



T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

YENİ BİR AZOMETİN FENOL TÜREVİNİN KEMOENZİMATİK
POLİKONDENZASYONU

MELİKE MUTLU

Şubat 2018



T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

YENİ BİR AZOMETİN FENOL TÜREVİNİN KEMOENZİMATİK
POLİKONDENZASYONU

MELİKE MUTLU

Yüksek Lisans Tezi

Danışman
Doç. Dr. Ersen TURAÇ

Şubat 2018

Melike MUTLU tarafından **Doç. Dr. Ersen TURAÇ** danışmanlığında hazırlanan “**Yeni Bir Azometin Fenol Türevinin Kemozimatik Polikondenzasyonu**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Ana Bilim Dalı**’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Ersen TURAÇ (Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Yavuz SÜRME (Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Ersen GÖKTÜRK (Mustafa Kemal Üniversitesi)



ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun/...../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Murat BARUT
MÜDÜR V.

TEZ BİLDİRİMİ

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

Melike MUTLU

ÖZET

YENİ BİR AZOMETİN FENOL TÜREVİNİN KEMOENZİMATİK POLİKONDENZASYONU

MUTLU, Melike

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Ersen TURAÇ

Şubat 2018, 45 sayfa

Bu çalışmada, öncelikle fenoksi imin türevli (E)-4-((benzilimino)metil)fenol monomerikondenzasyon reaksiyonu ile sentezlenmiş ve monomerin kimyasal yapısı UV-Vis, FTIR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spektroskopileriyle karakterize edilmiştir. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün enzimatik oksidatif polimerizasyonu oksitleyici ajan ve katalizör olarak hidrojen peroksit varlığında HRP kullanılarak oda sıcaklığında değişik çözücü ve fosfat tamponlarında (pH: 3,0 4,0 5,0 6,0) gerçekleştirilmiştir. Optimum şartlar belirlenmiştir. Çalışmalar koyu kahve renkli polimerin, çözücü olarak sulu etanolün kullanıldığı pH: 4 fosfat tamponunda başarılı bir şekilde sentezlendiğini göstermiştir. Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün karakterizasyonu UV-Vis, FT-IR, ¹H-NMR, TGA/DTA ve GPC analiz teknikleri ile gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Enzimatik oksidatif polimerizasyon, fenolsi imin türevi, horseradish peroksidaz, (E)-4-(benzilamino)fenol

SUMMARY

CHEMOENZYMATIC POLYCONDENSATION OF A NEW AZOMETHINE PHENOL DERIVATES

MUTLU, Melike

Nigde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Ersen TURAÇ

February 2018, 45 pages

In this study, phenoxy imine derivative of (E)-4-((benzylimino)methyl)phenol monomer was synthesized by condensation reaction and the chemical structure of the monomer has been characterized by UV-Vis, FT-IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR spectroscopies. Enzymatic oxidative polymerization of (E)-4-((benzylimino)methyl)phenol using horseradish peroxidase (HRP) in the presence of hydrogen peroxide as catalyst and oxidizing agent was carried out in various solvents and phosphate buffers (pH: 3, 4, 5, 6) at room temperature. The optimum conditions were determined. Studies have shown that a dark brown polymer was successfully synthesized by utilizing aqueous ethanol as the solvent at pH: 4 phosphate buffer. Characterization of Poly-[4- (benzylimino)phenol] was carried out via UV-Vis, FT-IR, ¹H-NMR, TGA/DTA, and GPC analysis techniques.

Keywords: Enzymatic oxidative polymerization, phenoxy imine derivative, horseradish peroxidase, (E)-4-((benzylimino)methyl)phenol

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın tez konusu olarak seçilmesinde, planlanmasında ve yürütülmesinde banayön veren, her konuda desteğini esirgemeyen, danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ersen TURAÇ ve Prof. Dr. Ertuğrul ŞAHMETLİOĞLU hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans öğrenimim süresince yetişmemde söz sahibi olan Niğde Ömet Halisdemir Üniversitesi FenEdebiyat Fakültesi Kimya Bölümünün Öğretim Üyesi hocalarıma teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen laboratuvar arkadaşlarımdan, Doktoraöğrencisi Esra KILAVUZ'a, Yüksek lisans öğrencileri Ayşe BOZDAĞAN'a teşekkür ederim.

Ayrıca, tüm hayatım boyunca maddi, manevi desteğini esirgemeyen, beni her zamandestekleyen babam Yaşar MUTLU'ya, annem Şerife MUTLU 'ya ve diğer aile üyelerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
SİMGE VE KISALTMALAR	xiv
BÖLÜM I GİRİŞ VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	1
1.1 Giriş	1
1.2 Önceki Çalışmalar	2
1.3 Çalışmanın Amacı	11
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER	12
2.1 Polimerler Hakkında Genel Bilgiler	12
2.1.1 Monomer ve polimer	12
2.1.2 Yinelenen birim	13
2.1.3 Polimer zinciri	14
2.1.4 Zincir konformasyonu	14
2.1.5 Ana zincir, yan grup	15
2.1.6 Başlatıcı	16
2.1.7 Çıkış maddesi	16
2.2 Polimerlerin Sınıflandırılması	16
2.2.1 Molekül büyüklüklerine göre polimerler	16

2.2.1.1 Oligomerler.....	16
2.2.1.2 Makromoleküller	17
2.2.1.3 Jeller.....	17
2.2.2 Oluşumlarına göre polimerler.....	17
2.2.2.1 Doğal polimerler.....	17
2.2.2.2 Yarı sentetik veya yapay polimerler.....	17
2.2.2.3 Sentetik polimerler	17
2.2.3 Kaynaklarına göre polimerler	17
2.2.3.1 Organik polimerler	17
2.2.3.2 İnorganik polimerler	18
2.2.4 Sentezine göre polimerler	18
2.2.4.1 Basamaklı polimerizasyon.....	18
2.2.4.2 Katılma polimerizasyonu.....	18
2.2.5 Zincirlerine göre polimerler.....	18
2.2.5.1 Düz zincirli (doğrusal) polimerler	18
2.2.5.2 Dallanmış zincirli polimerler.....	19
2.2.5.3 Çapraz bağlı polimer	19
2.2.6 Yığılma şekillerine göre polimerler.....	19
2.2.7 Tekrarlanan birimin kimyasal bileşimine göre polimerler	21
2.2.7.1 Homopolimer, kopolimer	21
2.2.8 Isıya karşı davranışlarına göre polimerler	21
2.2.8.1 Termoplastik polimerler	21
2.2.8.2 Termoset polimerler	21
2.3 Polimerlerde Mol Kütlesi Türleri	21
2.4 Polimerlerde Mol Kütlesi Belirleme Yöntemleri.....	22
2.4.1 Jel geçirgenlik kromatografisi	22

2.5 Polimerlerin Isıl Özellikleri	22
2.5.1 Camsı geçiş sıcaklığı	23
2.5.2 Camsı geçiş sıcaklığını etkileyen faktörler	23
2.6 Enzimler.....	24
2.6.1 Enzim aktivitesini etkileyen faktörler	26
2.6.1.1 Sıcaklığın etkisi	26
2.6.1.2 pH'nın etkisi	27
2.6.1.3 Zaman	27
2.6.1.4 Enzim konsantrasyonu.....	27
2.6.1.5 Substrat konsantrasyonu	28
2.7 Horseradish Peroksidaz (HRP)	28
2.7.1 HRP enziminin katalitik mekanizması	29
BÖLÜM III MATERYAL VE METOT.....	31
3.1 Materyal.....	31
3.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler	31
3.1.2 Kullanılan alet ve cihazlar	31
3.1.2.1 ^1H ve ^{13}C Nükleer manyetik rezonans (^1H ve ^{13}C NMR).....	31
3.1.2.2 Infrared spektrumları (FT-IR)	31
3.1.2.3 Ultraviyole görünür bölge spektrumları (UV-Vis).....	31
3.1.2.4 GPC analiz çalışması	32
3.1.2.5 TGA/DTA.....	32
3.2 Metot.....	32
3.2.1 (E)- 4-((benzilimino)metil)fenol 'ün sentezi	32
3.2.2 (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün H_2O_2 ile enzimatik oksidatif polimerizasyonu.....	33
BÖLÜM IV BULGULAR VE TARTIŞMA	34

4.1 Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün Yapı ve Özellikleri	34
4.1.1 Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol'ün molekül ağırlığı çalışması	35
4.1.2 (E)-4-((benzilimino)metil)fenol ve Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün çözünürlük özellikleri	35
4.1.3 (E)-4-((benzilimino)metil)fenol ve Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün FT-IR spektrumları	36
4.1.4 (E)-4-((benzilimino)metil)fenol ve poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün UV- Vis spektrumları	37
4.1.5 (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün ve poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün ¹ H-NMR ve ¹³ C-NMR spektrumları	38
4.1.6 Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün termogravimetrik analiz eğrileri	41
BÖLÜM VSONUÇLAR VE ÖNERİLER	42
5.1 Sonuçlar	42
KAYNAKLAR	43
ÖZ GEÇMİŞ	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün kullanılan çözücülerdeki EOP şartları ve ürünler	34
Çizelge 4.2. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol ve Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün çözünürlük özellikleri	35



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Askorbik asit ile uyarılan hücrelerden H ₂ O ₂ salımını saptamak için kullanılan GCE şematik HRP/PGN modifiyesi	4
Şekil 1.2. HRP GO@Fe ₃ O ₄ @IL/PBA-SMIP'in sentez süreci	5
Şekil 1.3. af-GQD tabanlı rasimetrik fluoresan nanosensörünü kullanarak HRP tayininin şematik gösterimi	6
Şekil 1.4. Azo boyalarının renk gidermesi için HRP'nin yerinde çapraz bağlanmasının şematik gösterimi	6
Şekil 1.5. Seçilen fenolik mikro olabilecek kimyasal yapı.....	8
Şekil 1.6. Exo III (A) ve EcoR V (B)'nin hassas algılanması için mekanizmanın şematik gösterimi.....	10
Şekil 1.7. PGA'nın, enzimatik polimerizasyon ile sentezlenme şeması.....	10
Şekil 2.1. Vinil klorür monomerinin polivinilklorürü oluşturması.....	13
Şekil 2.2. Polistirenin yinelenen birimi (mer).....	13
Şekil 2.3. Bir polimer zincirinin kısa gösterim şekilleri (polietilen örnek alınmıştır)....	14
Şekil 2.4. Polimer zincirlerinin alabileceği bazı konformasyonlar.....	15
Şekil 2.5. Farklı yan gruplara sahip polimer örnekleri	15
Şekil 2.6. Stirenin monomer şekli ve yinelenen birimi.....	16
Şekil 2.7. Polimer zincirlerinde gözlenebilecek zincir biçimleri.....	19
Şekil 2.8. Amorf, yarı-kristal ve kristal maddelerde ısıl geçişler sırasında gözlenen davranış değişiklikleri	23
Şekil 2.9. Bir kimyasal reaksiyonun katalizlenmiş ve katalizlenmemiş halleri için enerji diyagramı.....	26
Şekil 2.10. Enzimin sıcaklığa göre reaksiyon hızının değişimi	26

Şekil 2.11. Enzimin pH'sına göre reaksiyon hızının değişimi	27
Şekil 2.12. Enzimin konsantrasyonuna göre reaksiyon hızının değişimi	27
Şekil 2.13. Substrat konsantrasyonuna göre reaksiyon hızının değişimi.....	28
Şekil 2.14. HRP enziminin üç boyutlu molekül yapısı.....	29
Şekil 2.15. Peroksidazların katalitik mekanizması	29
Şekil 3.1.(E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün sentez şeması	32
Şekil 3.2. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün EOP reaksiyonunun önerilen yapısı	33
Şekil 4.1. Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün GPC kromatogramı.....	35
Şekil 4.2. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün FT-IR spektrumu	36
Şekil 4.3. Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün FT-IR spektrumu	37
Şekil 4.4. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün ve Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün UV-Vis spektrumu	38
Şekil 4.5. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün ¹³ C-NMR spektrumu.....	38
Şekil 4.6. Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün ¹³ C-NMR spektrumu.....	39
Şekil 4.7. Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün ¹ H-NMR spektrumu	40
Şekil 4.8. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol EOP reaksiyonunun önerilen yapısı.....	40
Şekil 4.9. Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün termogravimetrik analizi eğrileri.....	41

SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
m-	Meta
o-	Orto
p-	Para
R*	Radikal
π	Pi

Kısaltmalar	Açıklama
$^{13}\text{C-NMR}$	Karbon Nükleer Magnetik Rezonans
DCM	Diklorometan
DMF	Dimetilformamit
DMSO	Dimetilsülfoksit
EOP	Enzimatik Oksidatif Polimerizasyon
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spektrometresi
GPC	Jel Geçirgenlik Kromatografisi
$^1\text{H-NMR}$	Hidrojen Nükleer Magnetik Rezonans
HRP	Horseradish Peroksidaz
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
H_3PO_4	Fosforik Asit
IR	Infrared Spektrometresi
M_p	Polimerin Mol Kütlesi
M_n	Sayıcı- Ortalama Molekül Ağırlığı
M_w	Kütlece- Ortalama Molekül Ağırlığı
M_v	Viskozite-Ortalama Mol Kütlesi
M_z	Z-Ortalama Mol Kütlesi
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
PDI	Polidisperslik İndeksi

Te	Polimerin Erime Sıcaklığı
Tg	Polimerin Camı Geçiş Sıcaklığı
TGA	Termogravimetrik Analiz
THF	Tetrahidrofur
UV-Vis	Ultraviyole Görünür Bölge



BÖLÜM I

GİRİŞ VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

1.1 Giriş

Doğada önemli polimerlerin sentezlendiği tüm reaksiyonlar enzimlerle katalizlenirler. Enzimlerin katalizlediği iki tip biyopolimer sentez yöntemi vardır:

Birincisi biyosentetik yollarla hücre içi ve hücre dışı biyopolimer sentezidir ve canlı organizmalar tarafından kullanılırlar. İkinci yöntem ise enzimler tarafından katalizlenen biyosentetik olmayan yollarla hücre dışı kimyasal sentezdir ve enzimatik polimerleşme reaksiyonu olarak tanımlanır. Enzimatik polimerleşme reaksiyonları, doğal biyopolimerlerin üretiminin yanı sıra sentetik polimerlerin üretiminde de kullanılır (İkeda vd., 1996). Bu nedenle, enzimatik polimerleştirme polimerizasyonda hedef makromoleküller; poli(aminoasit)'ler, poliesterler, polikarbonatlar, poliaromatikler ve vinil polimerleri olabilmektedir. Enzimatik katalizleme, klasik kimyasal yöntemler ile üretilmesi zor olan polimerlerin üretimine olanak sağlamıştır.

Son yıllarda enzim katalizli polimerizasyon, polimer sentezi için yeni metot olarak oldukça ilgi çekmektedir (Kobayashi vd., 1995). Polifenollerin enzimatik polimerizasyonu için avantajları aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Fenollerin polimerizasyon işlemleri ılıman koşullar altında gerçekleşir,
- Toksik reaktifler kullanılmadığı için çevre dostu bir işlemdir,
- Çeşitli substitüentlere sahip fenol monomerleri polimerleştirilerek yeni sınıf fonksiyonel poliaromatikleri verirler,
- Polimerin yapısı ve çözünürlüğü, reaksiyon koşulları değiştirilerek kontrol edilebilir (Uyama vd., 2002).

Özellikle, avantajları arasında enzimlerin “yeşil” karakter göstermesi önemlidir. Önemli fosil yakıtların kullanımını azaltması, enerji tasarrufu ve bu metodun doğasının çevre

dostu olması, enzim katalizinin çevresel sürdürülebilirliği desteklediğinin kanıtıdır (Kadokawa ve Kobayashi, 2010).

