerin pH= 6, t= 80 °C ve pH= 8, t= 80 °C deki tekrar kullanılabilirlik grafiği.....	45

Şekil	Sayfa
Şekil 5.20. (APS-Fur) kodlu polimerin depolama kararlılığı.....	45
Şekil 5.21. (APS-Fur-CH ₃) kodlu polimerin depolama kararlılığı.....	46
Şekil 5.22. (APS-Fur-NO ₂) kodlu polimerin depolama kararlılığı.....	46
Şekil 6.1. Modifiye edilmiş polimerler için ön görülen yapılar.....	47
Şekil 6.2. Glükoz oksidazın iki boyutlu görünümü.....	49
Şekil 6.3. Glükoz oksidaz ve polimer arasında ön görülen hidrojen bağın oluşumu.....	49

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 5.1. (APS-Fur) için alınan büyüklükçe ayırma (GPC) spektrumunun bilgisayar ekranındaki görüntüsü.....	28
Resim 5.2. (APS) polimerinin SEM (120 ve 500 büyültmeli) görüntüsü.....	29
Resim 5.3. (APS-Fur) polimerinin SEM (120 ve 500 büyültmeli) görüntüsü.....	31
Resim 5.4. (APS-Fur-CH ₃) polimerinin SEM (120 ve 500 büyültmeli) görüntüsü ..	33
Resim 5.5. (APS-Fur-NO ₂) polimerinin SEM (120 ve 500 büyültmeli) görüntüsü. ..	35

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

ν	Gerilme titreşimi
λ	Dalga Boyu
β	Beta
K_m	Michaelis-Menten sabiti
V_{mak}	Maksimum hız

Kısaltmalar

Açıklama

GPC	Jel Geçirgenlik Kromatografisi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
UV-GB	Ultra Viyole-Görünür Bölge
IR	Infra Red (Kırmızı ötesi)
TGA	Termogravimetrik Analiz
SEM-EDX	Taramalı Elektron Mikroskopu- Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi
APS	(Aminometil)polistiren
XRD	X Işını Kırınımı
Fur	Furfural
Fur-CH ₃	5-metilfurfural
Fur-NO ₂	5-nitrofurfural

1. GİRİŞ

Çeşitli fonksiyonel gruplar içeren polimerlerin sentezi ve uygulamaları ile ilgili çalışmaların, son yıllarda hızla çeşitlenerek arttığı görülmektedir. Özellikle koordinasyon polimerlerinin mekanik ve termal dayanıklılığı artırdığı, katalitik etki gösterdiği su vb. kirliliğinin kontrol edilebilmesi ve biyoinorganik sistemlerde kullanılabilmesiyle birlikte, bu tür polimerlerin sentezi ve karakterizasyonu üzerine çalışmalar dikkat çekici olmaya başlanmıştır.

Metal içeren ve radikalik olarak polimerleşmesi sağlanan vinil ferrosenin sentezlenmesi ile meydana gelen ilk koordinasyon polimerinden sonra, metal içeren polimerlerin sentezi ile ilgili çalışmalar günümüze kadar devam etmektedir [6].

İçinde bulunduğumuz yıllar değerlendirildiğinde Schiff bazı takılı polimerler ile ilgili sentez ve karakterizasyonların devam ettiği, hatta koordinasyon polimeri adı altında çalışmaların yaygınlaştığı görülmektedir [2].

Kaynak araştırmaları sonucunda, (aminometil)polistirene Furfural (Fur), 5-metilfurfural (Fur-CH₃), 5-nitrofurfural (Fur-NO₂)'in takılması sonucunda oluşan modifiye edilmiş polimerlerin immobilizasyon özelliklerinin çalışılmasının dikkat çekici olabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla (aminometil)polistirene, Furfural ve türevleri takılı polimerler sentezlenerek, hem -CH=N- grubundaki N atomunun, hemde furan türevlerinde bulunan oksijenin enzimler ile hidrojen bağı yapabilme kabiliyetinden dolayı glükoz oksidaz enziminin immobilizasyon özelliklerinin araştırılması hedeflenmiştir.

Tezin ilk bölümünde, (aminometil)polistiren ve Furfural (Fur), 5-metilfurfural (Fur-CH₃), 5-nitrofurfural (Fur-NO₂)in katılma-ayrılma reaksiyonu sonucunda Schiff bazı içeren polimerler sentezlenmiş, daha sonra glükoz oksidaz enzimi immobilize edilmiştir. Serbest ve immobilize enzimin aktifliğine etki eden sıcaklık, pH, substrat

konsantrasyonu, depolama süresi gibi çeşitli parametrelerin etkisi ve immobilize enzimin tekrar kullanılabilirliği incelenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

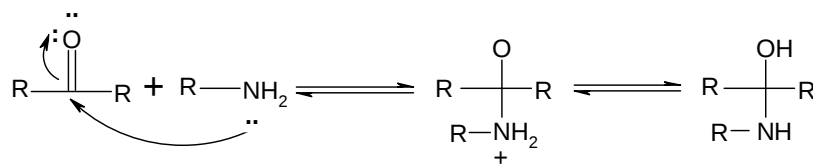
2.1. Schiff Bazları

İlk defa Alman kimyacı Hugo Schiff tarafından 1869'te sentezlenen, primer amin ve aktif karbonil grubunun kondenzasyonundan elde edilen, böylece içerisinde azometin grubu bulunduran bileşiklere Schiff bazları denir [1]. Schiff bazları iyi bir azot donör ligandır. Donör ligantlar koordinasyon bileşiği oluşumunda metal iyonuna bir veya daha fazla elektron çifti vermektedir [2].

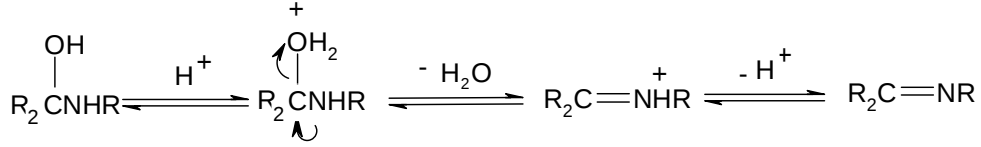
Ligant olarak, koordinasyon bileşiklerinin sentezinde kullanılan Schiff bazların sentezi ve uygulamaları ile ilgili birçok bilim insanının çalışmaları mevcuttur. Schiff bazları yapılarında bulundurdıkları atom ve atom gruplarından dolayı renklidirler. Bu nedenle boyacılık endüstrisinde özellikle tekstil boyacılığında pigment olarak kullanılmaktadır [3]. Aromatik aminlerin Schiff bazları bazı reaksiyonlarda oksijen taşıyıcı olarak polimer teknolojisinde, antistatik madde olarak kullanılmaktadır [4]. Schiff bazı komplekslerinin antikanser aktivite özellik göstermesinden dolayı tıp dünyasındaki önemi giderek artmaktadır ve kanserle mücadelede reaktif olarak kullanılabilmesi üzerine araştırmalar sürmektedir [5].

Schiff bazı oluşum mekanizmasının, iki basamaktan oluştuğu bilinmektedir. Birinci basamakta, nükleofilik özelliği olan amin, karbonil karbonuna katılır. Arkasından azot bir protonunu kaybeder bu sırada oksijene bir proton bağlanır. İkinci basamakta ise, protonlanan -OH grubu ortamdan su olarak uzaklaşır [6].

1. Basamak katılma



2. Basamak ayrılma



Şekil 2.1. Schiff bazının oluşum mekanizması

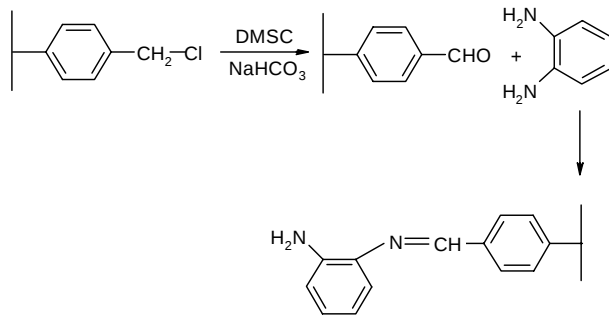
Schiff bazı oluşumunda salisilaldehit, o-naftaldehit ve piridin-2-aldehitlerin yaygın olarak kullanılmasının nedeni, sentez sırasında kararlı ürünler oluşturabilmesidir [7,8]. Ancak bunun yanısıra tiyofen aldehit furfural, pirol aldehit gibi beş halkalı aromatik aldehit veya aminlerin kullanılarak Schiff bazların sentezi üzerine çalışmaların yapıldığı görülmektedir [9,10]. Kaynaklar incelendiğinde furfuralın deney koşullarında farklı moleküllerle sentezinin çok yaygın olmadığı görülmektedir. Bunun nedeni furfuralın hava oksijeni ile polimerleşme özelliğine sahip olmasıdır. Bunun yanısıra, furfuralın endüstri alanında yaygın bir şekilde kullanılması farklı bilim alanları için dikkat çeken aldehit olmuştur. Furfural ve türevleri, fiberglas kompozitlerin yapımında [11], plastik yalıtım köpüklerin elde edilmesinde [11] kullanılması nedeniyle endüstri alanında büyük bir öneme sahiptir. Furfuralın, doymuş hidrokarbonların doymamış hidrokarbonlardan ayırabilmesi gibi seçici bir çözücü özellik göstermesinden dolayı, petrolün rafine edilmesi sırasında kullanılmaktadır [12]. Furfural, fenol ve formaldehit gibi aromatik bileşikler ile katılma-ayırılma tepkimeleri vererek farklı özelliklere sahip reçineleri oluşturabilmektedirler[13].

2.2. Schiff Bazı İçeren Polimerler

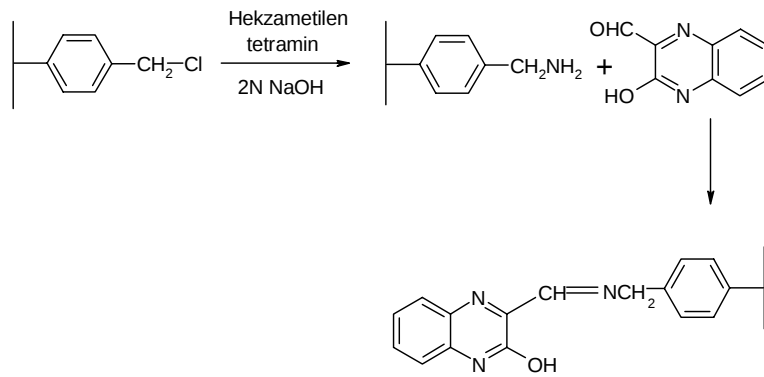
Schiff bazı takılı polimerler ile ilgili ilk çalışmalar 1960'lı yıllarda Delman ve arkadaşları tarafından yapılmıştır [14]. Ana ve yan zincirlerinde azometin (-CH=N-) bulunduran polimerlerin farklı reaksiyonlar göstermesinden dolayı son yıllarda kimyacılar tarafından büyük bir ilgi ile araştırılmaktadır.

Schiff bazı içeren polimerler metallerle kompleks oluşturma yeteneğine sahip gruplar içerdiklerinden, polimer şelatların oluşumunda metallerin ve diğer kompleks oluşturmucu maddelerin ayrılmasında kullanılmaktadır [15].

Suja N.R ve Yusuff M. isimli araştırmacılar Polistiren destekli Schiff bazları olan ve aşağıda formülleri verilen, PSOPD ve PSHQAD kodlu ürünleri sentezlemişlerdir [16].



PSOPD



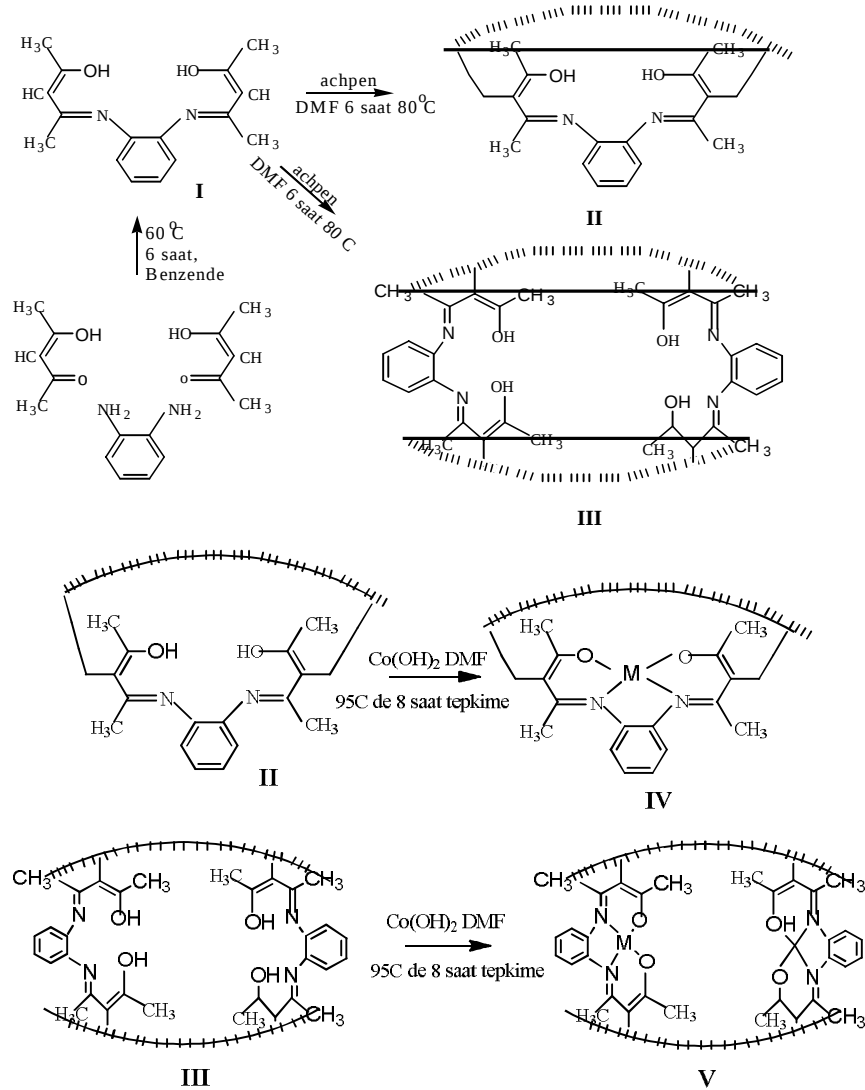
PSHQAD

Şekil 2.2. (PSOPD) ve (PSHQAD) kodlu Schiff bazlarının sentezi

Bunun için çıkış maddesi olarak klorometilli polistiren den faydalanarak aldehit takılı polistireni elde etmişlerdir. Böylece Schiff bazı içeren polimeri (PSOPD)

hazırlamak için o-fenilendiamin ile katılma-ayrılma tepkimesini gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.2).

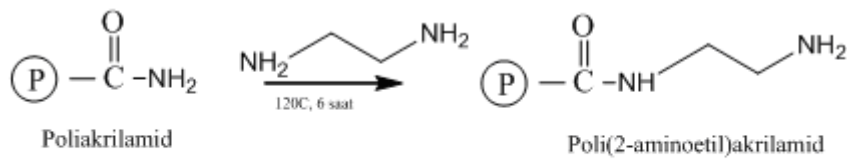
PSHQAD kodlu Schiff bazı içeren polimeri sentezlemek için amin takılı polimeri sentezledikten sonra, 3-hidroksikinoksalin-2-karboksaldehit ile katılma ayrılma tepkimesi ile ürünü elde etmişlerdir (Şekil 2.2). Daha sonra kobalt(II), nikel(II), bakır(II) iyonların PSOPD ve PSHQAD kodlu ürünler ile komplekslerini sentezlemişlerdir. Sentezlenen tüm kompleksleri karakterize eden araştırmacılar, mümkün geometrik yapıyı önermek için element analizi, FT-IR, TGA, yüzey analizlerinin yanı sıra magnetik ölçümdende faydalanmışlardır [16].



Şekil 2.3. Dört dişli ligant ve o'nun Co(II) kompleksinin sentez rotası

Dört dişli ligant olan, N,N'-bis(asetilasetato)o-fenilendiamin Schiff bazı-Cobalt (II) kompleksini polimere immobilize eden Gupta ve arkadaşları polimerizasyon için stirenden faydalanmışlardır (Şekil 2.3). Önce N,N'-bis(asetilasetato)o-fenilendiamin Schiff bazını daha sonra bu Schiff bazın Co(II) kompleksini sentezleyerek polimere immobilize etmişlerdir. Karakterizasyon sonucunda hem metalli hem de metalsiz iki ana ürünün meydana geldiğini belirtmişlerdir (Şekil II, III). Polimer tabanlı Schiff bazı-Cobalt(II) kompleksinin katalitik aktivitesini araştıran Gupta ve arkadaşları H₂O₂'in bozunma hızının hem heterojen hem de homogen ortamda aynı olduğunu ifade etmişleridir [17].

