

**(AMİNOMETİL)POLİSTİRENE TAKILI SCHIFF BAZI VE O'NUN Ni(II)
KOMPLEKSİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE β-
GALAKTOSİDAZ ENZİMİNİN İMMOBİLİZASYON ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

ELİF AYNACI

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ARALIK 2009
ANKARA**

Elif Aynacı tarafından hazırlanan “(AMİNOMETİL)POLİSTİRENE TAKILI SCHIFF BAZI VE O’NUN Ni(II) KOMPLEKSİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE β -GALAKTOSİDAZ ENZİMİNİN İMMOBİLİZASYON ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ” adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Nurşen Sarı

Tez Danışmanı, Kimya Anabilim Dalı

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

Başkan: Yrd. Doç.Dr. Hayrettin Tümtürk

(Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi)

Üye: Doç.Dr. Nurşen Sarı (Danışman)

(Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi)

Üye: Doç. Dr. İffet Şakıyan

(Kimya Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi)

Tarih:/...../.....

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

Prof. Dr. Nail ÜNSAL

.....

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 bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yaptığımı bildiririm.

Elif AYNACI

(AMİNOMETİL)POLİSTİRENE TAKILI SCHIFF BAZI VE O'NUN Ni(II)
KOMPLEKSİNİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE β -
GALAKTOSİDAZ ENZİMİNİN İMMOBİLİZASYON ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Elif AYNACI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Aralık 2009

ÖZET

Bu çalışmada, 2-fenilindol-3-karboksaldehit (2-PIn-Ald) ile (aminometil)polistirenin (APS) kondenzasyonu sonucunda bir Schiff bazı (APS-2PIn-Sch), ve bunun Ni(II) kompleksi (APS-2PIn-Sch-Ni) sentezlenmiştir. (APS-2PIn-Sch) ve (APS-2PIn-Sch-Ni) polimerleri elementel analiz ve spektral analizlerle karakterize edilmiştir. Ayrıca (APS-2PIn-Sch) ve (APS-2PIn-Sch-Ni)'in, Termal Gravimetrik Analiz (TGA) ile kararlılıkları, Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) ile morfolojik yapıları karakterize edilmiştir. Ek olarak, bu maddelerin elementel analiz sonuçlarına göre yapıları öngörülerek, ağırlıkça ortalama molekül kütleleri önerilmiştir (M_w). Sonrasında ise, (APS), (APS-2PIn-Sch) ve (APS-2PIn-Sch-Ni) komplekslerine kovalent bağlama yöntemi ile β -Galaktosidaz immobilize edilmiştir. Serbest ve immobilize β -Galaktosidaz üzerine sıcaklık, pH, tekrar kullanım, depolama kararlılığı gibi parametrelerin etkisi araştırılmıştır. Serbest enzim ve kovalent bağlama yöntemi ile (APS), (APS-2PIn-Sch) ve (APS-2PIn-Sch-Ni)'e immobilize edilen enzimler için K_m ve V_{mak} değerleri sırasıyla 0,343mM 0,0259 mM.dak⁻¹, 0,681 mM 0,0716 mM.dak⁻¹, 0,0363 mM 0,0185 mM.dak⁻¹, 0,380 mM 0,0718 mM.dak⁻¹ olarak hesaplanmıştır. (APS-2PIn-Sch-Ni)'in depolama kararlılığı diğer polimerlere oranla daha yüksek çıkmıştır.

Bilim kodu : 201.1.005
Anahtar Kelimeler : Polimer, Schiff bazı, Ni(II) kompleksi,
immobilizasyon, β -Galaktosidaz; polistiren
Sayfa Adedi : 54
Tez Yöneticisi : Doç. Dr. NURŞEN SARI

**SYNTHESES, CHARACTERIZATION AND IMMOBILIZATION OF β -
GALACTOSIDASE STUDIES ON (AMINOMETHYL)POLYSTYRENE-
ANCHORED SCHIFF BASES AND ITS NI(II) COMPLEX**

(M.Sc. Thesis)

Elif AYNACI

**GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

December 2009

ABSTRACT

Polymer-bound Schiff-base ligand (APS-2PIn-Sch) was prepared from (aminomethyl)polystyrene (APS) bound 2-phenylindole-3-carboxaldehyde (2PIn-Ald) and its Ni(II) complex (APS-2PIn-Sch-Ni) was also synthesized. The (APS-2PIn-Sch) and its Ni(II) complex were characterized on the basis of elemental analyses and spectral analyses studies. (APS-2PIn-Sch) and (APS-2PIn-Sch-Ni) were further characterized thermally, employing thermogravimetry (TGA) and morphologically employing scanning electron microscopy (SEM). In addition, main units have been suggested with elemental analysis for these substances, and then the weight average molecular weight (M_w) has been suggested. After that, β -Galactosidase were immobilized onto (APS), (APS-2PIn-Sch) and (APS-2PIn-Sch-Ni) complex with using the covalent binding. The influence of temperature, pH and reusability, storage capacity on the free and immobilized β -Galactosidase were investigated. Kinetic parameters were calculated as $0.343\text{mM}/0.0259\text{ mM}\cdot\text{min}^{-1}$, $0.681\text{ mM}/0.0716\text{ mM}\cdot\text{min}^{-1}$, $0.0363\text{ mM}/0.0185\text{ mM}\cdot\text{min}^{-1}$ and $0.380\text{ mM}/0.0718\text{ mM}\cdot\text{min}^{-1}$, for K_m/V_{\max} respectively; free, (APS), (APS-2PIn-Sch) and (APS-2PIn-Sch-Ni) bound enzymes. Storage capacity of (APS-2PIn-Sch-Ni) was found higher than other polymers.

Science code : 201.1.005

Key Words : Polymer, Schiff-base, Ni(II) complex, immobilization, β -Galactosidase; polystyrene

Number of pages : 54

Adviser : Assoc. Prof. Dr. NURŞEN SARI

TEŞEKKÜR

Lisans eğitimimden itibaren ve tez çalışmalarım boyunca yardım ve desteklerini benden esirgemeyen, her daim ilgilerini üzerimden eksik etmeyen, sadece akademik hayatları ile değil, karakterleri ve kişilikleri ile normal hayatta da yol göstericilerim olan ve danışman hocalarım olmalarından onur duyduğum, başta Sayın Doç. Dr. Nurşen SARI'ya ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Hayrettin TÜMTÜRK'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Laboratuvar çalışmalarımındaki yardımlarından dolayı Uzman Ferat ŞAHİN'e, elementel analizlerin alınmasındaki katkılarından dolayı Arş. Gör. İ. Evren KIBRIZ'a, SEM resimlerini çeken Prof. Dr. Zekiye SULUDERE'ye teşekkür ederim.

Tez süresi boyunca yanımdan hiç ayrılmayan çalışma arkadaşım Vildan ERDURAN'a, hayatımda her daim yer alan ve yer alacak olan mükemmel dostum Esra YILDIRIM HÖTELEK'e sonsuz teşekkürler.

İyi ki varsınız...

En büyük teşekkürüm, minnetim; bütün hayatımda olduğu gibi yüksek lisans eğitimim sırasında da beni yalnız bırakmayan, benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, hayatta her daim bana güç veren en büyük destekçilerim, yaşam kaynaklarım çok kıymetli babam Mehmet AYNACI, annem Firdevs AYNACI ve biricik ablam Nilgün AYDIN' a teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLERİN LİSTESİ.....	ix
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvii
1.GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Schiff Bazları.....	3
2.2. Schiff Bazı İçeren Koordinasyon Polimerleri.....	4
2.3. Enzimler ve Enzim İmmobilizasyonu.....	14
2.3.1. Enzimlerin uygulama alanları.....	14
2.3.2. β -galaktosidaz enzim ve özellikleri.....	15
2.3.3. Enzim immobilizasyonu.....	16
2.3.4. Enzimlerin immobilizasyon yöntemleri.....	17
3. MATERYAL VE METOT.....	19
3.1. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler, Aletler, Cihazlar ve Teknikler.....	19
3.1.1. Kimyasal maddeler.....	19
3.1.2. Gouy terazisi	19
3.1.3. Element analizi	20
3.1.4. İndüksiyon eşleşmeli plazma-kütle spektrometresi.....	20

Sayfa

3.1.5. Sıvı kromatograf - kütle spektrometresi.	20
3.1.6. Ultraviyole - görünür bölge spektrumları.....	20
3.1.7. pH metre.....	20
3.1.8. Çalkalamalı su banyosu.....	20
4. DENEYSEL KISIM.....	21
4.1. Schiff Bazı Takılı Polimerin Hazırlanması (Genel Yöntem).....	21
4.1.1 (APS-2PIn-Sch) Schiff bazının sentezi	21
4.2. Schiff Bazı Takılı Polimerin Ni(II) Kompleksinin Hazırlanması (Genel Yöntem).....	21
4.2.1. Birinci adım; metal-aldehit komplekslerinin hazırlanması.....	21
4.2.2. İkinci adım; koordinasyon polimerlerinin hazırlanması.....	23
4.3. p-nitrofenil- β -D-galaktopiranosid Kalibrasyon Grafiği.....	23
4.4. (APS), (APS-2PIn-Sch) and (APS-2PIn-Sch-Ni) Polimerlerinin Kovalent Bağlanma Yöntemi ile İmmobilizasyon İşlemleri.....	24
4.4.1. İmmobilizasyon işlemlerinde kullanılan çözeltiler.....	24
4.4.2. Kovalent bağlanma yöntemiyle enzim immobilizasyonu.....	25
4.4.3. Serbest β -galaktosidaz enziminin aktiflik tayini.....	25
4.4.4. İmmobilize β -galaktosidaz enziminin aktiflik tayini.....	26
4.4.5. Serbest β -galaktosidazın aktifliğine pH etkisi.....	26
4.4.6. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın aktifliğine pH etkisi.....	26
4.4.7. Serbest β -galaktosidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi.....	26

Sayfa

4.4.8. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β-galaktosidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi.....	27
4.4.9. Serbest β-galaktosidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisi.....	27
4.4.10. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β-galaktosidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisi.....	27
4.4.11. Serbest β-galaktosidaz enziminin depolanma kararlılığı.....	27
4.4.12. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β-galaktosidazın depolama kararlılığı.....	28
4.4.13. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β-galaktosidazın tekrar kullanılabilirliği.....	28
5. SONUÇLARVE TARTIŞMA.....	29
5.1. Schiff Bazı Takılı Polimerin Karakterizasyonu.....	29
5.1.1. (APS-2PIn-Sch) Schiff Bazı Takılı Polimer [C ₂₄ H ₂₀ N ₂ (C ₈ H ₈) ₃₈].....	29
5.1.2. (APS-2PIn-Sch-Ni) Schiff Bazı-Ni(II) kompleksi, [C ₂₄ H ₂₂ N ₂ (C ₈ H ₈) ₃₈ ONiCl ₂].....	34
5.2. Kovalent Bağlanma Yöntemiyle İmmobilize Edilen β-galaktosidazın Aktifliğine pH etkisi	37
5.3. Kovalent Bağlanma Yöntemiyle İmmobilize Edilen β-galaktosidazın Aktifliğine Sıcaklığın Etkisi	39
5.4. Aktifliğe Substrat Derişiminin Etkisi.....	40
5.4.1. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β-galaktosidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisi.....	41

Sayfa

5.5. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın depolama kararlılığı.....	43
5.6. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın aktifliğinin tekrar kullanım ile değişimi.....	44
5.7. SEM Analizi.....	44
6. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	46
KAYNAKLAR.....	49
ÖZGEÇMİŞ.....	53

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 5.1. (APS-2PIn-Sch) Schiff bazının fiziksel özellikleri ve analitik verileri.....	30
Çizelge 5.2. (APS-2PIn-Sch) Schiff bazının önemli FTIR ve UV-GB Spektrum Değerleri.....	30
Çizelge 5.3. (APS) ve (APS-2PIn-Sch)'in termal analiz değerleri.....	33
Çizelge 5.4. (APS-2PIn-Sch-Ni) Schiff bazı-Ni(II) kompleksinin fiziksel özellikleri ve analitik verileri.....	35
Çizelge 5.5. (APS-2PIn-Sch-Ni) Schiff bazının önemli FTIR ve UV-GB Spektrum Değerleri.....	35
Çizelge 5.6. (APS-2PIn-Sch-Ni)'in termal analiz değerleri	37
Çizelge 5.7. Serbest ve polimerlere kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın kinetik parametreleri.....	42

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Schiff bazının oluşum mekanizması.....	3
Şekil 2.2. 1,4-bis(2'-hidroksifenilazometin)fenilden hazırlanan polişelat için önerilen yapı.....	4
Şekil 2.3. Poli(metilendifeniltereftalat) polimerinin Co(II), Ni(II) ve Cu(II) tuzları ile olan koordinasyonu.....	5
Şekil 2.4. (a) (HAPO) ve (HMAPO) polimerlerinin sentezi (b) (HAPO) ve (HMAPO) polimerlerinin metal tuzları ile olan koordinasyonu	5
Şekil 2.5. 1,2-bis-(4-tiyo-1,3,5-hekzahidro-1-triazin)etan'dan hazırlanan koordinasyon polimeri.....	6
Şekil 2.6. Poli[N-(3-fenilakriliden)-2-merkaptanilin]'nin tautomerik formu.....	7
Şekil 2.7. MCM 41 materyali üzerine kovalent bağla bağlanmış Schiff bazı-Cu(II) kompleksi	8
Şekil 2.8. 2-tert-bütil-4-metil-6{(E)-[(2S)-1-(1-arilmetil)pirolidinil]imino} metilfenol'den hazırlanan Schiff bazı.....	8
Şekil 2.9. Polistiren (PS) destekli 4 verici atoma sahip Schiff bazı.....	9
Şekil 2.10. Polimerik Schiff bazlarının oktahedral kompleksleri için önerilen yapı.....	9
Şekil 2.11. (a) Stiren ve çeşitli çapraz bağlayıcılar (b) Polistirenin klorometilasyonu.....	10
Şekil 2.12. Dietilentriamino-salisilaldehit Schiff bazı destekli polistiren.....	11

Şekil	Sayfa
Şekil 2.13. İnorganik yüzeye bağlı şelat grupları için öngörülen yapılar.....	11
Şekil 2.14. Yükseltgenme reaksiyonu için kullanılan polistiren destekli VO kompleksinin yapısı.....	12
Şekil 2.15. (aminometil)polistirenin vanilin Schiff bazı.....	13
Şekil 2.16. PSOBD sentezlenmesi.....	13
Şekil 2.17. PSHQAD sentezlenmesi.....	14
Şekil 2.18. β -Galaktosidazın üç boyutlu yapısı.....	15
Şekil 2.19. β -Galaktosidaz enziminin katalizlediği reaksiyon.....	16
Şekil 2.20. Kovalent bağlanmayla immobilizasyona bir örnek	18
Şekil 4.1. (2PIn-Ald-Ni) kompleksi.....	22
Şekil 4.2. Ni(II)-2-fenilindol-3-karboksaldehit kompleksinin kütle spektrumu.....	22
Şekil 4.3. p-nitrofenil β -D-galaktosid kalibrasyon grafiği.....	24
Şekil 5.1. Polisitiren ve Schiff bazı takılı polisitiren.....	29
Şekil.5.2. (APS), (APS-2PIn-Sch) ve (APS-2PIn-Sch-Ni)' e ait FTIR spektrumu....	31
Şekil 5.3. SEM fotoğrafları (a) (APS) ve (b) (APS-2PIn-Sch).....	31
Şekil 5.4. (APS) polimerine ait UV-GB Spektrumu.....	32
Şekil 5.5. (APS-2PIn-Sch) polimerine ait UV-GB Spektrumu.....	32
Şekil 5.6. (APS) polimerlerinin TGA eğrisi.....	33
Şekil 5.7. (APS-2PIn-Sch) polimerlerinin TGA eğrisi.....	34
Şekil 5.8. Schiff Bazı-Ni(II) takılı polimer.....	34
Şekil 5.9. (APS-2PIn-Sch-Ni) polimerine ait UV-GB Spektrumu.....	36
Şekil 5.10. (APS-2PIn-Sch-Ni) polimerlerinin TGA eğrisi.....	37

Şekil	Sayfa
Şekil 5.11. Serbest ve polimerlere kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın maksimum aktifliğinin pH ile değişimi.....	38
Şekil 5.12. Serbest ve polimerlere kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın maksimum aktifliğinin sıcaklıkla değişimi.....	39
Şekil 5.13. Polimerlere kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidaza ait Lineweaver- Burk grafiği.....	41
Şekil 5.14. SEM fotoğrafları (a) İmmobilize (APS) (b) (APS).....	45
Şekil 6.1. Ön görülen enzim-polimer etkileşimleri	
(a) (APS)-enzim arasında amid bağı oluşumu	
(b) (APS-2PIn-Sch)-enzim arasındaki muhtemel hidrojen bağı	
(c) Enzimin Ni(II) ile koordine bağ oluşumu.....	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklama

β	Beta
ΔA	Absorbans değişimi
ΔC	Derişim değişimi
μm	Mikrometre
μL	Mikrolitre
K_m	Michaelis-Menten sabiti
UV	Ultraviyole
V_{mak}	Maksimum hız
V	Hız

Kısaltmalar

Açıklama

APS	(Aminometil)polistiren
APS-2PIn-Sch	Schiff bazı ligantı bağlı (APS)
APS-2PIn-Sch-Ni	Schiff bazı ligantı bağlı (APS)'nin Ni ²⁺ kompleksi
BRT	Britton ve Robinson Tamponu
2-PIn-Ald	2-fenilindol-3-karboksaldehit

1. GİRİŞ

Fiziksel ve kimyasal özelliklerini geliştirmek için, çeşitli fonksiyonel gruplar içeren polimerlerin sentezi ile ilgili çalışmaların, son 10 yıl içinde hızla çeşitlenerek arttığı görülmektedir. Fonksiyonel grupları içeren polimerlerin, mekanik ve termal dayanıklılığı artırması [1], yüksek katalitik etki gösterebilmesi [2], anyonik polielektrolit olarak hidrometalurjide [3], su vb. kirliliğinin kontrol edilebilmesi ve biyoinorganik sistemlerde [4,5] kullanılmasıyla birlikte, bu tür polimerlerin sentezi ve karakterizasyonu üzerine çalışmalar yapılmaya 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].