Fenolün enzimatik polimerizasyonunda genellikle katalizör olarak HRP ve oksidant olarak H_2O_2 kullanılmaktadır. Fenolün enzimatik polimerizasyonu sulu ortamda genellikle düşük verimle elde edilmektedir. HRP enzimi tampon ve suyla karışabilen organik çözücü içerisinde aktifliğini sürdürebilmektedir. Bu nedenle HRP katalizli fenol ve fenol türevlerinin polimerizasyonunda genellikle bu karışımlarda çalışılmaktadır (Zhang vd., 2013).

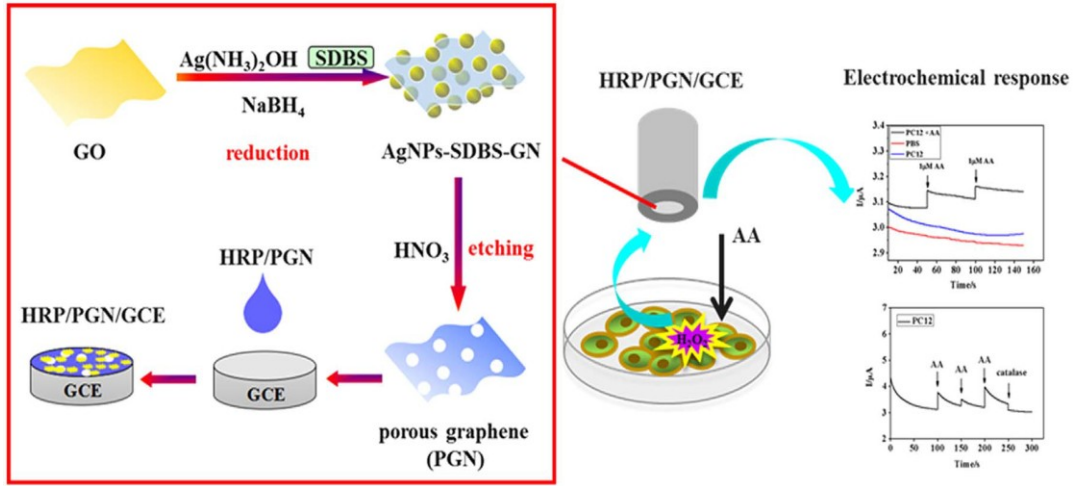
1.2 Önceki Çalışmalar

Yaban turbu peroksidazı enzimi ve suda çözünür ara madde toluidin mavisi, glutaraldehit çapraz bağlayıcı vasıtasıyla 3-aminopropil trimetoksi silan öncülüğüne kovalent olarak hareketsizleştirilmişlerdir. Sert seramik kompozit elektrotu, grafit tozu ile birlikte bu modifiye edilmiş silandan elde etmişler ve bu H_2O_2 için amperometrik biyosensör ile sonuçlandırmışlardır. Modifiye edilmiş biyosensörün elektrokimyasal davranışı 0.2 V ile -0.4 V vs SCE potansiyel aralığında dönüşümlü voltametri kullanarak izlemişlerdir. Biyosensör, -0.234 V'da katodik pik ve -0.203 V' luk bir potansiyelle sahip -0.172 V'da anodik pike sahip stabil bir voltamogram göstermiştir. Çalışma koşullarının optimize edilmesi için tampon çözelti, pH, sıcaklık ve potansiyel gibi sensörün performansını etkileyen çeşitli faktörleri incelemişlerdir. Modifiye edilmiş biyosensörün, hücre için iyi bir katalitik davranış sergilediğini belirtmişlerdir. Muhtemel etkileşimlerden herhangi bir engel olmadan, -0.25 V' luk daha düşük bir potansiyelde H_2O_2 'nin indirgeniğini vurgulamışlardır. Analitik çalışma aralığının 0,429 μM ila 0,455 mM H_2O_2 olduğu ve tespit limiti 0,171 μM olarak elde etmişlerdir (K. Thenmozhi vd., 2017).

Barbara ve arkadaşları yapmış oldukları bu çalışmada, asit boynuzu peroksidazı (HRP-A) ile enzimatik renksizleştirmeden önce ve sonra boyaların DNA üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Kuyruklu yıldız tahlilinin, DNA hasarını ve onarımını ölçmek için yaygın olarak kullanılan kolay ve uygulanabilir bir yöntem olduğu bulmuşlardır. Ortaverimli kuyruklu yıldız kümesini, BEAS-2B hücrelerinde 8 boyanın genotoksik etkilerinin değerlendirilmesi için kullanılmıştır. Sırasıyla tek ve çift azo boyalar, orange

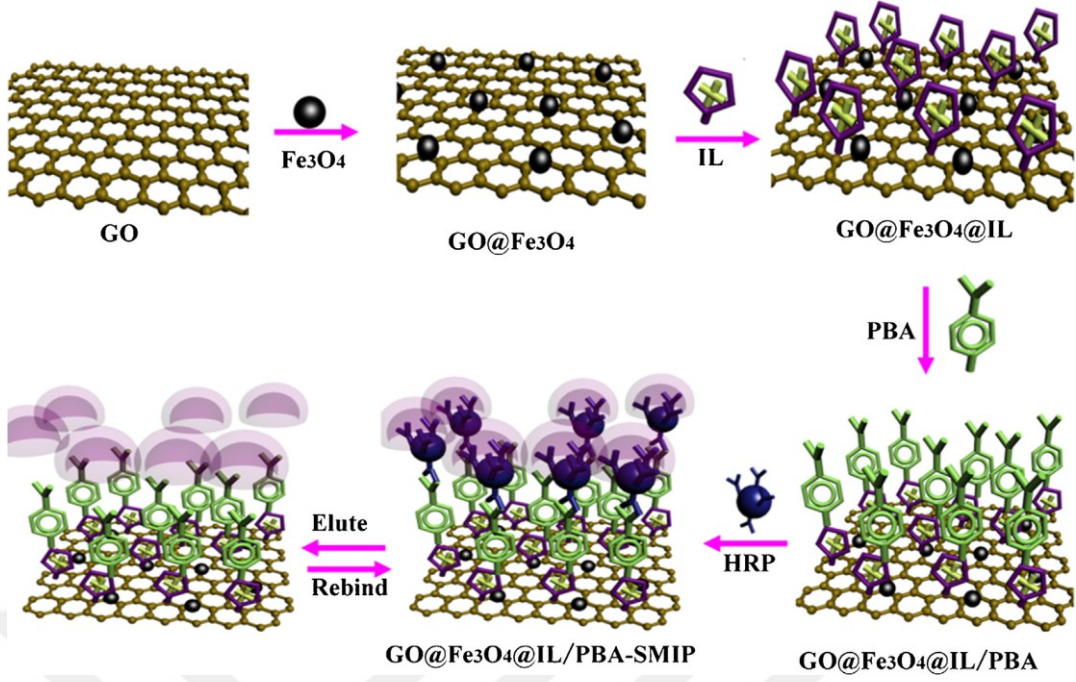
II (OR2) ve Amido Siyahı 10B (AB) durumunda oksitlenmiş bazları saptamak için bakteriyel endonu-lease (formamidopirimidin DNA glikozilazı, FPG) ile bir sindirim olarak eklemiştir. Bu, nükleer DNA'daki en bol okside olmuş bazlardan biri olan 8-okso-7,8-dihidroguaninin saptanmasına izin vermişlerdir. AB durumunda, renk kaybına uğramadan önce ve sonra, iplikçik frenleri veya FPG'ne duyarlı bölgelerde DNA hasarı belirtisi bulmamışlardır. OR2, DNA hasarına yol açtığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca, FPG'ne hassas bölgelerin frekansını OR2 konsantrasyonu ile arttırmışlardır. Renk giderildikten sonra hiçbir DNA hasar etkisini görmemişlerdir. Renksizleştirme öncesinde ve sonrasında OR2 ve AB'nın buzağı timus DNA'sı ile etkileşim çalışmalarını emilim ve floresans spektroskopisi ile araştırmışlardır. Sonuçta, bazı durumlarda enzimatik renk gidermenin genotoksisite potansiyelini düşürmesine neden olduğunu belirtmişlerdir (Barbara S. Janovic vd., 2017).

Liu ve arkadaşları 2017 yılında yaptıkları çalışmada, gümüş nanopartikül (AgNP) gravürünün gözenekli grafen ağının hazırlanması için uygulanabilir ve basit bir yöntem olduğunu önermişlerdir. Gözenekli grafene (PGN) dayalı hassas bir biyosensör oluşturmuşlardır. Ve yaşayan hücrelerden H_2O_2 salımını ölçmek için yoğurt porsukozu (HRP) kullanmışlardır. Geniş yüzey alanı ve çok yönlü gözenekli yapısı sayesinde, nanoporoz maddelerin kullanımı, büyük miktarda enzim yükleyerek ve difüzyonun hızlandırılmasıyla biyosensörün analiz performansını önemli ölçüde artırabildiğini rapor etmişlerdir. Bu arada, oluşturulan elektrot, H_2O_2 'e karşı mükemmel elektrokimyasal performans sergilediğini belirtmişlerdir; bunu, 0.0267nM kadar düşük bir belirleme sınırı ve diğer H_2O_2 elektrokimyasal sensörlerden daha üstün olan 7 derecelik geniş doğrusal bir aralık olarak vermişlerdir. Bu nedenle, bu yeni biyosensörün, normal fizyolojik koşullar (10^{-8} - 10^{-7} M) altında değil, aynı zamanda canlı hücrelerden H_2O_2 salımını algılayabilmekte yardımcı olacağını söylemişlerdir. (Yidan Liu vd., 2017).



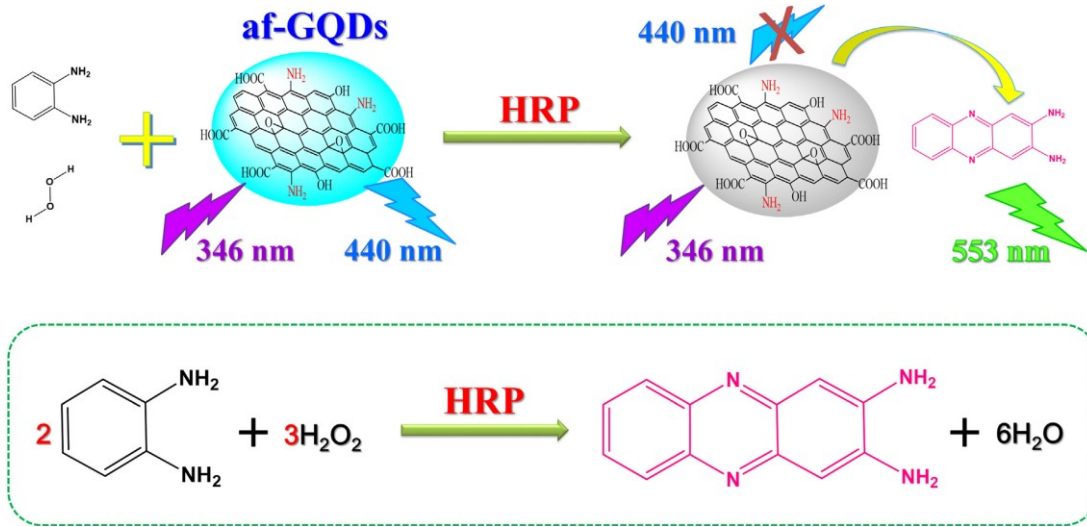
Şekil 1.1. Askorbik asit ile uyarılan hücrelerden H_2O_2 salımını saptamak için kullanılan GCE şematik HRP/PGN modifiyesi

Duan ve çalışma ekibi, özellikle cis-diol içeren bileşiklerin tersine çevrilebilir kovalent bağlanma özelliklerine sahip olan fenil-boronik asit modifiye-IL fonksiyonlu $GO@Fe_3O_4$ namin parçacıklarını ($GO@Fe_3O_4@IL/PBA$) elde etmek için işlevsel köprüleme maddesi olduğunu bulmuşlar ve yüzey modifikatörü olarak esas olarak iyonik sıvı (IL) kullanmışlardır. Sonra, yüksek yüzey alanı ve kolay ayrılma özelliklerine sahip $GO@Fe_3O_4@IL/PBA$ 'yı SEM, XRD ve FTIR ile karakterize etmişler, yabancu peroksidad (HRP) SMIP'yi hazırlayan destekleyici malzeme olarak tasarlamışlardır. $GO@Fe_3O_4@IL/PBA$ -SMIP'in HRP'ye adsorpsiyon kapasitesini 8.8 g/g olarak bulmuşlardır ve $GO@Fe_3O_4@IL/PBA$ -SMIP'nin HRP'a adsorpsiyon modeli olarak Langmuir adsorpsiyon izotermini seçmişler ve ikinci yıkama işlemini asetik asit ile NaOH çözeltileri ile yapmışlardır. Seçiciliğin iyileştirilmesinin avantajını elinde bulunduran $GO@Fe_3O_4@IL/PBA$ -SMIP'yi, 1.0×10^{-4} - 8.0×10^{-3} mg/mL aralığında lineer olarak HRP'a yanıt verebilen CL biyosensörünün tanı sınırını 2.9×10^{-5} mg/mL olarak tespit etmişlerdir. Sonunda, tatmin edici sonuçlara sahip numunelerde HRP'yi tespit etmek için önerilen $GO@Fe_3O_4@IL/PBA$ -SMIP-CL biyo-sensörü kullanmışlar ve geri kazanımlar % 87 ila % 107 arasında değiştirmişlerdir (Huimin Duan vd., 2016).



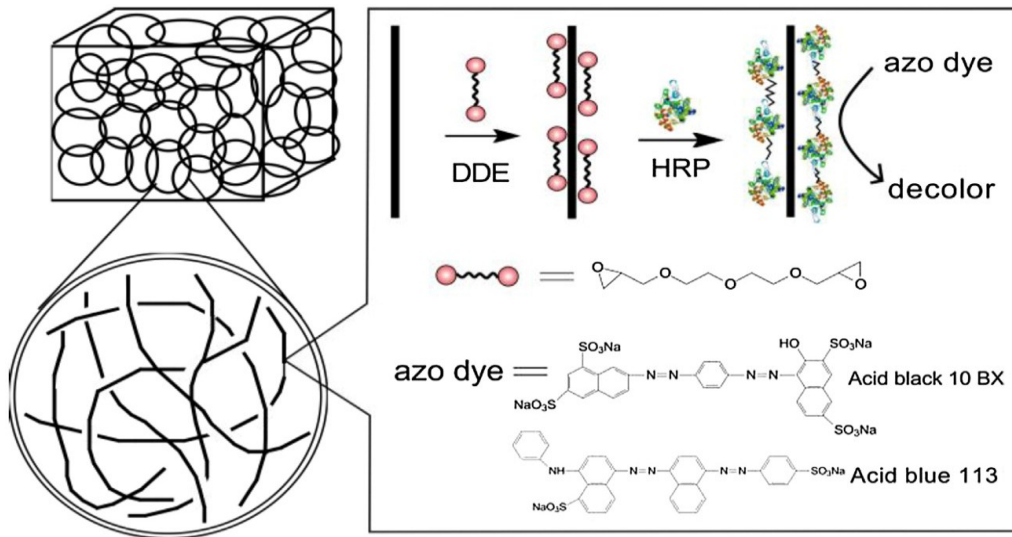
Şekil 1.2. HRP GO@Fe₃O₄@IL/PBA-SMIP'in sentez süreci

2016 yılında yapılan çalışmada Huang ve arkadaşları, referans olarak amino-fonksiyonlu grafen (af-GQDs) ve 2,3-diaminofenazin (DAP) kullanarak, transgenik peroksidazın (HRP) aşırı duyarlı ve son derece seçici olabilmesi için bir rasimometrik fluoresan nanosensör olduğunu ilk defa bildirmişlerdir. Özel tepki sinyali DAP, o-fenilendiamin'in (OPD) oksidasyon ürünü olduğunu ve bununda HRP'in ortak substratı olduğunu vurgulamışlardır. HRP'in enzimatik aktivitesini, kantitatif olarak enzimatik hız ve Michaelis-Menten kinetik parametresinin hesaplanmasıyla değerlendirmişlerdir (Shan Huang vd., 2016).



