

752629

T.C.  
Niğde Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

İletken Aşı Kopolimerlerin Sentezi ve Bunların Enzim Tutuklama Matrisleri Olarak  
Kullanımları

Ertuğrul ŞAHMETLİOĞLU

Doktora Tezi

Danışman : Prof. Dr. Hüseyin YÜRÜK  
Ortak Danışman : Prof. Dr. Levent TOPPARE

Temmuz 2004

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne:

Bu çalışma Jürimiz tarafından KİMYA ANABİLİM DALI'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr.Hüseyin YÜRÜK (Danışman Niğde Üniversitesi)

Üye : Prof. Dr. Levent TOPPARE (Ortak Danışman Ortadoğu Teknik Üniversitesi)

Üye : Prof. Dr.Mustafa GÜLLÜ (Ankara Üniversitesi)

Üye : Prof. Dr.Kadriye KAYAKIRILMAZ(Niğde Üniversitesi)

Üye :Yrd. Doç. Dr. Ayten ÖZTÜRK (Niğde Üniversitesi)

ONAY:

Bu çalışma ~~12./02/2004~~ tarihinde, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca Belirlenmiş olan yukarıdaki Jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunun ~~31./08/2004~~ tarih ~~2004/15-5~~ sayılı kararıyla kabul edilmiştir.



0.3.09./2004

Doç. Dr. Aydın TOPÇU  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

### İLETKEN AŞI KOPOLİMERLERİN SENTEZİ VE BUNLARIN ENZİM TUTUKLAMA MATRİSLERİ OLARAK KULLANIMLARI

ŞAHMETLİOĞLU Ertuğrul

T.C.  
Niğde Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Hüseyin YÜRÜK  
Ortak Danışman : Prof. Dr. Levent TOPPARE

Temmuz 2004 ,105 Sayfa

Bu çalışma iki bölümde yapılmıştır. Birinci bölümde tiyofen sonlu poli(vinilalkol) (PVATH) ve pirolden oluşan aş kopolimeri elektrokimyasal metodla sentezlenmiştir. Kopolimer üç farklı elektrolit; p-toluen sülfonik asit (PTSA), sodyum dodesil sülfat (SDS) ve tetrabutilamonyum tetrafloroborat (TBAFB) kullanılarak elde edildi. Kopolimerlerin ve tiyofen sonlu poli(vinilalkol)'ün karakterizasyonu; dönüşümlü voltametri (CV), taramalı elektron mikroskobu (SEM), termal gravimetri (TGA), diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC), jel permütasyon kromatografisi (SEC), <sup>1</sup>H-NMR, ve FT/IR gibi tekniklerin kombinasyonu kullanılarak yapıldı. Kopolimer filmlerinin iletkenliği dört nokta tekniği ile belirlendi.

Çalışmanın ikinci bölümünde tiyofen son gruplu poli(vinil alkol) ve pirol'den oluşan kopolimer matris olarak kullanılarak invertaz ve glikoz oksidaz enzimleri elektrokimyasal yöntemle tutuklandı. Kinetik parametreleri  $V_{max}$  (maksimum reaksiyon hızı) ve  $Km$  (substrat ilgisi) hem sertbest hemde immobilize enzimler için belirlendi. Destek elektrolitin

etkisini görmek için *p*-toluen sülfonik asit ve sodyum dodesil sülfat elektrolitleri kullanıldı. Raf ömrü, çalışma kararlılığı ve enzim tutuklanmış filmlerin yüzey yapıları incelendi.

Anahtar Sözcükler: Polivinil alkol, iletken kopolimer, glikoz oksidaz, invertaz, immobilizasyon



## ABSTRACT

### SYNTHESIS OF CONDUCTIVE GRAFT COPOLYMERS AND THEIR USES AS ENZYME IMMOBILIZATION MATRICES

ŞAHMETLİOĞLU Ertuğrul

Niğde University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Chemistry

Supervisor : Prof. Dr. Hüseyin YÜRÜK

Cosupervisor : Prof. Dr. Levent TOPPARE

July 2004, 105 pages

This study has been carried out in two steps, In first step, graft copolymers of poly(vinyl alcohol) with thiophene moiety (PVATH) and pyrrole were synthesized by electrochemical polymerization method. The synthesis of PVATH and pyrrole copolymers were achieved electrochemically by using three different electrolytes, *p*-toluene sulfonic acid (PTSA), sodium dodesyl sulphate (SDS) and tetrabutylammonium tetrafluoroborate (TBAFB). Characterization of PVATH and graft copolymers were performed by combined techniques, consist of cyclic voltammetry (CV), scanning electron microscopy (SEM), thermal gravimetry (TGA), diferential scanning calorimetry (DSC), gel permeation chromatography (GPC) analyses, <sup>1</sup>H-NMR and FT/IR studies. The conductivity of copolymer films were measured by four-probe technique.

In the second step; Immobilization of invertase and glukose oxidase enzymes were achieved by using conductive copolymers of PVATH with pyrrole as immobilization matrices via electrochemical polymerization. The kinetic parameters,  $V_{max}$  (maximum reaction rate) and  $Km$  (substrate affinity), of both free and immobilized enzymes were

determined. To see the effect of supporting electrolyte on enzyme activity, PTSA and SDS were used.

Key words: Poly(vinyl alcohol), conducting polymers, glucose oxidase, invertase, immobilization



## TEŞEKKÜR

Doktora eğitiminde danıőmanlıđımı yapan ve her konuda yardımlarını esirgemeyen Hocam Prof. Dr. Hüseysin YÜRÜK'e, ortak danıőmanlıđı kabul edip çalıőmalarına yön vererek ufkumu genişleten Orta Doğu Teknik Üniversitesi Kimya Bölümü öğretim üyesi, Hocam Prof. Dr. Levent TOPPARE'ye teşekkür ederim.