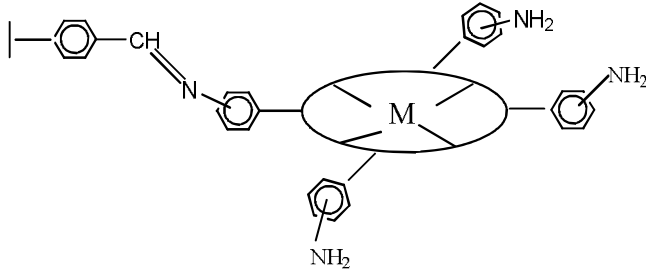
Radhakrishnan T. ve arkadaşları poli(akrilamid)'i hazırladıktan sonra amid yapısının varlığını ispatlamak için ninhidrinden faydalanmışlardır. Amid ve ninhidrin arasında olan ürünün mavi rengi polimer yapısında amidin varlığını göstermiştir. Poli(2-aminoetil)akrilamidi hazırlayan araştırmacılar azo türevlerini içeren sekiz farklı aldehit ile reaksiyona sokmuşlar böylece Schiff bazı içeren polimeri sentezlemişlerdir. Polimer tabanlı Schiff bazlarının Mn(II), Fe(III), Co(II), Cu(II), Ni(II) ve Zn(II) iyonlarını bulunduğu ortamdan tutulma kapasitelerini araştırmışlardır. Radhakrishnan T. ve arkadaşları, tutunma kapasitesinin Fe(III) > Cu(II) > Ni(II) ~ Mn(II) ~ Co(II) > Zn(II) şeklinde artan bir sırada olduğunu belirlemişlerdir [18].



Şekil 2.4. Poli(2-aminoetil)akrilamid'in hazırlanışı

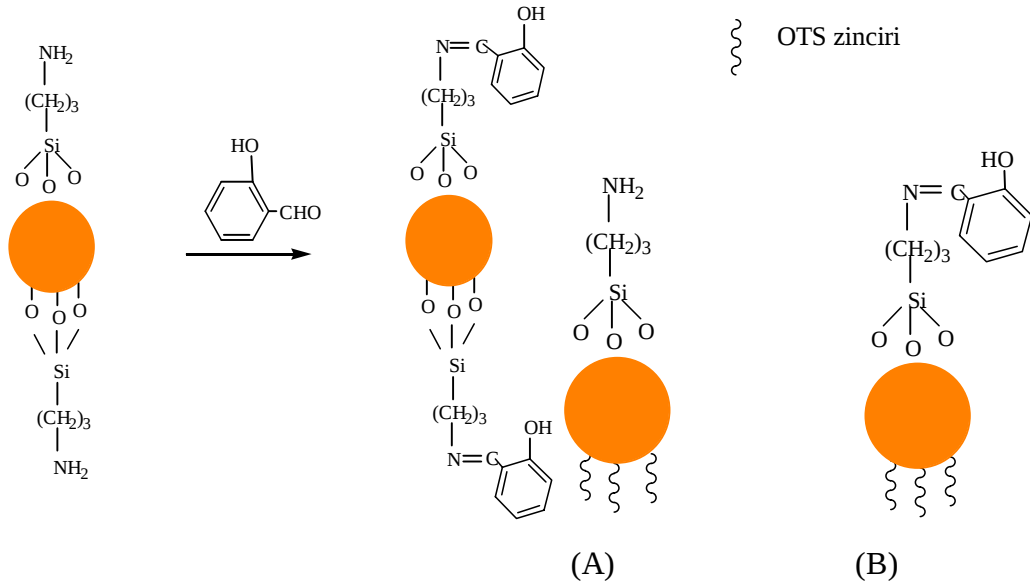
Metaloporphrinlerin kataliz ve biyolojik materyalde kullanımlarının önem kazanması nedeniyle, Tessymol Mathew ve Sunny Kuriakose polistiren destekli

porhibrinleri Schiff bazı oluşturarak sentezlemişler ve Elektron Spin Rezonans ile yapısını araştırmışlardır (Şekil 2.5). Daha sonra Bakır(II) ve Gümüş(II) iyonlarını ile komplekslerini sentezleyerek karakterize etmişlerdir [19].



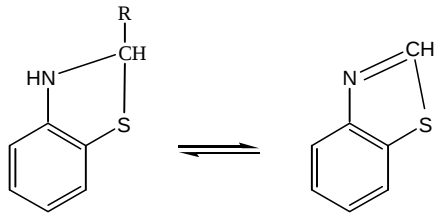
Şekil 2.5. Porhibrin şelatın yapısı

Y-zeolit'te bulunan $-NH_2$ grubu üzerine (şekil 2.6) 2-hidroksi benzaldehit'in kondenzasyonu sonucunda Schiff bazının sentezlendiğini (şekil 6(b)) spektroskopik yöntemler ile açıklayan Sahar ve arkadaşları 1-propenin oksidasyonunun 373 K de O_2 ortamına gerek kalmadan gerçekleştiğini açıklamışlardır [20].



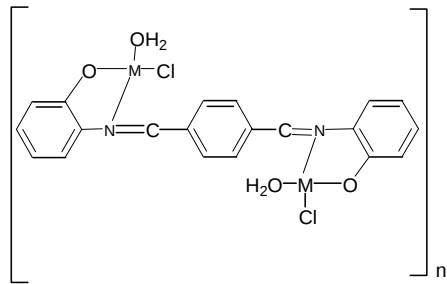
Şekil 2.6.HY-Zeolit üzerindeki bagsız ATPSSal Schiff bazı (A) ve HY-OTS zeolit üzerinde kısmi modifiye olmuş ATPSSal bagsız Schiff bazı (B)

El-Sonbati ve arkadaşları 2-sübstitüe anilin ve sinnamaldehit ile Cu(II), Pd(II), UO₂(II), Rh(III) ve Pd(IV) den hazırlanan polimerlerin IR, elektronik, ¹H ve ¹³C-NMR spektrumu ile beraber elementel analiz, termogravimetrik ve manyetik duyarlılık ölçümlerini yaparak, koordinasyon sayılarını belirlemişlerdir [23]. Bu araştırmacılar çalıştıkları polimer içerisinde hem tioazolin hem de Schiff bazı formunun (Şekil 2.9) birlikte olduğunu ifade etmişlerdir.



Şekil 2.9.Sentezlenen polimer içindeki tiazolin (A) ve Schiff bazı (B) formu

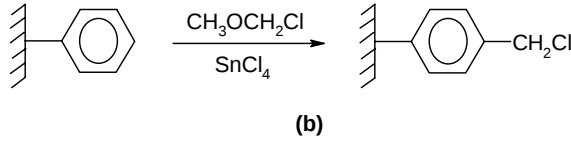
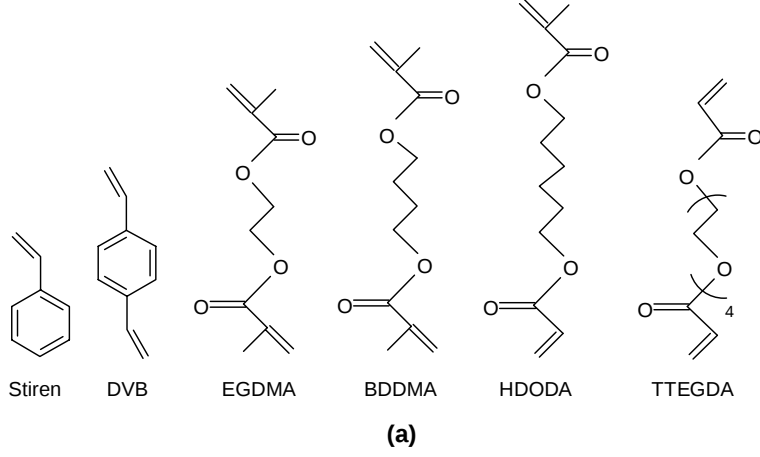
Daha sonra 1,4-bis(2-hidroksifenilazometin)fenilen'den hazırlanan Schiff bazı içeren polimerin Ti(III), Cr(III), Fe(III), Mn(II), Ni(II) ve Cu(II) tuzları ile komplekslerini sentezleyip yapısını (Şekil 2.10) karakterize eden Aswar ve Bhave isimli araştırmacılar, termal kararlılığın farklı metallerde farklı özellik gösterdiğini belirtmişlerdir. Termal kararlılık ile ilgili sıranın; Ni(II) > Cu (II) > Mn(II), Cr(II) > Ti(III) > Fe(III) şeklinde olduğunu ifade etmişlerdir [24]



Şekil 2.10.1,4-bis(2'-hidroksifenilazometin) kompleksinin yapısı

Kumar ve Mathew, %2 mol DVB-, EGDMA-, BDDMA-, HDODA- ve TTEGDA(Şekil 2.11.a) içeren, polistiren destekli Schiff bazlarının sentezi, karakterizasyonu ve bunlardan hazırlanan metal komplekslerinin katalitik

aktivitelerini araştırmışlardır. Polistiren destekli Schiff bazını sentezlerken salisilaldehit ve dietilentriaminden faydalanmışlardır.



Şekil 2.11. (a) Stiren ve çeşitli çapraz bağlayıcılar
(b) Polistirenin klorometilasyonu

Bu kompleksler Fe(II), Fe(III), Co(II), Ni(II) ve Cu(II) metal iyonları ile yapılmıştır. Polimer-metal komplekslerinin katalitik aktivitelerini araştırmak için, hidrojen peroksidin bozunma reaksiyonu model reaksiyon olarak seçilmiştir. Metal iyonlarının kompleksleşme türleri ve polimer desteğindeki çapraz bağlı grupların katalitik aktivite üzerine etkisi ile ilgili detaylı bir araştırma yapmışlardır [25].

2.3.Enzimler ve Enzim İmmobilizasyonu

2.3.1. Enzim

Kimyasal reaksiyonların bir çoğu kendiliğinden olurken, bazı reaksiyonların belirli bir hızla gerçekleşmesi için katalizöre ihtiyaç duyarlar. Katalizörler reaksiyon sırasında bir değişime uğramazlar [26]. Katalizörler herhangi bir kimyasal tepkimeye

girmemelerine rağmen aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyonun hızlanmasını sağlarlar [27].

Enzimler, biyolojik yapılardaki reaksiyonların uygun koşullarda gerçekleşmesini sağlayan ve bu reaksiyonları düzenleyen biyokatalizörlerdir [28]. Enzimler de diğer katalizörler gibi katalizledikleri reaksiyonların aktivasyon enerjisini (E_a) düşürüp reaksiyonu hızlandırırlar [27]. Enzimler yüksek molekül ağırlığına sahip protein yapılı biyolojik katalizörlerdir. Enzimler tepkimenin kinetiğini etkilerken, tepkimenin termodinamiği üzerinde bir etkisi yoktur [29]. Enzimler, hücre içinde reaksiyonların gerçekleşmesine yardımcı olurken yan ürün oluşturmazlar ayrıca, reaksiyonun verimi %100 dür.

Bazı enzimler katalitik etki gösterebilmek için proteinden başka bir metal iyonuna, protein olmayan organik bir bileşiğe veya bunların her ikisine birden ihtiyaç duyarlar [30]. Enzimlerin sahip oldukları bu iyon veya bileşiğe Kofaktör, bu kofaktörelere sahip enzimlere ise Koenzim denir. Enzimlerin protein kısmına Apoenzim denir. Her ikisine birden de Haloenzim adı verilir [31].

Enzimlerin immobilizasyonu biyoteknolojinin en önemli uygulama alanlarından biridir. Enzimler düşük sıcaklıkta yüksek katalitik etkinlikleri ve biyobozunur özellikte olmalarından dolayı, immobilizasyon oldukça avantajlı bir yöntemdir. Reaksiyon ortamından kolayca ayrılması ve tekrar tekrar kullanımı sayesinde, immobilize enzimin kullanımı üretim maliyetlerindaha düşük olmasına yardımcı olur [32].

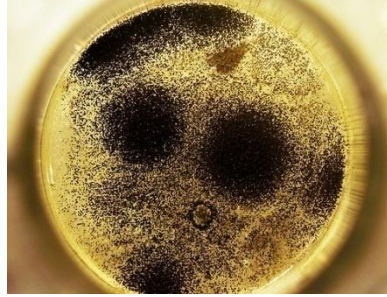
Enzimler çeşitli kaynaklardan elde edilirlerki bunlar, pepsin, katalaz gibi enzimlerin elde edildiği hayvansal organ ve dokular, papain ve fisin gibi enzimlerin elde edildiği bitkisel dokular, amilaz, glükoz oksidaz gibi enzimlerin elde edildiği mikroorganizmalar olmak üzere gruplandırılabilen biyolojik kaynaklardır.

2.3.2 Glukoz oksidaz enzimi

Glukoz oksidaz *Aspergillus niger* ve *Penicillium notatum* gibi küflerden elde edilir.



Penicillium notatum

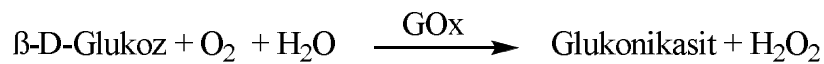


Aspergillus niger

Şekil 2.12. Glukoz Oksidaz enziminin elde edildiği küflerin görüntüsü

Bunlara yüksek organizmalı bitkiler ve hayvanlarda rastlanmamıştır. Glukoz oksidaz enzimleri ayrı kaynaklardan elde edilmiş olsalar bile benzerlik gösterirler. Molekül ağırlıkları genel olarak 160,000-180,000 Daarasındadır. Bir mol enzim 2 mol FAD içerir ve izoelektrik noktaları yaklaşık pH 4.2'dir. Uygulamalarda en yaygın kullanılan Glukoz Oksidaz, molekül ağırlığı 186,000 olan ve *A. Niger*'den elde edilen dimerdir [33].

Glukoz oksidaz, glukozu oksijen molekülünün varlığında glukonik asite dönüştürür. Reaksiyon sonunda indirgenmiş olan H_2O_2 oluşur. H_2O_2 , glukoz oksidaz enzimini oluşturan küflerde bulunan katalaz enzimi ile su ve oksijene ayrışır[34].



Glukoz oksidaz, glukozun glukonik asit ve H_2O_2 'ye oksidasyonu tepkimesinde katalizör olarak görev alır [35]. Bu oksidasyon glukozun içerdiği flavin adenin dinükleotid (FAD) kofaktöründeki bir redoks değişimi ile gerçekleşir [36]. Glukoz oksidazın etkinlik gösterdiği optimum sıcaklık $40-50^\circ\text{C}$, optimum pH'ın ise 4,5-6,0 olduğu bilinmektedir [37].

Turunçgil suları, gazlı içecekler, bira, şarap, mayonez ve salata soslarında kullanılan glukoz oksidaz, gıdalarda çözünmüş halde bulunan oksijeni tutarak acılaşmayı engeller. Balda yüksek miktarda bulunur glukoz oksidaz, doğal koruyucu görevi görür. Çünkü, balın yüzeyinde bulunan glukoz oksidaz, atmosferdeki oksijen gazını hidrojen perokside indirger ve bunun sonucunda antimikrobiyel bir bariyer oluşturulmuş olur.

2.3.3.Enzim immobilizasyonu

Enzimler, reaksiyonları çok yüksek hızda katalizledikleri için, canlı organizma dışında kullanabilme fikri ortaya atılmış ve ilk olarak 1926 yılında Sumner tarafından üreaz enzimi kristal olarak elde edilmiştir. Bu çalışmanın arkasından birçok organizmadan enzimler izole edilmiş ve kristalize formlarda piyasaya sunulmuştur [29].

Bir reaksiyonun ilerlemesine yardımcı olan enzimin serbest olarak kullanılması, reaksiyon ortamından enzimin istenilen anda alınamamasına ve uygulamaların kontrolünün zor olmasına neden olmaktadır. Ayrıca, reaksiyonu istenilen anda durdurmak için ortama eklenen inhibitör, enzim tarafından kirlenilen ortama yeni bir kirlilik katmaktadır ki, kirliliğin artması maliyeti artırmaktadır. Tekrar kullanmak için enzimi ortamdan almak da imkansızlaşmaktadır. Yukarıda bahsedilen, bu sorunlardan dolayı enzimlerin bir taşıyıcıya bağlanıp ya da bir matrikse hapsedilip kullanılması son zamanlarda özellikle endüstriyel açıdan önem kazanmış ve bu yöntemin teknolojik uygulamalarına önem verilmiştir [28].

Enzim teknolojisinin en pratik ve en çok gelişen yollarından birisi immobilizasyondur. Immobilizasyon'un kelime anlamı "tutuklanmış, hareketi sınırlandırılmış, çözünmez hale getirilmiş" demektir. Immobilizasyon, enzimlerin ya da mikroorganizmaların fiziksel ve/veya kimyasal yöntemlerle katalitik aktifliğini koruyarak, tekrar ve sürekli kullanımını sağlamak amacıyla organik veya inorganik taşıyıcılara tutturulmasıdır [29].

2.3.4. Enzimlerin immobilizasyon yöntemleri

Enzim immobilizasyon yöntemleri farklı şekillerde sınıflandırılmalarına rağmen genel olarak kimyasal ve fiziksel olmak üzere iki ana başlık altında toplanabilir.

1) Kimyasal yöntemler

- a) Kovalent bağlama
- b) Çapraz bağlama
- c) iyonik bağlanma

2) Fiziksel yöntemler

- a) Adsorpsiyon ile immobilizasyon
- b) Hapsetme ile immobilizasyon
 - Mikrokapsül ile hapsetme yöntemi
 - Kafes tipi hapsetme yöntemi

Kovalent bağlama

Çoğunlukla enzim yapısı ve fonksiyonel grupların bilindiği durumlarda kullanılır. Kovalent bağlanma ile immobilizasyon iki basamakta gerçekleşir. İlk basamakta destek maddesinin aktifleştirilmesi, ikincisinde ise enzimin kovalent bağlanması şeklinde olur. Destek maddesi; karboksil, hidroksil, amino gibi fonksiyonel gruplar bulundurulmalıdır [29].

Kovalent bağlanma ile enzim immobilizasyonun'un en büyük avantajı, bağların çok kuvvetli olmasından dolayı her türlü ortamda kullanılabilir olmasıdır. Enzim destek materyali üzerinde yer aldığından substrat ile kolay temas eder [38].