Şekil 1.3. af-GQD tabanlı rasimetrik fluoressan nanosensörünü kullanarak HRP tayininin şematik gösterimi

Sun ve arkadaşları 2016 yılında yaptıkları çalışmada, bir yaban turp oksidaz (HRP)'yi çapraz bağlama yöntemi ile hareketsiz hale getirmek için bir ZnO nanotel / makro gözenekli SiO₂ kompozit kullanmışlardır. Dietilen glikol diglisidil eteri (DDE) zincirli çapraz bağlayıcı olarak kullandıklarında, HRP'ler ile reaksiyona girmeden önce ZnO nanotellerinin yüzeyine adsorbe olduklarını bulmuşlardır. Hareketsizleştirilmiş HRP'nin, sıcaklığa ve pH inaktivasyonuna, serbest HRP'ye kıyasla çok daha iyi direnç gösterdiğini belirtmişlerdir (Huaiyan Sun vd., 2016).



Şekil 1.4. Azo boyalarının renk gidermesi için HRP'nin yerinde çapraz bağlanmasının şematik gösterimi

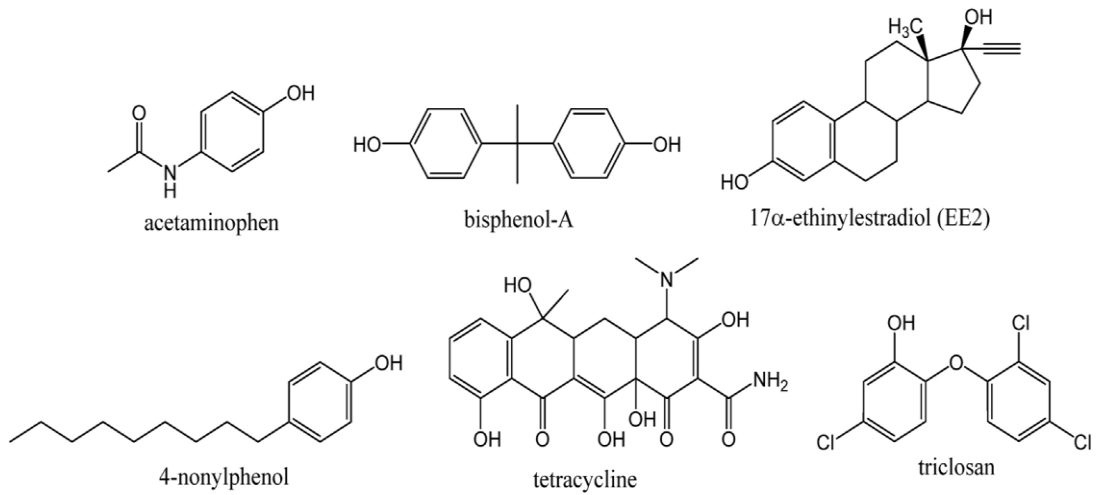
Fazel ve çalışma grubunun 2016 yılında yaptığı çalışmada, nanofiber destekleri imal etmek için basit ve çok yönlü bir yöntem olan elektrospinning'in enzim immobilizasyonu alanındaki etkisini araştırmışlardır. Biyo-kompozit nanofiberleri, karışık PVA / BSA çözeltisinden üretilmişler ve glutaraldehit tedavisinde, başlangıç BSA ve PVA konsantrasyonlarının protein yüklemesine etkilerini araştırmışlardır. Glutaraldehitin çapraz bağlanmasının, nanofiberlerin protein salımını önemli ölçüde düşürdüğünü bulmuşlardır(Ramin Fazel vd., 2016).

Yaban turbu peroksidazı (HRP), klasik bir heme içeren bir proteindir ve birçok alanda kullanılmıştır. HRP'nin, özellikle açılmış haldeki protez grubu, hidrojen peroksit (H_2O_2) ile reaksiyona girerek 450 nm maksimum emisyon dalga boyuna sahip bir flüoresan ürün üretebildiğini belirtmişlerdir. Bu emisyon bandını bir flüoresans probu olarak kullanarak üre içindeki HRP'nin açılım süreci niceliksel olarak değerlendirmişlerdir (Zhang Ke vd., 2016).

Turaç ve Şahmetlioğlu, schift bazı türevi 4-[(4- fenilenazo-fenilimino)-metil]-fenol (4-PPMP) monomerini kondenzasyon reaksiyonu ile sentezlemiş ve karakterizasyon işlemlerini yapmışlardır. 4-PPMP'nin enzimatik oksidatif polimerizasyonu, çeşitli organik çözücüler (aseton, metanol, etanol, DMF ve 1,4-dioksan) ve fosfat tamponları (pH: 6, 6.8, 7 ve 7.2) içerisinde HRP enzimi ve H_2O_2 varlığında oda sıcaklığında gerçekleştirmişlerdir. Çalışmalar sonucunda, erime noktası $290^{\circ}C$ olan siyah renkteki polimer, çözücü olarak 1,4- dioksan ve pH: 6 fosfat tamponu kullanarak iyi bir verimle elde etmişlerdir. P(4-PPMP)'nin, 1,4-dioksan, DMF ve DMSO'da iyi çözündüğü; kloroform, THF, metanol, etanol içerisinde az çözündüğü ve dietileter içerisinde ise hiç çözünmediğini belirlemişlerdir. Polimerin sayıca ortalama molekül ağırlığını (\bar{M}_n) :7970,4 g/mol, ağırlıkça ortama molekül ağırlığını (\bar{M}_w): 8146,2 g/mol, polidisperslik indisini (PDI): 1,02 olarak bulmuşlardır. FT-IR ve 1H -NMR çalışmaları sonucunda, polimer zincirinde fenilen ve oksifenilen birimlerinin bulunduğunu tespit etmişlerdir. Optik bant boşluğunu (E_g) 4-PPMP için 3,69 eV, P(4-PPMP) için 3,36 eV olarak tespit etmişlerdir (Turaç ve Şahmetlioğlu, 2010).

Na ve arkadaşlar, yaban turbu peroksidazının hidrojen peroksidaz (HRP/ H_2O_2) katalitik prosesi ile kombine edilmesi potansiyeli, eser organik kontaminantları (mikro pillaticılar) ortadan kaldırmak için gelişmiş bir atıksu arıtma teknolojisi olarak

değerlendirmişlerdir. Sentetik tamponlu solüsyonlarda fenolik mikroprolütant olarak 17 α -etinilestradiol (EE2) ile kinetik deneyler, EE2 dönüşümünün (k_{EE2}) belirgin birinci derece hız sabitinin artan HRP konsantrasyonu ile lineer olarak arttığını, ancak H₂O₂ ve EE2 konsantrasyonlarından bağımsız olduğunu göstermişlerdir. EE2'nin gözlemlenen kinetik davranışları, bileşik II'nin EE2 ile HRP'nin katalitik döngüsünde aşırı H₂O₂ ve HRP koşullarında sınırlayıcı adım olarak görüldüğü düşünülürse, HRP / H₂O₂ sisteminin bilinen kimyasalıyla açıklanabilmiştir. Bu HRP / H₂O₂ kinetik modeli kullanarak, bileşik II (k_3) 'ün EE2 ve fenol ve anilin de dahil olmak üzere bir kaç seçilmiş fenolik mikro-kirletici madde reaksiyonunun ikinci dereceden hız sabitleri belirlenebilir ve literatürden elde edilenlerle kıyaslanabilmektedir. Çeşitli fenolika anilink bileşiklerin k_3 'ü (bu çalışmadan ve literatürden) ile fenolik veya anilink mikro-kirleticilerin eliminasyon verimliliğini tahmin etmek için kullanılabilen hammett sigma sabitleri arasında iyi korelasyonlar bulmuşlardır. Gerçek su matrislerinde 2 μ M'de çalkalanan fenolik mikro-kirleticilerin (ör., EE2) eliminasyon seviyesi karşılık gelen k_3 değerine sahip HRP / H₂O₂ kinetik model ile iyi tahmin etmişlerdir. Bununla birlikte, fenolik mikro-kirleticiler 1 μ g / L'de çakıldığında nispeten daha düşük elimine etme seviyeleri gözlemlemişlerdir; bu, çevresel olarak ilgili konsantrasyonlarda (örn. Sub μ g / L) bulunan fenolik mikro-kirleticileri ortadan kaldırmak için HRP / H₂O işleminin performansında bir miktar düşüş olduğunu göstermiştir. (So-Yogung Na vd., 2016).



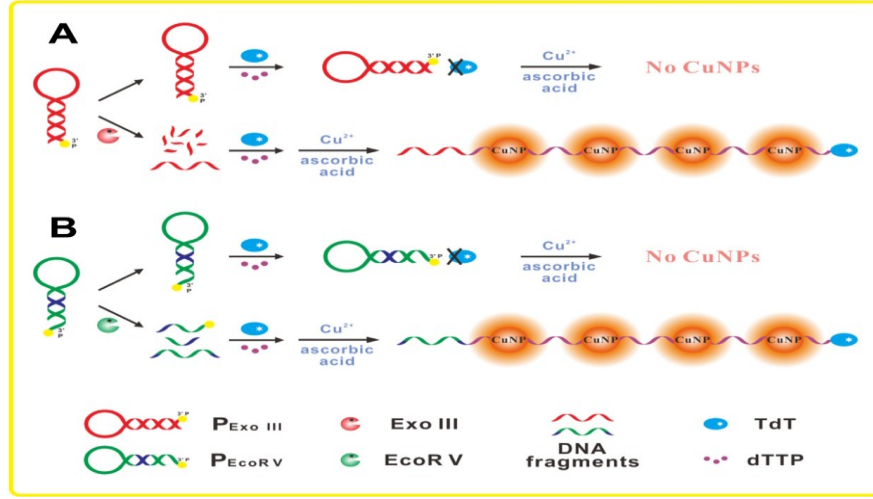
Şekil 1.5. Seçilen fenolik mikro olabilecek kimyasal yapı

Dai ve çalışma ekibi 2016 yılında yaptıkları çalışmada H₂O₂ ve ürikaz (UOx) mevcudiyetinde L-DOPA'nın (ve dopamin'in) horseradish peroksidaz (HRP) katalizörlü polimerizasyonunu, H₂O₂ ve ürik asidin hidrokuinon aracılı amperometrik biyolojik

olarak algılanması için mono- / bi-enzimleri immobilize etmek için kullanmışlardır (UA).İlgili polimerik biyokompozitleri (PBC'ler), H₂O₂ ilave edildikten sonra HRP ve L-DOPA (veya artı UOx) içeren fosfat tampon çözeltisi içinde hazırlamışlardır. UV-vis spektrofotometresi, taramalı elektron mikroskobu, çevrimsel voltametri ve elektrokimyasal impedans yöntemlerini film karakterizasyonu ve/veya proses izlemesi için kullanmışlardır. Enzim kataliziyle hareketsiz hale getirilen HRP'nin, UV-vis spektrofotometresi ile biyoaktivitesini koruduğunuteyit etmişlerdir. (Mengzhen Dai vd., 2016).

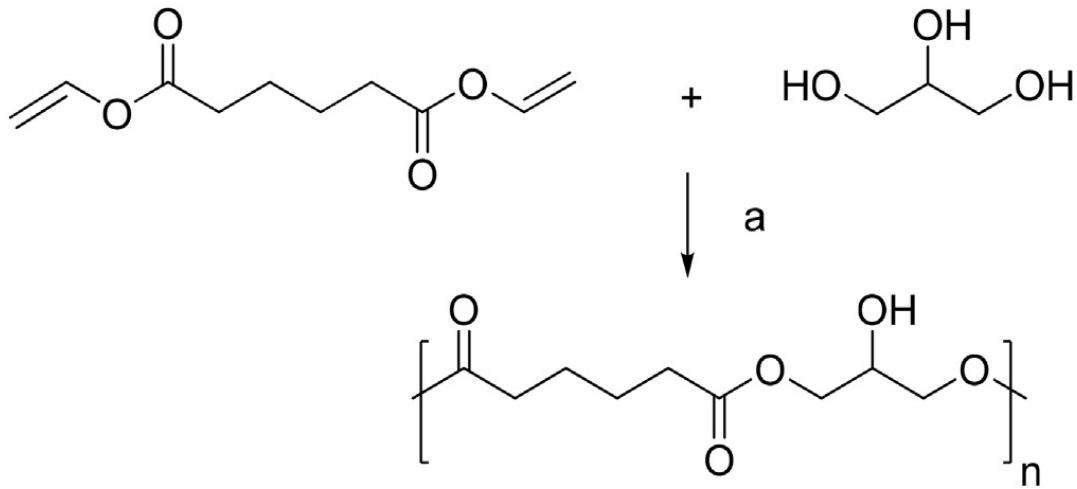
Hamid ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, hidrojen peroksitin amperometrik olarak tespiti için, peptit nanotüpleri (PNT'ler) içinde kapsüllenmiş yaban turbu peroksidaz (HRP) enzimlere sahip arabulucu olmayan bir sensör önermişlerdir. PNT'ler, enzimleri faaliyetlerini ve istikrarını korumak için kapsüllemekle kalmadığını, aynı zamanda bir elektrod ile araçlar olmaksızın HRP elektroaktif bölgeleri arasında direkt elektron aktarımı da yapabildiğini belirtmişlerdir. Test edilen sistemlerin mevcut H₂O₂ konsantrasyon ilişkilerini, Michaelis-Menten tipi denklem kullanarak analiz etmişlerdir.PNT'leri enzimler için hareketsizleştirici maddeler olarak kullanmanın, redoks reaksiyonlarına müdahale edebilen ve enzimlere toksisite sorunlarına neden olabilecek HQ gibi kimyasal mediyatörlerin dezavantajlarını anlatabileceğini belirtmişlerdir (Hamid Feyzizarnagh vd., 2016).

2017 yılında yaptıkları çalışmada Chen ve arkadaşları, enzimatik polimerizasyon ve poli-templated bakır nanopartiküller (CuNPs)üzerine çalışmışlardır. Spesifik olarak, hedef nükleaz varlığında, DNA substratının, önce mononükleotidler ve oligonükleotid fragmanları olarak bozduğunu gözlemlemişlerdir. CuNP'lerin floresan yoğunluğunu, nükleaz tahlili için tespit etmişlerdir.Önerilen yöntemin yüksek seçicilik ve duyarlılığa sahip olduğu kanıtlamışlardır (Jinyang Chen vd., 2017).



Şekil 1.6. Exo III (A) ve EcoR V (B)'nin hassas algılanması için mekanizmanın şematik gösterimi

Taresco ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada, Poli (gliserol adipat) (PGA), nispeten düşük molar kütle (12 kDa) ile bir polimer oluşturmak üzere divinil adipat ve korunmasız gliserolden enzimatik bir yolla üretilebileceğini belirtmişlerdir. PGA'nın, bu suda çözünmeyen polimere bir hidrofilik özellik kazandıran asılı bir hidroksil grubuna sahip olduğu gözlemlemiştirler. FT-IR, ¹H ve ¹³C NMR, yüzey ve termal analiz gibi çeşitli tekniklerle sentez sıcaklığının polimer üzerindeki etkisini incelemişler ve hem bu materyal hakkında literatürde mevcut verileri genişletip hem de potansiyel için daha iyi özellikler gösterdiğini anlatmışlardır. Bir katalizör olarak lipazın (Novozym 435) kullanılmasının aktif bölgedeki sterik engel yoluyla asılı gliseril hidroksil içinde çapraz bağlanmasını bastırdığını belirtmişlerdir (V. Taresco vd., 2016).