Polimerik-Schiff bazları ile ilgili ilk maddeler ise 1960'lı yıllarda Delman ve arkadaşları tarafından sentezlendikten sonra yeni bir çalışma alanı ortaya çıkmıştır [7]. Bu araştırmacılar sonra Bottino ve arkadaşları [8] polimerlerin metal seçici özelliğini incelemek için 5-5'-metilen-bis-salisilaldehitden faydalanarak bir polimer-Schiff bazı sentezlemişlerdir. Woo-Seong Kim ve Yong-Kook Choi isimli araştırmacılar, polimerik-Schiff bazının elektrokatalitik özelliklerini araştırmak için aldehit bileşeni olarak yine salisilaldehiti kullanmayı tercih etmişlerdir [9].

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

Yapılan araştırmalarda, (aminometil)polistirene 2-fenilindol-3-karboksaldehit takılması sonucunda oluşan Schiff bazı ve Ni(II) komplekslerinin sentezi üzerine çalışmaların olmadığı, ayrıca Schiff bazı takılması sonucunda oluşan polimerlerin immobilizasyon özelliklerinin çalışılmadığı görülmüştür. Bu amaçla Schiff bazı takılı polimerler ve onun Ni(II) kompleksi sentezlenerek, gerekli karakterizasyonlar ile

(element analizi, magnetik duyarlılık, TGA, SEM, IR ve UV-GB spektrumları) yapıları aydınlatılan polimerlerin immobilizasyon özellikleri araştırılmıştır.

İmmobilizasyon; β -galaktosidaz enziminin, Schiff bazı içeren polimer ve o'nun metal kompleksi üzerine olmuştur. Bu amaçla, (aminometil)polistiren ve 2-fenilindol-3-karboksaldehit kondenzasyon yolu ile polimerik-Schiff bazı (APS-2PIn-Sch) ve bu Schiff bazının Ni(II) kompleksi (APS-2PIn-Sch-Ni) sentezlenmiş, daha sonra kovalent bağlama yöntemi ile enzim 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.

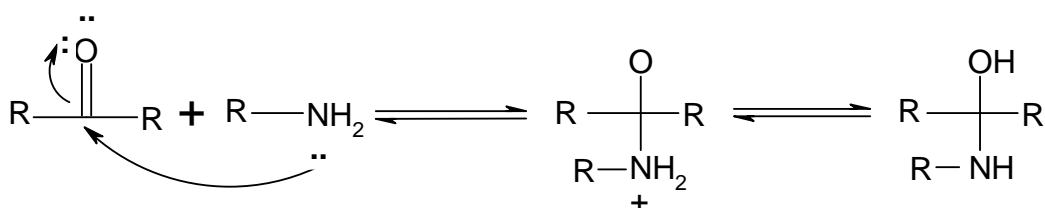
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Schiff Bazları

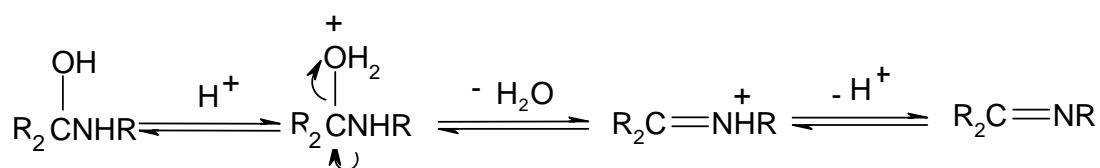
Primer aminler ile aldehit veya ketonların katılma-ayrılma tepkimesi sonucunda “imin” bileşikleri meydana gelir. Bu imin bileşiklerine bazen “Schiff bazları” da denir.

Schiff bazlarının oluşum mekanizması, iki basamaklıdır. Birinci basamakta, nükleofilik özelliğe sahip olan amin, karbonil karbonuna katılır. Daha sonra azot bir proton kaybederken oksijene bir proton bağlanır. İkinci basamakta ise, protonlanmış –OH grubu su olarak ayrılır [10].

1. Basamak katılma



2. Basamak ayrılma

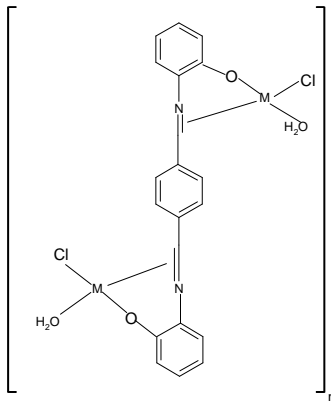


Şekil 2.1. Schiff bazının oluşum mekanizması

İlk Schiff bazının 1869’da Alman kimyacı Hugo Schiff tarafından sentezlenmesinden itibaren günümüze kadar yeni Schiff bazların sentezi, komplekslerinin hazırlanması ve özelliklerinin incelenmesi ile ilgili binlerce çalışma yapılmıştır. Tez konusu kapsamında Schiff bazı içeren polimerler ile ilgili kaynak araştırmaların son yıllara ait bir bölümü aşağıda özetlenmiştir.

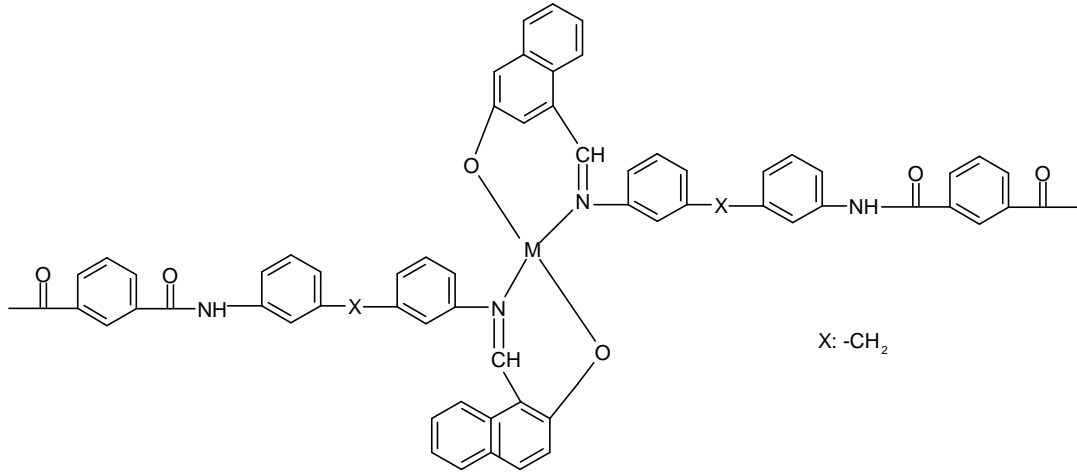
2.2. Schiff Bazı İçeren Koordinasyon Polimerleri

Polimerik-Schiff bazları ile ilgili ilk çalışmaların 1960'lı yıllarda Delman ve arkadaşları tarafından başlatıldığı görülmektedir [7]. Bu yılı takiben 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 2.2) 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 [11].



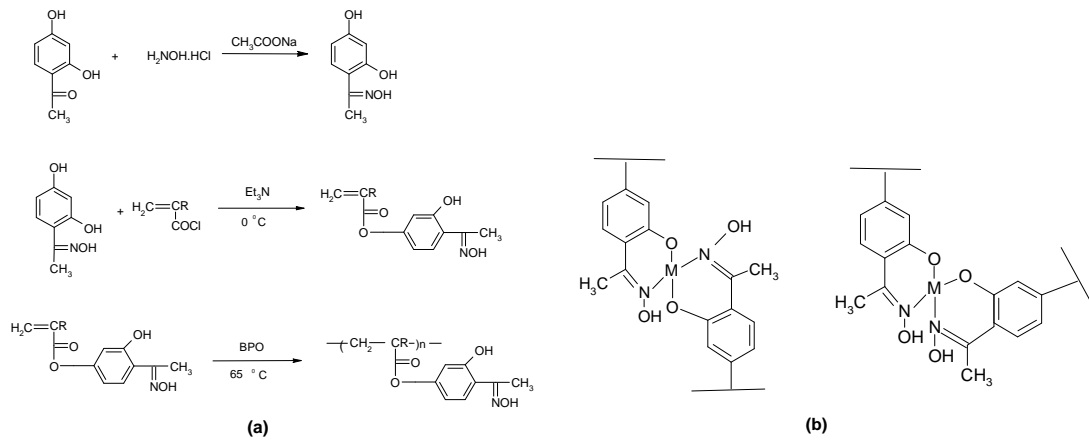
Şekil 2.2. 1,4-bis(2'-hidroksifenilazometin)fenilden hazırlanan polişelat için önerilen yapı

Poli(metilendifeniltereftalat) (PMDTA)' in koordinasyon polimeri üzerine çalışmalar yapan Bajpai ve arkadaşları Co(II), Ni(II) ve Cu(II) tuzlarının kullanılması ile oluşan koordinasyon komplekslerindeki (Şekil 2.3) yapının belirlenmesinde manyetik moment değerlerini kullanan ilk araştırmacılar olmuşlardır. Bu araştırmacılar kompleks oluşumunda ayrıca IR bantlarındaki değişiklikleri de dikkate alarak koordinasyon polimerlerinin yapılarını belirtmişler ve metal ile olan koordinasyonun aşağıdaki gibi olabileceğini ifade etmişlerdir [12].



Şekil 2.3. Poli(metilendifeniltereftalat) polimerinin Co(II), Ni(II) ve Cu(II) tuzları ile olan koordinasyonu

Elektriksel iletkenlik ve termal kararlılığın koordinasyon polimerleri üzerine olan etkisini inceleyen, Thamizharazi ve arkadaşları, yeni bir polimer olan poli(2-hidroksi-4-akriloksi aseto fenoksim) (HAPO) ve poli(2-hidroksi-4-metakriloksiasetofenoksim) (HMAPO) sentezlemişlerdir (Şekil 2.3. a).

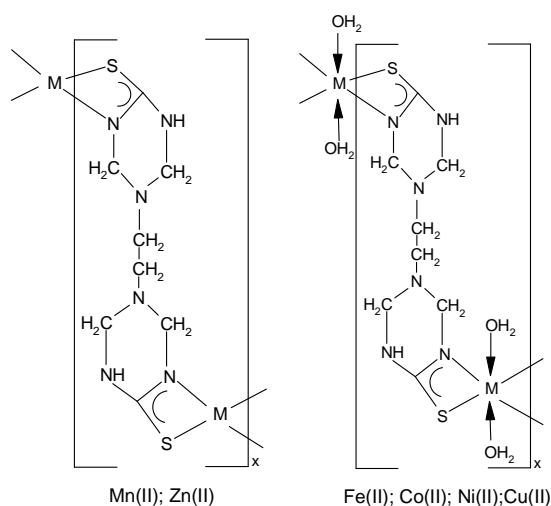


Şekil 2.4. (a) (HAPO) ve (HMAPO) polimerlerinin sentezi
(b) (HAPO) ve (HMAPO) polimerlerinin metal tuzları ile olan koordinasyonu

Sentezlenen bu polimerin Cu(II) ve Ni(II) komplekslerini (Şekil 2.4. b) hazırlayarak, yapılarını belirledikten sonra termal kararlılık için polimerik-Cu(II) kompleks >

polimerik-Ni(II) > polimer şeklinde bir sıranın olduğunu belirtmişlerdir. Ancak iletkenliğin polimer komplekslerde çok zayıf olduğunu vurgulamışlardır [13]

Koordinasyon polimerinin, bir ligandın kimyasal özellikleri ile polimerlerin mevcut fiziksel özelliklerinin birbiri ile karışması sonucunda oluşan, yeni ligandlar olduğunu belirten W. B. Gurnule ve arkadaşları 1,2-bis-(4-tiyo-1,3,5-hekzahidro-1-triazin)etan (H_2BTHTE) bileşimini DMF'de çözerek Mn(II), Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II) ile koordinasyon polimerlerini sentezlemişlerdir. Bu araştırmacılar element analizi, manyetik duyarlılık ölçümleri, elektronik ve infrared spektrumları ile yapılarını karakterize edip aşağıdaki gibi bir yapı önermişlerdir (Şekil 2.5) [14].

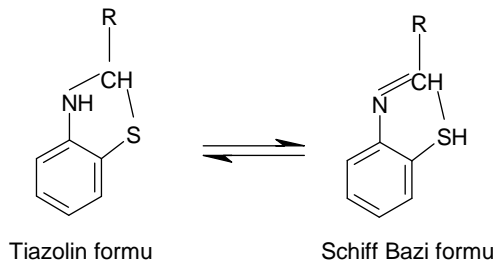


Şekil 2.5. 1,2-bis-(4-tiyo-1,3,5-hekzahidro-1-triazin)etan'dan hazırlanan koordinasyon polimeri

Polistiren destekli olarak hazırlanan poli-Schiff bazının Cu(II), Ni(II), Co(II), Fe(II) Zn(II) Cd(II), Zr(IV), Mo(V), Mo(VI) ve U(VI) kompleksleri hazırlanmıştır. Poli-Schiff bazını sentezlerken salisilaldehit ve 1-amino-2-naftol-4-sülfonik asitten faydalanan araştırmacılar spektral analizini yanı sıra manyetik duyarlılık ölçümlerinden faydalanarak koordinasyon yapılarını aydınlatmışlardır. Yapmış oldukları değerlendirmeler sonucunda Cu(II) kompleksinin kare düzlem, Ni(II), Co(II), Fe(II), Mo(V), Mo(VI) ve U(VI) komplekslerinin düzgün sekiz yüzlü, Zn(II)

ve Cd(II)'un düzgündörtüzlü, Zr(IV) ise beşgen bipiramid yapısında olabileceğini belirtmişlerdir [15].

El-sonbati ve arkadaşları 2-süstitüe anilin ve sennamaldehit 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. Bu araştırmacılar çalıştıkları polimer içerisinde hem tioazolin hem de Schiff bazı formunun (Şekil 2.6) birlikte olduğunu ifade etmişlerdir [16].

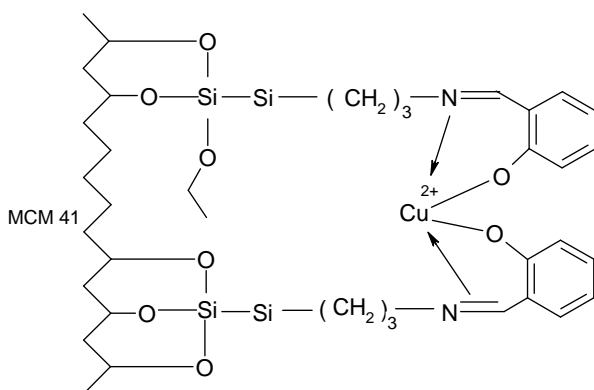


Şekil 2.6. Poli[N-(3-fenilakriliden)-2-merkaptolanilin]'nin tautomerik formu

Geçiş metallerini içeren polimerik-Schiff bazlarının bir indirgeyici olarak davranışı ile ilgili ilk çalışmayı Kim ve Choi isimli araştırmacılar yapmışlar, bu araştırmacılar poli(4-vinil piridin-co-stiren) ile (1,3-bis salisiliden imino propan) katılımı sonucunda oluşan polimerin metal ile olan kompleksinin (PVPS)M(II)SALPR, poli(4-vinil piridin-co-stiren) ile 1,4-bis salisiliden imino bütan katılımı sonucunda oluşan polimerin metal kompleksinin (PVPS)M(II) SALBU [M: Ni, Cu], katalitik etkileri kıyasladıklarında (PVPS)M(II)SALPR'nin katalitik etkisinin daha fazla olduğunu ifade etmişlerdir [9].