Bu yöntemin dezavantajı ise destek materyali ile enzim arasında sıkı etkileşim sonucunda enzimin doğal konformasyonu bozulabilir [39].

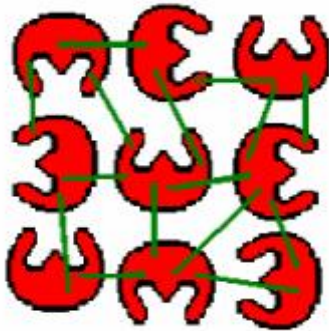


Şekil 2.13.Kovalent Bağlanma ile İmmobilizasyonunun Gösterimi

Çapraz bağlama

Proteinin moleküller arası çaprazlanması temeline dayanır [40]. Bir enzimin kendisine çaprazlanması pahalı ve yetersizdir. Bunun nedeni proteinin bir kısmı taşıyıcı gibi davranmaktadır. Çapraz bağlanma ile immobilizasyonun çoğunlukla başka bir yöntemle kullanılması daha elverişlidir. Genellikle kovalent bağlanma ile birlikte kullanılır. Enzim taşıyıcı matrise bağ ajanları ile çapraz kovalent bağlarla bağlanmış olduğundan, desorpsiyon oldukça az olur. Çapraz bağlanma için en çok kullanılan bağ ajanı glutaraldehitir [41,42].

Çapraz bağlanma reaksiyonları zor koşullarda meydana gelir. Koşulların zor olması enzimin aktif bölgesinde konformasyonel değişikliğe sebep olabilir. Bunun sonucunda önemli miktarda aktivite kaybı olabilir. Çapraz bağlanmada enzim ile taşıyıcı arasındaki bağlar çok kuvvetli olduğundan pH, sıcaklık ve iyon şiddetinde değişim meydana gelmesi sonucunda enzim taşıyıcıdan ayrılmaz ve kararlılığını korur [41].



Şekil 2.14.Çapraz Bağlanma ile İmmobilizasyonunun Gösterimi

İyonik bağlanma

İyonik bağlanma, enzimin iyon değiştirici ajanlar bulunduran ve suda çözünmeyen bir taşıyıcıya iyonik olarak bağlanmasına dayanır. Taşıyıcı olarak genellikle iyon değiştirici merkezlere sahip olan polissakaritler ve sentetik polimerler kullanılır. Enzim taşıyıcıya kolaylıkla bağlanır. İyonik bağlanma yöntemindeki immobilizasyon koşulları kovalent bağlanmaya göre daha ılımlıdır ve bu yüzden enzimin konformasyonel yapısında ve aktif bölgelerinde çok az değişiklik gözlenir. Bundan dolayı immobilize olmuş enzimin aktivitesi çoğu zaman yüksektir[43].

Adsorpsiyon ile immobilizasyon

Bu immobilizasyon yöntemi, enzimin suda çözünmeyen bir taşıyıcı yüzeyine bağlanması temeline dayanmaktadır [40]. Enzim taşıyıcıya hidrojen bağları, hidrofobik etkileşim ve van der Waal's kuvvetleri veya bunların tamamının birleşimi gibi fiziksel etkileşimlerle bağlanır. Bu kuvvetler çok zayıf olmalarına rağmen yeterli bir bağlanmanın gerçekleşmesini sağlayacak sayıdadır [43].

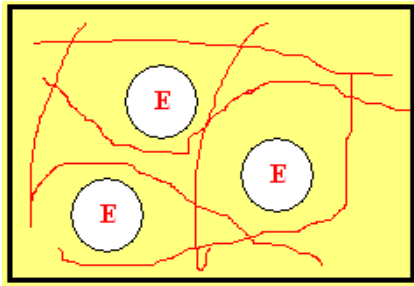
Adsorpsiyonun en büyük avantajı genellikle bağ ajanına ihtiyaç duymamasıdır. Bağlanma fiziksel kuvvetlerle olduğu için enzimin konformasyonel yapısında oldukça az değişikliğe neden olur. Dezavantajı ise enzimin taşıyıcıya zayıf bağlarla bağlanmasından dolayı sıcaklık, pH veya iyonik şiddetteki değişimler ya da ortama substrat ilave edilmesi enzimin taşıyıcıdan ayrılmasına yol açabilir [43].



Şekil.2.15.Adsorpsiyon yöntemi ile immobilizasyonun gösterimi

Tutuklama yöntemi

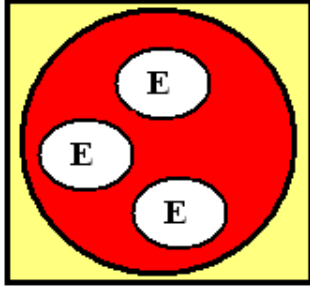
Tutuklama yöntemiyle immobilizasyonda enzim kafes görevi gören polimer matris veya membran içerisinde tutulmaktadır. Bu tutulmada substratın içeri girmesine izin verilirken, protein içeride muhafaza edilmektedir. Tutuklama yönteminin kovalent bağlanma ve çapraz bağlanmadan farkı enzimin çözeltide serbest olması, ancak jel matris ya da membran içerisinde tutularak hareketinin kısıtlanmasıdır. Bu nedenle tutuklama yönteminin geniş uygulanabilirlik alanı vardır [44,43]. Yöntemin dezavantajı ise, yüksek molekül ağırlıklı substratların enzime zor tutunmaları ve taşıyıcıların yeniden elde edilememesidir. [45].



Şekil 2.16. Enzimin Bir Taşıyıcı İçerisinde Tutuklanması

Mikrokapsül ile hapsedme yöntemi

Mikrokapsül tipi tutuklamada enzim yarı geçirgen polimer membran içerisinde tutulur. Bu immobilizasyon metodunun avantajları enzim ve substrata geniş yüzey alanı sağlaması ve sadece tekli enzimler için değil, farklı tipte enzimlerin de aynı prosedürle immobilize edilebilir olmasıdır. Metodun dezavantajları ise yüksek molekül ağırlıklı substratlara uygulanamaması, enzimin bazı durumlarda inaktive olması, enzimin membran duvarına yapışması ve mikrokapsüllerden enzimin damlaması sayılmaktadır [46].



Şekil 2.17. Enzimin Bir Kapsül içinde hapsedilmesi

Kafes tipi hapsedme yöntemi

Kafes tipi hapsedme yöntemi, çapraz bağlı polimerlerin boşlukları içinde enzimin tutulması esasına dayanır. Bu yöntemde enzim içeren monomer ya da polimer çözeltilerine uygun bir kimyasal başlatıcı UV ışınları uygulayarak yüksek oranda çapraz bağlı bir polimer ağı oluşturulur. Enzim molekülleri fiziksel olarak polimer kafes içerisinde tutulur ve jel matriksin dışına çıkmaz, fakat substrat ve ürün sürekli kafes içine giriş-çıkış yapabilir. Enzim kimyasal değişime uğramaz. Ayrıca bu yöntemle farklı fiziksel formlarda suda çözünmeyen enzim türevleri hazırlanabilir. Jelatinimsi bir yapıya sahip enzim türevleri, immobilize bir enzimin hem düzenli hem de düzensiz yüzeyler üzerinde kolayca depolanmasını sağlar [47].

3.MATERYAL VE METOD

3.1. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler, Aletler, Cihazlar ve Teknikler

3.1.1 Kimyasal maddeler

Kimyasal Madde	Temin Edilen Üretici Firma
DMF	Sigma Aldrich
Aminometil polistiren	Sigma Aldrich
Furfural	Sigma Aldrich
5-metilfurfural	Sigma Aldrich
5-nitrofurfural	Sigma Aldrich
Glukoz Oksidaz	Sigma Aldrich
Sodyum Dihidrojenfosfat(NaH_2PO_4 , 120 g/mol)	Sigma Aldrich
Fosforik Asit (H_3PO_4 106.09 g/mol)	Sigma Aldrich
Sodyum Asetat ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$, 82.02 g/mol)	Sigma Aldrich
Disodyum hidrojenfosfat (Na_2HPO_4 , 142 g/mol)	Sigma Aldrich
Boraks/($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$, 201.24 g/mol)	Sigma Aldrich
Sodyum hidroksit (NaOH , 40 g/mol)	Sigma Aldrich
4-Aminoantipiren (4-AAP) (203,24 g/mol)	Sigma Aldrich
Glukoz(180,16 g/mol)	Sigma Aldrich
Fenol (94,11 g/mol)	Sigma Aldrich
Peroksidaz enzimi(Bayır turbandan)	Sigma Aldrich

3.1.2. pH metre

Orion pH metre 420 Amodel pH metre, tampon çözeltileri ayarlamak için kullanıldı.

3.1.3. Çalkalamalı su banyosu

ST 402 NÜVE marka sıcaklık kontrollü su banyosu kullanıldı.

3.1.4. SEM - EDX (Taramalı Elektron Mikroskobu-)

Numuneler 2nm Au ile kaplanarak QUANTA 400F Field Emission cihazı kullanılarak ODTÜ merkez laboratuvarlarında yapıldı.

3.1.5. Ultraviyole-görünür bölge spektrumu

UV-GB spektrumları UV-1800 ENG240V, SOFT model spektrofotometre ile 800-200 nm aralığında DMF çözücüsü içinde alındı.

3.1.6.GPC (Büyükölükçe ayırma)

Molekülleri tanecik büyüklüklerine göre ayıran GPC, Waters 1500 Series model kromatografisi ile yapıldı.

4.DENEYSEL BÖLÜM

4.1. Polimerik Schiff Bazlarının Hazırlanması (Genel Yöntem)

Schiff bazı ve karbinolamin içeren polimerler geri soğutucu altında 70°C de sentezlendi. Geri soğutucuya bağlı cam balona (Aminometil)polistiren DMF de çözülerek konuldu. Geri soğutucu altında kaynatma ve karıştırma işlemleri yapılırken damlatıcı musluğu açılarak DMF de çözülmüş aldehit çözeltisi balondaki polimer çözeltisi üzerine yaklaşık 10 dakikalık bir süre içinde damlatıldı. Aldehit çözeltisinin ilavesinden sonra yaklaşık bir saat geri soğutucu altında kaynatma ve karıştırma işlemlerine devam edildi. Bir saatin sonunda temiz bir behere alınan karışım asetonla yıkanarak reaksiyona girmemiş olan reaktifler ortamdaki uzaklaştırıldı ve etüvde kurutuldu.

4.1.1. (APS-Fur) polimerinin sentezi

1 g (Aminometil)polistiren (1 g, 0,5-1,0 mmol/g -NH₂ yüklü) 2 boyunlu cam balona alınarak 20 ml DMF de çözüldü. 0,11 mL (1 mmol) furfural'ın 10 ml DMF içinde oda sıcaklığında çözülerek hazırlanan çözeltisi, damlatma hunisine konularak bölüm 4.1'de açıklanan yöntemle göre sentezi yapıldı. Sentezlenen (APS-Fur) polimerleri 24 saat etüvde kurutuldu.

4.1.2. (APS-Fur-CH₃) polimerinin sentezi

1 g (Aminometil)polistiren (1 g, 0,5-1,0 mmol/g -NH₂ yüklü) 2 boyunlu cam balona alınarak 20 ml DMF de çözüldü. 1 mmol (0,14 g) 5-metilfurfural'ın 10 ml DMF içinde oda sıcaklığında çözülerek hazırlanan çözeltisi, damlatma hunisine konularak bölüm 4.1'de açıklanan yöntemle göre sentezi yapıldı. Sentezlenen (APS-Fur-CH₃) polimerleri 24 saat etüvde kurutuldu.

4.1.3. (APS-Fur-NO₂) polimerinin sentezi

1 g (Aminometil)polistiren (1 g, 0,5-1,0 mmol/g -NH₂ yüklü) 2 boyunlu cam balona alınarak 20 ml DMF de çözüldü. 1 mmol (0,15) 5-nitrofurfural'ın 10 ml DMF içinde oda sıcaklığında çözülerek hazırlanan çözeltisi, damlatma hunisine konularak bölüm 4.1'de açıklanan yöntemle göre sentezi yapıldı. Sentezlenen (APS-Fur-NO₂) polimerleri 24 saat etüvde kurutuldu.

4.2.(APS-Fur), (APS-Fur-CH₃) ve (APS-Fur-NO₂) Polimerlerinin İmmobilizasyon İşlemleri

4.2.1. Enzimin İmmobilizasyonu

5,9 mg β -glukoz oksidaz, 10 ml DMF çözeltisinde çözüldükten sonra 20 ml DMF çözeltisinde çözülmüş 1 g polimerin üzerine ilave edildi. Karışım 3 saat oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılarak immobilizasyon reaksiyonunun gerçekleşmesi sağlandı. Reaksiyon sonunda polimerler süzülerek alındı ve muhtemel monomer yapıları uzaklaştırmak için seyreltik aseton ile yıkandı. İmmobilize enzimler +4°C de muhafaza edildi.

4.2.2. Serbest β -glukoz oksidaz enziminin aktifliğine pH etkisi

Serbest β -glukoz oksidaz enziminin aktifliğine pH etkisini incelemek için, tüp içerisinde çalşılan pH değerlerinde (3,0-9,0) hazırlanan tamponda çözünen enzime glukoz ilave edilip oda sıcaklığında karıştırıldı. 4-Aminoantipiren(10 mg), fenol(20 mg)ve peroksidaz enzimi (0,5 mg)eklendikten sonra UV-GB spektrofotometresiyardımla 498 nm absorbanseğerlerinde okundu.

4.2.3. İmmobilize edilen β - glukoz oksidazın aktifliğine pH etkisi

İmmobilize enzimin 10 mg aktifliğine pH etkisini incelemek için çeşitli pH larda (3,0-9,0) Bölüm 4.2.2'de belirtilen işlemler gerçekleştirilerek aktiflik tayini yapıldı.

4.2.4. Serbest β -glukoz oksidaz enziminin aktifliğine sıcaklığın etkisi

Serbest β -glukoz oksidaz enziminin aktifliğine sıcaklığın etkisini bulmak için, tüp içinde enzim optimum pH daki tampon çözeltisinde çözünen enzime glukoz ilave edilerek çalışılan sıcaklıkta (20°C-90°C) karıştırıldı. 4-Aminoantipiren (10 mg), Fenol (20 mg) ve Peroksidaz enzimi (0,5 mg) eklendikten sonra UV-GB spektrofotometresi yardımıyla 498 nm de absorban değerleri okundu ve enzimin aktifliği tayin edildi.

4.2.5. İmmobilize edilen β - glukoz oksidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi

İmmobilize enzimin (10 mg), aktifliğine sıcaklığın etkisini incelemek için farklı sıcaklıklarda (20-90 °C) Bölüm 4.2.4’de belirtilen işlemler uygulanarak aktiflik tayinleri yapıldı.

4.2.6. Serbest β -glukoz oksidaz enziminin aktifliğine substrat derişiminin etkisi

Serbest β -glukoz oksidaz enziminin aktifliğine derişimin etkisini incelemek için, tüp içinde bulunan farklı derişimlerdeki glukoz çözeltisine (40 mM-0,5 mM) serbest β -glukoz oksidaz ilave edilir. 4-Aminoantipiren (10 mg), Fenol (20 mg) ve Peroksidaz enzimi (0,5 mg), eklendikten sonra çalkalamalı su banyosunda 30 dk bekletilerek ve UV-GB spektrofotometresi yardımıyla 498 nm deki maksimum absorban değerleri okundu. Lineaweaver-Burk kalibrasyon grafiği çizilerek K_m ve V_{max} değerleri belirlendi.

4.2.7. İmmobilize edilen β - glukoz oksidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisi

İmmobilize enzimin (10 mg), aktifliğine substrat derişiminin etkisini incelemek için farklı derişimlerde glukoz çözeltisine (40 mM-0,5 mM) Bölüm 4.2.6’da belirtilen işlemler uygulanarak aktiflik tayinleri yapıldı.

4.2.8. İmmobilize edilen β -glukoz oksidazın tekrar kullanılabilirliği

İmmobilize enziminin (300 mg), tekrar kullanılabilirliğini incelemek için, tüp her beş (5) günde bir enzimin optimum pH'daki tampon çözeltisinde çözünen enzime glukoz ilave edilip 2 saat oda sıcaklığında karıştırıldı. 4-Aminoantipiren (10 mg), Fenol (20 mg) ve Peroksidaz enzimi (0,5 mg) eklendikten sonra enzimin optimum sıcaklığında 30 dk karıştırıldı. UV-GB spektrofotometresiyardımla 498 nm de absorbans değerleri okundu.

4.2.9. İmmobilizasyon işlemlerinde kullanılan tamponların hazırlanışı

pH: 3 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$) tamponu:

6.24 g (40 mmol) $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (sodyum dihidrojenfosfat) 250 mL su içerisinde çözülür. Üzerine derişik % 85'lik H_3PO_4 ' den pH: 3 oluncaya kadar damla damla eklenir.

pH: 4 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4$) tamponu:

6.24 g (40 mmol) $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (sodyum dihidrojenfosfat) 250 mL su içerisinde çözülür. Üzerine derişik % 85'lik H_3PO_4 ' den pH: 4 oluncaya kadar damla damla eklenir.

pH: 5 (sodium acetate/acetic acid) tamponu:

100 mL 0,25 M asetik asit üzerine 0,25 M sodyum asetatdan pH: 5 oluncaya kadar damla damla eklenir.

pH: 6-9 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$) tamponu:

100 mL 0,25 M Na_2HPO_4 üzerine 0,25 M NaH_2PO_4 dan pH: 6 için pH 6 oluncaya kadar, pH: 7 için pH 7 oluncaya kadar, pH: 8 için pH 8 oluncaya kadar, pH: 9 için pH 9 oluncaya kadar damla damla eklenir.

pH: 10 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7/\text{NaOH}$) tamponu:

100 mL 0,25 M $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ üzerine 0,25 M sodyum hidroksitten pH: 10 oluncaya kadar damla damla eklenir.