SEM alıőmalarımdaki yardımlarından dolayı Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü öğretim üyesi Hocam Prof. Dr. Mustafa SOYLAK'a, deneysel çalıőmalarım sırasındaki yardımlarından dolayı Dr. Selmiye ALKAN, Dr. Ali ÇIRPAN, Dr. Senem KIRALP, Uzm. Kim. Altan GÜRSEL, Uzm. Kim. Yusuf GÜNER'e ve çalıőmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm bölümümüzdeki hocalarım ve arkadaşlarıma teşekkür ederim

Çalıőmalarım sırasınada maddi destek sağlayan Niğe Üniversitesi Araştırma Fonu Başkanlığına teşekkür ederim.

Ayrıca beni her konuda destekleyen aileme teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	v
TEŞEKKÜR .....	vii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ .....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR .....	xiii
BÖLÜM I .....	1
GİRİŞ VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	1
1.1 Giriş ve Çalışmanın Amacı .....	1
1.2 Çalışmanın Amacı .....	3
1.2 Önceki Çalışmalar .....	4
BÖLÜM II .....	12
GENEL BİLGİLER .....	12
2.1 Giriş .....	12
2.2 İletken Polimerler .....	13
2.2.1 Polimerlerde iyonik iletkenlik .....	13
2.2.2 İletken materyal-polimer filmleri .....	15
2.2.3 Polimerlerde elektronik iletkenlik .....	15
2.2.4 İletkenlik ve katkılama .....	19
2.2.5 Polimerlerde iletkenlik teorisi .....	21
2.3 İletken Polimerlerin Sentezi .....	23
2.3.1 Elektrokimyasal polimerizasyon .....	23
2.3.1.1 Sabit potansiyel elektrolizi .....	25
2.3.1.2 Dönüşümlü voltametri yöntemi .....	26
2.3.1.3 Sabit akım elektrolizi .....	28
2.3.2 Kimyasal yöntem .....	28
2.3.3 Piroliz .....	29
2.4 İletken Polimerlerin Kullanım Alanları .....	29
2.5 Polipirol .....	33
2.6 Enzimler .....	35
2.7 Enzimlerin Genel Özellikleri .....	36
2.8. Enzimlerin Normal Katalizör Maddelerden Farkları .....	39
2.11 Enzimlerin Aktivitesinin Takip Yöntemleri .....	40
2.12 Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler .....	41
2.13 Enzim Aktivitesinin Kinetik Olarak Hesaplanması .....	41
2.14 Enzim Aktivite Tayininde Kullanılan Yöntemler .....	44
2.15 Elektrotların Kimyasal Modifikasyonu .....	45
2.16 Elektrokimyasal Sensörler .....	47
2.16.1 Elektrokimyasal biyosensörler .....	47
2.16.2 İmmobilizasyon teknikleri .....	48
2.16.2.1 Katı yüzeyde fiziksel adsorpsiyon .....	49
2.16.2.2 Çapraz bağlanma .....	49
2.16.2.3 Kovalent Bağlanma .....	49
2.16.2.4 Mikrokapsüller içerisinde tutuklama .....	50
2.16.2.5 Polimerik matrislerde tutuklama .....	50
2.17 Glikoz Elektrodu .....	51
2.18 İnvvertaz Elektrodu .....	52



BÖLÜM III .....	54
MATERYAL ve METOD .....	54
3.1 Materyal .....	54
3.1.1 Kullanılan kimyasallar .....	54
3.1.2 Nelson reaktifi .....	54
3.1.2 Arsenomolibdat reaktifi .....	54
3.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar .....	55
3.2.1 <sup>1</sup> H NMR cihazı .....	55
3.2.2 FT-IR cihazı .....	55
3.2.3 DTA/DSC cihazı .....	55
3.2.4 Yüzeysel inceleme çalışmaları .....	55
3.2.5 Potansiyostat .....	55
3.2.6 Elektroliz hücresi .....	56
3.2.7 UV-Görünür Spektrofotometre .....	56
3.2.8 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi .....	56
3.2.9 İletkenlik ölçümü .....	56
3.3 Metod .....	56
3.3.1 Tiyofen sonlu polivinilalkol sentezi .....	56
3.3.2 Tiyofen sonlu polivinilalkol ile pirol'ün kimyasal yolla polimerizasyonu .....	57
3.3.3 Tiyofen sonlu polivinilalkol ile tiyofen'in elektrokimyasal metotla kopolimerizasyonu .....	57
3.3.4 Tiyofen sonlu polivinilalkol ile pirol'ün elektrokimyasal metotla kopolimerizasyonu .....	57
3.3.5 Glikoz oksidaz enzimi ile modifiye edilmiş tiyofen sonlu polivinilalkol / polipirol matrisli enzim elektrodunun hazırlanması .....	58
3.3.6 İntertaz enzimi ile modifiye edilmiş tiyofen sonlu polivinilalkol/polipirol matrisli enzim elektrodunun hazırlanması .....	58
3.3.7 Glikoz oksidaz enziminin aktivitesinin belirlenmesi .....	58
3.3.8 İntertaz enziminin aktivitesinin belirlenmesi .....	59
3.3.9 Kinetik parametrelerin belirlenmesi .....	59
3.3.10 Optimum sıcaklığın belirlenmesi .....	60
3.3.11 Raf ömrünün belirlenmesi .....	60
3.3.12 Çalışma kararlılığının belirlenmesi .....	60
3.3.13 Filmlerin yüzeylerinin incelenmesi .....	60
3.3.14 Dönüşümlü voltamogram çalışması .....	61
BÖLÜM IV .....	62
BULGULAR ve TARTIŞMA .....	62
4.2 Molekül Ağırlığı Dağılımı .....	63
4.3. Dönüşümlü Voltametri Çalışması .....	64
4.4 Kimyasal ve Elektrokimyasal Yöntemle Kopolimer Sentezi .....	64
4.5 FTIR Spektrum Bulgularının Değerlendirilmesi .....	65
4.6 İletkenlik Ölçümleri .....	67
4.7 Termal Analiz Bulguları .....	68
4.8 Kopolimer Filmlerinin Yüzeysel Yapılarının Değerlendirilmesi .....	71
4.9 Enzim Aktivitesi .....	73
4.10 Elektrolit Seçimi .....	74
4.11 Kinetik Parametreler .....	75
4.12 Sıcaklığın Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi .....	76
4.13 Çalışma Kararlılığı .....	78
4.14 Enzim Elektrotların Raf Ömrünün Belirlenmesi .....	79
4.12 Enzim Elektrotların Yüzeysel Yapılarının İncelenmesi .....	80