Şekil 1.7. PGA'nın, enzimatik polimerizasyon ile sentezlenme şeması

Hashimoto ve çalışma arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmada, Di-μ-hidroksobis [(N, N, N', N') -tetrametiletildiamin) bakır (II)] klorür ile tris (hidroksimetil) aminometan hidrojen klorürü (Tris-HCl, pH = 9.0) tampon çözeltisi içinde β- Arbutin (4'-hidroksifenil β- D -glukozid) katalizörü kullanarak polimerleştirmişlerdir. Sentezledikleri polimerin, 7200'e kadar bir ortalama moleköl ağırlığına ve GPC ile tahmin edilen 1.5 mol kütle dağılımına sahip olduğunu söylemişlerdir (Maria Hashimoto vd., 2016).

1.3 Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada, azometin fonksiyonel grubu içeren yeni bir fenol türevi monomerin literatürde çevre dostu bir yöntem olarak bilinen enzimatik oksidatif polimerizasyon yöntemi ile polimerizasyon şartları araştırılacaktır. Optimum reaksiyon şartları belirlendikten sonra elde edilen ürünün karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilecektir. Karakterizasyon işlemleri UV-vis, FT-IR, ¹³C-NMR, ¹H-NMR, GPC ve TGA gibi analiz yöntemleri ile yapılacaktır. Böylece, literatüre çevre dostu bir yöntem olan enzimatik oksidatif polimerizasyon yöntemi ile elde edilmiş yeni bir polimer kazandırılacaktır.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

2.1 Polimerler Hakkında Genel Bilgiler

Polimerler doğada yaygın olarak bulunan maddelerdir. İnsan, hayvan ve bitki organizmalarının yaşamında da önemli rol oynamaktadırlar. Bitkilerde bulunan nişasta ve selüloz gibi polisakkaritler, protein vb. maddeler birer doğal polimerdir.

Polimerler cansız doğada da çok yaygındırlar. Yer kabuğunun büyük bir kısmı polimer şeklinde bulunan SiO_4 ve AlO_3 ’ten oluşmuştur. Elmas ve grafit ise saf karbondan oluşan diğer inorganik polimerlere örnektir (Basan, 2001).

Polimerler; hafif, ucuz, mekanik özellikleri çoğu kez yeterli, kolay şekillenebilen değişik amaçlarda kullanıma uygun, dekoratif, kimyasal açıdan inert ve korozyona uğramayan maddelerdir. Polimer kimyasında karşılaşılan en önemli sorun ise, küçük mol kütleli maddelere yönelik kimyasal ve fiziksel kuram ve tekniklerin, iri ve karmaşık yapıdaki polimer molekülleri üzerine uygulanmasındaki zorluklardır (Saçak, 2010).

2.1.1 Monomer ve polimer

Monomer, uygun fonksiyonel grupları sayesinde kimyasal bağlar ile birbirlerine bağlanarak polimerleri oluşturan küçük moleküllerdir (Basan, 2001).

Polimer ise çok sayıda monomerin kovalent bağlarla birbirine bağlanarak oluşturduğu iri yapıdaki makromoleküllerdir. Polimer kelimesi, çok anlamına gelen –poly- ve tanecik, küçük parçanın anlamına gelen –meros- kelimelerinden türetilmiştir (Saçak, 2010).

Monomerden başlanarak polimerlerin oluşmasına yol açan tepkimelerin tamamını polimerleşme tepkimesi ya da polimerizasyon tepkimesi denilmektedir (Basan, 2001).

(monomer) Vinil klorür poli(vinil klorür)
(polimer)

Şekil 2.1. Vinil klorür monomerinin polivinilklorürü oluşturması

2.1.2 Yinelenen birim

Polistirenin kimyasal gösteriminde parantez içerisinde verilen yapıya yinelenen birim (mer) denir.



Şekil 2.2. Polistirenin yinelenen birimi (mer)

Yinelenen birimin yan yana yazılmasıyla polimer molekülüne geçilir. Şekilde gösterilenn sayısına polimerizasyon derecesi denir. Zincir başına düşen yinelenen birim sayısının polimerizasyon derecesi denir. Zincir boyunca birbirine bağlanan ve polimer molekülünün iskeletini oluşturan atomlar dizisine ise ana zincir denilmektedir. Polimer zincirindeki atomlara bazı kimyasal birimler bağlanabilmektedir. Bu kimyasal birimlere yan grup adı verilir. Polimerlerin yinelenen birimlerinin yapısı, polimerin sentezinde kullanılan monomer, çıkış maddesi veya kimyasalların ne olduğu hakkında ön bilgi verir. Özellikle katılma polimerizasyonunda polimerin yinelenen biriminden, polimer sentezinde kullanılan monomerin türü anlaşılabilir (Saçak, 2010).

2.1.3 Polimer zinciri

Polimer molekülleri bir zincire, monomer molekülleri ise bu zinciri oluşturan halkalarabenzetilebilir. Bu nedenle, polimer molekülü yerine genellikle polimer zinciri kavramıkullanılır. Polimer molekülleri iri olması nedeniyle makromolekül olarak daadlandırılabilir. Polimer zincirleri farklı biçim ve yazılımlarla gösterilebilir.Örneğin polietilen'in gösterim şekillerinin bazıları aşağıda verilmiştir (Şekil 2.3.).



Şekil 2.3. Bir polimer zincirinin kısa gösterim şekilleri (polietilen örnek alınmıştır)

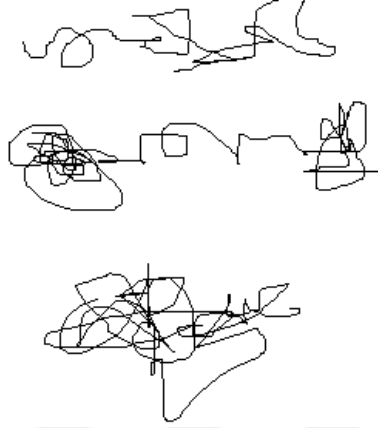
2.1.4 Zincir konformasyonu

Konformasyon, bir molekülün atomları arasındaki bağlar etrafında bağ kırılmasıolmadan dönme hareketleriyle alabileceği her türlü geometrik düzenlenmedir. Polimerzincirleri buldukları koşullara göre (çözelti, eriyik gibi) bağlar etrafında dönerekdeğişik konformasyonlara girebilirler.Şekilleri dikkate alındığında, polimer zincirlerine yönelik iki uç konformasyondanbahsedilebilir. Bunlardan birisi zincirin tam uzamış halidir (çubuk gibi) ve iki ucundançekilerek gerilmiş bir zincir parçası bu konformasyona karşılık gelir. Zincirlerin tambüzülmüş hali (yumak gibi) diğer uç konformasyon türü olup, tam büzülmüş konformasyonavuç içinde sıkıca yuvarlanmış zincir parçasına benzemektedir. Aşağıda polimer zincirlerinin tam büzülmüş, tam uzamış ve ara konformasyonlarına aitörnekler şekil 2.4'da verilmiştir (Saçak, 2010).

Tam uzamış (çubuk)



Tam büzülmüş (yumak)



Şekil 2.4. Polimer zincirlerinin alabileceği bazı konformasyonlar

2.1.5 Ana zincir, yan grup

Polimer boyunca birbirine bağlanarak polimer molekülünün iskeletini oluşturan atomlardizisine ana zincir denir. Polimer ana zincirindeki atomlara bağlanan bazı kimyasalbirimlere yan grup adı verilir. Örneğin, polietilenin ana zincirini karbon atomlarıoluştururken, yan gruplarının tamamını hidrojen atomları oluşturur. Politetrafloroetilen'deana zincirde karbon atomları bulunurken, yan gruplar flor atomudur.Polimerlerin ana zincirleri boyunca yüzlerce, binlerce atom bulunurken yan gruplardakiatom sayısı oldukça azdır (Saçak, 2010).

Polistiren

Poli(vinil klorür)

Şekil 2.5. Farklı yan gruplara sahip polimer örnekleri

2.1.6 Başlatıcı

Basamaklı polimerizasyon tepkimeleri genelde katalizör kullanılarak hızlandırılır. Örneğin, poliestерleşme tepkimelerinde katalizör olarak kullanılan asit, yalnız tepkimeyi hızlandırır ve tepkime sonunda kimyasal yapısı değişmeden ortamda kalır.

2.1.7 Çıkış maddesi

Yinelenen birim (mer), polimer zincirindeki monomerden gelen kimyasal parçanın gösterimidir ve yinelenen birimler yan yana yazılarak polimer molekülüne geçilir. Monomer kelimesi ise bir tane yinelenen birim anlamına gelmektedir. Yinelenen birim ile monomer yapıları arasında yalnızca çift bağ-tek bağ farkı vardır. Bu nedenle, katılma polimerizasyonunda kullanılan kimyasal maddeler için monomer tanımı kullanılabilir.

Monomer
(stiren)

polistirenin
yinelenen birimi

Şekil 2.6. Stirenin monomer şekli ve yinelenen birimi

2.2 Polimerlerin Sınıflandırılması

2.2.1 Molekül büyüklüklerine göre polimerler

2.2.1.1 Oligomerler

Ortamdaki monomerlerin kovalent bağlar ile birbirine bağlanarak birkaç tekrarlanan birimi çeren küçük molekül kütleli dimer, trimer, tetramer vb. den 102 ye kadar yinelenen birimi çeren moleküllere oligomerler denir (Basan, 2001).

2.2.1.2 Makromoleküller

Küçük mol kütleli monomer moleküllerinin kovalent bağlarla zincir halinde birbirine bağlanması ile oluşan 10^2 den büyük polimerleşme derecesine sahip polimerler makromoleküller denir (Basan, 2001).

2.2.1.3 Jeller

Polimer zincirlerinin çapraz bağlarla birbirine bağlanarak büyük bir kütle haline gelmesidir. Durumunda molekül kütlesi sonsuz olarak alınır ve bunlara polimerik jel denir. (Basan, 2001).

2.2.2 Oluşumlarına göre polimerler

2.2.2.1 Doğal polimerler

Canlı ve cansız bünyede doğal olarak kendiliğinden oluşan polimerlerdir. Örneğin kauçuk (Basan, 2001).

2.2.2.2 Yarı sentetik veya yapay polimerler

Bu tür polimerler, kimyasal tepkimeler yardımı ile doğal polimerlerden elde edilen polimerlerdir. Selüloz'un nitrolanması ile elde edilen nitroselüloz buna örnektir.

2.2.2.3 Sentetik polimerler

Monomer denilen küçük molekülü bileşiklerden çeşitli polimerleşme tepkimeleri ile tamamen insanlar tarafından elde edilen polimerlerdir. Örneğin polistiren.

2.2.3 Kaynaklarına göre polimerler

2.2.3.1 Organik polimerler

Organik monomerlerden sentezlenen polimerlere organik polimer denir (Basan, 2001).

2.2.3.2 İnorganik polimerler

İnorganik monomerlerden sentezlenen polimerlere inorganik polimer denir.

2.2.4 Sentezine göre polimerler

2.2.4.1 Basamaklı polimerizasyon

Basamaklı polimerler; kondensasyon, üretan oluşumu, Diels-Alder katılması, Friedel-Crafts tepkimeleri gibi tepkimelerle sentezlenebilir. Kondensasyon polimerizasyonu basamaklı polimerlerin laboratuvarlarda sentezine veya ticari üretimine en uygun polimerleşme tepkimeleridir. Bu nedenle basamaklı polimer yerine çoğu zaman kondensasyon polimeri, basamaklı polimerizasyon yerine ise kondensasyon polimerizasyonu denilmektedir (Saçak, 2010).

2.2.4.2 Katılma polimerizasyonu

Katılma polimerizasyonunda monomer molekülleri, polimer zincirlerine birer birer veyahızla katılırlar. Hızlı zincir büyümesinden dolayı tepkimenin her aşamasında ortamdayüksek mol kütleli polimer ve tepkimeye girmemiş monomer bulunur (Saçak, 2010).

Katılma polimerizasyonunun gerçekleşmesi için monomerin en az bir çift bağ içermesigerekir. Bu çift bağ herhangi bir dış etki ile kırılarak monomer serbest radikal veyaiyona dönüşür. Bu serbest radikal veya iyonlar birbirleriyle tepkimeye girerek katılmapolimerizasyonu tepkimesini verirler (Basan, 2001).

2.2.5 Zincirlerine göre polimerler

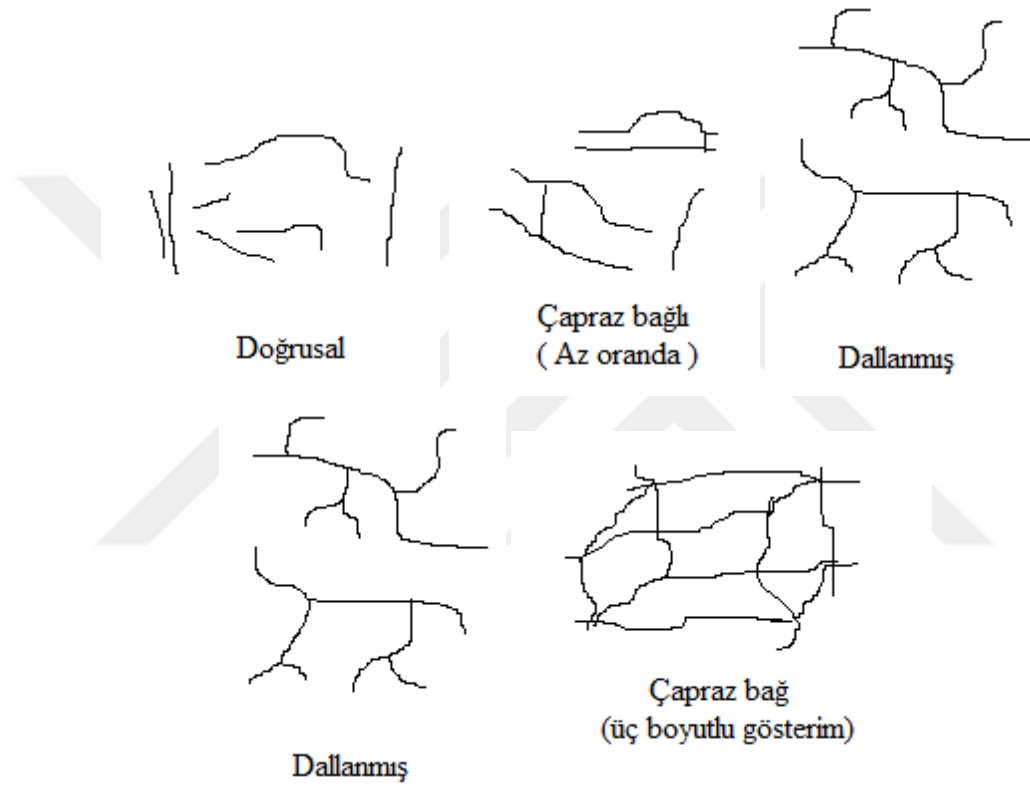
2.2.5.1 Düz zincirli (doğrusal) polimerler

Ana zincirleri üzerindeki atomlarda yalnız yan grupların bulunduğu polimerlere doğrusal polimer denir. Bu polimerlerin ana zincirleri kovalent bağlarla başka zincirlere

de bağı değildir. Doğrusal polimerler uygun çözücülerde çözünürler, defalarca eritilipyeniden şekillendirilebilirler.