Glukoz çözeltisinin hazırlanışı (40 mM-0,5 mM):

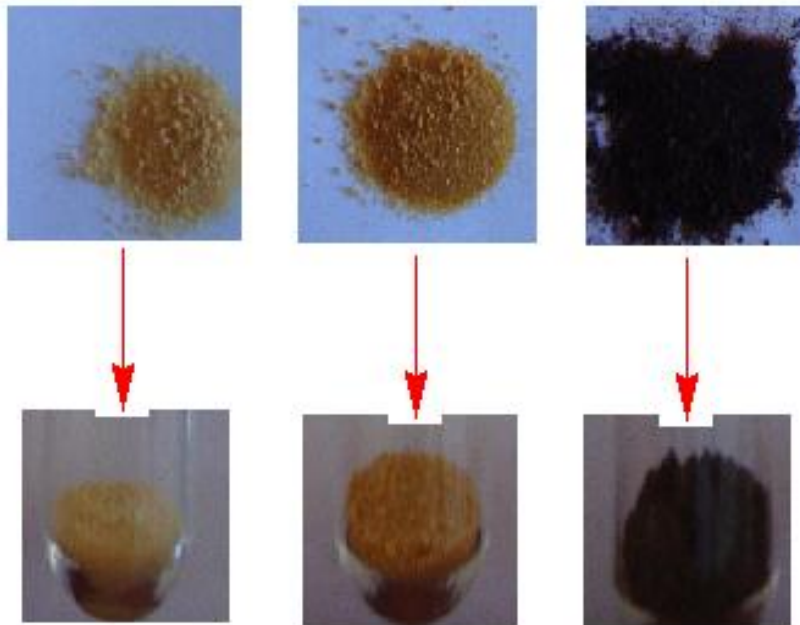
40 mM stok glukoz çözeltisi hazırlamak için; 0,3693 gr glukoz tartılıp çalışılan pH tampon ile 50 mL ye tamamlanır. 20 mM, 18 mM, 16 mM, 14 mM, 12 mM, 10 mM, 8 mM, 6 mM, 4 mM, 2 mM, 1 mM ve 0,5 mM glukoz çözeltileri hazırlanırken 40 mM stok glukoz çözeltisinden seyreltilerek hazırlandı.

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1. Schiff Bazı Takılı Polimerin Karakterizasyonu

(Aminometil)polistiren (APS) ve furfural türevlerinin katılma-ayrılma tepkimesi sonucunda Schiff bazlarının oluştuğu FT-IR spektrumu ile değerlendirildi. Farklılıkları daha iyi vurgulamak için APS polimerinin FT-IR spektrumu ile ilgili değerlendirmeler, Aynacı E. [48] ve Bozkır E. [49] tezlerinden alındı.

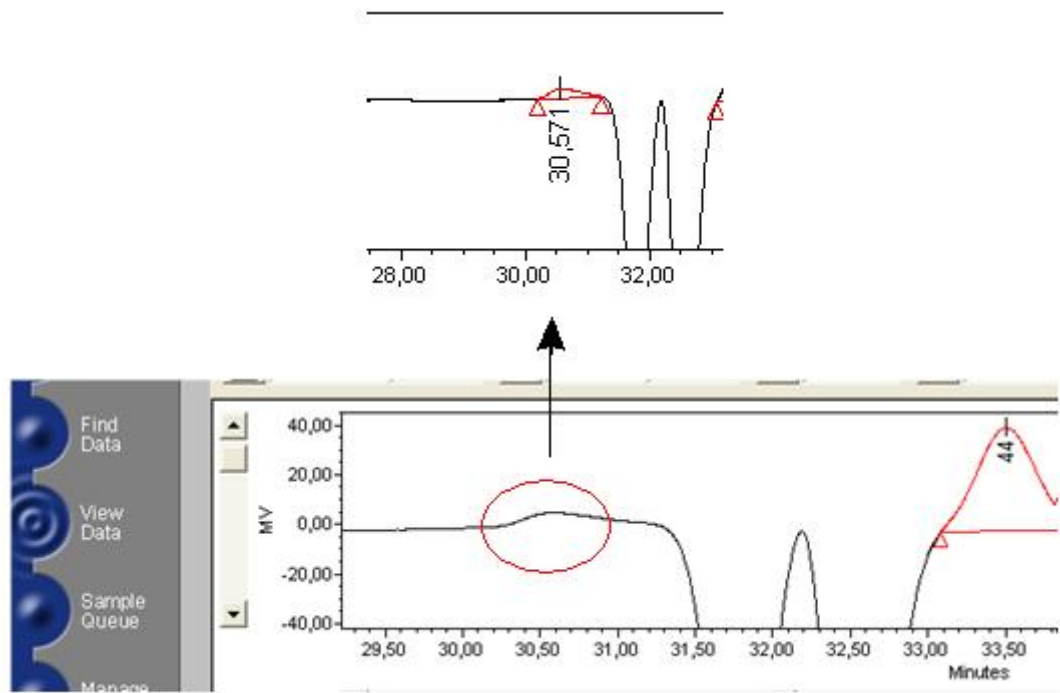
Aşağıda modifiye edilmiş (APS-Fur), (APS-Fur-CH₃) ve (APS-Fur-NO₂) polimerine ait görüntüler verilmiştir. Görüntülerden anlaşıldığı gibi farklı yan dallara ait furfuralın APS polimerine takıldıkça oluşan ürünün renginin değiştiği görülmektedir. -H, -CH₃ ve -NO₂ grubu bağlandıkça polimerlerin rengi koyu kahverengi ye doğru değişmektedir.



(APS-Fur) (APS-Fur-CH₃) (APS-Fur-NO₂)

Şekil 5.1. Sentezlenen polimerlerin katı haldeki fotoğrafları

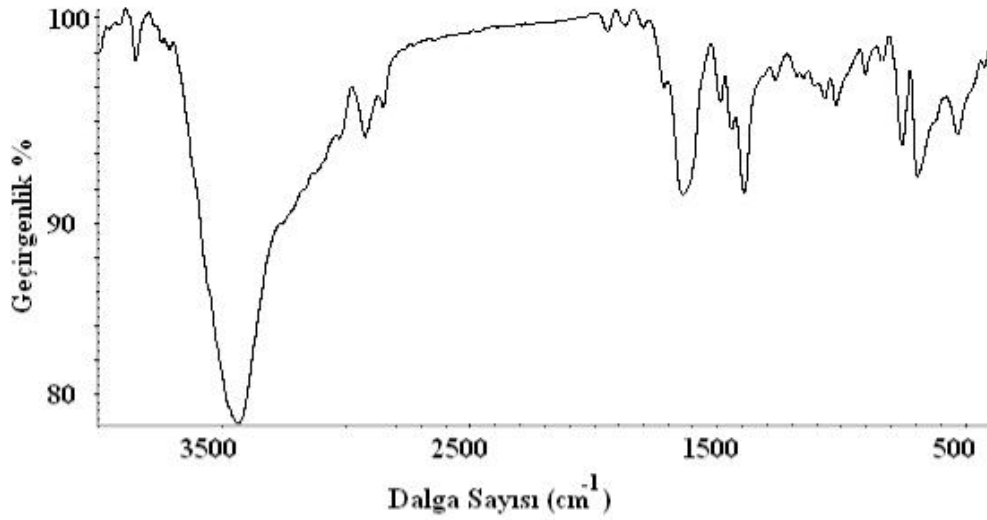
(APS-Fur), (APS-Fur-CH₃) ve (APS-Fur-NO₂) polimerlerinin kapalı bir tüp içinde DMF çözücüsünde üç gün boyunca karıştırıldıktan sonra alınan büyüklükçe ayırma (GPC) spektrumu sonunda Mw ve Mn değerleri sırası ile, 878 ve 860; 874 ve 862 ve 881 ve 867 olarak belirlenebilmiştir (Mw: ağırlıkça ortalama mol kütle; Mn: sayıca ortalama mol kütle).



Resim5.1. (APS-Fur) için alınan büyüklükçe ayırma (GPC) spektrumunun bilgisayar ekranındaki görüntüsü

5.1.1. Reaksiyon Başlangıcında kullanılan (Aminometil)polistiren (APS)

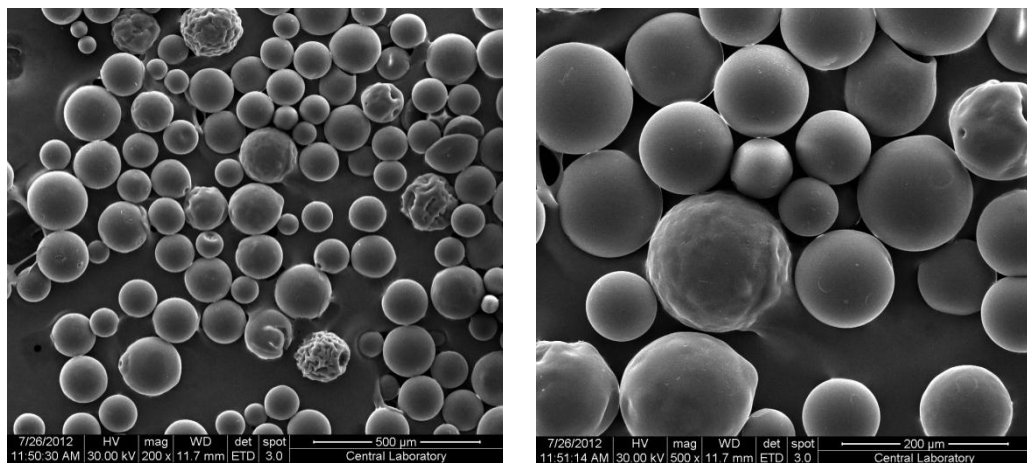
(APS) polimerinde 1543 cm^{-1} 'de ortaya çıkan pikin δ_{NH_2} titreşim frekansına, $3440\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen geniş pikin ise $\nu_{\text{NH}_2(\text{asim, sim})}$ titreşim frekansına karşılık geldiği ön görüldü (Şekil 5.2).



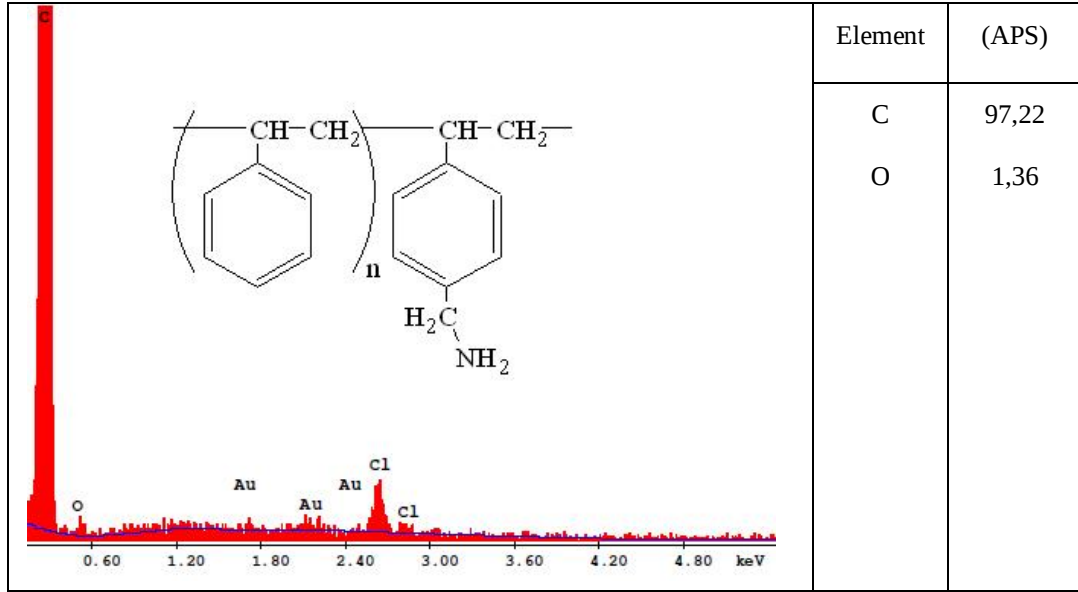
Şekil 5.2. (APS) polimerinin FTIR spektrumu

2920 cm^{-1} ve 2850 cm^{-1} de görülen piklerinise, $\nu_{\text{C-H(alifatik)}}$ titreşim frekansına, 3060 cm^{-1} ve 3021 cm^{-1} de ortaya çıkan zayıf piklerin $\nu_{\text{CH(aromatik)}}$ titreşim frekansına karşılık geldiği düşünülmektedir. 1947 cm^{-1} , 1878 cm^{-1} , 1808 cm^{-1} de görülen piklerin $\nu_{\text{C-H(overtone)}}$ titreşimine karşılık geldiği ön görüldü[50].

Furfural ve türevleri ile katılma-ayrılma tepkimesi veren (APS)'nin SEM-EDS/ EDX görüntü ve spektrumu alınarak (Resim 5.2.) modifiye olan polimerlerin yüzey morfolojisi ve EDX/EDS spektrumu ile karşılaştırıldı.



Resim 5.2. (APS) polimerinin SEM (120 ve 500 büyültmeli) görüntüsü



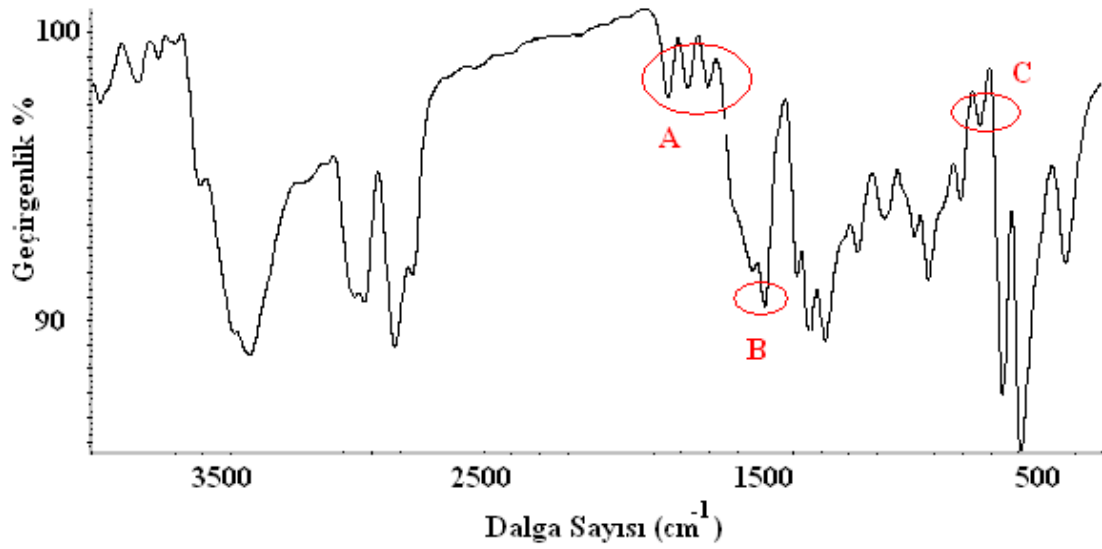
Şekil 5.3. (APS) polimerinin EDS spektrumu

Şekil 5.3’de görüldüğü gibi APS polimerin yapısındaki elementler EDX/EDS’ye göre bulunan elementler ile uyumludur. Düşük yüzdede Oksijenin polimerin nem absorblamasından kaynaklandığı söylenebilir. Çalışılan tüm polimerlerde SEM görüntülerinin net alınabilmesi için ön işlem olan, Au ile örneklerin kaplanması nedeniyle EDX spektrumlarında Au’nın görülmesi, polimerleri üzerine tutturmak için kullanılan yapışkan bandın yapısından veya kullanılan azot gazı geçişi sırasında yapıda Cl_2 gazının eser halde bulunmasından dolayı Cl atomunun ortaya çıktığı söylenebilir. EDX/EDS spektrumlarında azot yüzdesi tain edilememektedir.

5.1.2. (APS-Fur) Polimeri

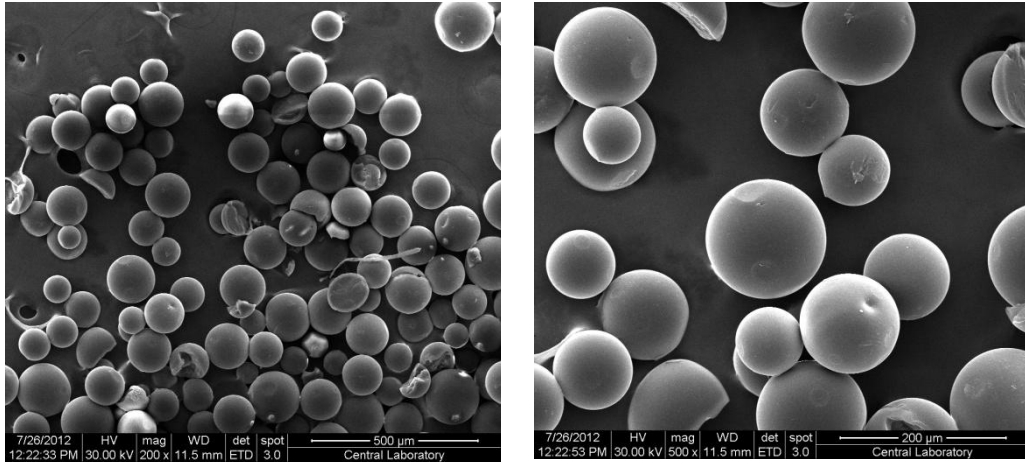
Aşağıda (APS-Fur) polimerine ait FTIR spektrumu görülmektedir. (APS-Fur) polimerine ait alifatik $\nu_{\text{C-H}}$ titreşimi 2920cm^{-1} ve 2850cm^{-1} de, belirgin aromatik $\nu_{\text{C-H}}$ titreşimi ise 3060cm^{-1} ve 3021cm^{-1} de gözlenmiştir. Ayrıca $\nu_{\text{C-H}}$ (overtonlar) titreşimleri ise 1947cm^{-1} , 1878cm^{-1} ve 1808cm^{-1} de gözlenmiştir (Şekil 5.2.A). Bu piklerin APS polimerindeki pikler ile aynı titreşim frekansında görülmesi polimerik yapının korunduğunu göstermektedir. Ancak $3500\text{-}3400\text{cm}^{-1}$ aralığında geniş pikin

olması modifiye olmuş polimerin H_2O 'yu adsorplamasından kaynaklandığı söylenebilir. $-CH=N-$ grubunun katılma sonucunda meydana geldiği 1612 cm^{-1} 'de görülen keskin pikin ortaya çıkışından dolayı ön görüldü (Şekil 5.4.B). Ayrıca 836 cm^{-1} de gözlenen yeni pikin fufural halkasına ait olduğu düşünülen ν_{halka} titreşimi (Şekil 5.4.C). olarak ön görüldü [50].