BÖLÜM V .....	82
SONUÇLAR ve ÖNERİLER .....	82
KAYNAKLAR .....	84
ÖZGEÇMİŞ .....	92



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Tiyofen sonlu iletken kopolimerlerin iletkenlikleri .....	67
Çizelge 4.2 İnvvertaz enzimi için kinetik parametreler.....	75
Çizelge 4.3 Glikoz oksidaz enzimi için kinetik parametreler .....	76



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Sulu çözeltideki NaCl tuzunun iyonik iletkenliğinin polimerde çözülmüş bir tuzun iyonik iletkenliği ile karşılaştırılması .....	14
Şekil 2.2 Orta büyüklükteki polimer molekülünde bağ ve antibağ orbitallerinin oluşumu	17
Şekil 2.3 Metal, yarıiletken ve yalıtkan katıların enerji seviyelerinin gösterimi .....	17
Şekil 2.4 Poliasetilen örneğinin indirgenmesi ile oluşan polaron, bipolaron ve soliton çifti yapılarının band aralığındaki yerleşimi hatasına soliton denir .....	22
Şekil 2.5 Tersinir bir reaksiyona ait voltamogramlar a) pik potansiyelleri ve akımları b) pik akımları oranının ölçülmesi .....	27
Şekil 4.1 Tiyofen sonlu poli(vinil alkol)'ün sentezi .....	62
Şekil 4.2 PVATH'in <sup>1</sup> H-NMR spektrumu .....	63
Şekil 4.4 Kimyasal metotla PVATH/PPy kopolimerinin sentezi .....	65
Şekil 4.5a Elektrokimyasal metotla sulu sistemde PVATH/PPy kopolimerinin sentezi .....	65
Şekil 4.5b Elektrokimyasal metotla sulu sistemde PVATH/PPy kopolimerinin sentezi .....	65
Şekil 4.6 Elektrokimyasal metotla sulu sistemde PVATH/PTh kopolimerinin sentezi .....	65
Şekil 4.8 PVATH'nin DSC termogramı .....	68
Şekil 4.9a PVATH/PPy (PTSA) TGA termogramı .....	69
Şekil 4.9b PVATH/PPy (PTSA) DSC termogramı .....	69
Şekil 4.10a PVATH/PPy (SDS) DSC termogramı .....	69
Şekil 4.10b PVATH/PPy (SDS) TGA termogramı .....	70
Şekil 4.11a PVATH/PPy (TBAFB) TGA termogramı .....	70
Şekil 4.11b PVATH/PPy (TBAFB) DSC termogramı .....	71
Şekil 4.12 SEM Mikrofilmleri .....	73
Şekil 4.13 Glikoz oksidazın reaksiyonları .....	74
Şekil 4.14a PVATH/PPy matrisli invertaz elektrodunun aktivite-sıcaklık grafiği .....	77
Şekil 4.14b PPy matrisli invertaz elektrodunun aktivite-sıcaklık grafiği .....	77
Şekil 4.15a PVATH/PPy matrisli glikoz oksidaz elektrodunun aktivite-sıcaklık grafiği .....	77
Şekil 4.15b PPy matrisli glikoz oksidaz elektrodunun aktivite-sıcaklık grafiği .....	78
Şekil 4.16 İvertaz elektroduna ait kararlılık grafiği .....	78
Şekil 4.17 Glikoz oksidaz elektrodunun kararlılık grafiği .....	79
Şekil 4.18 İvertaz elektrodunun raf ömrü .....	79
Şekil 4.19 SEM Mikrofilmleri .....	81
Şekil 4.20 SEM Mikrofilmleri .....	81

## SİMGELELER ve KISALTMALAR

SDS	: Sodyum dodesil sülfat
PTSA	: <i>p</i> -Toluen sülfonik asit
TBAFB	: Tetrabütülammonyum terafloroborat
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TGA	: Termal gravimetrik analiz
DSC	:Diferansiyel taramalı kalorimetre
CV	:Dönüşümlü voltamogram
PVA	: Poli(vinil alkol)
PVATH	: Tiyofen sonlu poli(vinil alkol)
PVATH/PPy	: Tiyofen sonlu poli(vinil alkol) ve polipirol kopolimeri
GOD	: Glikoz oksidaz
POD	: Peroksidaz



# BÖLÜM I

## GİRİŞ VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 1.1 Giriş ve Çalışmanın Amacı

İletken polimerler hem teorik hemde pratik uygulamalardan dolayı oldukça dikkat çekmişlerdir. Bu polimerler arasında yapılan çalışmaların büyük bir kısmı kimyasal ve elektrokimyasal polimerizasyon yoluyla hazırlanan polipirol ve politiyofen gibi poliheterohalkalı bileşiklerle ilgilidir. Çünkü bunlar hem iletken hemde nötr durumlarda bir çevresel ve termal kararlılık artışı göstermektedirler. Malesef iletken polimerlerin erimeme ve bilinen tüm organik çözücülerde çözünmeme gibi önemli dezavantajları vardır. Sonuç olarak bir çok pirol ve tiyofen türevleri ve bunlardan türetilmiş polimerler hem fiziksel elektronik özellikleri hemde çözünürlük ve erime kabiliyetlerini artırmak için sentezlenmiştir. Büyük yer kaplayan sübstitüentlerin beş üyeli heterohalkanın  $\beta$  pozisyonundan başlaması iletken polimerlerin moleküler kontrolünü sağlamak için en uygun metoddur. Daha az kullanılan bir diğer yöntemse kopolimerizasyon veya polimer analog reaksiyonlar yoluyla heterohalka kökenli modifiye yapılar elde etmektir.