2.2.5.2 Dallanmış zincirli polimerler

Polimerlerin ana zincirlerine kendi kimyasal yapısıyla özdeş dal görüntüsünde başkazincirler kovalent bağlarla bağlanmışsa bunlara dallanmış polimerler denir.



Şekil 2.7. Polimer zincirlerinde gözlenebilecek zincir biçimleri

2.2.5.3 Çapraz bağı polimer

Polimerleşme sırasında meydana gelen dalların her iki ucunun farklı iki zincirebağlanmasıyla yani bir dalın iki farklı ana zinciri birbirine bağlamasıyla oluşanpolimerlere çapraz bağı polimerler denir.

2.2.6 Yığılma şekillerine göre polimerler

Polimerleri kesin olarak amorf ve kristal polimer diye iki gruba ayırmak mümkündür. Bu nedenle, bir polimer örneğinde kristal faz çok büyükse kristal, amorf faz çok büyükse amorf olarak isimlendirilebilir.



2.2.7 Tekrarlanan birimin kimyasal bileşimine göre polimerler

2.2.7.1 Homopolimer, kopolimer

Polimerin içerdiği tekrarlanan birimlerin bileşimi aynı veya farklı olabilir. Birbirini takip eden tekrarlanan birimlerin kimyasal yapısı aynıysa bunlara homopolimer denir. Birbirini takip eden tekrarlanan birimlerin kimyasal yapısı aynıysa farklıysa bunlara kopolimer denir.

2.2.8 Isıya karşı davranışlarına göre polimerler

2.2.8.1 Termoplastik polimerler

Fiziksel olarak düz ve dallanmış zincir yapısına sahip olan polimerler, ısıtıldıklarında önce yumuşar sonra kıvamlı akışkan hale geçerler. Bu tip ısıl davranış gösteren polimerlere ısıyla yumuşayan manasına gelen termoplastik denir. Termoplastik davranış gösteren polimerlerin yumuşamaya başladığı sıcaklığa camsı geçiş sıcaklığı (T_g), kıvamlı olarak kımaya başladığı sıcaklığa ise erime sıcaklığı (T_e) denir.

2.2.8.2 Termoset polimerler

Yüksek oranda çapraz bağ içeren polimerler ısıtıldıkları zaman termoplastikler gibi yumuşamazlar veya erimezler, hatta tersine sertleşirler. Sıcaklık daha da arttırılırsa doğrudan ısıl bozunmaya uğrarlar yani kimyasal olarak parçalanırlar. Bu nedenle, ısıtıldıkça sertleşen polimerlere ısı ile sertleşen anlamına gelen termoset polimerler denir.

2.3 Polimerlerde Mol Kütlesi Türleri

Polimerlerin uzun zincirler halinde çok büyük kütleli moleküllere sahip olması ve aynı polimere ait olan moleküllerin büyüklüklerinin birbirinden farklı olması yani polidispers olması polimerleri diğer maddelerden ayıran önemli özelliklerindedir. Mol kütlesi kavramıyla ifade edilen sayı ise bir polimer örneğindeki tüm zincirlerin

kütlesindeğil, birbirinden farklı büyüklükteki zincirlerin ortalama kütlelerini ifade eder (Basan,2001).

Polimerlerin mol kütleleri, polimer çözeltilerinin herhangi bir özelliği uygun bir yöntemle bulunur. Mol kütlelerini bulmada uygulanan yöntemden elde edilen sonuçlar, polimer çözeltisinin hangi özelliğiyle ilgili ise, mol kütlesi türü de incelenen özelliğe bağlıdır. Bu nedenle polimerlerde,

- Sayıca-ortalama mol kütlesi (M_n),
- Kütlece-ortalama mol kütlesi (M_w),
- Viskozite-ortalama mol kütlesi (M_v),
- Z-ortalama mol kütlesi (M_z).

şeklinde dört ayrı mol kütlesi tanımı yapılır (Saçak, 2010).

2.4 Polimerlerde Mol Kütleleri Belirleme Yöntemleri

2.4.1 Jel geçirgenlik kromatografisi

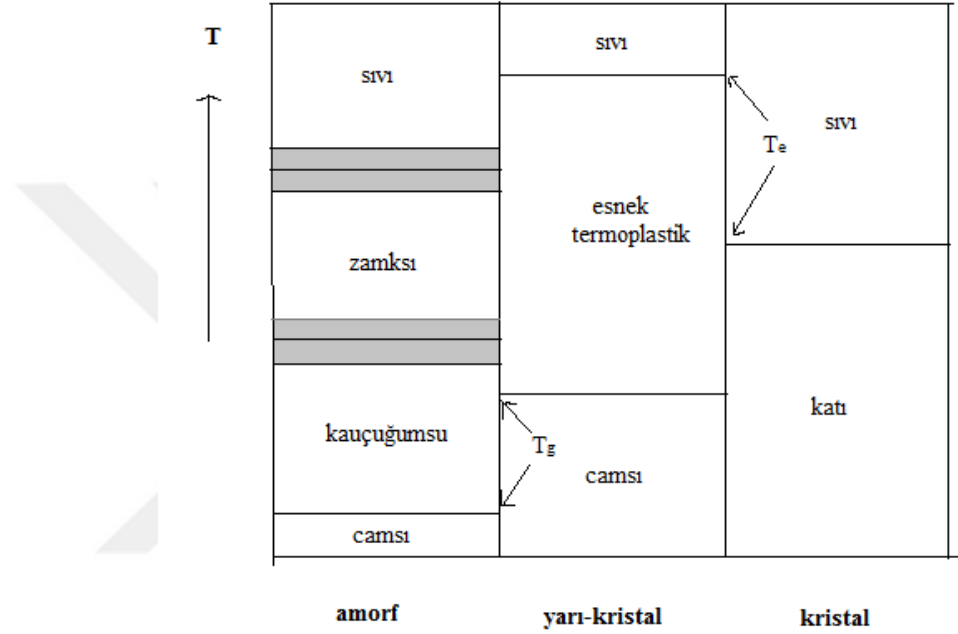
Jel geçirgenlik kromatografisinde bir ayırma kolonu bulunur ve polimer çözeltileri bu kolondan geçirilir. Ayırma kolonu, belli büyüklüğün altındaki moleküllerin içlerine girmesine izin veren küçük gözeneklere sahip küresel taneciklerle doldurulmuştur.

Polimer çözeltisi kolona verildiğinde, küre gözeneklerine girebilecek küçük kütlerde kopolimer molekülleri, gözeneklerin içerisinden dolaşarak ilerleyeceğinden daha uzun yollarla kolonun altına ulaşır. Ölçümler, kolondan ayrılan çözeltinin bir dedektörle izlenmesi şeklinde yapılır.

2.5 Polimerlerin Isıl Özellikleri

Polimer zincirleri, polimer örgüsünde düzenli bir şekilde istiflenerek kristal yapıda bölgeler oluşturabilir. Normalde, polimerlerden son ürünler yapılırken uygulanan işlemler sırasında belli düzeyde kristalleşme gözlemlenebilir. Fakat bu aşamada tüm polimer zincirlerinin bir düzen içerisinde paketlenerek tam kristal bir yapı

vermesibeklenemez. Bu nedenle, çeşitli amaçlarda kullanılan endüstriyel polimerlerin çoğumorf ve kristal bölgeleri birlikte örgülerinde bulundurlar (yarı-kristal). Yarı-kristalpolimerlerin genel örgüsü, amorf faz içine gömülmüş kristal bölgelerden oluşan birsisteme benzetilebilir. Tam kristal polimerler serttir ve camsı geçiş göstermezler, belli bir sıcaklıkta erirler. Amorf, yarı-kristal ve kristal polimerlerin ısıl değişimleri aşağıda (Şekil 2.8) basitçe gösterilmiştir. Tam kristal ve yarı-kristal maddelerde geçişler belirgindir. Amorf maddelerde ise camsı geçiş dışındakiler derecelidir (Saçak, 2010).



Şekil 2.8. Amorf, yarı-kristal ve kristal maddelerde ısıl geçişler sırasında gözlenen davranış değişiklikleri

2.5.1 Camsı geçiş sıcaklığı

Doğrusal ve dallanmış zincirlerden oluşan amorf ve yarı-kristalin polimerler camsıgeçiş sıcaklığı üzerinde yumuşarlar. Isıtma sürdürülürse yarı-kristal ve kristal polimerler erime noktasında erirler; amorf polimerler ise kauçuğumsu, zamksı davranışları üzerinden sıvılaşır.

2.5.2 Camsı geçiş sıcaklığını etkileyen faktörler

Polimer zincirlerindeki bağlar etrafındaki dönme kolaydır. Bu da zincirlerin eğilipbükülmehareketlerini yapabilmeleri için gerekli serbest hacmi azaltır. Buna karşın, iyi istiflenemeyenpolimer zincirleri arasında daha fazla serbest hacim kalır. Bu nedenle,

bağlar etrafındaki dönme kolaylığını ve serbest hacmin büyüklüğünü etkileyen her polimer özelliği, camsı geçiş sıcaklığını etkiler. Bu tür polimer özellikleri;

- Zincir esnekliği
- Yan grup
- Dallanma ve çapraz bağ
- Mol kütlesi

şeklinde incelenebilir.

2.6 Enzimler

Enzimler kendileri değişime uğramadan bir reaksiyonu hızlandıran biyokimyasalkatalizörlerdir. Enzimlerin hemen hepsi protein yapısındadır. Ancak, proteinlerin hepsi enzim değildir. Ayrıca her enzim sadece bir çeşit reaksiyonu katalizleyebilir (Geçkil,2012).

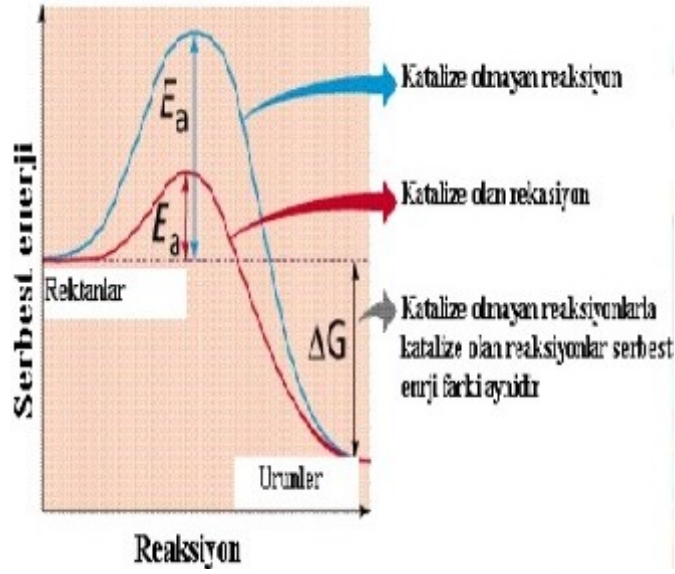
Enzimin tanımını oluşturan önemli özelliklerini maddeler halinde özetlersek;

- Canlı hücreler tarafından sentezlenen maddelerdir.
- Etki gösterebilmek için hücreye gereksinim duymazlar, in vitro ortamda da etki gösterirler.
- Isıya dayanıksız maddelerdir, yüksek ısı ile bozulurlar.
- Protein yapısındadırlar ve proteinler gibi primer, sekonder, tersiyer ve kuarterner yapıları vardır.
- Biyolojik reaksiyonu hızlandırır (Güneş vd., 2013).

Reaksiyona giren maddelerin ürünlere çevrilmeleri için aktivasyon enerjisi adı verilen bir enerji engelini aşmaları gerekmektedir. Belli bir sıcaklıkta 1 mol reaktanın aktifleşmiş durumu kazanmaları için gerekli enerji miktarına aktivasyon enerjisi denir (Keha ve Küfrevioğlu, 2010). Enzim ile katalizlenen reaksiyonlarda enzim, reaksiyona giren madde ile geçici olarak birleşir ve gerekli aktivasyon enerjisini azaltır.

Şekil2.9'de katalizlenmemiş ve enzim katalizli bir reaksiyon için enerji diyagramı verilmiştir.





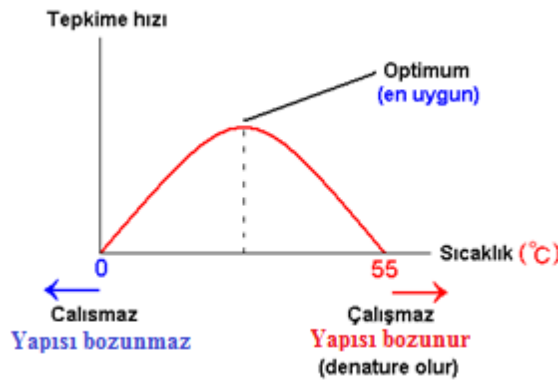
Şekil 2.9. Bir kimyasal reaksiyonun katalizlenmiş ve katalizlenmemiş halleri için enerji diyagramı

2.6.1 Enzim aktivitesini etkileyen faktörler

Enzimlerin aktivitesine etki eden birçok etken bulunmaktadır. Bunlardan önemli olan bazı faktörler sıcaklık, pH ve zamanın etkisi, enzim konsantrasyonu, substrat konsantrasyonudur.

2.6.1.1 Sıcaklığın etkisi

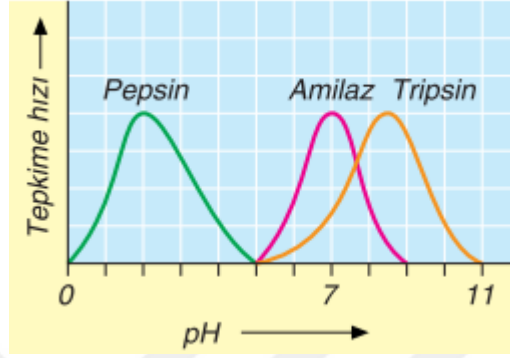
Her enzimin en iyi etki ettiği yani en iyi çalıştığı sıcaklık derecesi vardır. Buna enzimin optimum sıcaklık derecesi denir. Bu derecenin üzerinde enzimler üç boyutlu yapılarını kaybederek bozulurlar (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Enzimin sıcaklığa göre reaksiyon hızının değişimi

2.6.1.2 pH'nın etkisi

Enzimin en aktif olduğu pH derecesine o enzimin optimum pH değeri denir. EnzimlerpH değişimine karşı çok hassastır. Bazı enzimler asidik (I), bazı enzimler bazik (III) vebazı enzimler de nötr (II) ortamda optimum çalışır (Şekil 2.11).



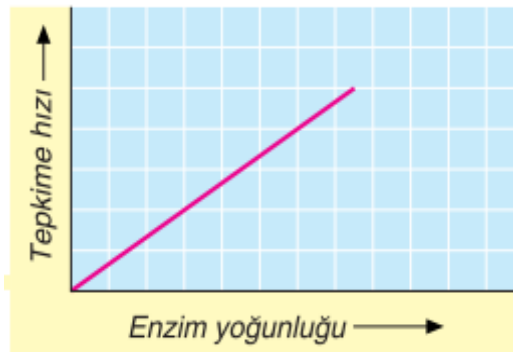
Şekil 2.11. Enzimin pH'ına göre reaksiyon hızının değişimi

2.6.1.3 Zaman

Enzim ile katalizlenen reaksiyonun hızı zamanla azalır. Bunun sebebi reaksiyonürünlerinin kendi aralarında birleşerek, zıt yönde bir reaksiyon meydana getirmeleridir. Başka bir deyişle enzim zamanla inaktive olur veya substrat tükenir.