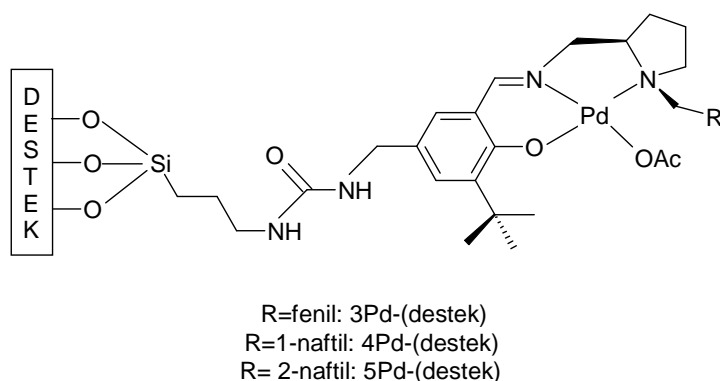
Singh ve arkadaşları, yüzey alanı yüksek bir mobil kristal materyal olan ve MCM 41 materyali üzerine kovalent bağlı olarak Schiff bazı ile koordine olmuş Cu(II) kompleksinin, silisyum metal atomları vasıtasıyla tutunmasını sağlamışlardır. Schiff bazının hazırlanmasında salisilaldehit ve tersiyel bütıl amin bileşiklerinden faydalanmışlardır. MCM 41 materyaline tutunan Cu-Schiff bazı kompleksi (Şekil

2.7) için toz X-ışınları difraksiyonu, atomik absorpsiyon spektroskopisi, element analizi, infrared spektroskopisi ve ^{13}C NMR spektroskopisinden faydalanmışlardır [17].



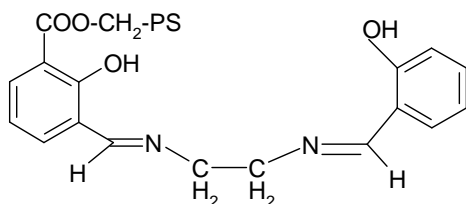
Şekil 2.7. MCM 41 materyali üzerine kovalent bağla bağlanmış Schiff bazı-Cu(II) kompleksi

González-Arellano ve arkadaşları, MCM 41 destek materyali üzerine yaptıkları araştırmada 2-tert-bütıl-4-metil-6{(E)-[(2S)-1-(1-arilmetil)pirolidinil]imino} metilfenolü (aril: fenil, 1-naftil, 2-naftil) içeren Schiff bazlarını ve onların Pd(II) komplekslerini (Şekil 2.8) sentezleyip, karakterize ederek bu tür Pd(II) komplekslerinin katalizör olarak kullanılabileceğini söylemişlerdir [18].



Şekil 2.8. 2-tert-bütıl-4-metil-6{(E)-[(2S)-1-(1-arilmetil)pirolidinil]imino}metilfenol den hazırlanan Schiff bazı

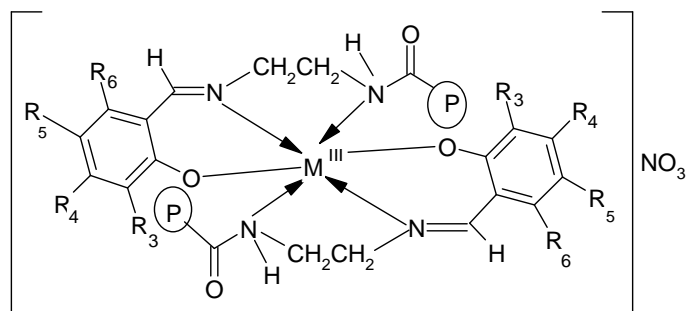
Syamal, Singh ve Kumar, polistirenin 1 gramında 3,9 mmol klor içeren ve % 2 çaprazbağlı divinilbenzen ile klorobenzenin etkileşimi sonucunda oluşan kloro metil polistirene destekli Schiff bazını hazırlarken, salisilaldehit ile etilendiamin ve 3-formil salilik asit ile etilendiaminin kondenzasyondan faydalanmışlardır [19].



Şekil 2.9. Polistiren (PS) destekli 4 verici atoma sahip Schiff bazı

Bu araştırmacılar ayrıca Cu(II), Ni(II), Fe(II), Zn(II), Cd(II) ve Co(II) komplekslerini sentezlemişlerdir. PS-CH₂-LCu ve PS-CH₂-LCo kompleksleri paramanyetik, PS-CH₂-LNi kompleksi diyamanyetik olup her üçünün kare düzlem yapıda olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca PS-CH₂-LFeCl.DMF kompleksinin paramanyetik olup, oktahedral yapıda olduğunu, PS-CH₂-LZn ve PS-CH₂-LCd komplekslerinin diyamanyetik ve tetrahedral yapıda olduğunu spektral değerlendirmelerle öngörmüşlerdir.

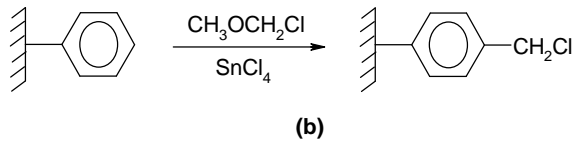
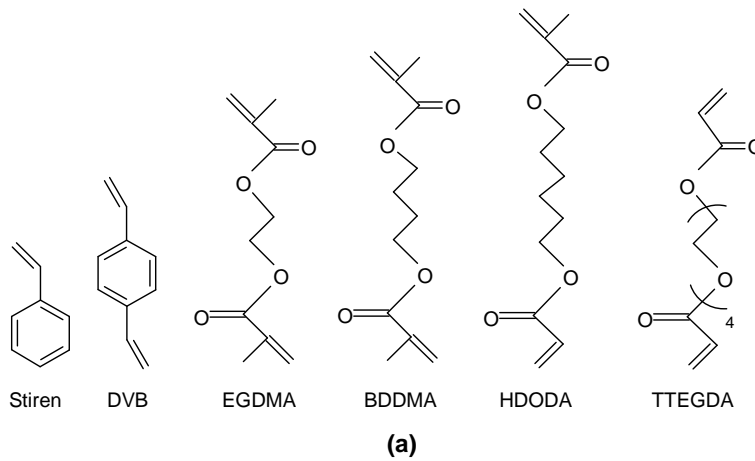
Radhakrishnan ve arkadaşları, poliakrilamit üzerine Schiff bazının takılması sırasında metal iyonlarının (Mn(II), Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II) ve Zn(II)) koordine olma özelliklerinden faydalanarak kompleksler (Şekil 2.10) sentezlemişlerdir.



Şekil 2.10. Polimerik Schiff bazlarının oktahedral kompleksleri için önerilen yapı

Bunun için fenolik aldehytlerle, süstitüe azobenzen grupları içeren Schiff bazlarını sentezlemişlerdir. Poliakrilamit ve Schiff bazı arasında meydana gelen boşluklara metal iyonun tutulmasında pH'nın etkili olduğunu vurgulamışlardır [20].

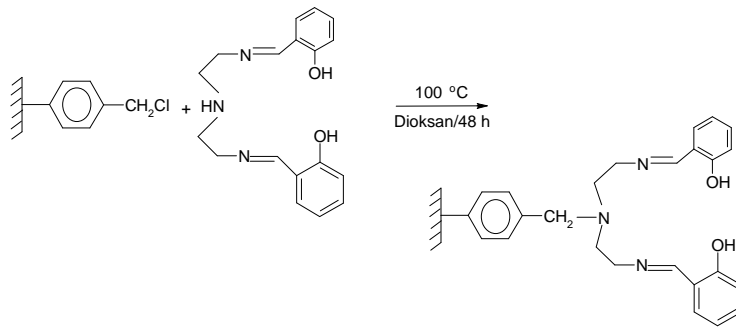
Kumar ve Mathew, %2 mol DVB-, EGDMA-, BDDMA-, HDODA- ve TTEGDA (Şekil 2.11.a) içeren, polistiren destekli Schiff bazlarının sentezi, karakterizasyonu ve bunlardan hazırlanan metal komplekslerinin katalitik aktivitelerini araştırmışlardır. Polistiren destekli Schiff bazını sentezlerken salisilaldehit ve dietilentriaminden faydalanmışlardır.



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

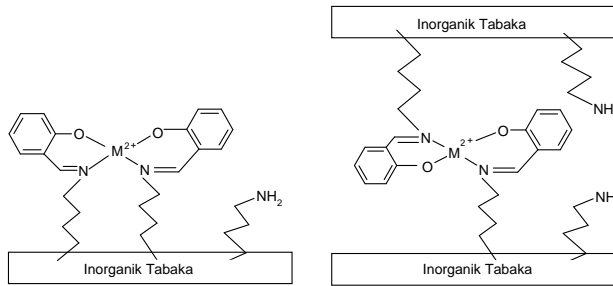
Bu kompleksler Fe(II), Fe(III), Co(II), Ni(II) ve Cu(II) metal iyonları ile yapılmıştır. Polimer-metal komplekslerinin katalitik aktivitelerini araştırmak için, hidrojen peroksidin bozunma reaksiyonu model reaksiyon olarak seçilmiştir. Metal iyonlarının kompleksleşme türleri ve polimer desteğindeki çapraz bağlı grupların katalitik aktivite üzerine etkisi ile ilgili detaylı bir araştırma yapmışlardır. [21].

Polistiren destekli Schiff bazının bazı metal iyonları ile kolaylıkla kompleksleştiğini söyleyen bu araştırmacılar, DVB-, EGDMA-, BDDMA-, HDODA- ve TTEGDA çapraz bağlı reçinelerinin polistiren destekli dietilentriamino-salisilaldehit Schiff bazı komplekslerinin değişik pH lardaki Fe(II), Fe(III), Co(II), Ni(II) ve Cu(II) iyonlarına karşı metal seçiciliğini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda, Cu(II) iyonunun en fazla tutunduğunu ifade etmişlerdir. Metal iyonları arasındaki tutuculuk sırasının; Cu(II)>Co(II)>Ni(II)>Fe(III)>Fe(II) şeklinde azaldığını söylemişlerdir.



Şekil 2.12. Dietilentriamino-salisilaldehit Schiff bazı destekli polistiren

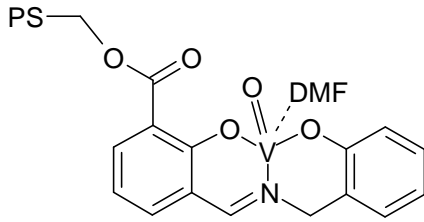
2006 yılında Lagadic'in yapmış olduğu amin fonksiyonel grubunu içeren, Mg tabakasından oluşan silikatın, salisilaldehit, 5-klorosalisilaldehit, 2-piridin karboksaldehit ve asetil asetonun reaksiyonu sonucunda, N ve O verici gruplara sahip Schiff bazlarını sentezlemiştir. Cu(II), Ni(II) ve Co(II) iyonları ile şelatlaşması sonucunda oluşan kompleksin (Şekil 2.13) X-ışınları difraksiyonu, IR, ¹³C NMR ile karakterize etmiştir.



Şekil 2.13. İnorganik yüzeye bağlı şelat grupları için öngörülen yapılar

Karakterizasyon sonucunda tabakanın yapısının şelat gruplarının büyüklüğü ve bu grupların bağlanmadaki yönelmelerinin farklı olması sonucunda farklı tabaka yüzeylerine sahip olduğunu ifade etmiştir [22].

Maurya ve arkadaşları diklormetilli polistirene Schiff bazını takmak için 3-formil salisilikasit ile o-hidroksibenzilaminden faydalanmışlardır. Araştırmacılar, polistiren destekli Schiff bazının VO kompleksini (Şekil 2.14) sentezlemişler, bu kompleksin katalitik etkisini stiren, etilbenzen ve fenol bileşikleri üzerinde çalışmışlardır. Araştırmaların sonucunda, stiren için beş ürünün oluştuğunu, bunların; stiren oksit, benzaldehit, 1-feniletan-1,2-diol, benzoik asit ve fenilasetaldehit iken, etilbenzenden benzaldehit, fenil asetik asit, stiren ve 1-feniletan-1,2-diol oluşurken, fenolün yükseltgenme ürünlerinin katekol ve *p*-hidroksikinon olduğunu söylemişlerdir [23].

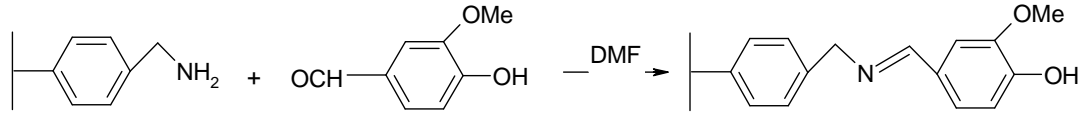


Şekil 2.14. Yükseltgenme reaksiyonu için kullanılan polistiren destekli VO kompleksinin yapısı

2005 yılında Yang ve arkadaşları N-salisiliden-(4-metoksi-anilin) Schiff bazı ile sonlandırılan polistireni sentezlerken, *p*-metoksianilin ve salisilaldehitten faydalanmışlardır. Salisilaldehit ile sonlandırılmış polistireninin sentezinde atomik transfer radikal polimerizasyon yöntemini (ATRP) kullanmışlardır. Schiff bazı takılı polistirenin Zn(II) iyonu ile kompleksini hazırlayarak ¹H-NMR, IR ve UV-Vis ile karakterize etmişler ve fluoresans özelliğini araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda 330 nm dalga boylu ışını absorplayan bu kompleks'in fluoresansın 500 nm de olduğunu ifade etmişlerdir [24].

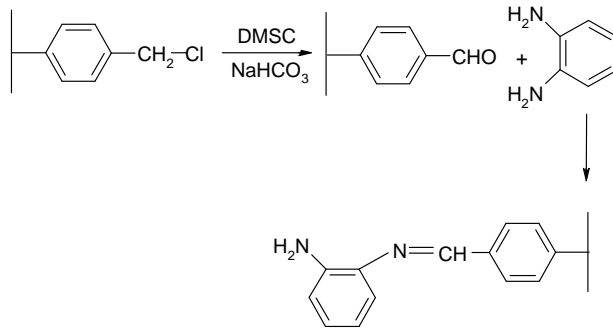
Kumar ve arkadaşları (aminometil)polistiren ile vanilinin kondenzasyonu sonucunda Schiff bazını sentezlemişlerdir (Şekil 2.15). Sentez sırasında çözücü olarak DMF

kullanmışlardır ve bu Schiff bazının Mn(II), Co(II), Fe(III), Cu(II), Zn(II), U(VI), Na⁺, K⁺, NH₄⁺, Ca⁺, Cl⁻, Br⁻, NO₃⁻, NO₂⁻ and CH₃CO₂⁻ iyonlarından oluşan 20 ppm lik çözeltisinde bulunan Ni(II) iyonunun uzaklaştırılmasında kullanılabileceğini söylemişlerdir [25].



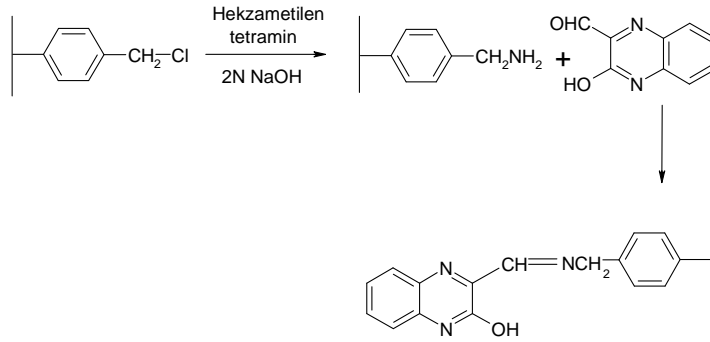
Şekil 2.15. (aminometil)polistirenin vanilin Schiff bazı

Suja ve Yusuff isimli araştırmacılar da polistiren destekli iki yeni Schiff bazı olan, PSOPD ve PSHQAD sentezlemişlerdir. PSOPD olarak kodlandırılan Schiff bazını sentezlemek için (Şekil 2.16), -CH₂Cl ile sonlandırılmış polimerin, DMSO ve NaHCO₃ ortamında tepkimeye sokulması sonucunda -CHO ile sonlandırılmış polimeri, o-fenilendiamin ile tepkimeye sokmuşlardır.



Şekil 2.16. PSOPD sentezlenmesi

PSHQAD kodlu Schiff bazını hazırlamak için ise (Şekil 2.17), yine -CH₂Cl ile sonlandırılmış polimeri, heksametilentetraamin ve NaOH varlığında tepkimeye sokarak -CH₂NH₂ ile sonlandırılmış polimeri sentezlemişler, ve 3-hidroksikinoksalin-2-karboksaldehit ile kondenzasyonunu gerçekleştirmişlerdir [26].



Şekil 2.17. PSHQAD sentezlenmesi

2.3. Enzimler ve Enzim İmmobilizasyonu

Enzimler, biyolojik yapılarıdaki reaksiyonların ılımlı koşullarda gerçekleşmesine olanak sağlayan ve bu reaksiyonları düzenleyen spesifik biyokatalizörlerdir [27]. Katalizör, kimyasal tepkimeye girmediği halde aktivasyon enerjisini düşürerek tepkime hızını artıran maddeler olarak tanımlanır. Dolayısıyla, enzimler diğer katalizörler gibi katalizledikleri reaksiyonun aktivasyon enerjisini (E_a) düşürürler [28].

Hücrede gerçekleşen reaksiyonların verimi % 100 dür ve bu reaksiyonlarda yan ürünler meydana gelmez. Biyokimyasal reaksiyonlar, fizyolojik pH'da, canlının vücut sıcaklığında ve az miktarda enerji ile gerçekleşir. Laboratuvar koşullarında yüksek sıcaklık ve fazla enerji gerektiren pek çok reaksiyon, enzimlerin kullanılmasıyla daha düşük sıcaklıkta ve daha düşük enerji ile gerçekleştirilebilir [29].