Poli(vinil alkol)'ün fiziksel ve kimyasal özellikleri bunların endüstriyel alanda kullanımına öncülük etmiştir. Poli(vinil alkol)'ün selülozik maddeler üzerindeki üstün yapışma özelliği, onu materyaller üzerinde yapıştırıcı ve kaplayıcı olarak kullanışlı hale getirmiştir. Bunlar yağlanmaya ve yağ çözücülere karşı yüksek derecede dirençlidirler. Ayrıca bu polimerler yüksek gerilme ve aşınma direncine de sahiptirler.

Poli(vinil alkol)'lerin kimyasal reaksiyonları diğer polihidrik alkollere benzemektedir. Bunlar aldehitlerle poli(vinil formal) ve poli(vinil bütiral) gibi polivinil asetaller oluştururlar. Poli(vinil alkol)'ün melaminformaldehit, üre formaldehit ve glioksal ile kolaylıkla çapraz bağ yaptığı bilinmektedir. Poli(vinil fosfat) bir polimer analog reaksiyonuyla Poli(vinil alkol)'den elde edilebilir.

Bir reaksiyonu hızlandıran, fakat kendisi reaksiyondan değişmeksizin çıkan maddeye “katalizör” denir. Enzimler ise canlı hücreler tarafından meydana getirilen, ancak etki

yapabilmesi için hücrenin varlığını gerektirmeyen, ısıya dayanıksız, organik katalizörlerdir. Enzimlerin reaksiyonları yaşam yönünden en önemli reaksiyonlardır.

Her ne kadar enzimler katalizör iseler de, bazı yönleriyle anorganik katalizörlerden ayrılırlar. Anorganik katalizörler çok çeşitli reaksiyonları katalizledikleri halde, enzimler ancak belirli maddeler üzerine özel etki gösterirler. Anorganik katalizörler katalizledikleri reaksiyon tarafından değiştirilmezler ve reaksiyonun sonunda kantitatif olarak az veya çok tahrip olurlar. Bunun için de vücutta sürekli sentezlenmeleri gerekir.

Enzimlerin dikkat çeken iki özelliği vardır. Bunlar;

1. Enzimlerin katalizledikleri reaksiyonların hızları, katalize edilmeyen aynı reaksiyonun hızından  $10^3$ - $10^8$  defa daha fazladır.
2. Enzimler o kadar stereospesifikler ki, tek bir metabolitin tek bir reaksiyonunu katalizledikleri gibi sadece enantiyomerleri değil, indentik atomları veya grupları da parçalayabilirler.

İlk kez Clark ve Lyons (Cosiner., 1999) bir enzimin bir biyosensör şeklinde elektrotla bütünleştirildiğini 1962'de açıklamışlar ve bu elektrokimyasal çalışmaların ilerlemesinde önemli bir gelişme sağlamışlardır. Bu buluşlar ile sağlanan yararlar, yüksek seçicilik ve kompleks ortam içinde basit kullanımı kadar gelişimin mümkün olmasının anlaşılması ve portatif analizör olmasıdır. Son yıllarda, elektrokimyasal mikro aletlerin gelişmesi, tutuklanmış enzimlerin potansiyel uygulanarak izlenmesi ve klinik laboratuvarlarda test belirteci olarak kullanılmaları gelişmeler sağlamıştır. Metabolizmanın canlı ortam içinde ve canlı ortam dışında ölçülmeleri için çekici bir yol oluşturduğu görülmüştür. Mikrofabrikasyon biyosensörlerin gelişmesiyle örneğin; glikoz, hormonlar, sinir iletilicileri, antikolar ve antijenler. Bununla birlikte onların biyolojik özelliklerini tanıma; iletken yüzey üzerinde alıkonmaları, makro moleküler biyomoleküllerin kararlı immobilizasyonu, minyatürize biyosensörlerin ticari gelişimi için önemli bir problem olmuştur. Etkili olarak, membran veya jeller içine kapsüllenme, (kovalent bağ ve çaprazbağ gibi) biyomolekül immobilizasyonunun geleneksel metodlarının hepsinde geri kazanımda problem çıktığı belirtilmekte ve birikim yapılması kontrolünün zor olduğu vurgulanmaktadır (Cosiner., 1999).

Bu geleneksel metotlardan farklı olarak elektropolimerizasyonla yapılan filmlerin içine biyomoleküllerin immobilizasyonu gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Etkili olarak tabaka kalınlığının kontrolü, polimer tabakasının elektrokimyasal şekli, biyosensör yapımının manuel olmayan işlemi ve yeniden üretiminin önemli olduğu belirtilmektedir. Bu yaklaşımla minyatürize biyosensörler için artan isteğe gerekli önem verilmektedir.

Elektrokimyasal metod; bir elektrot yüzeyi üzerinde polimerleşme süresince organik polimerler içine biyomoleküllerin kapsüllenmesini kapsamaktadır. Polimerler, matrislerinin şekli, bir çözelti içerisindeki monomerler ve biyomoleküllere bağlı olarak değişmektedir. Son zamanlarda ise, polimerizasyon basamağından önce monomerler ve biyomoleküllerin karışımını kapsadığı belirtilmektedir. Başka bir elektrokimyasal metotta; iletken polimerlerin görevi elektropolimerizasyonun öncelikle yapılması, sonra polimer yüzeyine biyomoleküllerin atak etmesi fonksiyonel gruplarda biyomoleküllerin birleşmesiyle veya ilave kimyasalla belirlenmektedir. Polipirol, politiyofen, poliasetilen veya polianilin gibi polimer filimleri ile enzimlerin fiziksel kapsüllenmesinin karşılaştırılması makro moleküler ara yüzeyi olaylarını kolaylaştırmakta ve substratın immobilize biyomoleküllere ulaşmasını daha kolay sağlamaktadır.

Bu nedenlerle, biyosensörlerin yapımı için enzimlerin immobilizasyonunun elektrokimyasal metodlarla çalışılması büyük önem arz etmektedir.

Biyosensör olarak kullanılacak olan immobilize enzim elektrot oluşturmak, bunu bir iletken aşı kopolimerini sentezleyip matris olarak kullanımıyla çeşitli enzimlerinin (İnvertaz, Glikoz oksidaz v.b.) bu matriste tutuklanmaları ve bunların enzim aktivitelerinin ve raf ömürlerinin belirlenmesinin önemi açıkça görülmektedir.