2.6.1.4 Enzim konsantrasyonu

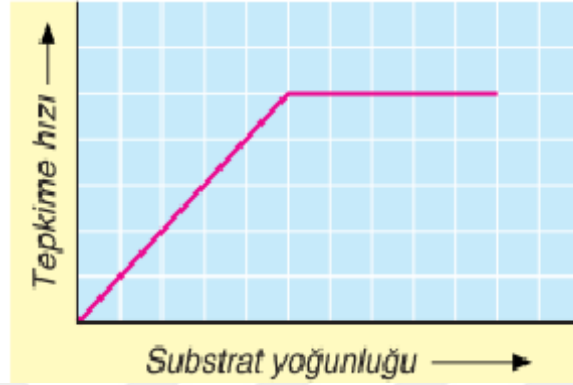
Substrat konsantrasyonu sabit tutularak enzim konsantrasyonu artırılırsa, reaksiyon hızıda bununla orantılı olarak artar. Çünkü her enzim birbirinden bağımsız olarak iş görür.



Şekil 2.12. Enzimin konsantrasyonuna göre reaksiyon hızının değişimi

2.6.1.5 Substrat konsantrasyonu

Sabit bir enzim konsantrasyonunda, enzimatik reaksiyonun hızı belirli bir noktaya kadar, substrat konsantrasyonu ile artar. Hız maksimuma ulaştığında substrat konsantrasyonunun artması ile reaksiyon hızı değişmez.

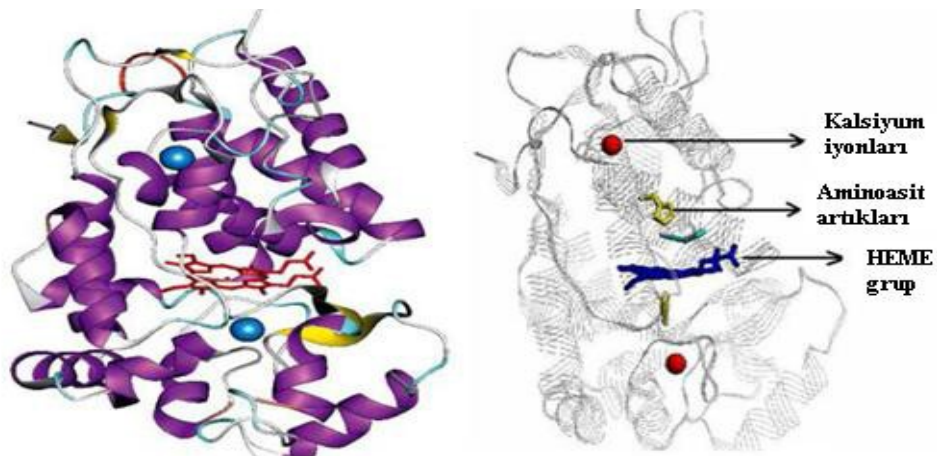


Şekil 2.13. Substrat konsantrasyonuna göre reaksiyon hızının değişimi

2.7 Horseradish Peroksidaz (HRP)

Horseradish ya da yabancurpu dünyanın ılıman bölgelerinde yetiştirilen çevre şartlarına dayalı bir bitkidir. Yabancurpu peroksidaz ise bu bitkinin kökünden elde edilen, yüzyılı aşkın bir süredir üzerinde çalışılan ve heme-içeren önemli bir enzimdir.

Yabancurpu peroksidaz terimi genel olarak kullanıldığı halde bitkinin kökü birkaç tanefarklı peroksidaz izoenzimi içermektedir. Bunlardan en yaygın olanı HRP izoenzimidir. Şekil 2.14'de HRP enziminin üç boyutlu molekül yapısı gösterilmiştir (Veitch, 2004).



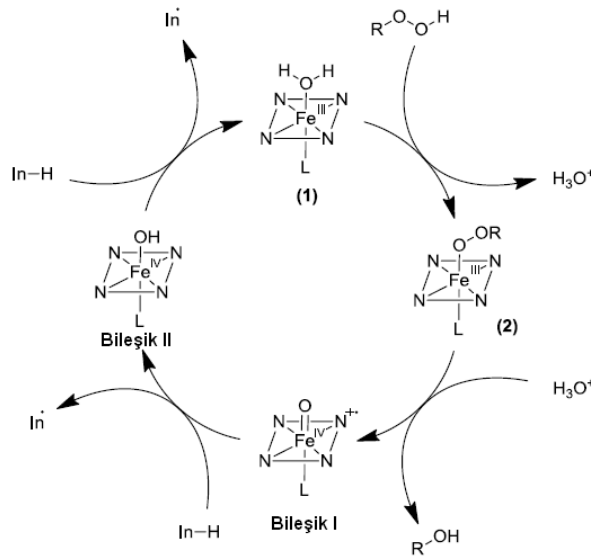
Şekil 2.14. HRP enziminin üç boyutlu molekül yapısı
 HRP enzimi, bir heme grup (demir (III) protoporfirin IX) ve iki kalsiyum atomundan oluşan iki farklı metal merkeze sahiptir. Heme grup, dört pirol halkasından oluşan birporfirin halkasının ortasında sıkıca tutulan demir atomuna sahip düzlemsel bir yapıdır.

2.7.1 HRP enziminin katalitik mekanizması

Peroksidazların katalizleme mekanizması, bir alıcının hidrojen peroksit tarafından oksitlenerek iki su molekülü ortaya çıkmasına dayanır. HRP enzimleri ile katalizlenen tepkimeler denklemin 2.6'daki gibi ifade edilebilir:



Denklemindeki AH_2 indirgen substrat, $\text{AH}\cdot$ ise radikalik üründür. Tipik indirgen substratlar aromatik fenoller, fenolik asitler, indoller, aminler ve sülfonatlardır (Veitch, 2004).



Şekil 2.15. Peroksidazların katalitik mekanizması

Şekil 2.15'de şematize edildiği gibi, ilk basamakta su ligandı, (ara ürün 1) hidrojenperoksit (ya da diğer organik hidroperoksitler) ile yer değiştirir ve sonuçta peroksokompleksi elde edilir (ara ürün 2). O-O bağının heterolitik kırılmasıyla bileşik I

oluşur.Yüksek oksidasyon ara bileşiği olan bileşik I, Fe(IV) oksoferil merkez ve porfirinmerkezli katyon radikali içerir. Bileşik I, indirgen substrattan (In-H) iki bağımsızhidrojen ayrılmasıyla dinlenme durumuna döner. Sonuç olarak polimerizasyonbaşlatabilecek iki radikalik ürün (**In•**) oluşur. Genel olarak, peroksitler iki elektrontransfer basamağını sonraki iki tek elektron transfer basamaklarına bağlayarak “elektrondüzenleyici” olarak fonksiyon göstermektedir (Hollmann and Arends, 2012).



BÖLÜM III

MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıktadır. 4-fenilmetanamin ve 4-hidroksibenzaldehit, çözücüler (metanol, 1,4-diokzan, tetrahidrofuran), fosfat tamponu (H_3PO_4), Hidrojen peroksit (H_2O_2) kullanıldı.

3.1.2 Kullanılan alet ve cihazlar

3.1.2.1 1H ve ^{13}C Nükleer manyetik rezonans (1H ve ^{13}C NMR)

1H ve ^{13}C NMR spektrumları Erciyes Üniversitesi Teknolojik Araştırma Merkezinde bulunan Bruker 400 MHz' lik cihaz kullanılarak alındı. Çözücü olarak dötero dimetil sülfoksit (DMSO- d_6), standart olarak ta tetrametilsilan kullanıldı.

3.1.2.2 Infrared spektrumları (FT-IR)

Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde Bruker marka spectrum 400 cihazıyla gerçekleştirildi. Spektrum çekimlerinde ATR özellikli cihaz ile direkt çekim yapıldı.

3.1.2.3 Ultraviyole görünür bölge spektrumları (UV-Vis)

UV-Vis çalışmasında Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Polimer Kimyası Araştırma Laboratuvarında bulunan Shimadzu MultiSpec 1501 spektrometresi kullanıldı.

3.1.2.4 GPC analiz çalışması

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Polimer Araştırma Laboratuvarında bulunan Perkin-Elmer Series 200 marka GPC cihazıyla gerçekleştirildi.

3.1.2.5 TGA/DTA

Termal analiz çalışmaları (TGA) ve diferansiyel termal analizler Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezinde bulunan Perkin Elmer Pyrisdiamond 6.0 model Termogravimetrik ve Diferansiyel Termal Analiz (TG/DTA) cihazı ile yapılmıştır. Analizler 10 mL/dak. ısıtma hızında Azot atmosferinde gerçekleştirilmiştir. DTA ve TGA ölçümleri için 10 °C/dak. ısıtma hızı ile 1200 °C'ye kadar ısıtma sağlanmış ve alüminakroze kullanılmıştır.

3.2 Metot

3.2.1(E)-4-((benzilimino)metil)fenol 'ün sentezi

Reaksiyon manyetik karıştırıcı ısıtıcı üzerinde yağ banyosu içerisinde iki boyunlu 250 mL'lik balonda geri soğutucu altında gerçekleştirilmiştir. Su tutucu olarak balonun içerisine 10 tane moleküler sieves ilave edilmiştir. 1,08 g (10 mmol) 4-fenilmetanamin ve 1,36 g (10 mmol) 4-hidroksibenzaldehit 50'şer mL etanol içerisinde çözülerek reaksiyon ortamına ilave edilmiştir. Daha sonra karışım oda sıcaklığında 5 saat reflaks edilmiştir. Ürünü saflaştırmak için hekzan/aseton (9:1) çözücü sisteminde flash kolon kromatografisi (SiO₂ kolon, diklorometan çözücü) uygulanmıştır. Daha sonra ürün etüvde 60°C kurutulmuştur. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün reaksiyon şeması şekil 3.1'de verilmiştir (Turaç ve Şahmetlioğlu, 2010).

Şekil 3.1.(E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün sentez şeması

3.2.2(E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün H_2O_2 ile enzimatik oksidatif polimerizasyonu

Reaksiyon ısıtıcılı manyetik karıştırıcı üzerinde 100 mL'lik tek boyunlu reaksiyon balonunda oda sıcaklığında gerçekleştirildi. 0,1 gram (E)-4-((benzilimino)metil)fenol (0.47 mmol) monomeri, reaksiyon ortamına konulup üzerine 20 mL metanol eklenerek çözüldü. Reaksiyon balonuna 0,002 gram Horseradish peroksidaz (HRP) enzimi ve 20 mL pH=4.0 fosfat tamponu eklendi. Reaksiyon balonu ısıtıcılı manyetik karıştırıcı üzerine konulup oda sıcaklığında manyetik balık yardımıyla sürekli karıştırıldı. Reaksiyon ortamına her 15 dakikada bir 10 μL H_2O_2 toplamda 7 kez (toplam 70 μL) eklendi. Aynı koşullarda reaksiyona 24 saat devam edildikten sonra deney sonlandırıldı. Daha sonra santrifüjleme işlemi uygulandı. Süzgeç kağıdı yardımıyla saf suyla yıkanarak enzim, etanol ile yıkanarak da reaksiyona girmemiş monomerler uzaklaştırıldı. Böylece saf polimer elde edildi. Aynı metotla oksitleyici olarak H_2O_2 kullanarak monomerin farklı çözücülerle (metanol, etanol ve 1,4 Dioksan) ve farklı pH tamponlarında (pH=3.0, 4.0) optimum reaksiyon şartları tespit edildi.

Şekil 3.2.(E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün EOP reaksiyonunun önerilen yapısı

BÖLÜM IV

BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün Yapı ve Özellikleri

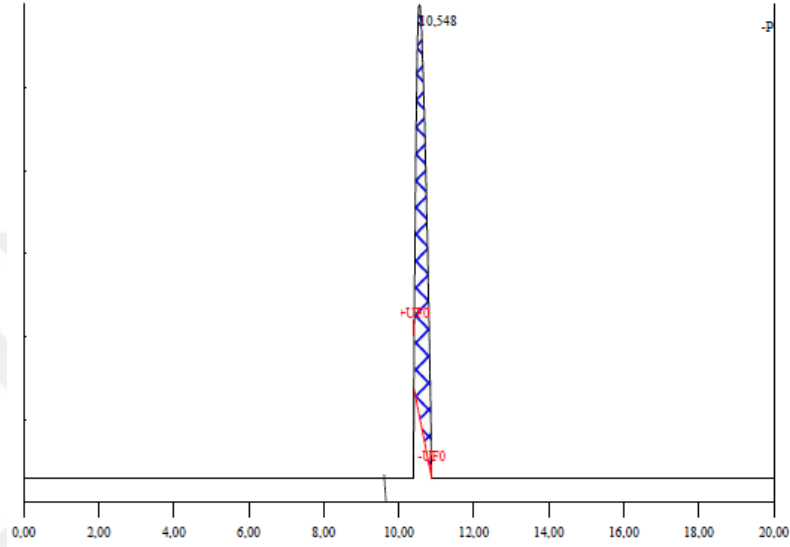
Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün sentezi, oksidant olarak H_2O_2 , katalizör olarak HRP enzimi kullanılarak farklı pH'lardaki fosfat tamponunda (3,0, 4,0, 5,0 ve 6,0) ve farklı çözücülerde (metanol, 1,4-dioksan, tetrahidrofuran) gerçekleştirildi. Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün için pH= 4,0 fosfat tamponu/metanol çözücü karışımında 24 saatte % 50 verimle ve $M_w = 1957$ g/mol molekülağırlığında koyu kahverengi renkli polimeri elde edildi. Bu koşullar polimerin sentezlendiği optimum şartlar olarak belirlendi. Polimerin tüm karakterizasyon işlemlerinde bu ortamda sentezlenen ürün kullanıldı.