2.3.1. Enzimlerin uygulama alanları

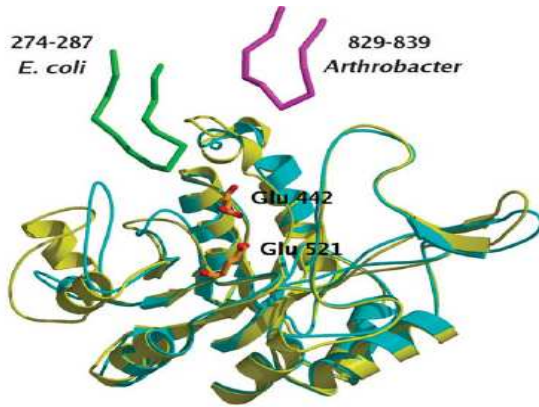
Enzimlerin etkinlikleri kimyasal katalizörlerden $10^6 - 10^{16}$ kat daha fazladır [29]. Dolayısı ile endüstriyel uygulamalarda katalizör olarak enzimler sıklıkla kullanılmakta ve gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır. Enzimlerin katalitik potansiyelleri sadece analitik uygulamalarda değil aynı zamanda sentetik amaçlar ve modifikasyonlar için de değerlendirilmektedir. Bu çerçevede başta gıda sektörü

olmak üzere, kimya sanayi, ilaç sanayi, tekstil ve deri sanayi gibi birçok sanayi dalında enzimler geniş uygulama alanları bulmuşlardır.

Endüstride kullanılan enzimlerin yaklaşık olarak %30-35'i deterjan sanayinde, %20-25'i nişasta ile ilgili alanlarda, %20'si süt ve süt ürünleri sanayinde kullanılmaktadır. %1-5 arasında değişen oranlarda bira, meyve ve şarap, tekstil, kağıt, unlu mamuller, deri ve yem sanayinde kullanılmaktadırlar [29].

2.3.2. β -Galaktosidaz enzimi ve özellikleri

Na^+ ve Mg^{+2} iyonları içeren bir metalo enzim olan β -galaktosidazın üç boyutlu yapısı Şekil 2.18' de gösterilmiştir [30]. β -Galaktosidaz enziminin görevi, bir disakkarit olan laktozu onun monosakkarit bileşenleri olan glukoz ve galaktoza hidroliz etmektir. Bir başka deyişle süt şekerini üzüm şekerine çeviren bağırsak enzimi olarak da tanımlanabilir.



Şekil 2.18. β -Galaktosidazın üç boyutlu yapısı

Gıda teknolojisi ve beslenme açısından, laktozun glukoz ve galaktoza parçalanması, büyük önem taşır. Çünkü yapılan hidrolizin temel ürünleri daha tatlı, daha çözünebilir, fermente edilebilir ve ince bağırsak tarafından doğrudan absorbe edilebilir niteliktedir [31, 32].

yöntemlerle katalitik aktifliğini koruyarak, tekrar ve sürekli kullanımını sağlamak amacıyla organik veya inorganik taşıyıcılara tutturulmasıdır [29].

İmmobilizasyonda enzimlerin bağlandığı materyaller genel olarak taşıyıcı veya destek materyali olarak adlandırılırlar. İmmobilize enzimlerin kinetik davranışları da, enzim konformasyonundaki değişme, sterik etkiler, mikroçevre etkileri, iç ve dış difüzyon etkilerinden dolayı serbest enzimlerinkinden farklılık gösterirler [27].

2.3.4. Enzimlerin immobilizasyon yöntemleri

Enzim immobilizasyon yöntemleri değişik şekillerde sınıflandırılmalarına karşın genel olarak kimyasal ve fiziksel olmak üzere aşağıdaki gibi iki ana başlık altında toplanabilir.

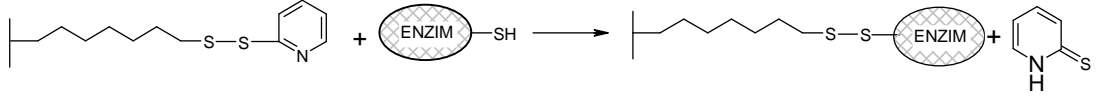
- | | |
|-----------------------|------------------------------------|
| 1) Kimyasal yöntemler | 2) Fiziksel yöntemler |
| a) Kovalent bağlama | a) Adsorpsiyon ile immobilizasyon |
| b) Çapraz bağlama | b) Hapsetme ile immobilizasyon |
| | - Mikrokapsül ile hapsetme yöntemi |
| | - Kafes tipi hapsetme yöntemi |

Kovalent Bağlanmayla İmmobilizasyon

Kovalent bağlama, genellikle enzim yapısının ve fonksiyonel gruplarının bilindiği durumlarda kullanılır. Kovalent bağlama ile immobilizasyon iki basamakta gerçekleşir. Birinci basamak destek maddesinin aktive edilmesi (tezin kapsamında aktive edici olarak Schiff bazı ve Ni(II) kompleksi takılmıştır), ikinci basamak enzimin kovalent bağlanması şeklindedir. Destek maddesi; karboksil, hidroksil, amino gibi fonksiyonel gruplar taşımaktadır [29].

Kovalent bağlama yönteminin en büyük avantajı, bağların çok kuvvetli olması nedeniyle her türlü ortamda kullanılabilirliğin olmasıdır. Enzim, destek materyali üzerinde yer aldığı için substrat ile teması kolaydır. Örneğin kükürt içeren desteğe,

yine kükürt içeren enzim kovalent bağla Şekil 2.20’ de gösterildiği gibi bağlanabilir. Bu bağlanma sırasında ise küçük moleküller yapıdan ayrılabilir [33].



Şekil 2.20. Kovalent bağlanmayla immobilizasyona bir örnek

Yöntemin dezavantajı ise destek materyali ile enzim arasındaki sıkı etkileşim sonucunda oluşan enzimin doğal konformasyonunun bozulmasıdır [30].

3. MATERYAL VE METOT

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

3.1.1 Kimyasal maddeler

<u>Kimyasal Madde</u>	<u>Temin Edilen Üretici Firma</u>
Nikel (II) klorür	Merck
Metanol	Merck
Etanol	Merck
DMF	Sigma
β -galaktosidaz: (EC.3.2.1.23 9.4 U/mg E.Coli bakterisinden elde edilen)	Sigma
p-nitrofenil- β -D-galaktopironosit	Sigma
Fosforik asit: (H ₃ PO ₄ , MA: 60 g/mol)	Aldrich
Borik asit: (H ₃ BO ₄ , MA: 61,83 g/mol)	Aldrich
Sodyum karbonat : (Na ₂ CO ₃ , MA: 118 g/mol)	Merck
Sodyum hidroksit : (NaOH, MA: 40 g/mol)	Merck
Asetik asit: (CH ₃ COOH, MA: 97,99 g/mol)	Aldrich

3.1.2. Gouy terazisi

Numunelerin manyetik duyarlılık ölçümleri Sherwood Scientific, MKI Model Gouy terazisi ile yapıldı. İnce toz halinde getirilen polimer numuneleri, boyu 7 cm, çapı 0,3 cm olan pyreks camdan yapılmış duyarlılık tüpü içine, numune boyu 2,5 cm'den az olmamak şartıyla konuldu. Sonra bu tüp manyetik alandan uzak tutulan Gouy terazisinin ölçüm deliğine yerleştirildi ve sabit bir değer okunana kadar beklenerek ölçümler alındı. Bu ölçümleri kullanarak metallerin μ_{eff} (BM) değeri hesaplandı.

3.1.3. Element analizi

Element analizleri LECO-CHNS-9320 model element analizi cihazı ile Bozok Üniversitesi Kimya Bölümü enstrümental analiz laboratuvarında yapıldı.

3.1.4. İndüksiyon eşleşmeli plazma - kütle spektrometresi

Komplekslerin metal yüzdeleri TÜBİTAK Mikro Analiz laboratuvarlarında yapıldı. Metal içeren numune Anton Paar Multiwavw 3000 ile çözünmesi sağlandı

3.1.5. Sıvı kromatograf - kütle spektrometresi

LC/MSD Diod-Array cihazı ile kütle spektrumları alındı.

3.1.6. Ultraviyole-görünür bölge spektrumları

UV-GB spektrumları Unicam-UV 2-100 model spektrofotometre ile 800-200 nm aralığında DMF’de alındı.

3.1.7. pH metre

Orion pH metre 420 A model pH metre, immobilizasyon çalışmalarında kullanıldı.

3.1.8. Çalkalamalı su banyosu

ST 402 NÜVE marka sıcaklık kontrollü su banyosu, enzim aktifliği tayininde kullanıldı.

4. DENEYSEL KISIM

4.1. Schiff Bazı Takılı Polimerin Hazırlanması (Genel Yöntem)

Schiff bazı takılı polimer geri soğutucu altında sentezlendi. Geri soğutucu altında kaynatma ve karıştırma işlemleri yapılırken yaklaşık 70 °C'de damlatıcı musluğu açılarak alkolde çözülmüş aldehit çözeltisi, balondaki polimer çözeltisi üzerine 10 dakikalık bir süre boyunca damlatıldı. Böylece aldehit çözeltisinin tamamı polimer çözeltisi üzerine ilave edildi. Aldehit çözeltisinin ilavesinden sonra yaklaşık dört saat geri soğutucu altında kaynatma ve karıştırma işlemine devam edildi. Bu işlemde sonra süzülen polimerler etil alkol ile üç kere yıkandıktan sonra temiz bir tüpe alındı ve etüvde kurutuldu.

4.1.1 (APS-2PIn-Sch) Schiff bazının sentezi

(Aminometil)polistiren (1 g, 0,5-1,0 mmol/g -NH₂ yüklü) 2 boyunlu cam balona alınarak 10 mL metanol ilave edildi. 0,5 mmol 2-fenilindol-3-karboksaldehitin 10 mL saf metanol içinde oda sıcaklığında çözülerek hazırlanan çözeltisi, damlatma hunisine konularak Bölüm 4.1'de açıklanan yöntemle göre sentezi yapıldı. Sentezlenen schiff bazı takılı polimer 50 °C'de 4 saat boyunca etüvde kurutuldu.

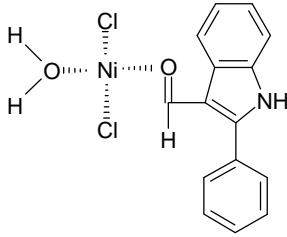
4.2. Schiff Bazı Takılı Polimerin Ni(II) Kompleksinin Hazırlanması (Genel Yöntem)

4.2.1. Birinci adım; metal-aldehit komplekslerinin hazırlanması

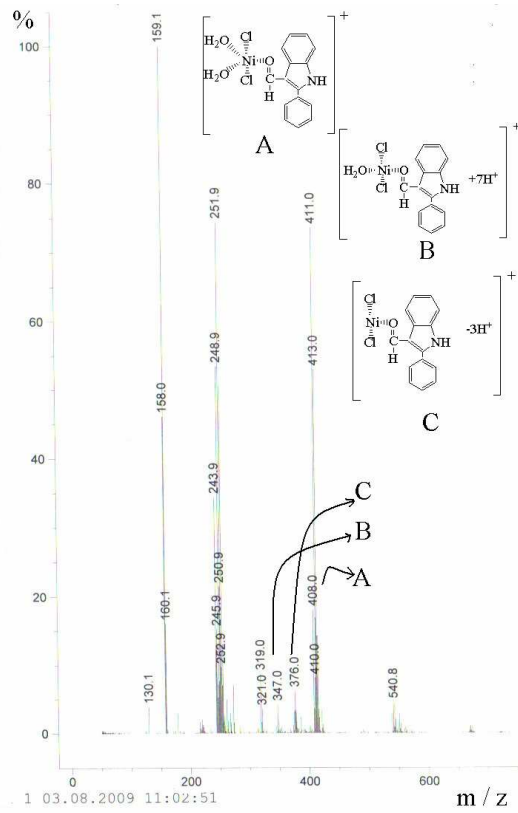
Ni(II) klorür ile 2- fenilindol-3-karboksaldehit oranı 1:1 olacak şekilde geri soğutucu altında 3 saat kaynatma ve karıştırma işlemi yapıldı [34]. Bu karışım süzülerek temiz bir behere alındı, kristallenmeye bırakıldı. Yaklaşık 3 gün sonra oluşan kristaller süzüldü, etil asetatda yıkandı ve 24 saat 70°C'de etüvde kurutuldu.

(2PIn-Ald-Ni) komplekslerinin hazırlanması

4 mmol $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ' ün 10 ml metanolde ve 4 mmol 2-fenilindol-3-karboksaldehitin 10 mL metanol içindeki çözeltisi bölüm 4.2.1'de anlatıldığı gibi hazırlanarak sentezlendi. Şekil 4.1'de Ni(II)-aldehit kompleksi, Şekil 4.2'de Ni(II)-aldehit kompleksinin LC-MS spektrumu görülmektedir.



Şekil 4.1. (2PIn-Ald-Ni) kompleksi



Şekil 4.2. Ni(II)-2-fenilindol-3-karboksaldehit kompleksinin kütle spektrumu

4.2.2. İkinci adım; koordinasyon polimerlerinin hazırlanması

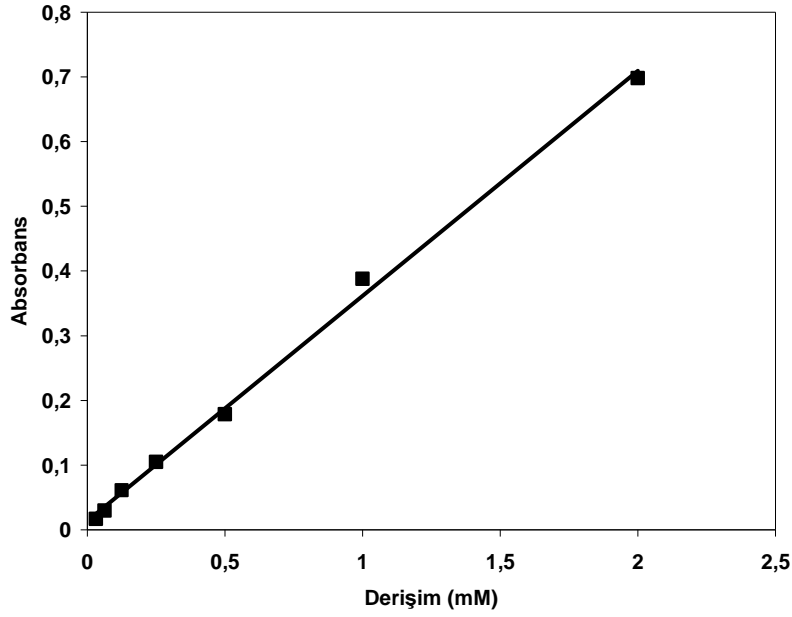
(Aminometil)polistirenin metanoldeki çözeltisi üzerine yaklaşık 70 °C'de, damlatıcı musluğu açılarak alkolde çözülmüş aldehit-metal çözeltisi, 10 dakikalık bir süre boyunca damlatılmaya başlandı. Aldehit-metal çözeltisinin tamamı (aminometil)polistiren çözeltisinin üzerine damlatıldıktan sonra yaklaşık dört saat geri soğutucu altında kaynatma ve karıştırma işlemlerine devam edildi. Bir behere alınan karışım oda sıcaklığında koordinasyon polimeri çökene kadar bekletildi. Çöken polimerik-Schiff bazı polimerleri, etil asetat ile reaksiyona girmemiş olan aldehitleri ortamdan uzaklaştırmak için yıkandı. Yıkandıktan sonra, süzüldü. Çöken koordinasyon polimerleri etüvde (50 °C) kurutuldu.

(APS-2PIn-Sch-Ni) koordinasyon polimerinin hazırlanması

Aminometil polistirenin(1 g, 0,5-1,0 mmol/g -NH₂ yüklü) metanoldeki (15 mL) çözeltisine, yine 10 mL lik metanolde 0,5 mmol metal-aldehit kompleksi Bölüm 4.2.2'de anlatıldığı gibi hazırlanarak, sentezlendi.

4.3. p-nitrofenil-β-D-galaktopiranosid Kalibrasyon Grafiği

Kalibrasyon grafiği hazırlamak amacıyla çeşitli derişimlerde (2,00-0,031 mM) p-nitrofenil-β-D-galaktosid çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan bu çözeltilerin 398 nm de UV spektrofotometresi kullanılarak absorbans değerleri ölçüldü. p-nitrofenil-β-D-galaktopiranosid derişimlerine karşı gelen absorbans değerleri grafiğe geçirilerek kalibrasyon grafiği çizildi (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. p-nitrofenil- β -D-galaktopiranosid kalibrasyon grafiği

4.4. (APS), (APS–2PIn-Sch) and (APS–2PIn-Sch–Ni) Polimerlerinin Kovalent Bağlanma Yöntemi ile İmmobilizasyon İşlemleri

4.4.1. İmmobilizasyon işlemlerinde kullanılan çözeltiler

NaOH çözeltisi: 2 M 50 mL NaOH çözeltisi hazırlamak için 3,84 g NaOH bir miktar suda çözüldükten sonra hacmi saf su ile 50 mL'ye tamamlandı.