## **1.2 Çalışmanın Amacı**

Bu çalışmanın amacı, yeni tip iletken kopolimerler sentezlemek, bu kopolimerlerin enzim matrisi olarak kullanımını araştırmak olmuştur. Bu çalışma düzeni aşağıdaki şekilde yapıldı.

Bu amaca ulaşmak için;

1- Tiyofen son grubu takılmış olan PVA'ye elektrokimyasal ve kimyasal yöntemle pirol ve tiyofen bağlanmaya çalışıldı.



- 2- Elde edilen iletken kopolimerlerin yapıları spektroskopik yöntemlerle aydınlatıldı.
- 3- Kopolimerlerin termal özellikleri incelendi.
- 4- Kopolimerlerin yüzeylerinin taramalı elektron mikroskobu ile mikrofilmleri alınarak saf polipirol'ün mikrofilmlerinin yüzeyleri ile arasındaki farklar incelendi.
- 5- Karakterizasyonu tamamlanan iletken kopolimerler birer matris olarak kullanılıp invertaz ve glikoz oksidaz olarak bilinen enzimler tutuklanarak birer enzim elektrot elde edildi.
- 6- Elde edilen enzim elektrotların aktiviteleri belirlendi.
- 7- Elektrotların kinetik parametreleri, kararlılık sabitleri ve raf ömürleri belirlenerek optimum çalışma sıcaklığı belirlendi.
- 8- Enzim tutuklanmış polimer filmlerinin yüzeyleri SEM ile incelendi.
- 9- Elde edilen sonuçlar saf polipirol ile hazırlanan enzim elektrotlardan elde edilen sonuçlarla karşılaştırıldı.

## 1.2 Önceki Çalışmalar

El Rahman, anilin ve 5-aminokinolinden elde edilen iletken kopolimer filmleri, asetonitril kullanılan dönüşümlü voltametri ve sabit potansiyel metodları ile farklı oranlardaki monomerlere bağlı olarak anodik polimerizasyon ile hazırlamıştır. Farklı kopolimerlerde anodik yük ile kalınlığın doğrusal olarak arttığını fakat etkilerin farklı olduğunu belirlemişlerdir. Polimerizasyon çözeltisinde anilinin artması ile filmlerdeki polianilin miktarının artmasının kopolimerlerin arttığını destekler olduğunu bulmuştur. Kopolimer poliaminokinolin-anilinin yüksek polimerizasyon oranı ve kararlılığından dolayı, bazı şartlar altında hazırlanmış olan polianilin filmlerinden daha elektroaktif olduğunu bulmuştur. İki redoks prosesi içeren kopolimer poliaminokinolin-anilinin, spektroeletrokimyasal aletlerle analizinde redoks piki görülmüştür. Redoks prosesi içeren modeller kopolimer davranışlarının spektrokimyasal analizinde içerdiğini belirlemişlerdir (El Rahman., 1996).

Popkirov ve arkadaşları; galvanostatik şartlar altında bitiyofenin elektrokimyasal polimerizasyonu için elektrokimyasal impedans spektrumunu kullanmışlardır. Farklı kalınlıklardaki tabakalar üzerinde elde edilen impedans spektrumunu, literatürde bilinen teorik modelleri temel alarak, incelemişlerdir. Popkirov ve arkadaşlarının modeli; düşük akım yoğunluğunda ince polibityofen tabakasının impedans spektrum çalışmasının başarılı

olduğunu göstermiştir. Paasch ve arkadaşlarının modeli ise yüksek akım yoğunluğunda tarif edilen spektrumu, polimer tabakasının kalınlığı için uygun olduğunu bulmuşlardır. Polimerizasyonun 1.basamağı sırasında 3D büyüme mekanizması, metal elektrot üzerinde gerçekleşmiş ve 2D büyümesi  $15-20\text{m/cm}^{-2}$ 'den daha yüksek gerçekleşmiştir. Polimer filmlerinin önemli parametrelerinin dağılma katsayısı, iyonik iletkenlik ve tabaka kalınlığı olduğunu tespit etmişlerdir (Popkirov ve diğ., 1996).

Bozkurt ve diğerleri; polipirol–poliinden kompozitlerini, elektrokimyasal metod kullanarak hazırlamışlar ve iki farklı yaklaşımdan faydalanmışlardır. Birincisi; platin elektrot üzerinde indenin polimerizasyonunu, asetonitril içinde  $\text{Ag/Ag}^+$ ya karşı 2.0 V'ta başarmışlardır. İkincisi;  $\text{Ag/Ag}^+$ ya karşı 1.0 V'ta elektrodu, polipirol ile kaplamayı başarmışlar ve indeni, asetonitril içinde;  $\text{Ag/Ag}^+$ ya karşı 2.0 V'ta polimerleştirmişlerdir. Bu kompozitlerin karakterizasyonunu termal gravimetrik analizde, elektron mikroskopunda ve kızılötesi ışıkta analiz etmişler ve iletkenliğini iki nokta ve dört nokta teknikleri ile ölçmüşlerdir(Bozkurt ve diğ., 1996 ).

1997 yılında yapılan çalışmada; Loveday ve diğerleri 3-(p-trimetil amonyum fenil) bitiyofeni sentezlemişlerdir. İletken polimerleri, elektropolimerizasyon yöntemi ile sentezlemişler, dönüşümlü voltamogram, spektroeletrokimya ve kuartz mikrobalsans yöntemlerini kullanarak analiz etmişlerdir. Polimerlerdeki renk değişimlerinin p- ve n-katkılarından meydana geldiğini ifade etmişlerdir. Ayrıca anyonların katkılama işlemi esnasında bağlandığını kuartz kristal mikrobalsans yöntemini kullanarak belirlemişlerdir (Loveday ve diğ., 1997).