Çizelge 4.1. Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün kullanılan çözücülerdeki EOP şartları ve ürünler

Monomer	HRP Enzimi	Çözücü	pH Fosfat tamponu	H_2O_2	t (saat)	T(°C)	Ürün Rengi
0,1 g	0,002 g	Metanol (20mL)	pH=3,0 (20 mL)	70 μ L	24	27,2	Reaksiyon gerçekleşmemiştir
0,1 g	0,002 g	Metanol (20mL)	pH=4,0 (20 mL)	70 μ L	24	27	Çikolata kahverengi
0,1 g	0,002 g	Metanol (20mL)	pH=5,0 (20 mL)	70 μ L	24	27	Reaksiyon gerçekleşmemiştir
0,1 g	0,002 g	Metanol (20mL)	pH=6,0 (20 mL)	70 μ L	24	27	Reaksiyon gerçekleşmemiştir
0,1 g	0,002 g	1,4-dioksan (20mL)	pH=3,0 (20 mL)	70 μ L	24	25	Reaksiyon gerçekleşmemiştir
0,1 g	0,002 g	1,4-dioksan (20mL)	pH=4,0 (20 mL)	70 μ L	24	26	Reaksiyon gerçekleşmemiştir
0,1 g	0,002 g	1,4-dioksan (20mL)	pH=5,0 (20 mL)	70 μ L	24	25	Reaksiyon gerçekleşmemiştir
0,1 g	0,002 g	1,4-dioksan (20mL)	pH=6,0 (20 mL)	70 μ L	24	25	Reaksiyon gerçekleşmemiştir
0,1 g	0,002 g	tetrahidrofuran (20mL)	pH=3,0 (20 mL)	70 μ L	24	24,8	Reaksiyon gerçekleşmemiştir
0,1 g	0,002 g	tetrahidrofuran (20mL)	pH=4,0 (20 mL)	70 μ L	24	24,8	Reaksiyon gerçekleşmemiştir
0,1 g	0,002 g	tetrahidrofuran (20mL)	pH=5,0 (20 mL)	70 μ L	24	24,8	Reaksiyon gerçekleşmemiştir
0,1 g	0,002 g	tetrahidrofuran (20mL)	pH=6,0 (20 mL)	70 μ L	24	24,8	Reaksiyon gerçekleşmemiştir

4.1.1 Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ünmolekül ağırlığı çalışması

Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ünGPC cihazı ile gerçekleştirilen molekül ağırlığı çalışması sonucu, ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı (M_w): 1957 g/mol, sayıca ortalama molekül ağırlığı (M_n): 1837 g/mol, polidispersitesi (PDI): 1,065 olarak bulunmuştur (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün GPC kromatogramı

4.1.2 (E)-4-((benzilimino)metil)fenol ve Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün çözünürlük özellikleri

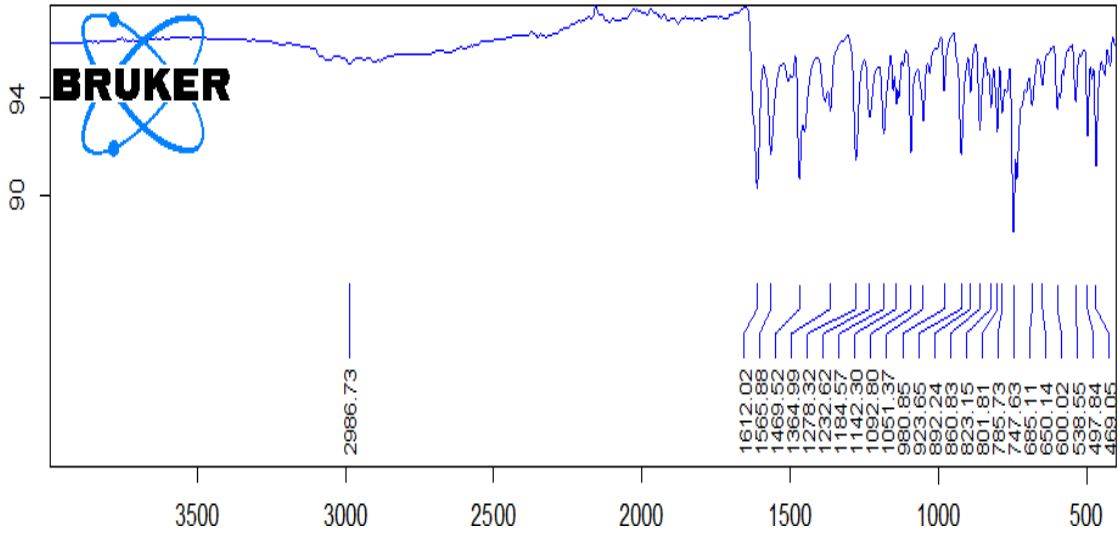
(E)-4-((benzilimino)metil)fenol, metanol, DMF, DMSO, THF, aseton'da tamamen çözünürken, 1,4-dioksan, kloroform, etanol ve suda çözünmemektedir. Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol, DMF, DMSO içerisinde tamamen çözünmekte, metanol, 1,4 dioksan, aseton, kloroform, etanol ve suda çözünmemektedir. THF'de ise kısmen çözünmektedir.

Çizelge 4.2. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol ve Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün çözünürlük özellikleri

	DMF	THF	DMSO	Metanol	1,4-dioksan	Aseton	Kloroform	Etanol	Su
Monomer	++	++	++	++	--	++	--	--	--
Polimer	++	--	++	--	--	--	--	--	--

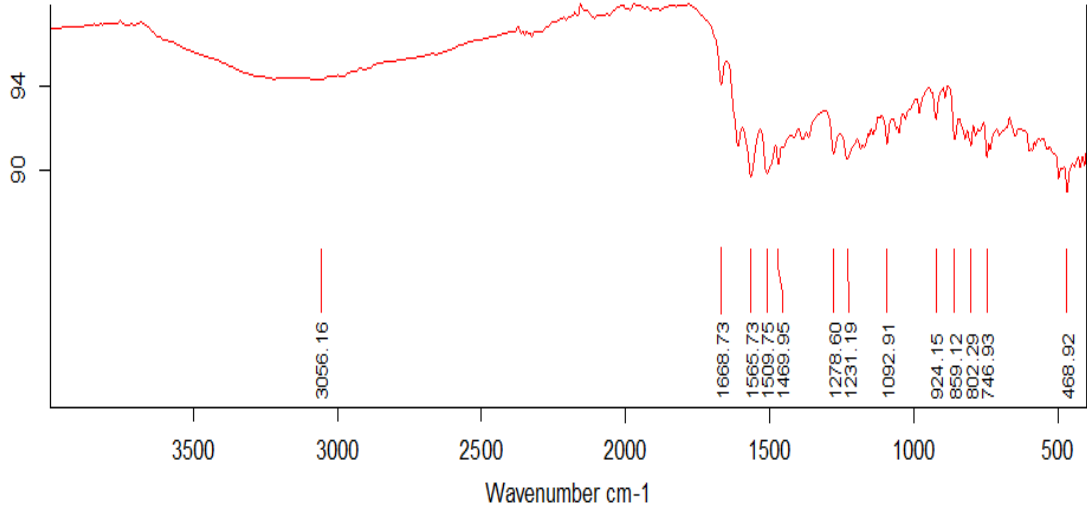
4.1.3 (E)-4-((benzilimino)metil)fenol ve Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün FT-IR spektrumları

(E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün FT-IR spektrumunda, 2966 cm^{-1} alifatik C-H gerilmesinin varlığını kanıtlar. 1469 ve 1364 cm^{-1} benzen halkasının $\text{C}=\text{C}$ - piklerine aittir. 1248 cm^{-1} 'de ki pik fenollerde $\text{C}-\text{O}$ - gerilmesini kanıtlar. 1142 cm^{-1} C-N-C alifatik gerilmesini, 1092 cm^{-1} aromatik C-H düzlem içi eğilmesini (monosubstitüe benzen için), 1051 cm^{-1} aromatik C-H düzlem içi eğilmesini (p-disubstitüe benzen için), 823 ve 801 cm^{-1} aromatik C-H düzlem içi eğilmesini (p-disubstitüe benzen için), 685 cm^{-1} aromatik C-H düzlem dışı eğilmesini (monosubstitüe benzen için) göstermektedir.



Şekil 4.2. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün FT-IR spektrumu

Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün FT-IR spektrumunda, 3400'lerde bulunan yayvan pik yapıdaki hidroksil gruplarının korunduğunu göstermektedir. 3056 cm^{-1} 'deki pik aromatik C-H'n varlığını kanıtlar. 1565 ve 1509 cm^{-1} 'deki pikler benzen halkasına ait $\text{C}=\text{C}$ - pikleridir. 1231 cm^{-1} 'deki pik fenollerde $\text{C}-\text{O}$ - gerilmesini kanıtlamaktadır. 1110 cm^{-1} 'deki C-N-C alifatik gerilmesini, 1092 cm^{-1} 'deki aromatik C-H düzlem içi eğilmesini (monosubstitüe benzen için), 859 cm^{-1} 'deki aromatik C-H düzlem dışı eğilmesini (p-disubstitüe benzen için) göstermektedir.

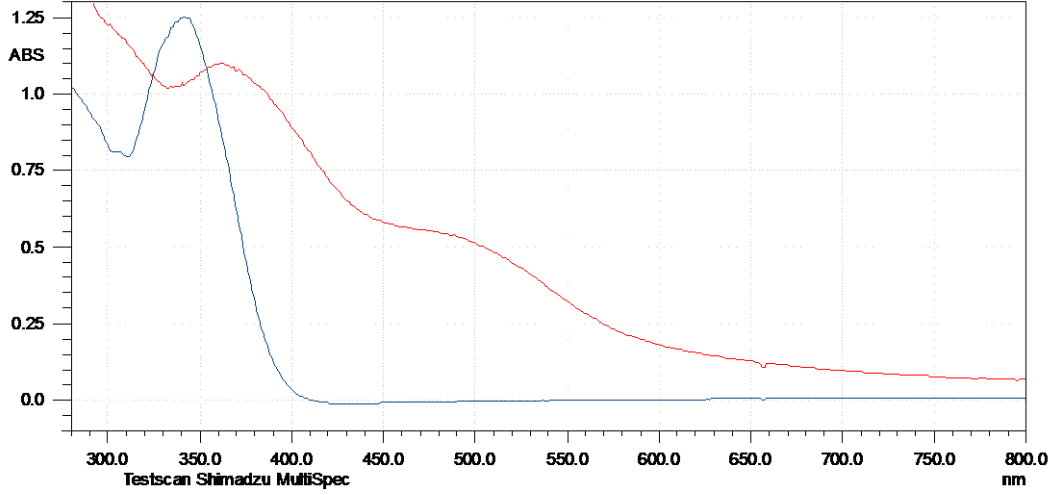


Şekil 4.3. Poli-4-((benzilimino)metil)fenol'ün FT-IR spektrumu

4.1.4 (E)-4-((benzilimino)metil)fenol ve poli-4-((benzilimino)metil)fenol'ün UV-Vis spektrumları

(E)-4-((benzilimino)metil)fenol ve Poli-4-((benzilimino)metil)fenol'ün UV-Vis spektrum çalışması yapılırken örnek N,N-dimetilformamit içinde çözülerek incelenmiştir. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün UV-Vis spektrumunda 300ve 310 nm'de iki band gözlenmektedir. 310 nm'deki band -C-N- ve -C-OH kromofor gruplarındaki $n \rightarrow \sigma^*$ elektronik geçişleri, 340 nm'deki band -C=C- kromofor gruplarındaki $\pi \rightarrow \pi^*$ elektronik geçişidir (Şekil 4.4.).

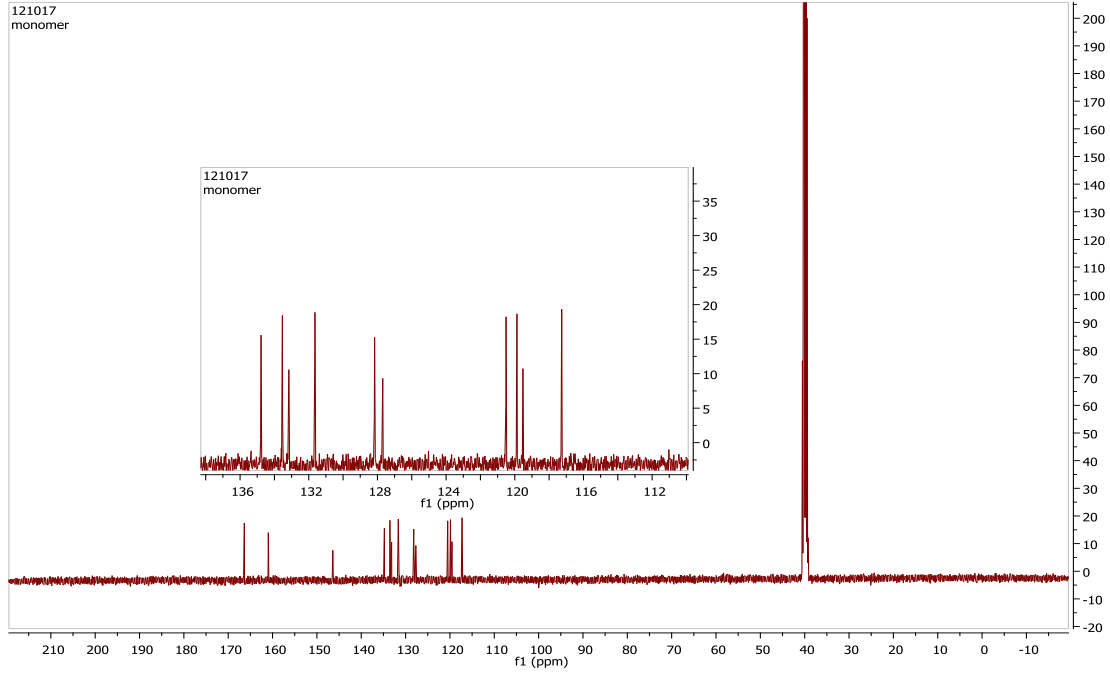
(E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün H_2O_2 ile reaksiyonu sonucu elde edilen Poli-4-((benzilimino)metil)fenol'ün UV-Vis spektrumunda 300, 350 nm'de iki band gözlenmektedir.300 nm'deki band -C-N- ve -C-OH kromofor gruplarındaki $n \rightarrow \sigma^*$ elektronik geçişleri, 360 nm'deki band -C=C- kromofor gruplarındaki $\pi \rightarrow \pi^*$ elektronik geçişi olarak yorumlanabilir. Ayrıca 600 nm civarında gözlemlenen omuz şeklindeki band ise polimerizasyon sonucu oluşan polimerik yapıdaki $\pi \rightarrow \pi^*$ konjugasyonundan kaynaklanabilir (Şekil 4.4.kırmızı pik). Monomer ve polimerin UV-Vis spektrumlarının karşılaştırılması ürünlerde konjugasyonun arttığı hakkında açıkça bilgiler vermektedir.



Şekil 4.4. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün ve Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün UV-Vis spektrumu

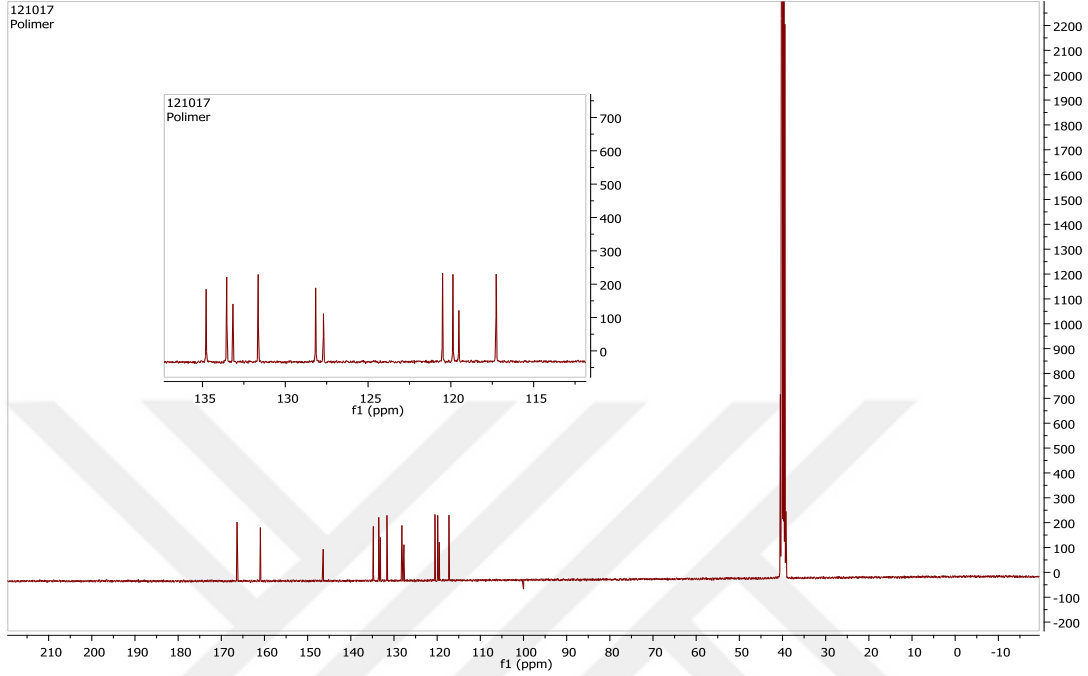
4.1.5 (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün ve poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrumları

(E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün ^{13}C -NMR spektrumunda (Şekil 4.5)'de görüldüğü gibi 117.0, 119.5, 119.80, 120.5, 127.71, 128.3, 131.71, 133.0, 133.05, 134.70 ppm'de 13 karbon atomuna ait pik gözlemiştir.