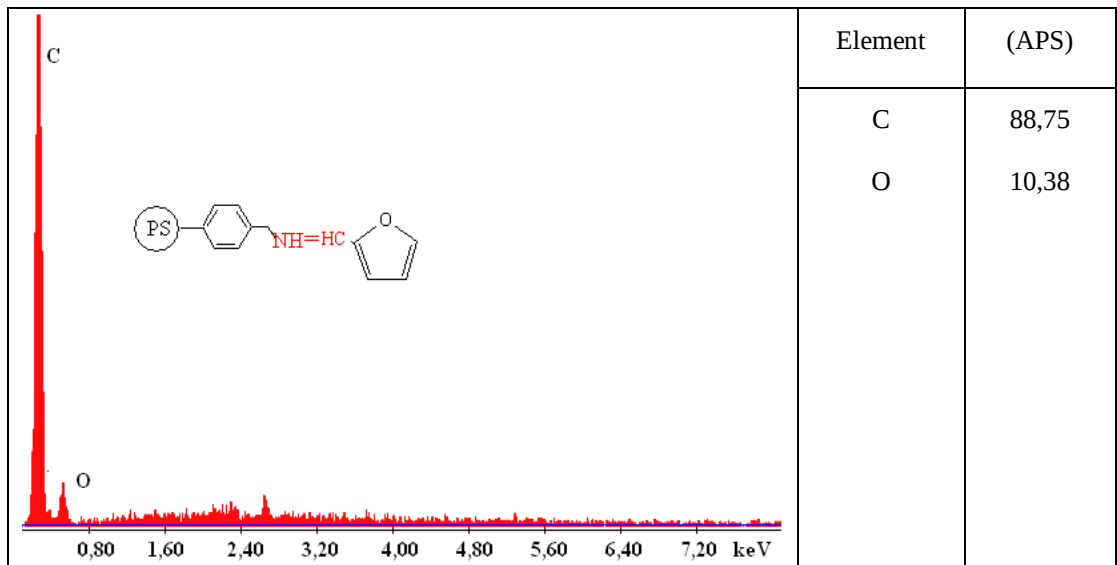


Şekil 5.4. (APS-Fur) polimerinin FTIR spektrumu

Arka sayfada görüldüğü gibi, (APS-Fur) polimerlerinin mikro küre yapılarında değişiklik olmamıştır. Bu sonuç ise bize polimerik yapıların korunduğunu göstermektedir. (APS-Fur) polimerlerine ait EDS değerlerine göre oksijen elementin yüzdesi, (APS)'ninkinden daha fazla bulunmuştur. Bu sonuca, (APS) polimerine karbonil bulunduran aldehitin takıldığına bir göstergesi olarak bakılabilir.



Resim 5.3. (APS-Fur) polimerinin SEM (120 ve 500 büyültmeli) görüntüsü

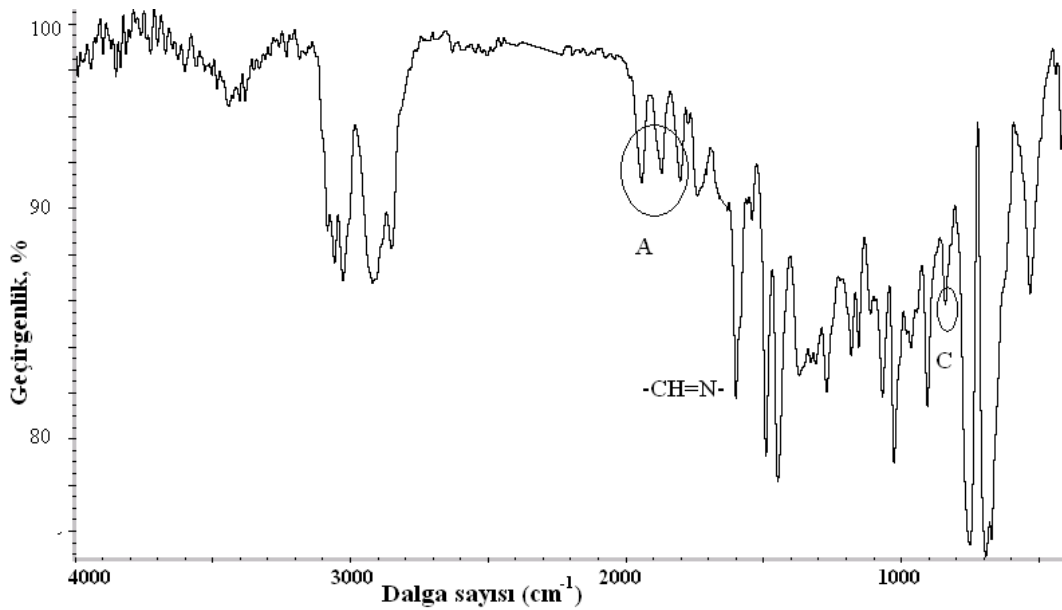


Şekil 5.5. (APS-Fur) polimerinin EDS spektrumu

Şekil 5.5’de görüldüğü gibi (APS-Fur) polimerin yapısındaki elementler EDS spektrumuncabelirlenebilmiştir. Oksijen elementinin yüzdesinin APS polimerinden daha fazla görülmesi fufuralın APS polimerinekatıldığıının bir göstergesi olarak bakılabilir. Au ve Cl elemenlerinin 1,80-2,80 keV arasında ortaya çıkmasının nedeni, bölüm 5.1.1’de verilen açıklamalarda belirtilmiştir.

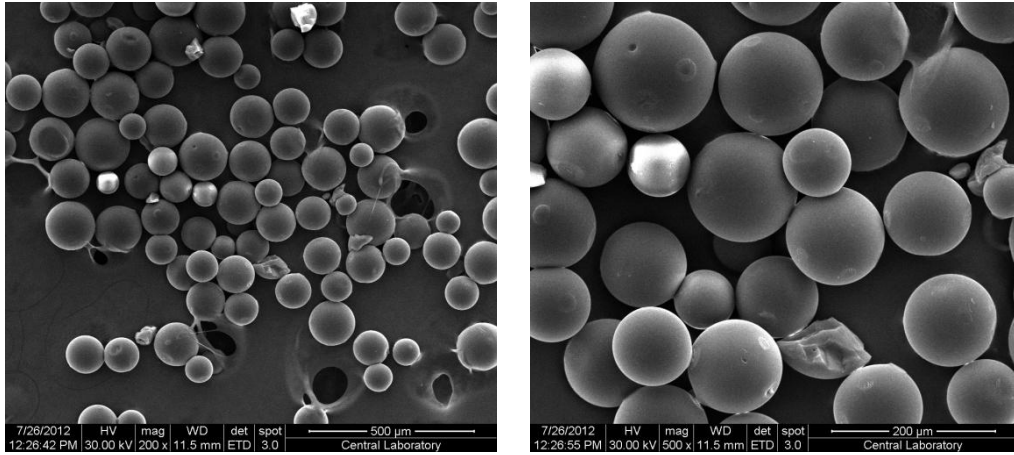
5.1.3. (APS-Fur-CH₃) Polimeri

Aşağıda (APS-Fur-CH₃) polimerine ait FTIR spektrumu Şekil 5.6.'da görülmektedir. (APS-Fur) polimerine ait alifatik ν_{C-H} titreşimi 2920cm^{-1} ve 2850cm^{-1} de, aromatik ν_{C-H} titreşimi ise 3060cm^{-1} ve 3021cm^{-1} de gözlenmiştir. Ayrıca $\nu_{C-H}(\text{overtonlar})$ titreşimleri ise 1947cm^{-1} , 1878cm^{-1} ve 1808cm^{-1} de gözlenmiştir (Şekil 5.6.A). Bu piklerin APS polimerindeki pikler ile aynı titreşim frekansında görülmesi polimerik yapının korunduğunu göstermektedir. $-\text{CH}=\text{N}-$ grubunun katılma sonucunda meydana geldiği 1622cm^{-1} 'de görülen keskin pikin ortaya çıkışından dolayı ön görüldü (Şekil 5.6). Ayrıca 841cm^{-1} de gözlenen pikin fufural halkasına ait olduğu düşünülen ν_{halka} titreşimi (Şekil 5.6.C). olarak ön görüldü [50].

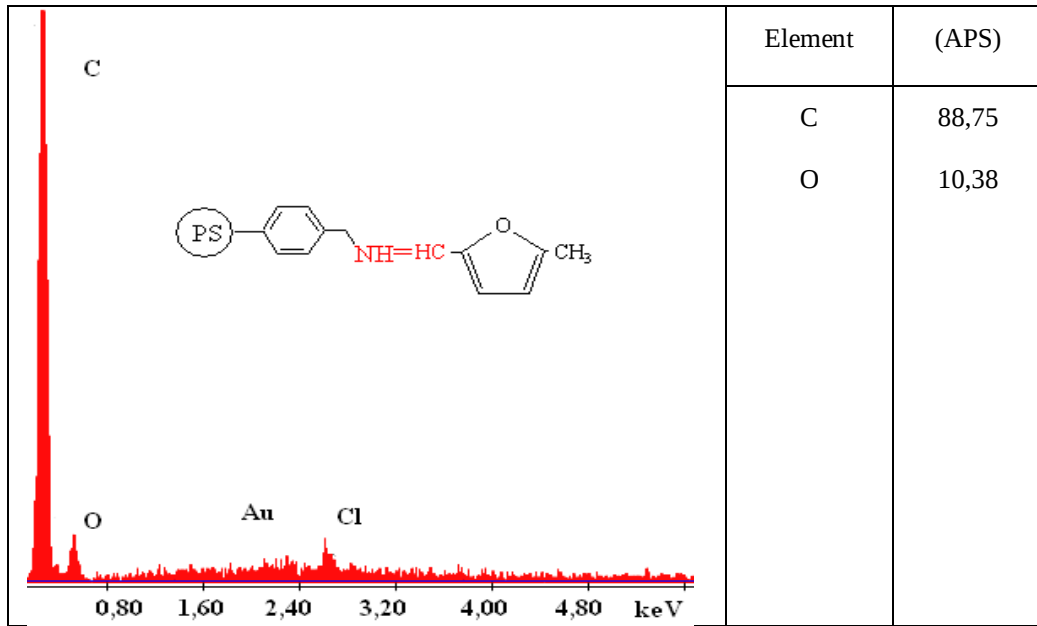


Şekil 5.6. (APS-Fur-CH₃) polimerinin FTIR spektrumu

Arka sayfada görüldüğü gibi, (APS-Fur-CH₃) polimerlerinin yüzey modifikasyonlarında değişiklik olmamıştır. Bu sonuç ise bize polimerik yapıların korunduğunu göstermektedir.



Resim 5.4. (APS-Fur-CH₃) polimerinin SEM (120 ve 500 büyültmeli) görüntüsü

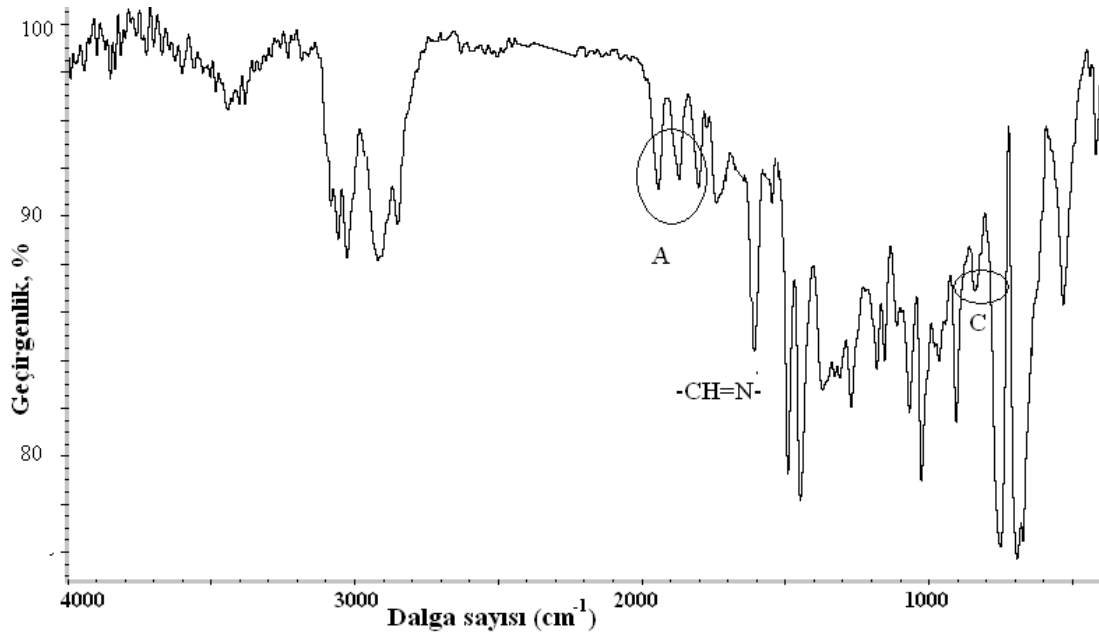


Şekil 5.7. (APS-Fur-CH₃) polimerinin EDS spektrumu

(APS-Fur-CH₃) polimerine ait EDS değerlerine göre oksijen elementin yüzdesi, (APS)'ninkinden daha fazla iken (APS-Fur) polimerine yakın bir değer elde edilmiştir. Bu sonuca, (APS) polimerine Oksijen grubunu bulunduran aldehitin takıldığına bir göstergesi olarak bakılabilir. Au ve Cl elementlerinin 1,80-2,80 keV arasında ortaya çıkmasının nedeni, bölüm 5.1.1'de verilen açıklamalarda belirtilmiştir.

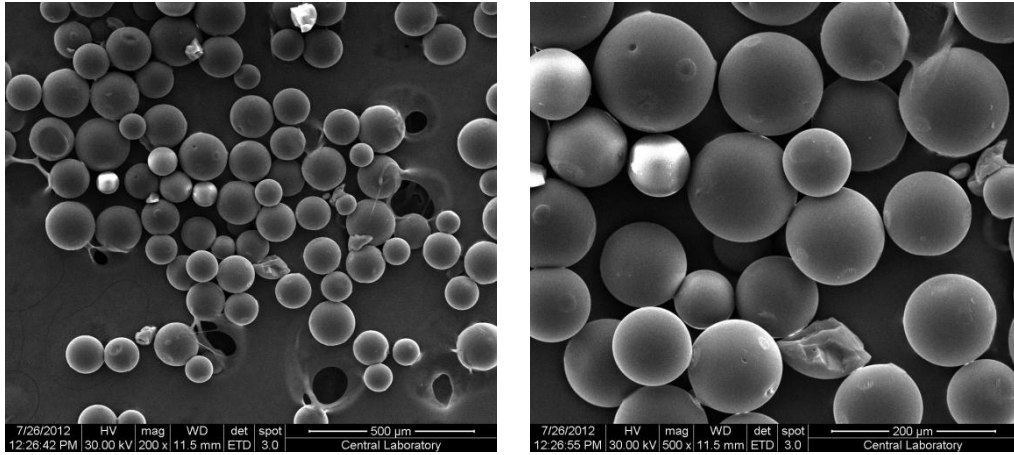
5.1.4. (APS-Fur-NO₂) Polimeri

Aşağıda (APS-Fur-NO₂) polimerine ait FT-IR spektrumu Şekil 5.8.'de görülmektedir. (APS-Fur) polimerine ait alifatik ν_{C-H} titreşimi 2920cm^{-1} ve 2850cm^{-1} de, aromatik ν_{C-H} titreşimi ise 3060cm^{-1} ve 3021cm^{-1} de gözlenmiştir. Ayrıca $\nu_{C-H}(\text{overtonlar})$ titreşimleri ise 1947cm^{-1} , 1878cm^{-1} ve 1808cm^{-1} de gözlenmiştir(Şekil 5.8.A). Bu piklerin APS polimerindeki pikler ile aynı titreşim frekansında görülmesi polimerik yapının korunduğunu göstermektedir. $-\text{CH}=\text{N}-$ grubunun katılma sonucunda meydana geldiği 1618cm^{-1} 'de görülen keskin pikin ortaya çıkışından dolayı ön görüldü (Şekil 5.8.B). Ayrıca 834cm^{-1} de gözlenen pikin fufural halkasına ait olduğu düşünülen ν_{halka} titreşimi (Şekil 5.8.C). olarak ön görüldü [50].