Bhadani ve arkadaşları; polipirol filmleri ve pirol monomerlerinin dönüşümlü voltamogramlarını,  $\text{Ag/AgCl}$  elektroduna karşı 1.0 V'ta potansiyostatik olarak hazırlamışlardır. Doğal izole fiberlerin; pamuk, yün, ipek gibi, p-toluen sülfonik asit içeren asetonitril içinde pirolün polimerizasyon çözeltisinin elektriksel etkiye maruz bırakıldığında, elektriksel iletkenlik kazandıklarını bulmuşlardır. Fiberlerin iletkenlik ve ağırlık kazanımının, elektrolizin zamanı ve akım basamağının artışı ile olduğunu göstermiş, iletkenliğin 0.2-15 S/cm arasında olup, fiberlerin doğallığına bağlı olduğunu ifade etmişlerdir (Bhadani ve diğ., 1997).

Mu ve Kan yaptıkları bir çalışmada; anilini 0–1.1 V arasında tekrarlanan potansiyel çevrimle elektroliz etmiş: NaCl varlığında, sulu asit çözeltisi içinde anilinin elektrolizinde akım potansiyeli eğrisini gözlemlemişlerdir. Akım alanı oluşumunun anilinin elektrolizinde önemli olduğunu belirlemişlerdir. Çözelti içindeki anilinin polimerizasyon oranının, NaCl ile HCl konsantrasyonunun artması ile arttığını ve ürünün çözünürlüğünün oluşumu için potansiyelin en az 0.75 V olması gerektiğini bulmuşlardır. Ayrıca farklı tuzların konsantrasyonuna ve katyonların yarıçaplarına bağlı olarak, anilinin oksidasyon potansiyelinin negatif potansiyeline doğru kaydığını belirlemişlerdir (Mu ve Kan, 1997).

Omastova ve ekibi; polimetilmetakrilat/polipirol, polipropilen/polipirol, polietilen/polipirol iletken kompozitlerini, polimer karışımı içine konulan polipirolün, kimyasal modifikasyonu ile hazırlamışlardır. Elemental analiz ile polipirol içeriğinin %w 0.25–17 arasında değerler aldığını tayin etmişlerdir. Örneklerin elektriksel iletkenliğinin polipirol konsantrasyonuna bağlı olup  $1 \times 10^{-11}$ –1 S/cm değerlerinde olduğunu belirlemişlerdir. Kompozit ve karışımların morfolojilerini, elektron mikroskopunda, polipropilen/polipirol kompozitinin kararlılığını termal gravimetrik analizde ve iletkenliğinde sıcak–soğuk çevrimi esnasınca analiz etmişlerdir. 80°C’ ta havada polipropilen/polipirol kompozitinin iletkenliğinde küçük bir düşme olduğunu bulmuşlar, termal gravimetrik analiz sonuçlarında da polimetilmetakrilat/polipirol kompoziti üzerine polipirolün etkisinin olduğunu ifade etmişlerdir (Omastova ve diğ., 1997).

1998 yılında yapılan bir çalışmada; farklı dopant iyonları içeren polipirol filmlerinin elektrokimyasal yolla sentezlendiği belirlenmiş, polipirol ve su arasındaki etkileşim, fonksiyonel küme tarafından değerlendirilmiştir (Okuzaki ve diğ., 1998).

Iovu ve arkadaşları, 1,4 cis-izoprenin, lantanit temelli stereospesifik polimerizasyonunun iyot–katkılama işlemlerini çalışmışlardır. Toluene, sikloheksan ve diklorometan olmak üzere üç farklı çözücü kullanmışlar ve dop işlemlerini, ultraviyole yöntemlerini kullanarak takip etmişlerdir. İşlemler esnasınca ise kompleksin delilleri meydana gelmiştir. Bu deliller; katkılama zamanı değiştikçe, absorpsiyon değerleri ve meydana gelen yapının renklerinin değişmesi olarak belirlenmiştir (Iovu ve diğ., 1998).

Vidal ve arkadaşları, glikozun belirlenmesi için glikozoksidaz (GOx) enzimin kapsüllemesi ve ince bir tabakada amperometrik hücre içinde platin elektrot üzerine

pirolün potansiyometrik elektropolimerizasyonunu çalışmışlardır. Polipirol Ag/AgCl elektrotla +0.85 sabit potansiyel altında 0.05-0.1 mL/dak akım aralığında pH 7'de enzim (250 U mL<sup>-1</sup>) ve monomerin (0.4 M) bir tampon çözeltide doğrudan şekillendiğini belirtmişlerdir. pH 7'de 0.1 M KCl ve 0.05 M fosfat tamponunun solüsyonu içine bir elektrolit taşımasıyla oluşan bir pirol'ün 500 mL'si enjeksiyonla polipirolün elektrosentezini denemişlerdir. Sensörde, glikoz'un analitik davranışına elektropolimerizasyonun etkisini araştırmışlardır. PPy/GOx sensör'ünün analitik performansı, polimer filminin kalınlığının fonksiyonu, ürik asit ve askorbik asit gibi elektroaktif türlere rağmen seçiciliği kadar saklanma ömrü ve kararlılığının zamanını da belirlemişlerdir (Vidal ve diğ.1998).

Alkan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, Poli(metilmetakrilat) ile bir tiyofen son gruba sahip sınırlı polidispers Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu (ATRP) tekniğiyle hazırlamışlar ve pirol ile tiyofen sonlu polimetilmetakrilat'ın elektirikçe iletken blok kopolimeri sabit potansiyel de elektroliz ile p-toluen sülfonik asit ve sodyum dodesil sülfat gibi destek elektrolit kullanarak sentezlemişlerdir. Blok kopolimerlerin karakterizasyonu CV, FTIR, SEM, TGA ve DSC analizleriyle yapmışlardır. Elektirik iletkenliğini ise dört nokta tekniği ile belirlemişlerdir (Alkan ve diğ., 1999).

1999 yılında yapılan çalışmada; Yurtsever ve Toppare yarı deneysel kuantum mekanik tekniklerini kullanarak bir ya da her iki uçta pirol içeren politetrahidrofuranın, iki farklı makromonomer olan tetrahidrofuran ve pirol arasındaki kopolimerizasyon olabirliğini araştırmışlardır (Yurtsever ve Toppare, 1999).