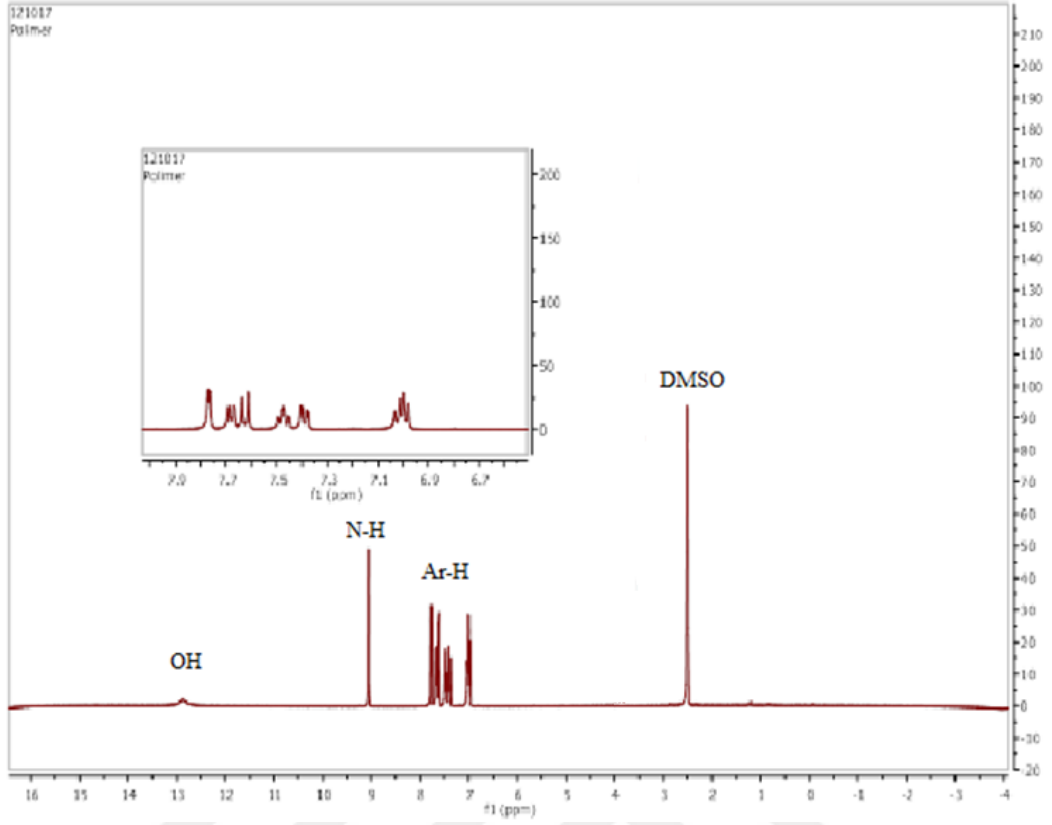
Şekil 4.5. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün ^{13}C -NMR spektrumu

(E)-4-((benzilimino)metil)fenol'ün ^{13}C -NMR spektrumunda(Şekil 4.6)'de görüldüğü gibi 115.80, 118.05, 119.72, 120.24, 126.85, 127.17, 131.03, 133.71, 134.84, 125.0 ppm'de 13 karbon atomuna ait pik gözlemiştir.



Şekil 4.6. Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün ^{13}C -NMR spektrumu

Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün ^1H -NMR spektrumu incelendiğinde şekilde gibi aromatik halkaya bağlı OH protonu 12.87 ppm'de singlet olarak gözlemlendi. 3.40'da H_2O 'ya 2.51'de ppm'deki pik çözücü (DMSO) pikine aittir. N-H protonu 9.0 ppm'de singlet olarak gözlemlendi. Ayrıca aromatik halka protonuna ait pikler Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün ^1H -NMR spektrumunda 6.9 ppm ve 7.8 ppm arasında multipler olarak gözlemlendi.



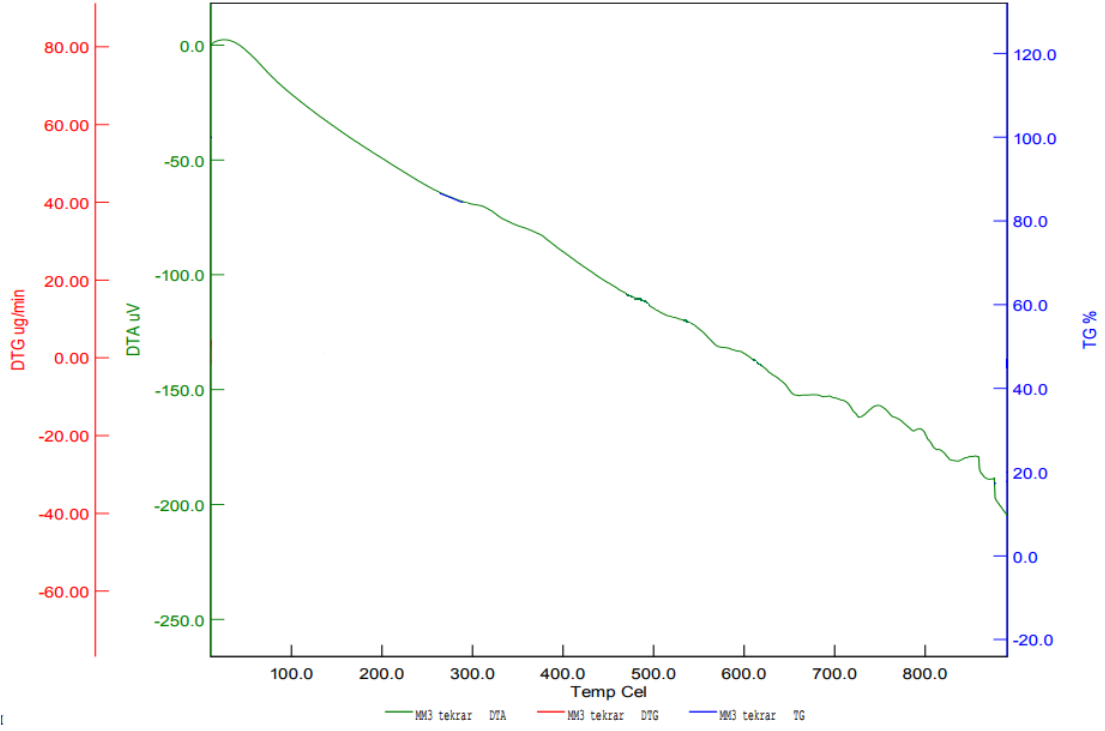
Şekil 4.7. Poli-(4-(benzylimino)metil)fenol'ün ^1H -NMR spektrumu

UV-Vis, FT-IR ve ^1H -NMR, ^{13}C -NMR analizleri, EOP reaksiyonu sonucu oluşan ürünün yapısını aşağıdaki gibi teklif edilebileceğini göstermektedir (Şekil 4.8.).

Şekil 4.8. (E)-4-((benzylimino)metil)fenol EOP reaksiyonunun önerilen yapısı

4.1.6 Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün termogravimetrik analiz eğrileri

Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün şekil 4.9'da verilen TGA/DTG eğrileri incelendiğinde, Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün termooksidatif bozunmaya karşı fazla dirençli olmadığını görülmektedir.



Şekil 4.9. Poli-(4-(benzilimino)metil)fenol'ün termogravimetrik analizi eğrileri

BÖLÜM V

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

(E)-4-((benzilimino)metil)fenol asidik ve ortamda pH=3.0, 4.0, 5.0, 6.0 koşullarındaki enzimatik oksidatif polimerizasyon reaksiyonu şartları incelendi. Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün pH=4.0 fosfatta tamponu ve etanol çözücüsünde en yüksek verim ile optimum şartları elde edildi. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol FT-IR, UV-Vis, ¹H-NMR ve ¹³C-NMR spektroskopileriyle karakterizasyonu yapıldı. Sentezlenen Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün karakterizasyonu UV-Vis, FT-IR, ¹H NMR, TGA, GPC analiz teknikleriyle gerçekleştirildi. Yapılan çalışmalar sonucunda aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

1. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol asidik ortamda (pH=3.0, 4.0, 5.0, 6.0) H₂O₂ oksitleyicisi ile enzimatik oksidatif polimerizasyon vermektedir.
2. (E)-4-((benzilimino)metil)fenol monomerinin rengi kremdir. Enzimatik oksidatif polimerizasyon sonucunda oluşan Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol) polimerinin rengi ise koyukahverengidir.
3. Enzimatik oksidatif polimerizasyon reaksiyonunda farklı pH tamponları (3.0, 4.0, 5.0) ve çözücütürleri (metanol, 1,4-dioksan, tetrahidrofur) gibi parametrelerin değiştirilmesinin sonucunda asidik ortamda pH=4.0 fosfat tamponu, metanol çözücüsünde reaksiyonun optimum şartları belirlenmiştir. Optimum reaksiyon şartları oksitleyici olarak H₂O₂ varlığında, 25°C'de ve 24 saat olarak belirlenmiştir.
4. Optimum şartlarda H₂O₂ oksitleyicisi kullanarak % 50 verimle elde edilen Poli-(4-((benzilimino)metil)fenol)'ün değerleri Mw=1957 g/mol, Mn=1837 g/mol, PDI=1,065 olarak bulundu.

KAYNAKLAR

Basan, S., Polimer Kimyası, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları, Sivas, 2001.

Bilal, M., Iqbal, H. M. N., Shah, S. Z. H., Hu, H., Wang, W. and Zhang, X., “Horseradish peroxidase-assisted approach to decolorize and detoxify dye pollutants in a packed bed bioreactor”, *Journal of Environmental Management*, 183, 836-842, 2016

Dai, M., Huang, T., Chao, L., Xie, Q., Tan, Y., Chen, C. and Meng, M., “Horseradish peroxidase-catalyzed polymerization of L-DOPA for mono-/bi-enzyme immobilization and amperometric biosensing of H₂O₂ and uric acid” , *Talanta*, 149, 117-123, 2016.

Duan, H., Wang X., Wang , Y., Li , J., Sun, Y. and Luo , C., “An efficient Horseradish peroxidase chemiluminescence biosensor with surface imprinting based on phenylboronic acid functionalized ionic liquid@magnetic graphene oxide”, *Sensors and Actuators B: Chemical.*, B 236 (2016) 44–51., 2016.

Fazel, R., Torabi, S. F., Naseri, N. P., Ghasempur, S., Ranaei, S. O. S. and Khajeha, K., “Electrospun polyvinyl alcohol/bovine serum albumin biocomposite membranes for horseradish peroxidase immobilization”, *Enzyme and Microbial Technology*, 93-94, 1-10, 2016.

Feyzizarnagh, H., Park, B. W., Sarma, L., Paranz, M. M., Yoon, D. Y. Y., K. and Kim, D. S., “Amperometric mediatorless hydrogen peroxide sensor with horseradish peroxidase encapsulated in peptide nanotubes”, *Sensing and Bio-Sensing Research*, 7, 38-41, 2016.

Geçkil, H., Biyokimya I, İnönü Üniversitesi, Malatya, 2012.

Güneş, N., Tanrıverdi, M. ve Polat, Ü., Temel Veteriner Biyokimya, Editör: Meltem

Hashimoto, M., Iwabuchi, S., Oishi, Y. and Shibasaki, Y., “Water-soluble polyphenol synthesis via oxidative coupling polymerisation of b-arbutin with copper catalyst in alkaline media”, *European Polymer Journal*, 81, 152-160, 2016.

Hollmann, F. and Arends, I.W.C.E., “Enzyme initiated radical polymerizations”, *Polymers*, 4, 759-793, 2012.

Huang, S., Wang, L., Huang, C., Sua, W. and Xia, Q., “Amino-functionalized graphene quantum dots based ratiometric fluorescent nanosensor for ultrasensitive and highly selective recognition of horseradish peroxidase”, *Sensors and Actuators*, B234, 255-263, 2016.

Ikeda, R., Uyama, H. and Kobayashi, S., “Novel Synthetic Pathway to a Poly(phenyleneoxide), Laccase-catalyzed oxidative Polymerization of Syringic acid”, *Macromolecules*, 29, 3053-3054, 1996.

Janović, B. S., Collins, A. R., Vujčić, Z. M., and Vujčić, M. T., “Acidic horseradish peroxidase activity abolishes genotoxicity of common dyes”, *Journal of Hazardous Materials*, 321, 576-585, 2017.

Kadokawa, J. and Kobayashi, S., “Polymer synthesis by enzymatic catalysis”, *Current Opinion in Chemical Biology* 14, 145–153, 2010.

Ke, Z., Ma, S., Li, L. and Huang, Q., “A fluorescence approach to the unfolding thermodynamics of horseradish peroxidase based on heme degradation by hydrogen peroxide”, *Chemical Physics Letters*, 657, 49-52, 2016.

Kobayashi, S., Shoda, S. and Uyama, H., “Enzymatic polymerization and oligomerization”, *Advances in Polymer Science* 121, 1-30, 1995.

Liu, Y., Liu, X., Guo, Z., Hu, Z., Xue, Z., and Lu, X., “Horseradish peroxidase supported on porous graphene as a novel sensing platform for detection of hydrogen peroxide in living cells sensitively”, *Biosensors and Bioelectronics*, 87, 101-107, 2017.

Miletic', N., Nastasovic', A. and Loos, K., "Immobilization of biocatalysts for enzymatic polymerizations: Possibilities, advantages, applications", *Bioresource Technology* 115, 126–135, 2012.

Na, S. Y. and Lee, Y., "Elimination of trace organic contaminants during enhanced wastewater treatment with horseradish peroxidase/hydrogen peroxide (HRP/H₂O₂) catalytic process", *Catalysis Today*, 2016.

Saçak, M., Polimer Kimyası, Gazi Kitabevi, Ankara, 2010.

Sun, H., Jin, X., Long, N. and Zhang, R., "Improved biodegradation of synthetic azo dye by horseradishperoxidase cross-linked on nano-composite support", *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016.

Tanrıverdi, T.C. Anadolu ÜniversitesiYayımlı No: 2344, Açıköğretim Fakültesi YayımlıNo: 1341, Eskişehir, 2013.

Taresco, V., Creassey, R. G., Kemon, J., Montovari, G., Alexonder, C., Burley, J. C. and Garnett, M. C., "Variation in structure and properties of poly(glycerol adipate) via control of chain branching during enzymatic synthesis", *Polymer*, 89, 41-49, 2016.

Thenmozhi, K. and Narayanan, S. S., "Horseradish peroxidase and toluidine blue covalently immobilized leak-free sol-gel composite biosensor for hydrogen peroxide" ,*Materials Science and Engineering*, C70, 223-230,2017.

Turaç, E. ve Şahmetlioğlu, E., "Oxidative polymerization of 4-[(4-phenylazo-phenylimino)-methyl]-phenol catalyzed by horseradish peroxidase" , *Synthetic Metals*, 160, 169-172, 2010.

Uyama, H. and Kobayashi, S., "Enzyme-catalyzed polymerization to functional polymers",*Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 19–20, 117–127, 2002.

Veitch, N.C., "Horseradish peroxidase: A modern view of a classic enzyme", *Phytochemistry*, 65, 249–259, 2004.

Zhang, L., Zhaob, W., Chena, H. and Cuia, Y., “Enzymatic synthesis of phenol polymer and its functionalization”, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 87,30–36, 2013.



ÖZ GEÇMİŞ

Melike MUTLU 10.06.1991 tarihinde Nevşehir’de doğdu. İlköğretim 8. sınıfa kadar Suvermez köyünde ve lise öğretimini Nevşehir lisesinde tamamladı. 2010 yılında girdiği Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden Haziran 2014’de mezun oldu. 2014 yılında Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2016’da Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi’nde Pedagojik Formasyon eğitimi aldı.