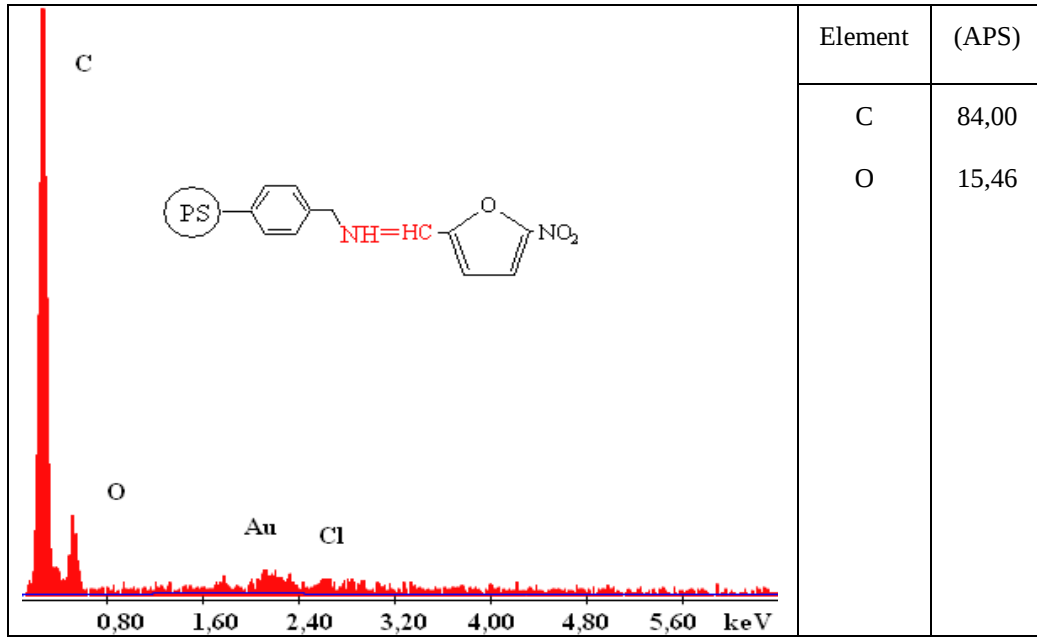


Şekil 5.8. (APS-Fur-NO₂) polimerinin FT-IR spektrumu

Arka sayfada görüldüğü gibi, (APS) ve (APS-Fur-NO₂) polimerlerinin yüzey modifikasyonlarında değişiklik olmamıştır. Bu sonuç ise bize polimerik yapıların korunduğunu göstermektedir.



Resim 5.5. (APS-Fur-NO₂) polimerinin SEM (120 ve 500 büyültmeli) görüntüsü



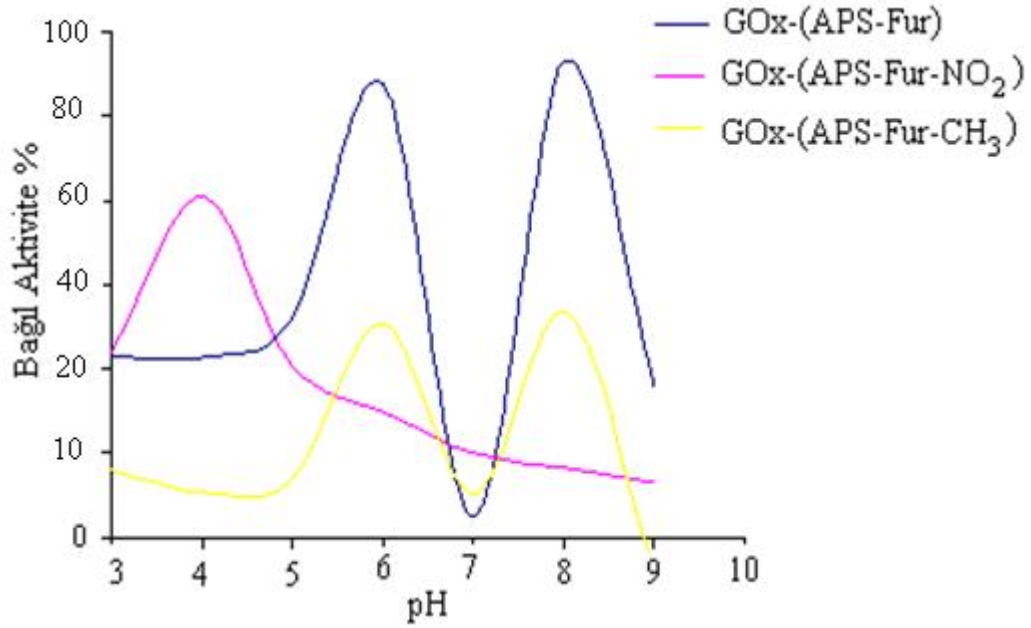
Şekil 5.9. (APS-Fur-NO₂) polimerinin EDS spektrumu

Şekil 5.9’da görüldüğü gibi (APS-Fur-NO₂) polimerlerine ait EDS değerlerine göre oksijen elementin yüzdesi, (APS) ve (APS-Fur) polimerleri’ninkinden daha fazla bulunmuştur. Bu sonuca, (APS) polimerine –NO₂ grubunu bulunduran aldehitin takıldığıнын bir göstergesi olarak bakılabilir. Au ve Cl elementlerinin 1,80-2,80 keV arasında ortaya çıkmasının nedeni, bölüm 5.1.1’de verilen açıklamalarda belirtilmiştir.

5.2. İmmobilizasyon Üzerine Çalışmalar

5.2.1. İmmobilize edilen β - glukoz oksidazın aktifliğine pH etkisi

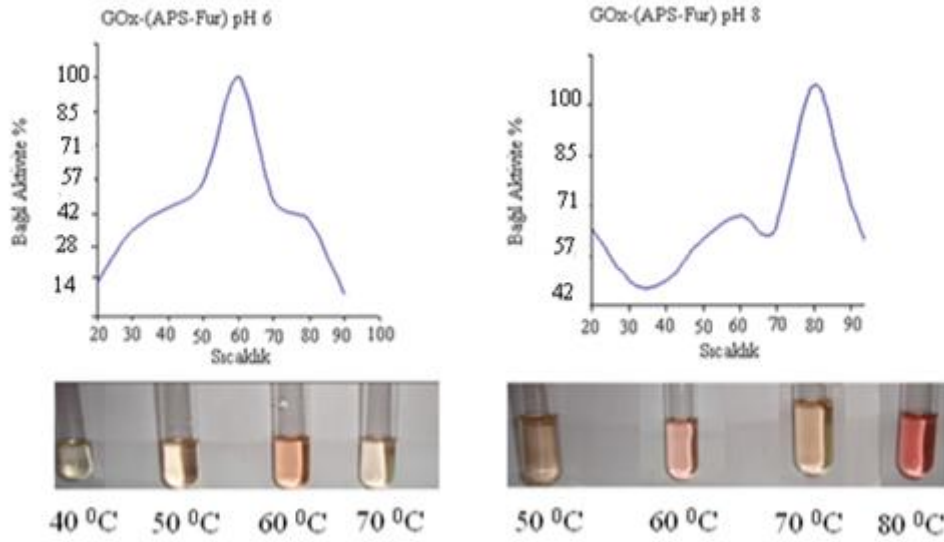
Modifiye olmuş polimerlerehidrojen bağları ile kuvvetlendirilmiş adsorpsiyon yöntemi ile immobilize edilen β - glukoz oksidazın aktifliğine pH etkisini incelemek için Bölüm 4.2.2' de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen reaksiyonlara ait maksimum aktiflik değerlerinin pH ile değişimi şekil 5.10. daki gibidir. Furfural ve 5-metilfurfural için optimum pH 6 ve 8 iken 5-nitrofurfural için pH 4 olarak bulunmuştur.



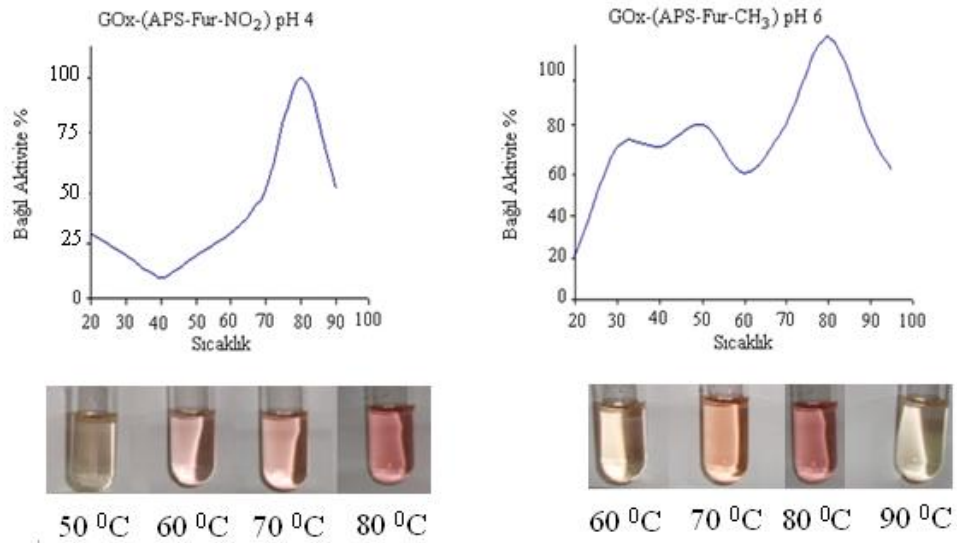
Şekil 5.10.(APS-Fur), (APS-Fur-CH₃), (APS-Fur-NO₂) kodlu polimerlere ait optimum pH grafiği

5.2.2. İmmobilize edilen β - glukoz oksidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi

Hidrojen bağları ile kuvvetlendirilmiş adsorpsiyon yöntemiyle polimerlere immobilize edilen β - glukoz oksidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi Bölüm 4.2.4' de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen reaksiyonlara ait maksimum aktiflik değerlerinin sıcaklık ile değişimi şekil 5.11. deki gibidir.

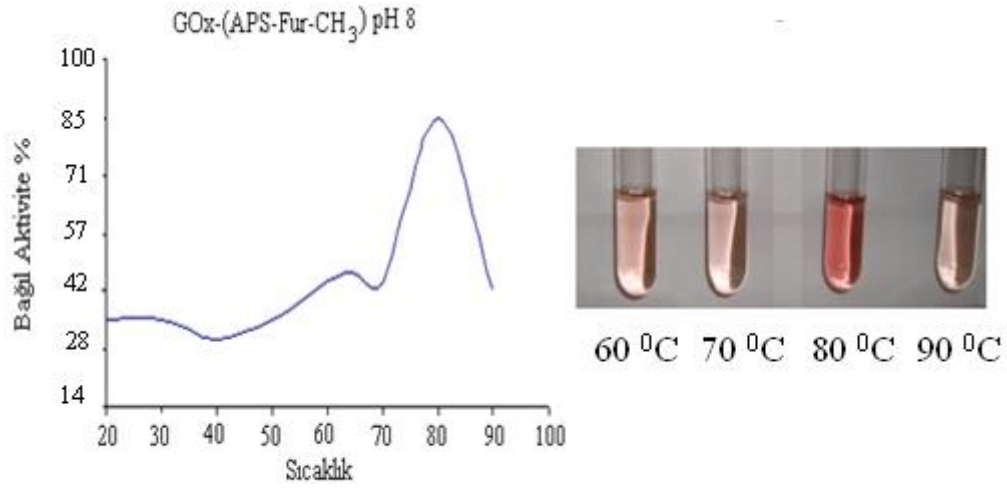


Şekil 5.11.(APS-Fur)kodlu polimerin pH= 6 ve pH=8 deki optimum sıcaklık grafiği ve çalışılan sıcaklıklarda oluşan ürüne ait görüntüleri



Şekil 5.12.(APS-Fur-NO₂) kodlu polimer için pH= 4, (APS-Fur-CH₃) kodlu polimer için pH= 6 deki optimum sıcaklık grafikleri ve çalışılan sıcaklıklarda oluşan ürüne ait görüntüleri

APS-Fur'ın pH 6 daki optimum sıcaklığı 60 °C, pH 8 deki optimum sıcaklığı 80 °C iken (APS-Fur-CH₃)'in pH 6 daki optimum sıcaklığı 80 °C, pH 8 deki optimum sıcaklığı 80 °C olarak belirlenmiştir. (APS-Fur-NO₂)'ın ise pH 4 deki optimum sıcaklığı 80 °C olarak bulundu.



Şekil 5.13. (APS-Fur-CH₃) kodlu polimerin pH 8 deki optimum sıcaklık grafikleri ve çalışılan sıcaklıklarda oluşan ürüne ait görüntüleri

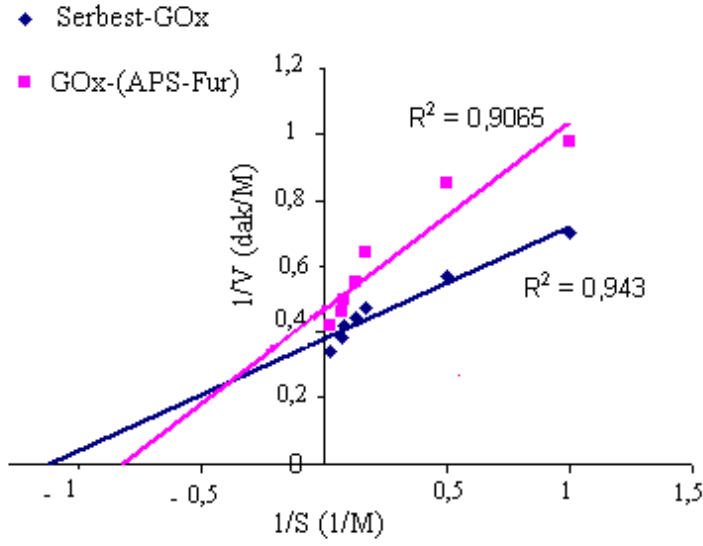
5.2.3. İmmobilize edilen β - glukoz oksidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisi

Hidrojen bağları ile kuvvetlendirilmiş adsorpsiyon yöntemiyle polimerlere immobilize edilen β - glukoz oksidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisini incelemek için Bölüm 4.2.6' da anlatılan reaksiyon ve yöntem gerçekleştirildi.

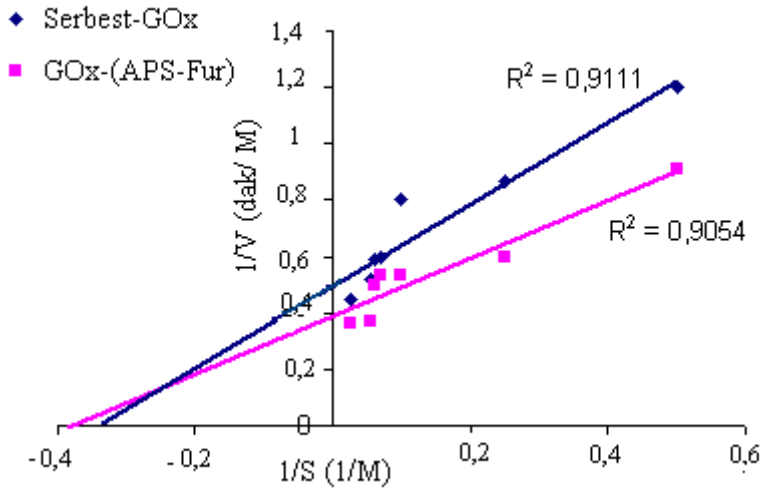
Kalibrasyon grafiğinden elde edilen sonuçlar yardımı ile hesaplanan V_{mak} ve K_m değerleri çizilen Lineweaver-Burk grafiğinden elde edildi(Şekil 5.14-5.16).

Şekil 5.14.'de (APS-Fur) kodlu polimer için pH= 8, sıcaklık 80 °C ve pH= 6, sıcaklık 60 °C'deki Lineweaver-Burk grafiği çizilmiştir.

Grafikte görüldüğü gibi serbest haldeki enzim ile immobilize olmuş enzimin R^2 değerleri sırası ile 0,9065, 0,9430ve 0,9111, 0,9054 olarak ortaya çıkmıştır.