Koncki ve grubu inorganik filmlere değişik enzimleri kovalent bağ ile atak ettirerek, optik biyosensör materyali olarak kullanılabilirliğini kanıtlamışlardır. N-substitüye polipirolerin ağ içi ortamında ve prusya mavisinin transparan mavi filmi halinde ince pH 5-9 aralığında duyarlı 720 nm dalga boyunda ve modifiye edilebilen enzimlerin her bir biyosensör için sonuç verebileceğini belirtmişlerdir. Enzimlerin immobilizasyonunun birkaç metodu, bifonksiyonel kroslink belirteçleri kullanımını değişik enzimlerle test etmişlerdir. En iyi sonucun birinci basamakta olan karbodiimid metoduyla elde edildiğini bulmuşlardır ki bu sonucun yüksek aktiviteli, kararlı, asetilkolin ve ürenin optikçe belirlenmesi için saydam biyosensör filmler olduğunu belirtmişlerdir. Bir ayı aşkın kararlı çalıştığı ve oda sıcaklığında kuru olarak saklandığında iki ay kararlılığını koruduğunu belirtmişlerdir.

Biyosensörlerin her bir substratın milimolar değişimine izin verdiğini tespit etmişlerdir (Koncki ve diğ., 1999).

Omastova ve Simon yaptıkları çalışmada, polimetilmetakrilat/polipirol kompozitini, polimer karışımı içinde, pirolün kimyasal oksidasyonu ile sentezlemişlerdir. Polipirol miktarını, ağırlıkça %0.25–10 arasında değişen değerlerde elemental analiz ile ölçmüşlerdir. Hazırlamış oldukları kompozitin iletkenliği, polipirolün konsantrasyonuna bağlı olup,  $1 \times 10^{-9}$ –0.1 S/cm arasında olduğunu bulmuşlardır. Polimetilmetakrilat/polipirol kompozitinin yüzeyini X ışını spektroskopisi ve elektron mikroskopisi yöntemlerini kullanarak analiz etmişlerdir. Ayrıca antistatik özelliklerini de kontrol etmişlerdir (Omastova ve diğ., 2000 ).

Erginer ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada politetrahidrofuran-blok-polisitren matriksi ve pirol sonlu poliazotetrahidrofuran ile hazırlanan fonksiyonel polimer elektrodu üzerine invertazı immobilize etmişler. Bu enzimin, elektrod içine immobilizasyonu, pirol'ün elektrokimyasal polimerizasyonu boyunca iletken polimer matriksi içine enzimin hapsedilmesiyle yapmışlardır. Sodyum dodesil sülfatı enzim elektrodun hazırlanması için destek elektrolit olarak kullanmışlardır. Enzim elektrodun aktivitesini, pH ve sıcaklığın etkisini incelemişler ve tekrar kullanım sayısını belirlemişlerdir. Ayrıca Michaelis-Menten sabitinin değişimini ve maksimum reaksiyon oranı için değişimi araştırmışlardır (Erginer ve diğ., 2000).

Alkan ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada üreaz'ı tiyofen sonlandırılmış poli(metilmetakrilat) matrisi ve iletken polipirol içerisine immobilize etmişler. Enzimin immobilizasyonunu 0.02 M pirol, 2 mg/mL üreaz, 0.5 mg/mL destek elektrolitin çözeltisi içinde 1.0 V sabit potansiyel uygulamasıyla yapmışlardır. Çalışma sonunda optimum immobilizasyon şartını, elektroliz zamanını, elektroliz ortamını, elektroliz boyunca enzim konsantrasyonunu ve elektrolit tipini belirlemişler ayrıca serbest ve immobilize üreaz'ın Michaelis-Menten sabitlerini inceleyerek kinetik davranışını belirlemişlerdir (Alkan ve diğ., 2000).

Arıca ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, magnetik poli(metilmetakrilat) ( MPMMA) mikroyapıları bir 6-karbon ara bağlantısı ve çözücü evaporasyonu ile hazırlamışlardır. Poli(metilmetakrilat)'ın karbonil grubunun reaksiyonuyla kovalent bağ ile bağlandığını

belirtmişlerdir. Glikoamilaz karbodiimid (CDI) veya siyanojen bromür (CNBr) gibi bir bağlanma aracı kullanarak mikro yapılı MPMMA'nın ara bağlantısına rağmen kovalent bağlı olarak immobilize olduğunu belirtmişlerdir. İmmobilizlenen glukoamilazın aktiviteyi sağlamasının, CDI bağlandığında % 57 ve CNBr bağlandığında % 73 olduğunu belirlemişlerdir. Kinetik parametreler hazırlanan her iki immobilize glukoamilaz kadar enzimlerin bağlanmamış durumlarında da incelemişlerdir. CNBr bağlı ve CDI bağlı immobilize glukoamilaz için  $K_m$  oranı bağlanmamış enzimden daha yüksek olduğunu belirlemişler ve  $V_{max}$  oranları hazırlanan immobilize glukoamilaz için daha büyük olduğunu tespit etmişlerdir. Optimum işlem sıcaklığı hazırlanan her iki immobilizasyon için 5°C'den daha yüksek serbest enzim için ise daha da yüksek olduğunu belirtmişler ve saklanma kararlılığının immobilizasyon işlemiyle arttığını belirtmişlerdir (Arıca ve diğ., 2000).

Alkan ve çalışma grubu yaptıkları bir çalışmada, tiyofen sonlu poli(metil metakrilat)/polipirol matrisi içine invertazın immobilizasyonu farklı destek elektrolit kullanarak sabit potansiyel elektroliziyle aktiflemişlerdir. Enzim elektrodu için, substrat konsantrasyonu, sıcaklık ve pH gibi optimum reaksiyon şartlarını belirlemişlerdir. Sıcaklık ve pH'ın sırasıyla 60 °C ve 4,8 olduğunu tespit etmişlerdir. Enzim aktivitesi üzerinde destek elektrolitin etkisini belirlemişler, bunun SDS immobilizasyon işlemi için en iyi sonucu verdiğini belirtmişlerdir. PMMA/PPy matrisi içinde maksimum reaksiyon hızı ve Michaelis-Menten sabiti bozulmamış polipirolün hızı ve sabitinin farklı olmadığını belirtmişlerdir. Bununla beraber tekrar kullanımın dönemlerinde kopolimer matrisleri polipirole göre daha üstün olduğu sonucuna varmışlardır (Alkan ve diğ., 2000).