Na₂CO₃ çözeltisi: 0,1 M 50 mL Na₂CO₃ çözeltisi hazırlamak için 0,53 g Na₂CO₃ bir miktar suda çözüldükten sonra hacmi saf su ile 50 mL'ye tamamlandı.

Britton-Robinson (B-R) tamponu: 2,3 mL buzlu asetik asit, 2,7 mL fosforik asit, 2,4720 g borik asit, üç katı saf suyla sulandırıldıktan sonra hacmi saf su ile 1,0'L ye tamamlandı. Bu çözeltden 50 mL alınarak 2,0 M NaOH ile pH 2,0-9,0 arasında ayarlandı.

p-nitrofenil- β -D-galaktopiranosid substrat çözeltisi: 0,5 mM p-nitrofenil- β -D-galaktopiranosit substrat çözeltisi hazırlamak için 0,0015 g p-nitrofenil- β -D-

galaktopironosit bir miktar BR tamponunda çözüldükten sonra hacmi tampon çözeltisi ile 10 mL'ye tamamlandı.

4.4.2. Kovalent bağlanma yöntemiyle enzim immobilizasyonu

3,3 mg β -galaktosidaz, 20 mL BRT (pH: 4,0) çözeltisinde çözüldükten sonra 1-2,5 g polimerin üzerine ilave edildi. Karışım 5 saat süre boyunca oda sıcaklığında çalkalamalı su banyosunda karıştırılarak immobilizasyon reaksiyonunun gerçekleştirilmesi sağlandı. Reaksiyon sonunda polimerler süzülerek alındı ve üzerindeki serbest enzimleri uzaklaştırmak için BR tamponu (pH: 4,0) ile yıkandı. İmmobilize enzimler 4 °C'de muhafaza edildi.

4.4.3. Serbest β -galaktosidaz enziminin aktiflik tayini

β -Galaktosidazın aktifliği Hernaiz ve Crout tarafından tanımlanan metoda göre tayin edildi [35]. Bunun için reaksiyon balonuna 20 μ L enzim çözeltisi (0,0015 mM) ve 200 μ L p-nitrofenil- β -D-galaktosid (substrat çözeltisi, 5mM) eklendi ardından 30 °C'de 10 dakika çalkalamalı su banyosunda bekletildi. Su banyosundan alınan balon içerisine 3,9 mL Na_2CO_3 çözeltisi ilave edildi. Ardından UV spektrofotometresi yardımı ile 398 nm de BR tamponuna (pH:4,0) karşı absorbansı değeri ölçüldü. Tepkime hızı, ölçülen absorbans değerleri ve kalibrasyon eğrisinin eğiminden faydalanarak aşağıdaki bağıntıya göre hesaplandı.

$$Hu(V) = \frac{\Delta C}{\Delta t} = \frac{\Delta A_{398}}{\Delta t} \times \frac{\Delta C}{\Delta A_{398}} \quad (4.1)$$

Bu eşitlikte ΔC , g/mL olarak p-nitrofenil- β -D-galaktospiranosid derişimindeki değışimi gösterir, ΔA_{398} (A_0-A_t) absorbanstaki, Δt zamandaki değışimi gösterir.

β -galaktosidaz için 1 ünite enzim veya birim aktiflik, pH 4 de 10 dakikada ve 30 °C de 1 μ mol p-nitrofenil- β -D-galaktopiranosidi parçalayan enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır.

4.4.4. İmmobilize β -galaktosidaz enziminin aktiflik tayini

İmmobilize β -galaktosidaz enziminin aktifliği Bölüm 4.4.3'de belirtilen işlemler ile, serbest enzim yerine 0,05 g immobilize enzim kullanılarak aynı şekilde tayin edildi.

4.4.5. Serbest β -galaktosidazın aktifliğine pH etkisi

Serbest β -galaktosidaz enziminin aktifliğine pH etkisini incelemek amacı ile çeşitli pH değerlerinde (2,0-7,0) BR tamponunda çözünen enzim ve p-nitrofenil- β -D-galaktopiranosid (200 μ L, 5 mM) çözeltileriyle Bölüm 4.4.3'de belirtilen işlemler gerçekleştirilmek suretiyle enzim aktifliği tayin edildi.

4.4.6. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın aktifliğine pH etkisi

İmmobilize enzimin aktifliğine pH etkisini incelemek amacı ile çeşitli pH larda (2,0-7,0) Bölüm 4.4.3'de belirtilen işlemler gerçekleştirilerek aktiflik tayinleri yapıldı.

4.4.7. Serbest β -galaktosidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi

Serbest β -galaktosidazın aktifliğine sıcaklığın etkisini incelemek amacı ile çeşitli sıcaklık değerlerinde (20- 55 °C) Bölüm 4.4.3'de belirtilen işlemler gerçekleştirilerek aktiflik tayinleri yapıldı.

4.4.8. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi

İmmobilize edilen β -galaktosidaz enziminin aktifliğine sıcaklığın etkisini incelemek amacı ile çeşitli sıcaklık değerlerinde (20 °C-55 °C) Bölüm 4.4.3’de belirtilen işlemler gerçekleştirilerek aktiflik tayinleri yapıldı.

4.4.9. Serbest β -galaktosidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisi

Serbest β -galaktosidaz enziminin aktifliğine substrat derişiminin etkisini incelemek amacı ile farklı derişimlerde (0,5-0,015 mM) hazırlanan substrat çözeltileri ile Bölüm 4.4.3’de belirtilen işlemler gerçekleştirilerek aktiflikleri tayin edildi.

4.4.10. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisi

İmmobilize β -galaktosidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisini incelemek amacı ile farklı derişimlerde (2,000-0,031 mM) hazırlanan substrat çözeltileri ile Bölüm 4.4.3’de belirtilen işlemler gerçekleştirilerek aktiflik tayin edildi.

4.4.11. Serbest β -galaktosidaz enziminin depolama kararlılığı

Serbest β -galaktosidaz enziminin depolama kararlılığını incelemek amacı ile BR tamponunda (pH:4) hazırlanan enzim çözeltisi buzdolabında 4 °C’de saklandı. Enzim çözeltisinden belirli aralıklarda alınan örneklerle Bölüm 4.4.3’de belirtilen işlemler gerçekleştirilerek aktiflikleri tayin edildi.

4.4.12. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın depolama kararlılığı

İmmobilize edilen β -galaktosidaz enziminin depolama kararlılığını incelemek amacı ile buzdolabında 4 °C de ayrı ayrı hem BRT tamponunda (pH:4) (ıslak), hem de kuru olarak steril petri kabında saklandı. Belirli aralıklarda alınan örneklerden yola çıkarak Bölüm 4.4.3'de belirtilen yöntem uygulanmak suretiyle aktiflikleri tayin edildi.

4.4.13. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın tekrar kullanılabilirliği

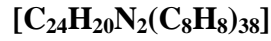
İmmobilize β -galaktosidaz enziminin tekrar kullanılabilirliğini incelemek amacıyla belli aralıklarla Bölüm 4.4.3.'de verilen yöntem ile enzim aktiflikleri tayin edildi.

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

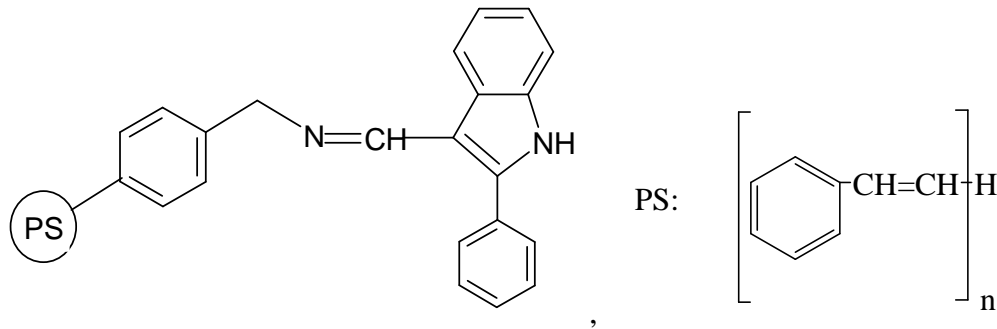
5.1. Schiff Bazı Takılı Polimerin Karakterizasyonu

Schiff Bazı takılı polimerlerin C, H ve N tayini sırasında meydana gelen sapmaların ve IR spektrumlarındaki geniş bandların polimerdeki, polidispersite özelliğine sahip olmasından dolayı kaynaklandığı söylenebilir [36].

5.1.1. Schiff Bazı Takılı Polimer, (APS-2PIn-Sch)



Önerilen yapıyı (Şekil 5.1) destekleyen analiz değerlendirmeleri aşağıda maddeler halinde belirtilmiştir:



Şekil 5.1. Polisitiren ve Schiff bazı takılı polisitiren

1- (APS-2PIn-Sch) Schiff bazının, kütlece moleküler kütle (M_w) değeri 4288 olarak belirlendi.

2- Element analizine göre (Çizelge 5.1), bulunan ve hesaplanan değerlerin önerilen yapı için uyumlu olduğu görüldü.

Çizelge 5.1. (APS-2PIn-Sch) Schiff bazının fiziksel özellikleri ve analitik verileri

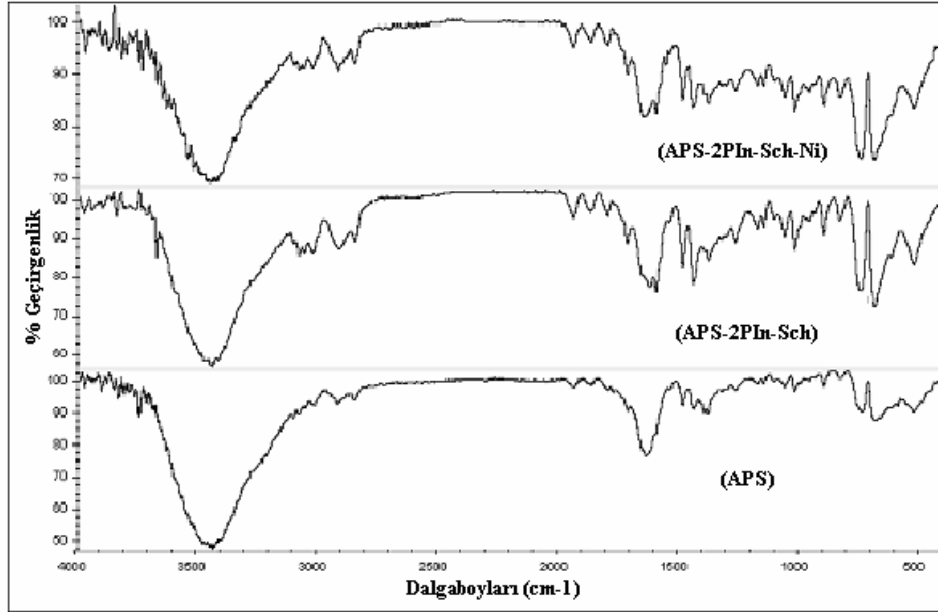
Gösterim (M _w)	Bileşik Önerilen Yapı	Bulunan (Hesaplanan) %				Renk
		C	H	N	M	
(APS-2PIn-Sch) 4288	[C ₂₄ H ₂₀ N ₂ (C ₈ H ₈) ₃₈]	90,66 (91,79)	8,37 (7,55)	0,44 (0,65)	-	krem

3- Tekrarlanan birim içerisindeki N'un kütlelerinin % 0,44 olarak bulunması, düşünülen yapının mümkün olduğunu göstermektedir.

4- (APS)' ye ait, 2963 cm⁻¹, 2872 cm⁻¹'de bulunan titreşim bandlarının sırasıyla $\nu(\text{CH}_2)_{\text{asimetrik}}$, $\nu(\text{CH}_2)_{\text{simetrik}}$ titreşim bandlarına karşılık geldiği söylenebilir. FTIR spektrumunda (Şekil 5.2) 2-fenilindol-3-karboksaldehitin katılımı sonucunda 2963 cm⁻¹, 2872 cm⁻¹'deki titreşim bantlarının yanı sıra 3004 cm⁻¹ ve 3110 cm⁻¹'deki titreşim bantlarının aldehitteki aromatik -CH bağlarına ait titreşim bandlarına karşılık geldiği söylenebilir. Ayrıca APS polimerinde bulunmayan ancak kondenzasyon sonucunda 1587 cm⁻¹'de yeni bir bandın ortaya çıkması bu tepkimenin gerçekleştiğinin bir kanıtı olarak bakılabilir.

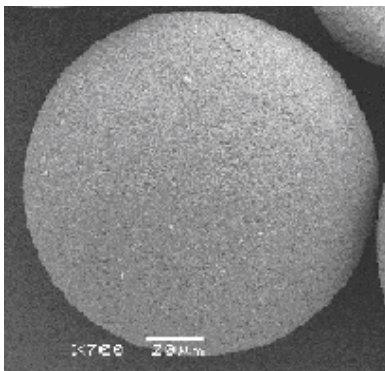
Çizelge 5.2. (APS-2PIn-Sch) Schiff bazının önemli FTIR ve UV-GB spektrum değerleri

Bileşik	$\nu(\text{CH}_2)_{\text{as,s}}$	λ_{max} , (Absorbans)
	$\nu(\text{CH})_{\text{arom}}$ $\nu(\text{CH}=\text{N})$	
(APS)	2963, 2872	254 (1,02), 306 (2,25)
(APS-2PIn-Sch)	2963, 2872 3004, 3110 1587	254 (2,9), 268 (0,54), 302 (1,04)

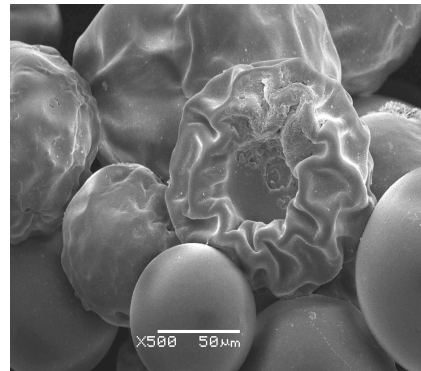


Şekil.5.2. (APS), (APS-2PIn-Sch) ve (APS-2PIn-Sch-Ni)' e ait FTIR spektrumu

5- (APS) ve (APS-2PIn-Sch)'nin taramalı elektron spektrum değerlendirmesi sonucunda yüzey morfolojisinde büyük değişikliklerin meydana geldiği görülmüştür (Şekil. 5.3). (APS) polimerinde takılı olan $-NH_2$ grubunun, 2- fenilindol-3- karboksaldehyt ile etkileşmesi sonucunda oluşan büzölmelerin, kondenzasyon sonucunda H_2O 'nun ayrılmış olabileceğini düşündürdü.



(a)

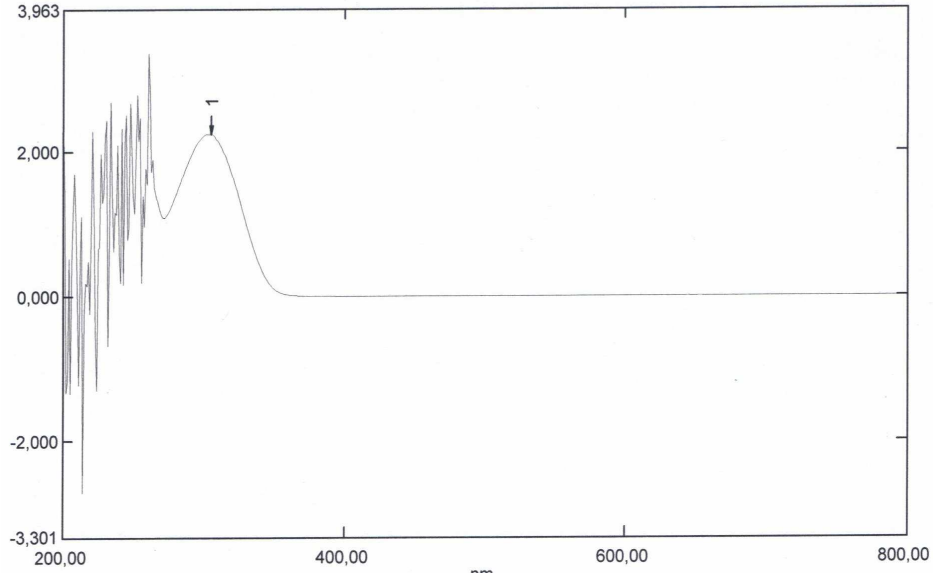


(b)

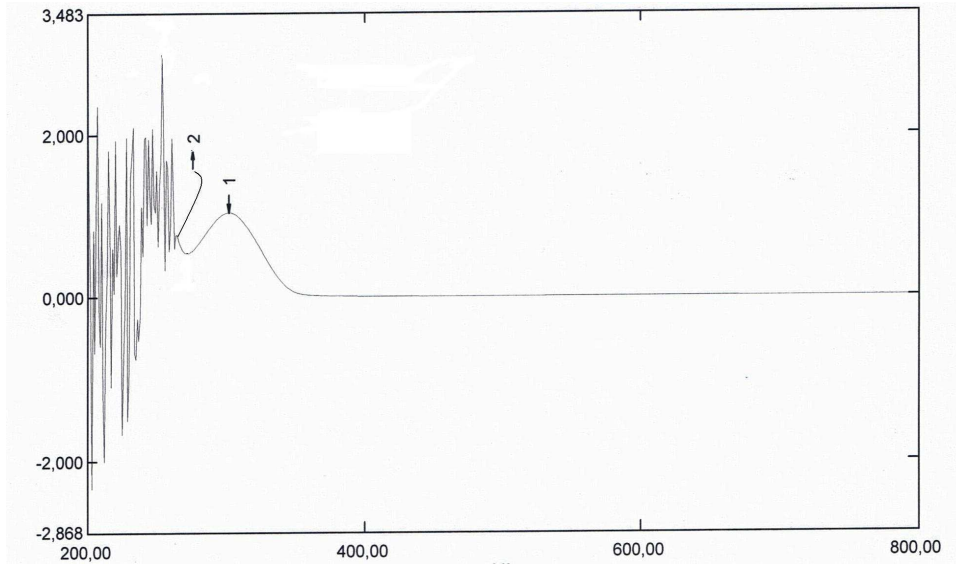
Şekil 5.3. SEM fotoğrafları

(a) (APS) ve (b) (APS-2PIn-Sch)

6- Şekil 5.4. ve Şekil 5.5.'de görüldüğü gibi, (APS), ve (APS-2PIn-Sch)'nin UV-GB spektrumları karşılaştırıldığında (APS-2PIn-Sch)'na ait spektrumda ortaya çıkan 268 nm deki, yeni bir bandın $-CH=N-$ oluşumu sonucunda ortaya çıkan $n \rightarrow \pi^*$ geçişine karşılık olabileceği söylenebilir.