A

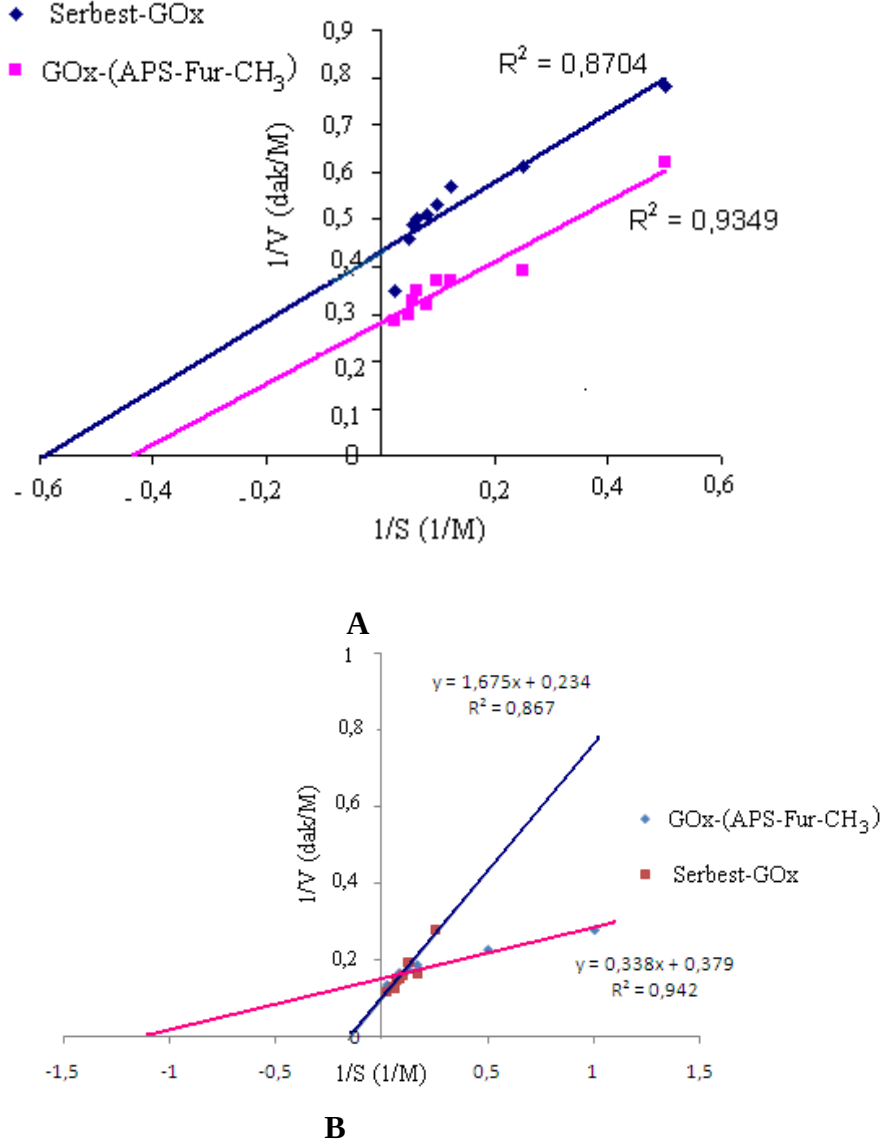


B

Şekil 5.14. (APS-Fur) kodlu polimerin pH= 8, t= 80 °C (A) ve pH= 6, t= 60 °C (B) deki Lineweaver-Burk grafiği

Regresyon değerinin 1'e yakın olması deneysel değerlerin birbiri ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

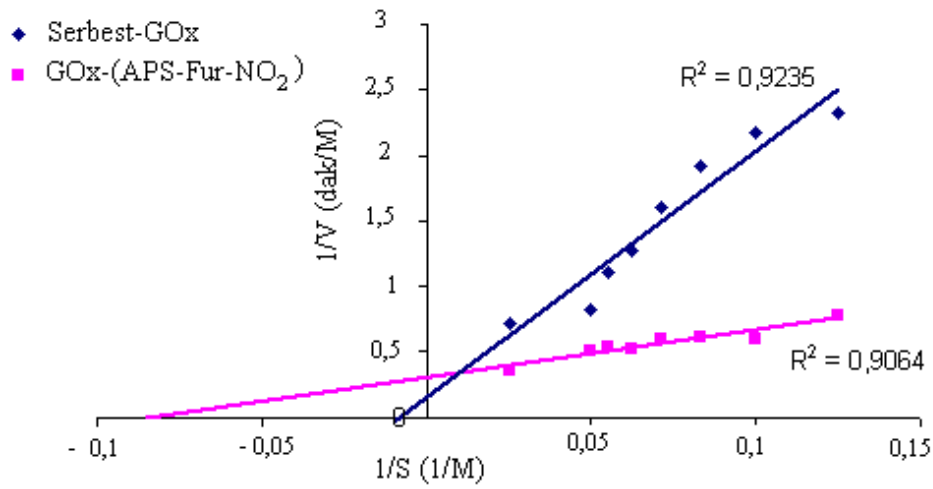
Şekil 5.15.'da (APS-Fur-CH₃) kodlu polimer için optimum pH= 6, sıcaklık 80 °C ve optimum pH= 8, sıcaklık 80 °C'deki Lineweaver-Burk grafiği çizilmiştir.



Şekil 5.15. (APS-Fur-CH₃) kodlu polimerin pH= 6, t= 80 °C (A) ve pH= 8, t= 80 °C (B) deki Lineweaver-Burk grafiği

Grafikten görüldüğü gibi serbest haldeki enzim ile immobilize olmuş enzimin R^2 değerleri sırası ile 0,8704, 0,9349 ve 0,9288, 0,8671 olarak orataya çıkmıştır. Regresyon değerinin 1'e yakın olması deneysel değerlerin birbiri ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

Şekil 5.16.'da (APS-Fur-NO₂) kodlu polimer için optimum pH= 4, sıcaklık 80 °C'deki Lineweaver-Burk grafiği çizilmiştir. Grafikten görüldüğü gibi serbest haldeki enzim ile immobilize olmuş enzimin R² değerleri sırası ile 0,9235, 0,9064 olarak orataya çıkmıştır. Regresyon değerinin 1'e yakın olması deneysel değerlerin birbiri ile uyumlu olduğunu göstermektedir.



Şekil 5.16. (APS-Fur-NO₂) kodlu polimerin pH=4, t=80 °C deki Lineweaver-Burk grafiği

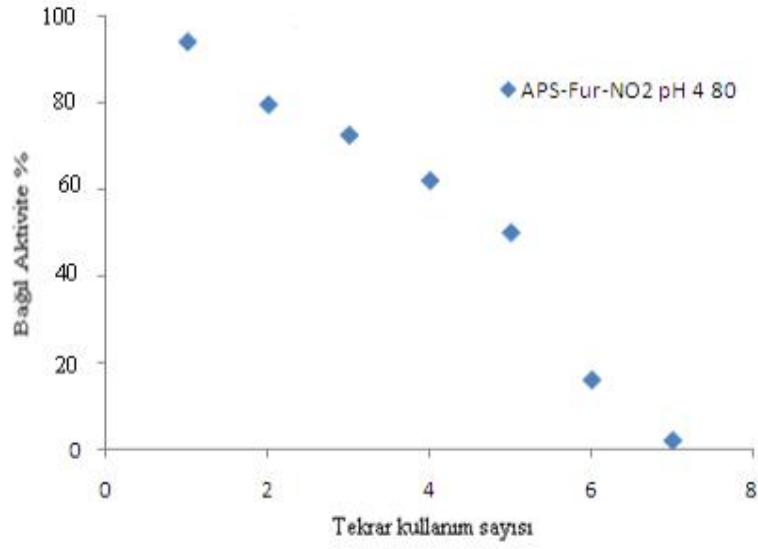
Grafiklerden elde edilen sonuçlar aşağıdaki çizelgede(Çizelge5.1) toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 5.1. İmmobilize ve serbest enzim için kinetik parametreler

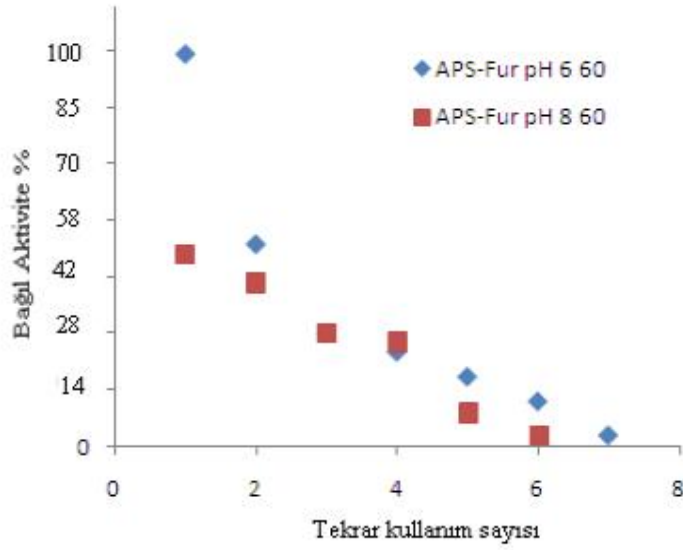
	V _{max}	V _{max}	K _m	K _m
Çalışma Şartları	Enzim	Schiff bazı içeren polimer	Enzim	Schiff bazı içeren polimer
80 °C pH 4	0,148	0,3032 (APS-Fur-NO ₂)	0,0078	0,083 (APS-Fur-NO ₂)
80 °C pH 6	0,432	0,2817 (APS-Fur-CH ₃)	0,5925	0,4402 (APS-Fur-CH ₃)
60 °C pH 6	0,4971	0,386 (APS-Fur)	0,341	0,374 (APS-Fur)
80 °C pH 8	0,3788	0,4683 (APS-Fur)	1,12	0,8245 (APS-Fur)
80 °C pH 8	0,3788	0,2348 (APS-Fur-CH ₃)	1,12	0,1401 (APS-Fur-CH ₃)

5.2.4. İmmobilize edilen β- glukoz oksidazın tekrar kullanılabilirliği

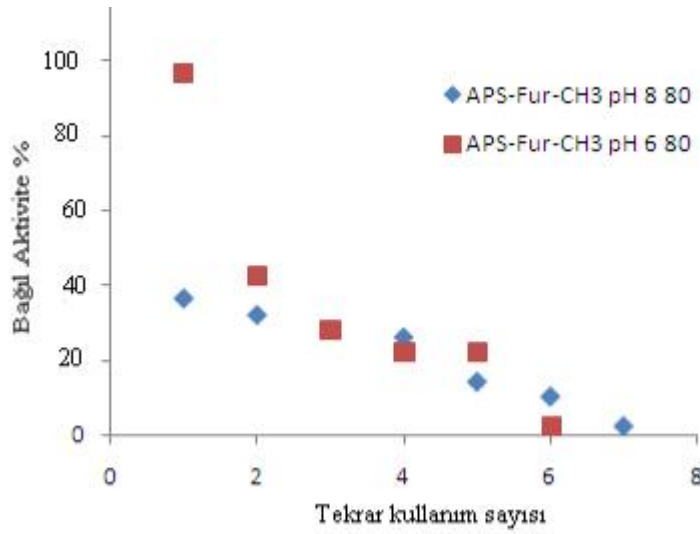
Hidrojen bağları ile kuvvetlendirilmiş adsorpsiyon yöntemiyle polimerlere immobilize edilen β- glukoz oksidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisini incelemek için Bölüm 4.2.8' de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen reaksiyonlara ait maksimum aktiflik değerlerinin tekrar kullanım sayısı ile değişimi aşağıdaki gibidir.



Şekil 5.17. (APS-Fur-NO₂) kodlu polimerin pH=4, t=80 °C deki tekrar kullanılabilirlik grafiği



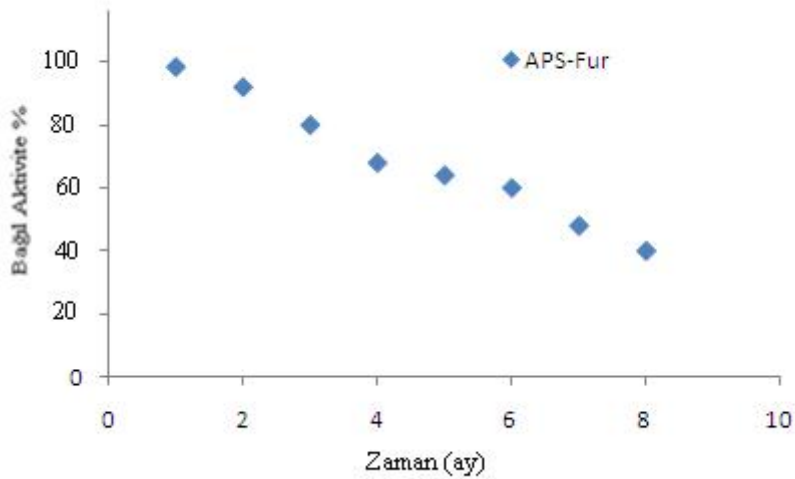
Şekil 5.18. (APS-Fur) kodlu polimerin pH= 8, t= 80 °C ve pH= 6, t= 60 °C deki tekrar kullanılabilirlik grafiği



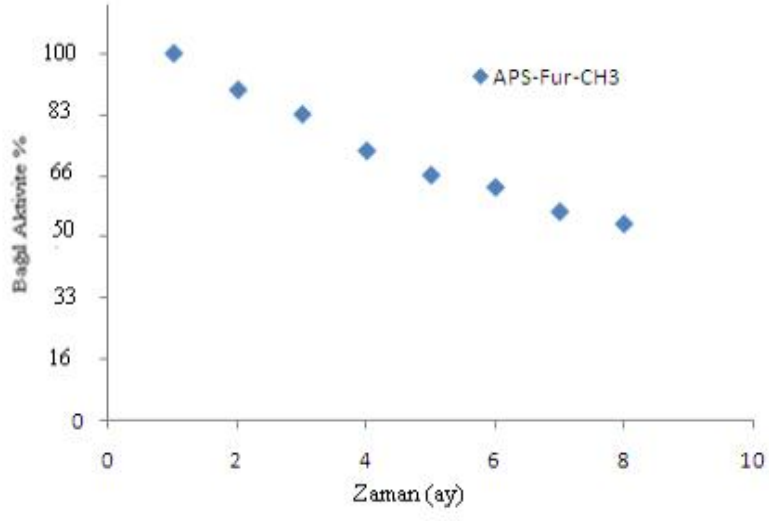
Şekil 5.19. (APS-Fur-CH₃) kodlu polimerin pH= 6, t= 80 °C ve pH= 8, t= 80 °C deki tekrar kullanılabilirlik grafiği

5.2.5. İmmobilize edilen β - glukoz oksidazın depolama kararlılığı

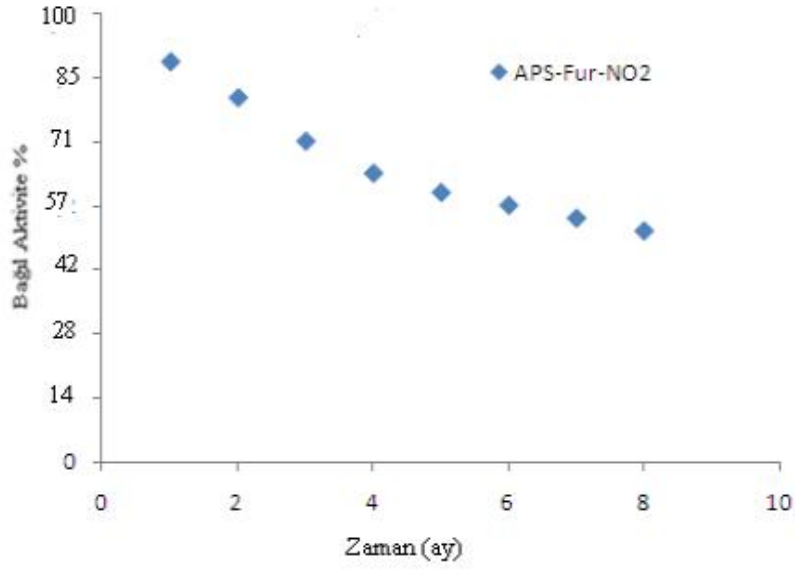
Hidrojen bağları ile kuvvetlendirilmiş adsorpsiyon yöntemiyle polimerlere immobilize edilen β - glukoz oksidazın depolama kararlılığı için her bir (1) ayda bir UV-GB spektrofotometresiyardımla 498 nm de absorbansdeğerleri okundu.



Şekil 5.20. (APS-Fur) kodlu polimerin depolama kararlılığı



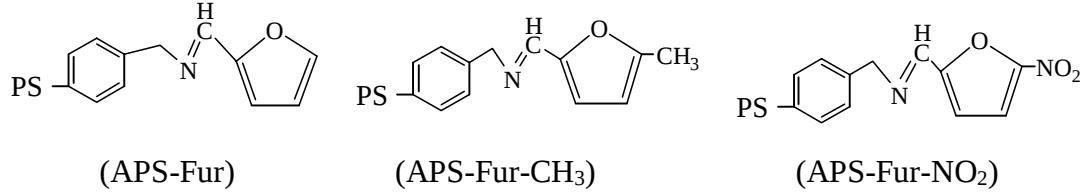
Şekil 5.21. (APS-Fur-CH₃) kodlu polimerin depolama kararlılığı



Şekil 5.22. (APS-Fur-NO₂) kodlu polimerin depolama kararlılığı

6. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışma iki bölümden oluşmaktadır. Birincisi polistiren destekli yeni üç adet polimerler sentezlenmiştir. Spektral olarak karakterize edilen polimerlerde Schiff bazının olduğu FTIR spektrumu ile incelenmiştir. Ayrıca (APS-NH₂) polimerinin modifikasyonu sonucunda mevcut yapının bozunmadığı polimerik yapının korunduğu SEM fotoğraflarından görülebilir. Karakterizasyon sonucunda modifiye olan polimerler için önerilen yapılar aşağıda verilmiştir. (Şekil 6.1).



Şekil 6.1. Modifiye edilmiş polimerler için ön görülen yapılar

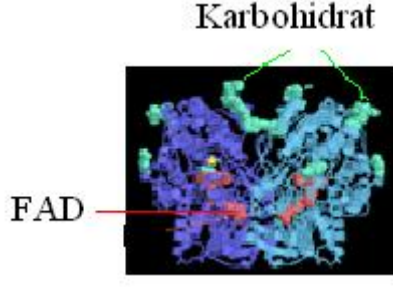
Tez çalışmasının ikinci bölümü enzim çalışması üzerine olmuştur. Bu çalışmada kullanılan enzim β -glukoz oksidaz dır. β -glukoz oksidaz enziminin serbest haldeki aktivitesine ve polistiren destekli furfural ve onun -CH₃ ve -NO₂ türevlerinin takılması sonucunda oluşan polimerlere β -glukoz oksidazın immobilize edilmesi ile enzimin aktivitesine etki eden çeşitli parametreler incelenmiştir. İncelemeler sonucunda elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

- 1- Serbest β -glukoz oksidazın optimum pH'ı 5 bulunmuştur [51]. (APS-Fur), (APS-Fur-CH₃), (APS-Fur-NO₂) kodlu polimerler üzerine immobilize edilen β -glukoz oksidaz enzimleri için optimum pH, (APS-Fur) ve (APS-Fur-CH₃) için pH 6,0 ve 8,0 (APS-Fur-NO₂) için pH 4,0 olarak bulunmuştur.
- 2- Serbest β -glukoz oksidazın optimum sıcaklığı 60° C olarak bulunmuştur.[51]. Immobilize edilen β -glukoz oksidaz enzimi için optimum sıcaklık değerleri (APS-Fur) ve (APS-Fur-CH₃) için pH 6,0 da 60° C, pH 8,0 de ise 80° C

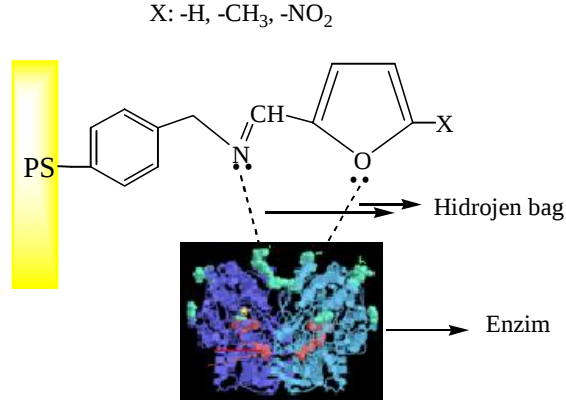
olarak bulunurken, (APS-Fur-NO₂) için pH 4 de 80° C derece olarak bulunmuştur.

- 3- Serbest β -glukoz oksidaz için Km değerleri, immobilize enzimin optimum sıcaklık ve pH değerlerine göre ayrı ayrı hesaplanmıştır. pH 6,0 ve 60° C'de Km= 0,4971 Mm, pH 8,0 ve 80° C'de Km=0,3788 Mm, pH 4 ve 80° C'de 0,148 Mm, pH 6 ve 80 ° C'de Km 0,432 Mm olarak bulunmuştur. İmmobilize edilen β -glukoz oksidaz enzimi için Km değerleri (APS-Fur), (APS-Fur-CH₃) ve (APS-Fur-NO₂) için ayrı ayrı hesaplanmıştır.(APS-Fur) için pH 6,0 ve 60° C'de Km 0,386 Mm ve pH 8,0 ve 80 ° C'de Km 0,4683 Mm olarak bulunmuştur. (APS-Fur-CH₃) polimeri için ise, pH 8,0 ve 80 °C'de Km 0,2348 Mm ve pH 6,0 ve 80 ° C'de Km 0,2817 Mm olarak bulunurken, (APS-Fur-NO₂) için pH 4 ve 80 ° C Km 0,3032 Mm olarak bulunmuştur.
- 4- Serbest β -glukoz oksidaz için V_{mak} değerleri pH 6,0 ve 60 °C'de 0,341 mM.dak⁻¹, pH 8,0 ve 80°C'de 1,12 mM.dak⁻¹, pH 4 ve 80 °C'de 0,0078 mM.dak⁻¹, pH 6 ve 80 °C'de mM.dak⁻¹ olarak bulunmuştur.İmmobilize edilen β -glukoz oksidaz enzimleri için ise V_{mak} değerleri, (APS-Fur) için pH 6,0 ve 60°C'de 0,374 mM.dak⁻¹ve pH 8,0 ve 80 °C'de 0,8245 mM.dak⁻¹ olarak belirlenmiştir. (APS-Fur-CH₃) için pH 8,0 ve 80 °C V_{mak} 0,1401 mM.dak⁻¹ ve pH 6,0 ve 80 °C 0,4402 mM.dak⁻¹ olarak bulunmuştur. (APS-Fur-NO₂) için pH 4 ve 80 ° C V_{mak} 0,083 mM.dak⁻¹ olarak bulunmuştur.
- 5- Bu çalışmada farklı optimum pH'lar gözlenmiştir. Bu durum enzimin aktif bölgelerinin farklı pH larda farklı amino asit kısımlarının etkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır.
- 6- Bu çalışmada enzimin, hidrojen bağları oluşturarak immobilize edildiği söylenebilir. Bilindiği gibi glüköz oksidazın dış kabuğunda karbohidrat bulunmaktadır (Şekil 6.2).

Karbohidrat'ın $-OH$ grubu, yapıdaki $-NH_2$ veya $-COOH$ grupları ile, polimerin yapısındaki $-CH=N-$ azot atomu arasında hidrojen bağları oluşabilir (Şekil 6.3.)



Şekil 6.2. Glükoz oksidazın iki boyutlu görünümü



Şekil 6.3. Glükoz oksidaz ve polimer arasındaön görülen.hidrojen bağın oluşumu

7- Sıcaklık artıkça K_m değerlerinin genellikle arttığı Çizelge 5.1'de görülmektedir. Substant grubu değıştikçe $80^\circ C$ sıcaklık çalışmalarında enzimin aktif olduğu pH nın değıştiğı çizelgede görülmektedir. (Aps-Fur- NO_2) için enzimin aktiflik gösterdiği pH 4 iken metil için pH 6 da görülmüştür. Kaynak araştırmasına göre, kataliz olayı asidik ortamda meydana geliyorsa enzimin Glu412 olarak kodlanan bölgesi, nötral ortamda reaksiyon oluşuyorsa enzimin His516kısımlı, bazık ortamda reaksiyon oluşuyorsa enzimin His559 kısmı etkiliolur [52].

Bu bilgiler dikkate alındığında immobilize olan enzimin Glukoz oksidaz enziminin, kataliz reaksiyonlarında rol oynayan üç önemli aminoasit yan zinciri vardır. Bunlar His516, Glu412 ve His559'dur. (APS-Fur-NO₂) takılmış olan enzimin pH 4'de aktif olmasının nedeni enzimin glu412 kodlu kısmının aktif rol oynadığı, buna karşın (APS-Fur-CH₃) enzimin his 516 kodlu kısmının aktif rol oynadığı yorumu yapılabilir.

Glukoz oksidaz enzim immobilizasyonunda kullanılan bu polimerler, (APS-Fur), (APS-Fur-CH₃), (APS-Fur-NO₂), başka enzim immobilizasyon çalışmalarında da uygulanabileceğinden biyosensör olarak çalışılması mümkündür.

KAYNAKLAR

1. Karakaplan, M., “Yeni tip oligomer Schiff bazlarının ve metal komplekslerinin sentezi ve karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana, 2-3 (2008).
2. Patai, S., “The Chemistry of Functional Groups”, **The Chemistry of Carbon-Nitrogen Double Bond**, Wiley, New York, 238-47 (1970).
3. Orgel, L. E. “An Introduction to The Transition-Metal Chemistry Ligand Field” **Theory Methuen**, London 300s (1960).
4. Serin, S., “1,3-Difenil-2-To-5-Bis(Hidroksimino)-1, 2, 4, 5-Tetrahidroimidazol Eldesi, Geometrik İzomerleri ve Geçiş Metalleri ile Kompleks Formasyonları” Doktora Tezi, **K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü**, Trabzon, (1980).
5. Özbülbül, A., “Oligofenol esaslı yeni tip oligomer schiff bazlarının sentezi ve karakterizasyonu” Yüksek Lisans Tezi, **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana, 2-3 (2006).
6. West, D. X., Pannell, L. K., “Transition metal ion complexes of thiosemicarbazones derived from 2-acetylpyridine N-oxide. II. The ⁴N-derivative” **Transition Metal Chemistry**, 14, 457 (1989).
7. Sarı N., Gürkan P., Arslan S. “Synthesis, potentiometric and antimicrobial activity studies on 2-pyridinylidene-DL-amino acids and their complexes”, **Transition Metal Chemistry**, 28: 468–474 (2003).
8. Sarı N., Gürkan P., Çete S., Şakiyan İ., “Synthesis, Potentiometric and Antimicrobial Activity Studies on DL-Amino Acids–Schiff Bases and Their Complexes” **Russian Journal of Coordination Chemistry**, 32 (7): 511–517 (2006).
9. Nartop D., Gürkan P., Sarı N., Çete S., “Tetradentate asymmetric Schiff bases and their Ni(II) and Fe(III) complexes” **Journal of Coordination Chemistry**, 61(21):3516–3524 (2008)
10. Sarı N., Gürkan P., “Investigation of the solid-state conductivity and the potentiometric stability constant relationships of new amino acid-Schiff bases and their complexes”, **Transition Metal Chemistry**, 28: 687–693 (2003)
11. Zhiyong Cai, “Selected properties of MDF and flakeboard overlaid with fiberglass mats” **Forest Products Journal**, 56(11/12):142-146 (2006)
12. İnternet: Furan derivatives, Vol 12.
<http://www.scribd.com/doc/30133794/Furan-Derivatives>

13. J. P. Trickey, C. S. Miner, H. J. Brownlee. Furfural Resins. **Industrial & Engineering Chemistry**, 15 (1):65–66 (1923)
14. Li, W., Wang, M., “Electrical and magnetic properties of conjugated schiff base polymers”, **Journal of Applied Polymer Science**, 62: 941-950 (1996)
15. Deligönül, N., “Schiff bazı esaslı polimerik metal komplekslerinin sentezi, karakterizasyonu, katalitik, antimikrobial ve elektriksel özelliklerinin incelenmesi” Yüksek Lisans Tezi, **Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Kahramanmaraş, 17 (2006)
16. Suja N. R., Mohammed Yusuff K. K., “Cobalt (II), Nickel (II), and Copper (II) Complexes of Polystyrene-Supported Schiff Bases”, **Journal of Applied Polymer Science**, 91: 3710-3719 (2004)
17. K. C. Gupta, H. K. Abdulkadir, S. Chand “Synthesis of Styrene-Allylchloride Copolymer Supported Cobalt(II) Schiff Base Complex and Its Catalytic Activity”, **Polymer Research Laboratory, Department of Chemistry**, Indian Institute of Technology, Roorkee, UA, India
18. Radhakrishnan, T., Kolawole, G. A., Revaprasadu, N., Nair, S., Sreekala, N. B., “Studies of microenvironmental effects on complexation of polymer-bound Schiff bases with transition metal ions”, **Syntheses and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry**, 32(7):1153-1175 (2002)
19. Mathew T., Kuriakose S., “Copper(II) and Silver (II) Complexes of Polymer-Bound Porphyrins with Schiff Base Linkage”, **Journal of Applied Polymer Science**, 686- 574, Kerala, India
20. Mostafaa S. I., Ikedab S., Ohtani B., “Transition metal Schiff-base complexes chemically anchored on Y-zeolite: their preparation and catalytic epoxidation of 1-octene in the suspension and phase boundary systems’ **Journal of Molecular CatalysisA: Chemical**, 225:181–188 (2005)
21. Lagadic, I. L., “Schiff base chelate-functionalized organoclays”, **Microporous and Mesoporous Materials**, 95:226–233 (2006)
22. Gonza´lez-Arellano, C., Corma, A., Iglesias, M., And Sanchez F., “Pd(II)-Schiff Base Complexes Heterogenised on MCM-41 and Delaminated Zeolites as Efficient and Recyclable Catalysts for the Heck Reaction”, **Advanced Synthesis & Catalysis**, 346:1758-1764 (2004)
23. El-Sonbati, A. Z., Al-Shihri, A. S., and El-Bindary, A. A. “ Polymer Complexes XLV. Spectral Studies on Metal -Ligand Bonding in Novel Poly-Schiff Base Complexes”, **Journal of Inorganic and Organometallic Polymers**, 14 (1): 53-71 (2004)

24. Aswar, A. S. And Bhawe, N. S., "Thermal and electrical studies of some polychelates", *Colloid Polymer Science Journal.*, 269:547-552 (1991)
25. Kumar, G. S. V., And Mathew, B., "Influence of the Nature of Crosslinking Agents on the Catalase-like Activity of Polystyrene-Supported Schiff Base Metal Complexes", *Journal Of Macromolecular Science*, A41(9):1037-1050 (2004)
26. Illanes, A., "Enzyme Biocatalysis Principles and Applications", *Springer Science + Business Media B.V.*, ISBN 978-1-4020-8360-0, 398 (2008)
27. Şahin, E., "Poli(metil metakrilat-2-hidroksietil metakrilat) mikrobuncuklarına kovalent bağlanma ile glukoz izomerazın immobilizasyonu", Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 3 ,(2007)
28. Önal S. Ç., "Karpuz (Citrullus Vulgaris) α -galaktosidazının doğal ve sentetik polimerlerde immobilizasyonu", Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, 39-41, (2000)
29. Öcal B. L., "Poli(vinil alkol) - kalsiyum aljinat, poli(n-izopropilakrilamit)-kalsiyum aljinat kürelerine β -galaktosidaz immobilizasyonu", Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 2, 3, 10-11, (2007)
30. Kaya N.,Biyokimya,*Atatürk Üniversitesi Yayınları*, Erzurum,(1993)
31. Chaplin M. F. and Bucke C., "Enzyme Technology",*Cambridge University Press*, Cambridge, (1990)
32. Munjal N., Sawhney S.K., " Stability and properties of mushroom tyrosinase entrapped in alginate, polyacrylamid, and gelatin gels", *Enzyme and Microbial Technology*, 30: 613-619, (2002)
33. Richardson T., Finley J. W., "Chemical Changes in Food during Processing",*Springer Journals*, ISBN 0-87055-504-9, 520, (1985)
34. Hammer R.J., "Fundamentals of Enzyme Activity in 'Enzymes in Food Processing.",*Eds G.A.Tucker Chapman and Hall*, London, (1995)
35. Aiba S., Humphrey A. E., Milles N.F, Biochemical Engineering, 2nd Edition, *Academic Press, Inc*, Newyork and London, 434, (1973)
36. Kilara A., Shahani K.M., Enzymes in food technology, Comprehensive Biotechnology, Moo-Young, M. (Ed.), Volume 3, Pergamon Pres,England, 1136, (1985)
37. Kaya E., "Ekmek üretiminde kimyasal oksidanlar yerine enzim sistemlerinin kullanımının araştırılması" Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı*(2007)

38. Carlsson J., Axén R., And Unge T., “Reversible, covalent immobilization of enzymes by thiol-disulphide interchange”, *European Journal of Biochemistry*, 59: 567-572, (1975)
39. Merritt E. A., And Bacon D. J., “Raster3D: photorealistic molecular graphics”, *Methods Enzymoloji*, 277: 505–524, (1997)
40. İnternet:
<http://www.rpi.edu/dept/chem-eng/Biotech- Environ/IMMOB/carrier.htm>
(14.03.2006)
41. Rao M.B., Tanksale A.M., Ghatge M.S., and Deshpande V.V., “Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases”, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 62(3):597-635, (1998)
42. Aehle W., “Enzymes in Industry Production and Applications”, *Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA*, USA (2004)
43. Bickerstaff G.F., “Immobilization of Enzymes and Cells, Humana Press”, Totowa, New Jersey (1997)
44. Immobilized Enzymes, <http://www.lib.rpi.edu/dept/chem-eng/Biotech- Environ/IMMOB/Immobil.htm>.(2004)
45. Xing G.W., Li X.W., Tian G.L. and Ye Y.H., “Enzymatic Peptide Synthesis in Organic Solvent with Different Zeolites as Immobilization Matrixes”, *Tetrahedron*, 56: 3517-3522, (2000)
46. İnternet:Enzyme Immobilization,
<http://alfa.ist.utl.pt/~fidel/enzymatic/appendix/immobil.html>, (2004)
47. Gökgöz M., “Lakkazin poliakrilamit ve poliakrilamit – k-Karragenan jellerine immobilizasyonu”, Kırıkkale üniversitesi fen bilimleri enstitüsü, (2006)
48. Aynacı E., “(Aminometil) Polistirene Takılı Schiff Bazı ve O’nun Ni(II) Kompleksinin Sentezi, Karakterizasyonu ve β -Galaktosidaz Enziminin İmmobilizasyon Özelliklerinin İncelenmesi”, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, (2009)
49. Bozkır E., “(Aminometil) Polistirenin Modifiye Edilerek Karbinolamin, Schiff Bazı ve Onların Ni(II) ve Cu(III) Koordinasyon Polimerlerinin Sentezi ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Değerlendirilmesi”, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, (2011)
50. Sarı N., “Bazı Heterosiklik Aldehitler ile Aminoasitlerden Yeni Schiff Bazlarının ve Cu(II), Ni(II) Komplekslerinin Sentezlenmesi ve Yapılarının Aydınlatılması”, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, (1999)

51. Antepli E., Nartop D., Sarı N., Kurnaz Yetim N., “Polystyrene Attached Pt(IV) Azomethine, Synthesis and Immobilization of Glucose Oxidase Enzyme”, *International Journal of Molecular Sciences*, (2012)
52. Leskovaca V., Trivic S., Wohlfahrt G., Kandrac J., Pericin D., *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 37 :731–750 (2005)

ÖZGEÇMİŞ**Kişisel Bilgiler**

Soyadı, adı : BAĞCACIER, ZEHRA NEHİR
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri : 04.02.1987 OSMANİYE
Medeni Hali : Bekar
Cep : 0 (505) 807 33 60
e-mail : nehirbagcacier@yahoo.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya	2012
Lisans	Selçuk Üniversitesi / Kimya	2010
Lise	Osmaniye Çukurova Lisesi	2004

Yabancı Dil

İngilizce