Şekil 5.4. (APS) polimerine ait UV-GB spektrumu



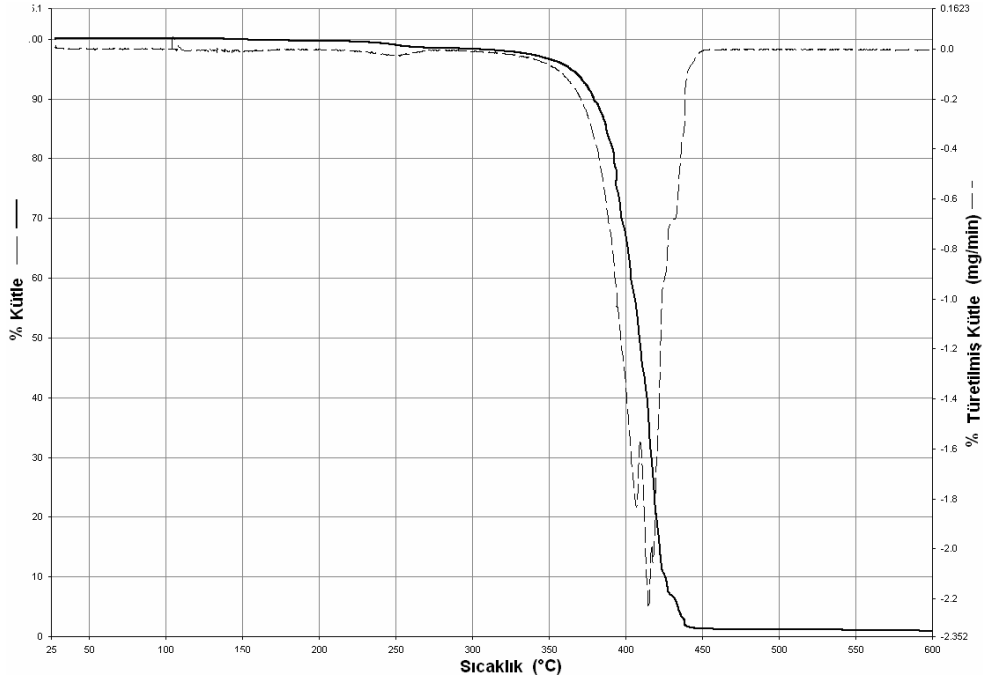
Şekil 5.5. (APS-2PIn-Sch) polimerine ait UV-GB spektrumu

7- (APS), ve (APS-2PIn-Sch) polimerinin termal analizleri (TGA) değerlendirildiğinde, benzer bir şekilde tek basamakta bozunmanın meydana geldiği söylenebilir (Şekil 5.6 ve Şekil 5.7). Çizelge 5.3.'de verilen (APS) ve (APS-2PIn-Sch)'in termal analiz değerlerinin verildiği tablo incelendiğinde aldehit katılımı sonucunda termal bozunma sıcaklıklarında farklılıkların olduğu görülmektedir. Aldehit katılımının olduğu polimerin başlangıç bozunma sıcaklığında artışın nedeninin daha kararlı olması ile açıklanabilir.

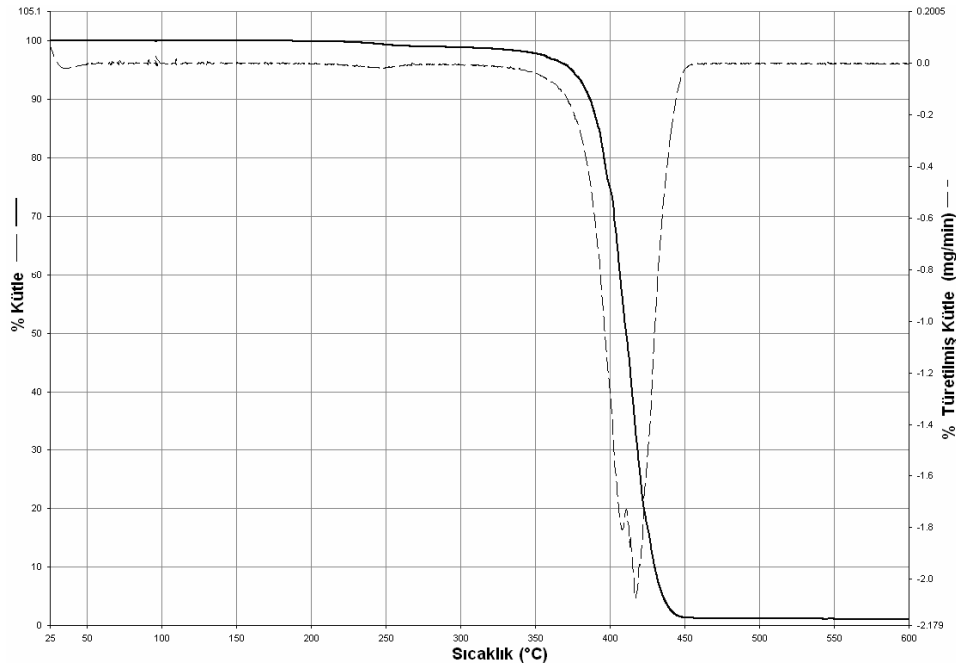
Çizelge 5.3. (APS) ve (APS-2PIn-Sch)'in termal analiz değerleri

Gösterim	*Termal Bozunma				600 °C'deki kalıntı (Ağırlıkça %)
	T _i	T _{1/2}	T _{max}	T _f	
(APS)	368	409	413	432	2,2
(APS-2PIn-Sch)	391	411	414	430	2,1

* T_i: İlk bozunma sıcaklığı, T_{max}: Maksimum bozunma sıcaklığı
T_f: Son bozunma sıcaklığı, T_(1/2): Yarı bozunma sıcaklığı



Şekil 5.6. (APS) polimerlerinin TGA eğrisi

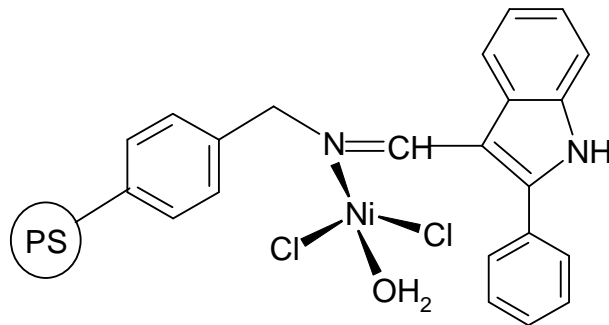


Şekil 5.7. (APS-2PIn-Sch) polimerlerinin TGA eğrisi

5.1.2. Schiff Bazı-Ni(II) takılı polimer, (APS-2PIn-Sch-Ni)



Önerilen yapıyı destekleyen analiz değerlendirmeleri aşağıda maddeler halinde belirtilmiştir:



Şekil 5. 8. Schiff Bazı-Ni(II) takılı polimer

1- (APS-2PIn-Sch-Ni) kompleksinin, kütlece moleküler kütle (M_w) değeri 7965 olarak belirlendi.

2- Element analizine göre, bulunan ve hesaplanan değerlerin önerilen yapı için uyumlu olduğu görüldü.

Çizelge 5.4. (APS-2PIn-Sch-Ni)_Schiff bazı-Ni(II) kompleksinin fiziksel özellikleri ve analitik verileri

Bileşik	Bulunan (Hesaplanan) %	Renk					
			Gösterim	Önerilen Yapı	C	H	N
(M _w)							
(APS-2PIn-Sch-Ni)	[C ₂₄ H ₂₂ N ₂ (C ₈ H ₈) ₇₂ ONiCl ₂]	91.63	7.32	0.35	0.61	açık yeşil	
7965		(90.31)	(7.50)	(0.35)	(0,73)		

3- Tekrarlanan birim içerisindeki N'un kütesinin % 0,35 olarak bulunması, ayrıca Ni(II) yüzdesinin önerilen yapı ile bulunan değerlerle aynı olduğu görülmüştür. ICP-MS analiz sonuçlarına göre 0,11 mmol/1 g Ni(II) yüklü olup, % 0,61 olarak bulunması düşünülen yapının mümkün olabileceğini göstermektedir.

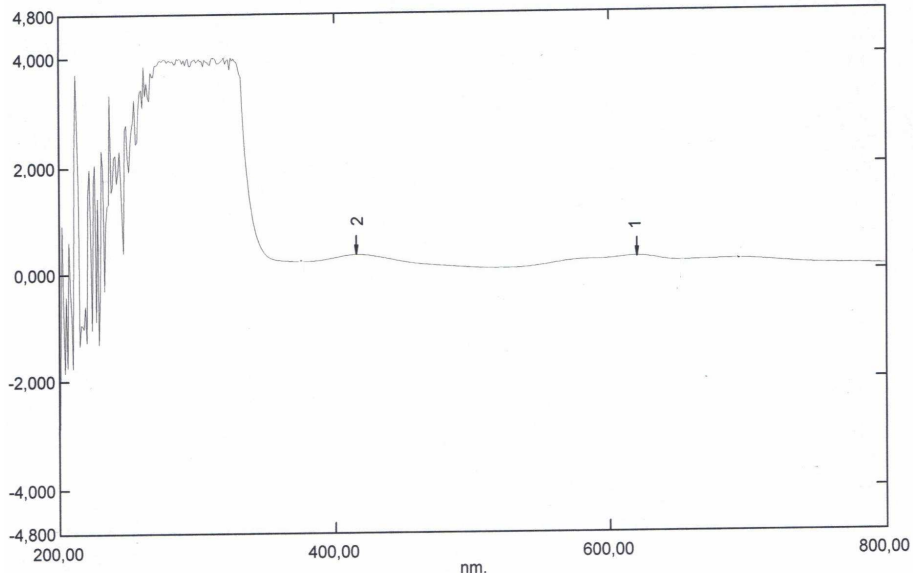
4- (APS-2PIn-Sch-Ni)'e ait, 2964 cm⁻¹, 2871 cm⁻¹'de bulunan titreşim bandlarının sırasıyla $\nu(\text{CH}_2)_{\text{asimetrik}}$, $\nu(\text{CH}_2)_{\text{simetrik}}$ titreşim bandlarına karşılık geldiği söylenebilir. FTIR spektrumunda (Şekil 5.1) 2-Fenilindol-3-karboksaldehitin katılımı sonucunda 2964 cm⁻¹, 2871 cm⁻¹'deki titreşim bantlarının yanı sıra 3005 cm⁻¹ ve 3111 cm⁻¹deki titreşim bantlarının aldehitteki aromatik -CH grubuna ait titreşim bandlarına karşılık geldiği söylenebilir.

Çizelge 5.5. (APS-2PIn-Sch-Ni) Schiff bazının önemli FTIR ve UV-GB Spektrum Değerleri

Bileşik	$\nu(\text{CH}_2)_{\text{as,s}}$	$\nu(\text{MN})$	λ_{max} , (Absorbans)
	$\nu(\text{CH})_{\text{arom}}$	$\nu(\text{CH=N})$	
(APS-2PIn-Sch-Ni)	2964, 2871	410	416 (0,32), 620 (0,268), 693 (0,201)
	3005, 3111	1571	

Ayrıca kompleksleşme sonucunda (APS-2PIn-Sch) polimerinde görülen 1587 cm^{-1} 'deki titreşim bandının 1571 cm^{-1} 'e kayması kompleksleşmenin olduğunun bir kanıtı olarak bakılabilir. Şekil 5.8'de verildiği gibi, kompleksleşme sonucunda 410 cm^{-1} deki yeni bir bandın Ni(II)-N bağ oluşumuna karşılık geldiği söylenebilir.

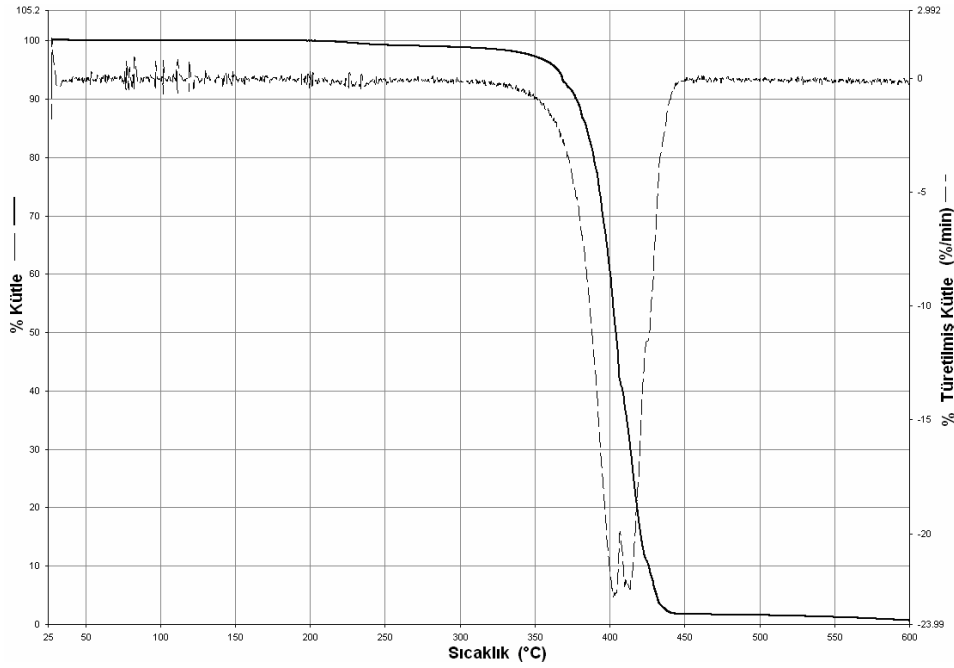
5- (APS-2PIn-Sch-Ni) koordinasyon polimerinin DMF çözücüsünde alınan UV-GB spektrum bandları diğer polimere göre farklı dalga boylarında geçişlerin olduğu Şekil 5.9'da görülmektedir. (APS-2PIn-Sch-Ni) koordinasyon polimerinde ise ortaya çıkan 416 nm deki bandın $M \rightarrow L$ ait yük transfer geçişine karşılık olduğu, 693 nm ve 620 nm 'de ki iki yeni bandların, metalin d-d geçişlerine karşılık geldiği ve yalancı tetrahedral bir yapı gösterebileceği yorumu yapılabilir.



Şekil 5.9. (APS-2PIn-Sch-Ni) polimerine ait UV-GB Spektrumu

6- Magnetik duyarlılık ölçüm sonucunda, Ni içeren polimerin magnetik duyarlılığın $3,8\text{ BM}$ ' nuna sahip bir değeri göstermesi tetrahedral yapıda bir geometrik yapının olabileceği şeklinde yorumlanabilir.

7- (APS-2PIn-Sch-Ni) polimerinin Termal Analiz (TGA)'leri diğer polimerler ile karşılaştırıldığında, benzer bir şekilde tek basamakta bozunmanın olduğu söylenebilir (Şekil 5.10). Çizelge 5.6.'daki tabloda gösterdiği gibi (APS-2PIn-Sch-Ni)'in termal analiz spektrumunda bozunma sıcaklığının diğer polimerler göre düştüğü görülmektedir. Bu durum, koordinasyonun oluşması ile polimerin kararlılığında bir azalma olduğu yorumu ile açıklanabilir.



Şekil 5.10. (APS-2PIn-Sch-Ni) polimerlerinin TGA eğrisi

Çizelge 5.6. (APS-2PIn-Sch-Ni)'in termal analiz değerleri

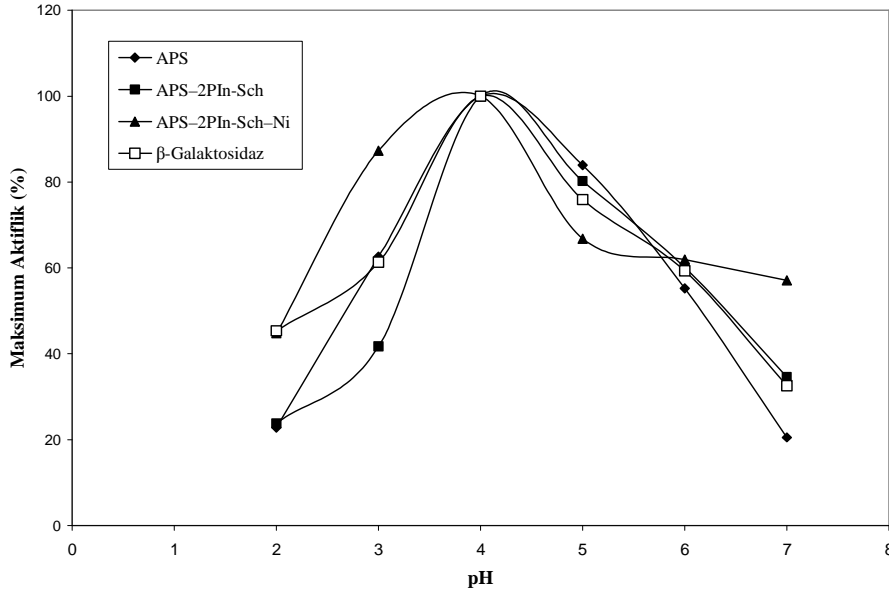
Gösterim	*Termal Bozunma Sıcaklığı				600°C deki kalıntı (wt%)
	T _i	T _{1/2}	T _{max}	T _f	
(APS-2PIn-Sch-Ni)	389	405	407	423	2,1

*T_i: İlk bozunma sıcaklığı, T_{max}: Maksimum bozunma sıcaklığı

T_f: Son bozunma sıcaklığı, T_{d(1/2)}: Yarı bozunma sıcaklığı

5.2. Kovalent Bağlanma Yöntemiyle İmmobilize Edilen β -galaktosidazın Aktifliğine pH Etkisi

Serbest ve modifiye polimerler kullanılarak kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın aktifliğine pH etkisini incelemek amacı ile Bölüm 4.4.3’de anlatılan koşullarda gerçekleştirilen reaksiyonlara ait maksimum aktiflik değerlerinin pH ile değişimi şekil 5.10’ de verildi. Serbest β -galaktosidaz enzimi ve kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidaz enzimi için optimum pH değerleri değişmedi ve 4,0 olarak bulundu.



Şekil 5.11. Serbest ve polimerlere kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın maksimum aktifliğinin pH ile değişimi

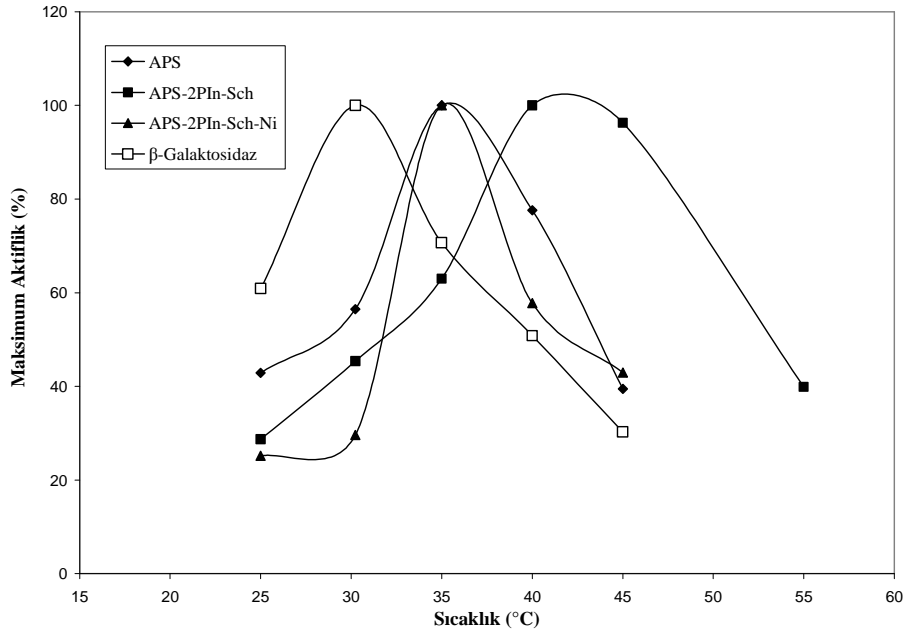
Enzimler protein yapısındaki moleküller olduklarından katalitik aktiflikleri çevre koşullarından önemli ölçüde etkilenmektedir. Bu koşullardan biri de ortamın pH sıdır. Biyokimyasal tepkimeler *in vivo* koşullarda gerçekleştiğinden pH, enzimin yük durumunu, dolayısıyla da aktivitesini etkiler [29].

pH, sulu çözelti ortamlarında enzimatik aktiviteleri değiştirmede etkili olan önemli parametrelerden birisidir [37]. Bir enzimin immobilizasyonu, farklı pH larda

gerçekleştğinde enzimin yapısında konformasyonel değişiklikler meydana gelmektedir. Maksimum enzim aktivitesinin optimum koşulları serbest ve immobilize enzim için destek materyaline, immobilizasyon metoduna, aktivasyon metoduna v.b. nedenlere bağlı olarak değişir [38]. Serbest ve immobilize enzimin ortamları farklı olduğu için pH da asidik veya bazik bölgelere doğru değişmelerin olması normaldir [39]. Ama bu yapılan çalışmamızda pH da herhangi değişim olmamıştır.

5.3. Kovalent Bağlanma Yöntemiyle İmmobilize Edilen β -galaktosidazın Aktifliğine Sıcaklığın Etkisi

Kovalent bağlanma yöntemiyle modifiye polimerlere immobilize edilen β -galaktosidazın aktifliğine sıcaklığın etkisini incelemek amacı ile Bölüm 4.4.3’de anlatılan koşullarında gerçekleştirilen reaksiyonlara ait maksimum aktiflik değerlerinin sıcaklık ile değişiminden elde edilen sonuçlar Şekil 5.12’ de verildi.



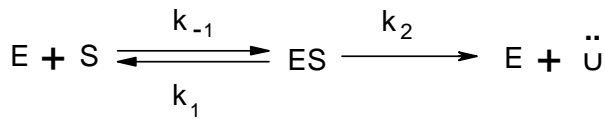
Şekil 5.12. Serbest ve polimerlere kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın maksimum aktifliğinin sıcaklıkla değişimi

Serbest β -galaktosidaz için optimum sıcaklık değeri 30 °C, APS ve APS-2PIn-Sch-Ni için 35 °C ve APS-2PIn-Sch için 40 °C olarak bulundu.

İmmobilize β -galaktosidazın optimum sıcaklığı serbest β -galaktosidazdan daha yüksek bulunmuştur. Çünkü enzim ve polimer arasındaki düşük etkileşim, enzim hareketi üzerindeki konformasyonel sınırlamalar yaratır. Benzer gözlemler literatürlerde rapor edilmiştir [40]. Optimum sıcaklıktaki artış, enzimin polimere kovalent bağlanması sonucu enzimde meydana gelen konformasyonel değişimden kaynaklanmış olabilir.

5.4. Aktifliğe Substrat Derişiminin Etkisi

Enzim-substrat (ES) reaksiyonu aşağıda gösterildiği gibidir.



Bu eşitlikte E; Enzim, S; Substrat, ES; Enzim-substrat kompleksi, \ddot{U} ; Ürünü gösterir.

Enzim reaksiyon hızı Michaelis-Menten Eşitliği ile verilir.

$$V = \frac{V_{mak} \cdot S}{K_m + S} \quad (5.1)$$

Michaelis-Menten Eşitliğinin düzenlenmesi ile Lineweaver-Burk bağıntısı elde edilir.

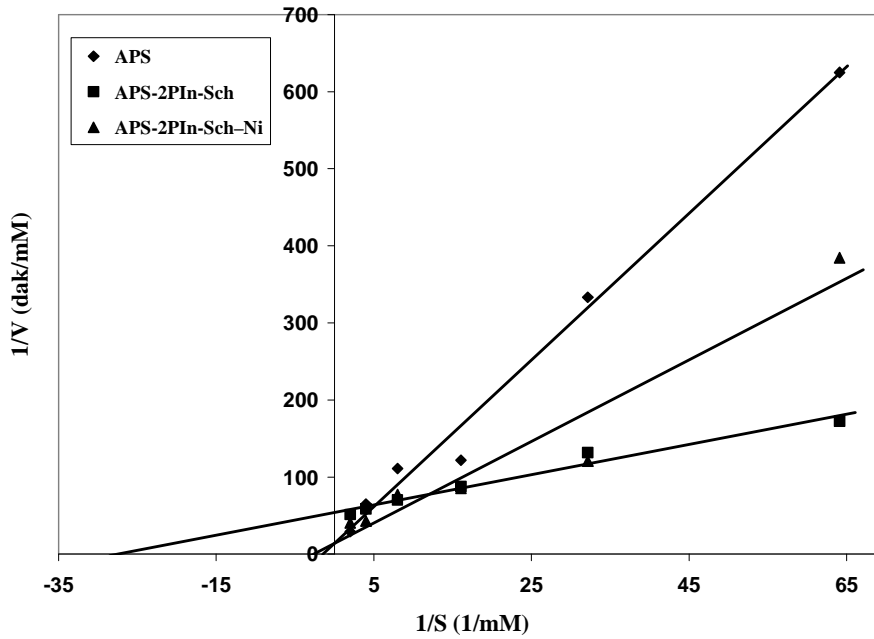
$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{mak}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{mak}} \quad (5.2)$$

Bu eşitliklerde; V ; Başlangıç hızı, V_{mak} ; Maksimum hızı, K_m ; Michaelis-Menten sabiti, S ; substrat derişimi olarak belirtilir.

İmmobilizasyon sırasında enzim proteinindeki konformasyonel değişiklikler, sterik etkiler, mikroçevre etkileri ve difüzyon etkileri farklılaştığı için, immobilize enzimlerin kinetik davranışlarının incelenmesi ve kinetik sabitlerin tayin edilmesi gerekli olduğu gibi, serbest enzimle de kıyaslanması gereklidir [29].

5.4.1. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisi

Serbest ve kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisini araştırmak amacıyla çeşitli derişimlerde substrat çözeltileri hazırlanmış ve Bölüm 4.4.3'de anlatılan reaksiyon gerçekleştirildi. Reaksiyonlardan ve kalibrasyon grafiğinden elde edilen eğimler yardımıyla hesaplanan reaksiyon hızları ile çizilen Lineweaver-Burk grafiği Şekil 5.13'de verildi.



Şekil 5.13. Polimerlere kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidaza ait Lineweaver- Burk grafiği

Grafikten yararlanarak K_m ve V_{mak} değerleri hesaplandı ve izelge 5.7’de verildi. Kovalent bağlanma yontemiyle immobilize edilen sistemlerde difüzyonel etkiler sebebiyle K_m ve V_{mak} değerlerinde değişiklikler gözlemlendi.

Çizelge 5.7. Serbest ve polimerlere kovalent bağlanma yontemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın kinetik parametreleri

Destek	K_m (mM)	V_{mak} (mM.dak ⁻¹)
Serbest β -Galaktosidaz	0,343	0,0259
(APS)	0,681	0,0716
(APS–2PIn-Sch)	0,0363	0,0185
(APS–2PIn-Sch–Ni)	0,380	0,0718

İmmobilizasyonla K_m değerlerinin değiştiği gözlemlenmiştir. Substrat ve polimerik destek arasındaki etkileşmeyle, substrat-enzim kompleks oluşum ihtimalini düşüren enzimdeki yapısal değişikliklerle, sterik etkilerle, difüzyonel sınırlamalarla K_m değişebilir ve genellikle immobilizasyonla K_m değerlerinde artma gözlemlenebilir [41,42]. Yapılan bu çalışmada, serbest enzime oranla, K_m değerinde artış (APS) ve (APS–2PIn-Sch–Ni) desteklerine immobilize edildiğinde görülmüştür. K_m , enzimler için birer parmak izidir ve enzimlerin substratlarına karşı ilgilerini ifade eden bir parametredir. Düşük K_m değerleri enzimin substrata karşı yüksek ilgisini ifade eder. Çalışılan polimerlerden (APS–2PIn-Sch) desteğine immobilizasyon sonucunda, serbest enzime oranla K_m değerinde düşüş olmuştur. Dolayısıyla Schiff bazı ile sonlandırılan polimere yapılan immobilizasyonda enzim, substrata daha fazla ilgi göstermiştir yorumu yapılabilir.

Bir enzim herhangi bir desteğe immobilize edildiğinde serbest enzimden değişik kinetik davranışlar göstermesinin farklı nedenleri vardır. Bu nedenlerden ilki, immobilizasyon sonucu enzim molekülünde meydana gelen konformasyonel değişimler olabilir. İkinci olarak, enzim, immobilize olduğunda, serbest halde iken bulunduğu çevreden farklı bir ortama girdiği için, bu durum kinetik parametreleri değiştirmede oldukça etkili bir sebeptir. Sonucu olarak ise, immobilizasyon

bitiminde çözelti ve destek arasında bir substrat bölünmesi (ayrılması) meydana gelir, dolayısıyla enzim etrafındaki substrat konsantrasyonu ana çözeltinin konsantrasyonundan önemli derecede farklılık gösterir [42].

5.5. Kovalent Bağlanma Yöntemiyle İmmobilize Edilen β -galaktosidazın Depolama Kararlılığı

Serbest ve kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidazın depolama kararlılığı Bölüm 4.4.3’de açıklandığı gibi gerçekleştirildi. Bu çalışmanın sonuçları şöyle açıklanabilir; Serbest enzim 30. gün sonunda aktifliğinin % 10’ unu korurken, 90. gün sonunda kovalent bağlanma yöntemiyle (APS), (APS–2PIn–Ald) ve (APS–2PIn–Ald–Ni)’ e immobilize edilen enzimler sırasıyla aktifliklerini yaklaşık % 94, % 98 ve % 99 oranında koruduğu belirlendi. Polimer ve modifiye polimerlerin depolama kararlılık aktiviteleri oldukça yüksek bulunmuştur, özellikle de (APS–2PIn–Ald–Ni) için. Bu durum, modifiye polimer desteklerin, immobilize enzimlere yüksek konformasyonel kararlılık sağlamış olması gerektiği ile açıklanabilir [40].

Depolama kararlılığı enzimin saklama koşullarına bağlı bir parametredir. Genellikle suda çözünmez enzim preparatları ya kuru olarak steril petri kaplarında ya da tampon çözeltilerin içinde süspansiyon şeklinde 4 °C de saklanabilir [29]. Kovalent bağlanma ve hapsetme yöntemleriyle immobilize edilen β -Galaktosidaz enzimi 4 °C de BR tamponu içerisinde saklandığında enzimin aktifliğini uzun süre koruduğu gözlenmiştir.

Enzimatik aktifliğin, enzimlerin immobilizasyonu sonunda artmasının normal bir durum olduğu belirtilmektedir. Bu durum enzimin o koşullarda sahip olduğu yapısal formundan kaynaklandığı düşünülebilir [29].

5.6. Kovalent Bağlanma Yöntemiyle İmmobilize Edilen β -galaktosidazın Aktifliğinin Tekrar Kullanım ile Değişimi

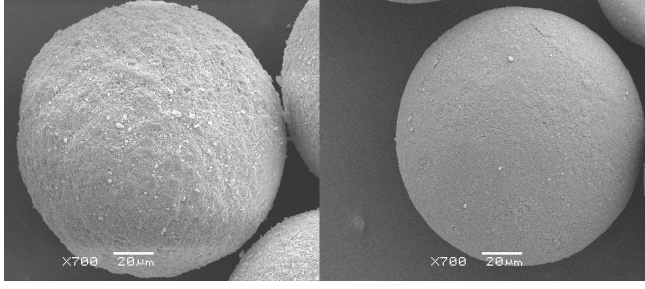
İmmobilize enzimlerin aktifliklerini etkileyen bir parametrede bunların bir çok kez ve uzun süre kullanılabilmesidir. Bu amaçla Bölüm 4.4.3’de açıklandığı gibi yapılan denemelerle, immobilize enzimlerin tekrar kullanılabilirliği araştırıldı. Bir gün içinde aynı immobilize enzim ile en fazla 21 kez çalışılabilir.

Çalışmamızın bu kısmında, immobilize edilen enzimlerin tekrar kullanılabilirliğini incelemek amacı ile pH 4’ de ve 30 °C de Bölüm 4.4.3’de verilen yöntem ile aktiflikler tayin edildi.

(APS) için 16. kullanımından sonra aktifliğinin yaklaşık % 30’unu koruduğu gözlenmiştir. 21. kullanımından sonra (APS–2PIn-Sch)’e immobilize olmuş enzim aktifliğinin yaklaşık % 68’ ini muhafaza ettiği, 11. kullanımdan sonra ise (APS–2PIn-Sch–Ni) e immobilize olmuş enzim aktifliğinin yaklaşık %37’ sini koruduğu belirlenmiştir. Kovalent bağla β -Galaktosidaz immobilize edilmiş bu üç polimerik yapı karşılaştırıldığında, (APS–2PIn-Sch)’in tekrar kullanım için daha ümit vadeci olduğu görülmektedir.

5.7. SEM Analizi

(APS), (APS–2PIn-Sch) ve (APS–2PIn-Sch-Ni) polimerleri üzerine immobilizasyon uygulaması yapıldığında, bu polimerlerin yüzey morfolojisinin de değişiklik olduğu SEM fotoğraflarından görülmektedir (Şekil 5.14). İmmobilize olan polimerlerin yüzeylerinin ağımsı şekline büründüğü, buna karşılık immobilize uygulamasının yapılmadığı polimerin yüzeyinin düzgün formatta kaldığı görülmektedir.



(a)

(b)

Şekil 5.14. SEM fotoğrafları
(a) İmmobilize (APS) (b) (APS)

6. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada, β -galaktosidaz enziminin serbest haldeki aktivitesine ve polisitiren destekli $-\text{NH}_2$, $-\text{CH}=\text{N}:$, ve $-\text{CH}=\text{N}:$ \rightarrow Ni(II) gruplarına β -galaktosidaz enziminin immobilize edilmesi sonucundaki aktivitesine etki eden çeşitli parametreler incelenmiştir.

Elde edilen sonuçlar ve yorumlar aşağıdaki gibi özetlenebilir.

1- Serbest β -galaktosidaz için ve kovalent bağlanma yöntemi ile immobilize edilen β -galaktosidaz enzimleri için optimum pH değerleri değişmedi ve 4,0 olarak bulundu.

2- Serbest β -galaktosidaz için optimum sıcaklık 30°C olarak bulunmuştur. Kovalent bağlanma yöntemi ile immobilize edilen β -galaktosidaz enzimleri için optimum sıcaklık değerleri 35 ve 40°C 'ye kaydı. Optimum sıcaklıktaki artışın, enzimin polimere bağlanması sonucunda, meydana gelen konformasyonel değişimden kaynaklanmış olabileceği düşünüldü (Şekil 6.1).

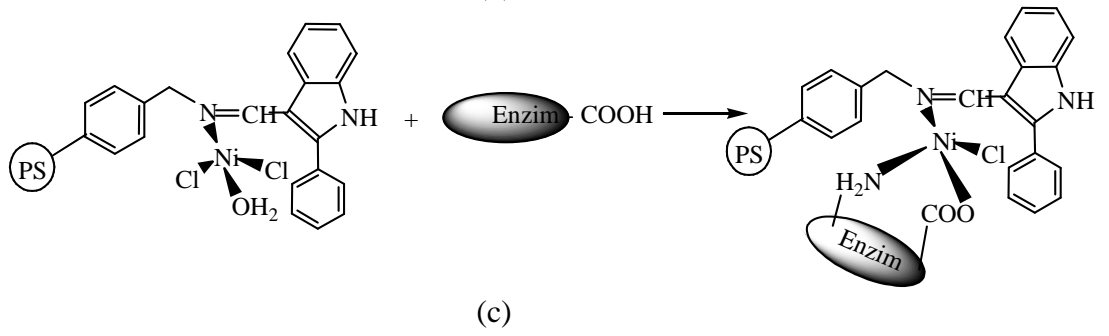
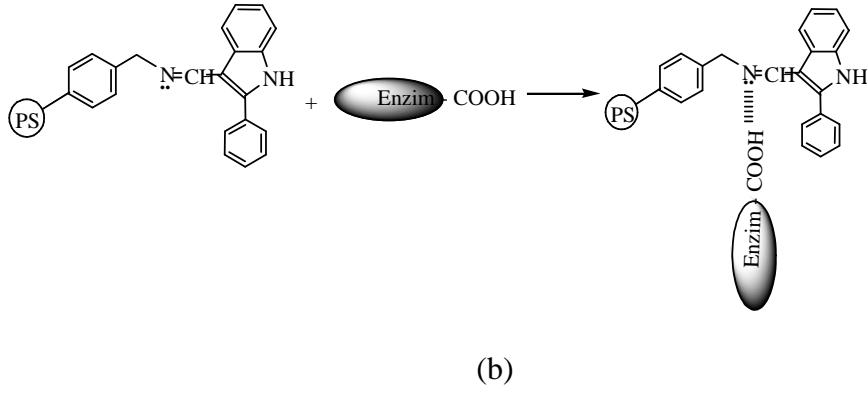
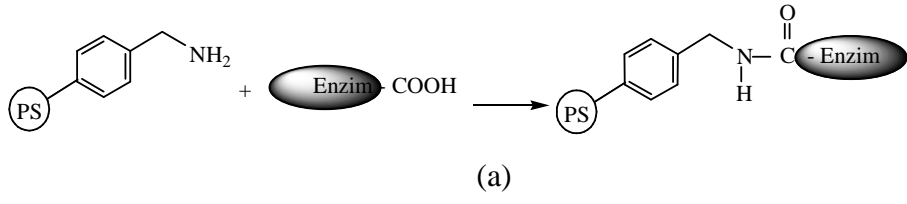
3- Serbest β -galaktosidaz için K_m değeri $0,343$ mM olarak bulundu. Kovalent bağlanma yöntemi ile immobilize edilen β -galaktosidaz enzimleri için K_m değerleri (APS) için $0,681$ mM, (APS–2PIn-Sch) için $0,0363$ mM ve (APS–2PIn-Sch-Ni) için $0,380$ mM olarak hesaplandı. (APS) için K_m değerinin diğerlerine göre büyük olmasının nedeni olarak (APS) polimeri ile enzim arasında bir amid bağının meydana gelmiş olabileceğinden kaynaklanabilir (Şekil 6.1. a).

4- Serbest β -galaktosidaz için V_{mak} değeri $0,0259$ mM.dak⁻¹, kovalent bağlanma yöntemi ile immobilize edilen β -galaktosidaz enzimleri için ise V_{mak} değerleri $0,0716$ mM.dak⁻¹, $0,0185$ mM.dak⁻¹ ve $0,0718$ mM.dak⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

5- Serbest β -galaktosidaz 60 dakikada aktifliğinin (45°C) yaklaşık % 20 sini korudu. Kovalent bağlanma yöntemiyle immobilize edilen β -galaktosidaz enzimleri 110-210 dakikada aktifliklerini yaklaşık %36 - %69 arasında koruduğu gözlemlendi. (APS–2PIn-Sch) için aktifliğinin diğerlerinden daha büyük korunmasının nedeni olarak, enzim ve polimer arasındaki muhtemel bir hidrojen bağından kaynaklanmış olabileceği söylenebilir (Şekil 6.1. b)

6- İmmobilize enzimlerin tekrar kullanılabilirlikleri (APS–2PIn-Sch) Termal Gravimetrik Analiz ile değerlendirildiğinde (APS–2PIn-Sch)'nin aktifliği ile uyumlu olduğu görüldü. TGA eğrisindeki başlangıç bozunma sıcaklığı büyük olan polimerin (APS–2PIn-Sch), enzimin tekrar kullanılabilirliğinde etkili olabileceği söylenebilir.

7- (APS–2PIn-Ald–Ni)'e immobilize edilen enzimin depolama kararlılık aktivitesi (APS) ve (APS–2PIn-Sch)'e immobilize edilen enzimin depolama kararlılık aktivitelerinden daha büyük olması, enzimin Ni(II) iyonu ile koordine bağ oluşturmasından kaynaklanabileceği yorumu yapılabilir (Şekil 6.1.c).



Şekil 6.1. Ön görülen enzim-polimer etkileşimleri

(a) (APS)-enzim arasında amid bağı oluşumu

(b) (APS-2PIn-Sch)-enzim arasındaki muhtemel hidrojen bağı

(c) Enzimin Ni(II) iyonu ile koordine bağı oluşumu

KAYNAKLAR

1. Jose, L., And Rajasekhoran, V. N., "Catalyse-like activity of divinylbenzene (DVB)- cross linked polyakrilamide supported amino metal complexes", *European Polymer Journal*, 32 (12):1431-1435 (1996).
2. Maurya, M.R., Kumar, A., Manikandan, P. And Chand, S., "Synthesis and characterization and catalytic potential of oxovanadium(IV) based coordination polymers having a bridging methylene group", *Applied Catalyses A:General*, 277 (1-2):45-53 (2004).
3. Varvara, S., Muresan, L., Popescu, I. C., And Maurin, G., "Copper electrodeposition from sulfateelectrolytes in the presence of hydroxyehylated 2-buthane-1,4-diol", *Hydrometallurgy*, 75 (1,4):147-156 (2004).
4. Ciardelli, F., Carlini, C., Pertici, P., And Valentini, G., "Polymer effect on catalyses by macromolecules transition metal complexes", *Journal of Macromoleculer Science-Chemistry*, A26 (2-3):327-347 (1989).
5. Nurkeeva, Z. S., Khutoryanskiy, V. V., Mun, A. G., Sherbakova, M. V., Ivanschenko, A. T. And Aitkhozhina, N. A., "Polycomplexes of poly(acrylic acid) with streptomycin sulfate and their antibacterial activity", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutic*, 57 (2):245-249 (2004).
6. Arimato, F. S., And Haven, A. C., "Derivates of dicyclopentadienyliron", *J. Am. Chem. Soc.*, 77:6295 (1955).
7. Li, W., And Wang, M., "Electrical and magnetic properties of conjugated schiff base polymers", *Journal of Applied Polymer Science*, 62:941-950 (1996).
8. Bottino, F. A., Finocchiaro, P., Emanuela, L., Reale, A. And Recca, A., "Metal selectivity properties of polymeric schiff bases", *Inorganic and Nuclear Chemistry Letters*, 16 (7):417-421 (1980).
9. Kim, W. S. and Choi, Y. K., "Electrocatalytic effects of thionyl chloride reduction by polymeric schiff base tansition metal(II) complexes" *Applied Catalysis A:General* 252 (1):163-172 (2003).
10. 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).
11. Aswar, A. S. And Bhave, N. S., "Thermal and electrical studies of some polychelates", *Colloid Polymer Sci.*, 269:547-552 (1991).

12. Bajpai, U. D., Rai, S. And Bajpai, A., “Synthesis and characterization of metal-containing coordination polymers of poly(methylenedihenyleneterephthalamide)”, *Journal of Applied Polymer Science*, 48:1241-1248 (1998).
13. Thamizharasi, S., Reddy, A. V. R., And Balasubramanian, S., “Synthesis and characterization of polymer-metal complexes of copper(II) nicel(II) derived from poly(2-hydroxy-4-(meth)acryloxyacetophenoneoxime)”, *Reactive & Functional Polymers*, 40: 143-153 (1999).
14. Gurnule, W., B., Paliwal, L., J., And Kharat, R. B., “Synthesis and characterization and coordination polymer of 1,2-bis-(4-Thio-1,3,5-hexahydrp-1-triazinyl)ethane”, *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal Organic Chemistry*, 33(5): 775-800 (2003).
15. Pastravanu, M. Dumitriu, M. And Lixandru, T. “Synthesis and properties of new polyazines-III”, *Eur. Polym. J.*, 22:565 (1986).
16. 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).
17. Singh, U., Williams, R. T., Halam, K. R., And Allen, G. C., “Exploring the distribution of copper–Schiff base complex covalently anchored onto the surface of mesoporous MCM 41 silica”, *Journal of Solid State Chemistry*, 178:3405–3413 (2005).
18. González-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”, *Adv. Synth. Catal.*, 346:1758-1764 (2004).
19. Syamal, A., Singh, M. M., And Kumar, D., “Syntheses And characterization of a chelating resin containing ONNO donor quadridentate Schiff base and its coordination complexes with copper(II), nickel(II), cobalt(II), iron(III), zinc(II), cadmium(II), molybdenum(VI) and uranium(VI)”, *Reactive & Functional Polymers*, 39:27–35 (1999).
20. Radhakrishnan, T., Kolawole, G. A., Revaprasadu, N., Nair, S., And 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).

21. 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).
22. Lagadic, I. L., "Schiff base chelate-functionalized organoclays", *Microporous and Mesoporous Materials*, 95:226–233 (2006).
23. Maurya, M. R., Kumar, U., And Manikandan P., "Polymer supported vanadium and molybdenum complexes as potential catalysts for the oxidation and oxidative bromination of organic substrates", *Dalton Transaction*, 3561–3575 (2006).
24. Yang, Z., Lu, J., And Wang, L., "Synthesis and Fluorescent Properties of Zn(II) Complex with Functionalized Polystyrene Containing Salicylaldehyde End Group", *Polymer Bulletin*, 53: 249–257 (2005).
25. Kumar, K.G., John, K.S., And Poduval, R., "Polystyrene Anchored Vanillin Schiff Base-Complexation and Ion Removal Studies", *Journal of Applied Polymer Science*, 98: 1536–1539 (2005).
26. Suja, N. R., And 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).
27. Önal, S. Ç., "Karpuz (Citrullus Vulgaris) α -galaktosidazının doğal ve sentetik polimerlerde immobilizasyonu", Doktora Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, 39-41 (2000).
28. 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).
29. Öcal, B. L., "Poli(vinil alkol) - kalsiyum aljinat, poli(n-izopropilakrilamid)-kalsiyum aljinat kürelerine β -galaktosidaz immobilizasyonu", Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 2, 3, 10-11, (2007).
30. Merritt, E. A., And Bacon, D. J., "Raster3D: photorealistic molecular graphics", *Methods Enzymoloji*, 277: 505–524 (1997).
31. Lartillot, S., "Immobilization of lactase an silica gel:study of lactase hydrolysis wing the immobilized material", *Biochemical Education*, 21(3): 157-159 (1993).
32. Boze, H., Moulın, G., And Galzy, P., "Uptake of galactose and kluveramyces lactis; biochemical characteristic and attempted genetical analysis", *Journal General Microbiology*, 133:15-23 (1987).

33. Carlsson, J., Axén, R., And Unge, T., "Reversible, covalent immobilization of enzymes by thiol-disulphide interchange ", *Eur. J. Biochem.*, 59: 567-572 (1975).
34. Bajpai, D. N., Rai, S. and Bajpai, A., "Synthesis and characterization of metal containing coordination polymers of poly(methylene diphenylene terphthalamide" , *J. Appl. Polym. Sci.*, 48 :1241 (1993).
35. Hernaiz M. J., And Crout H. G., "A highly selective synthesis of N-acetyllactosamine catalyzed by immobilised β -galactosidase from *Bacillus circulans*", *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 10: 403-408 (2000).
36. Cowie, J. M. G., *Polymers: Chemistry and Physics of Modern Materials*, 2nd ed., *Chapman and Hall*, New York, 8,187 (1991).
37. Ghangui, H., Miled N., Karra-chaâbouni, M., And Gargouri, Y., "Immobilization studies and biochemical properties of free and immobilized *Rhizopus oryzae* lipase onto CaCO₃: A comparative study", *Biochemical Engineering Journal*, 37: 34-41 (2007).
38. Yemul, O., And Imae, T., "Covalent-bonded immobilization of lipase on poly(phenylene sulfide) dendrimers and their hydrolysis ability", *Biomacromolecules*, 6(5): 2809–2814 (2005).
39. Hasırcı, N., Aksoy, S., And Tümtürk, H., "Activation of poly(dimer acid-co-alkyl polyamine) particles for covalent immobilization of α -amylase", *Reactive & Functional Polymers*, 66:1546–1551 (2006).
40. Arslan, F., Tümtürk, H., Çaykara, T., Şen, M., And Güven, O., "The effect of gel composition on the adsorption of invertase on poly(acrylamide/maleic acid) hydrogels", *Food Chemistry*, 70: 33-38 (2000).
41. Anita, A., Sastry, C.A., And Hashim, M.A., "Immobilization of urease on vermiculite", *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 16(6): 375-380 (1997).
42. Akkaya, B., Şahin, F., Demirel, G., And Tümtürk, H., "Functional polymeric supports for immobilization of cholesterol oxidase", *Biochemical Engineering Journal*, 43:333–337 (2009)

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AYNACI, Elif
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 20.08.1985 Ankara
 Medeni hali: : Bekar
 Telefon : 0 (536) 358 09 85
 e-mail : elaynaci@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi/ Kimya Bölümü	2009
Lisans	Gazi Üniversitesi/ Kimya Bölümü	2007
Lise	Batıkent Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi	2003

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Nurşen Sarı, **Elif Aynacı**, Özge Çiçek, Perihan Gürkan, "Sentez ve karakterizasyonda N,N'-(1,4-Fenilendimetiliden) bis-DL- alanin ile Co(II), Cu(II) ve Ni(II) kompleksleri". *1. Anorganik Kimya Günleri - Çukurova Ün.-Adana-2007.*
2. **Elif Aynacı**, Hayrettin Tümtürk, Nurşen Sarı, "Immobilization of β -galaktosidase enzyme with (aminomethyl)polystyrene using the method of covalent bounded". *International Symposium on Drug Research and Development "From Chemistry to Medicine" DRD 2009 and Educational Fair on "GLP and Laboratory Safety: New Approaches - Hacettepe Ün.-Ankara-2009.*

3. **Elif Aynacı**, Serkan Özcan, Dilek Nartop, Nurşen Sarı, Schiff bazı takılı poli(akrilamit)'in sentezi, karakterizasyonu ve iletkenlik özelliklerinin araştırılması". *II.Ulusal Anorganik Kimya Kongresi - Fırat Üniv.-Elazığ-2009*.

Hobiler

Tenis, bowling, yüzme