Kızılyar ve çalışma grubu yaptıkları bir çalışmada dört farklı polipirol/politetrahidrofuran/invertaz elektrotlarını elektropolimerizasyonla, iletken polimer matrisi içine invertazın kapsüllenmesiyle hazırlamışlardır. Enzim immobilizasyonu 0.01 M pirol, 0.4 mg/mL invertaz ve 0.4 mg/mL sodyumdodesilsülfat içeren bir çözelti içinde platin elektrota 1.1 V sabit potansiyel uygulayarak yapmışlardır. Her elektrodun performansını, elektrotların üzerine pH ve sıcaklığın etkisi izlenerek optimize etmişlerdir. İmmobilizasyon işleminde Michaelis-Menten sabiti değişimi ve reaksiyonun maksimum hızındaki değişimi araştırmışlardır. İmmobilizlenen enzimin bu matrislerde alıkonduğunu ve birkaç ay aktifliğini koruduğunu belirtmişlerdir (Kızılyar ve diğ., 2000).

Oshaka ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, inaktif polipirol filmiyle pH değişimini belirleyen ara yüzeyin bir kombinasyonu ile iminohidroliz oluşumunun sensör oluşumu üzerine duyarlılığı ve poliyon kompleksleri'nin (PIC) değişik kombinasyonlarını araştırmışlardır. Sensör oluşumunun duyarlılığı PIC'in anyonik türünün fonksiyonel birleşmesinin uzaklığı üzerine bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Duyarlılığın bağlılığı PIC analitinin difüzyonu enzim v.b'inin immobilizasyonu için kullanılan PIC'in moleküler seçimiyle ilişkili olduğunu vurgulamaktadırlar(Osaka ve diğ.,2000).

Alkan ve arkadaşları 4,4'-azobis (4-siyano-3-tiyofenilmetilpentan) (ACTMP)'i, 3-tiyofen metanol ve 4, 4'-azobis (4-siyanopentanoil klorür) kullanılarak sentezlemişler, ACTMP'yi, her iki uçta terminal tiyofen gruplarıyla polisitrenin sentezi için sonraki aşamalarda kullanmışlardır. Pirol ve terminal tiyofen gruplu polisitren'in iletken blok kopolimerini birkaç destek elektrot kullanarak elektrokimyasal yöntemle hazırlamışlar ve bu blok kopolimerlerin karakterizasyonunu yapmışlardır (Alkan ve diğ., 2001).

Yin ve Ruckenstein yaptıkları bir çalışmada su bazlı yarı katkılı iletken polipirol kopolimerini, su bazlı kopolimerin p-aminodifenilamin üzerinde pirolün aşılmasını ile sentezlemişlerdir. Bu polimerin iletkenliğini de 3.4 S/cm olarak bulmuşlardır (Yin ve Ruckenstein, 2001 ).

Çırpan ve arkadaşları; pirol sonlu poli(2-metil-2-okzalin)'i, benzil bromür ve halojen son gurupların değişmesi ile 2-metil-2-okzalinin katyonik polimerizasyonunu kullanarak sentezlemişlerdir. Elde edilen makromonomerin yapısını ve elektroaktivitesini, spektral analiz ve dönüşümlü voltometri ile ayrı ayrı analiz etmişler ve pirol ile poli(2-metil-2-okzalin)'in kimyasal ve elektrokimyasal aş kopolimerizasyonunda çalışmışlardır (Çırpan ve diğ., 2001).

Çırpan ve diğerleri yaptıkları çalışmada; kolesterol içeren yeni politiyofen zincirini, FeCl<sub>3</sub> gibi oksitleyiciyi, nitrometan/karbonditetraklorür içinde kullanarak kimyasal yolla, polimerleştirmişlerdir. Polimerizasyonu, diklorometan içinde sürekli sabit elektroliz akımı kullanarak başarmışlardır. Pirol ile PCM4 (sürekli sabit elektroliz akımı tarafından elde edilmiş) ve PCM1 (kimyasal polimerizasyon metodu ile hazırlanmış) ve tiyofen 3-il asetik kolesterol esterinin iletken kopolimerlerini sabit potansiyel akımı ve çeşitli çözücü-destek elektrolitler ile sodyumdodesil sülfat ve p-toluen sülfonik asit kullanarak sentezlemişlerdir.

Örneklerin karakterizasyonlarını dönüşümlü voltamografi, FT/IR, nükleer manyetik rezonans, termal gravimetrik analiz ve elektron mikroskopi yöntemlerini kullanarak analiz etmişlerdir. İki-nokta ve dört-nokta yöntemlerini kullanarakda iletkenliğini ölçmüşlerdir (Çırpan ve diğ., 2002).





## BÖLÜM II

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1 Giriş

Günümüzde kaynakları her geçen gün azalan doğal materyallere alternatif olan polimerler yaygın bir uygulama alanına sahiptirler.

Polimerlerin işlenme kolaylığı, mekanik davranışları, esnek yapılara ve düşük yoğunluğa sahip olmaları önemli avantajlarıdır.

Son yıllara kadar bilinen organik polimerlerin hepsinin oda sıcaklığında  $10^{-10}$  S/cm veya daha az iletkenliğe sahip yalıtkanlar olduğu bilinmekteydi. Bu özelliklerinden dolayı polimerler elektriksel açıdan yalıtkan malzeme olarak kullanılmışlardır. Polimerlerin de iletken karaktere sahip olabileceği ilk kez poliasetilen ile ilgili çalışmalarda anlaşılmıştır. Polimerlerin daha önce sözü edilen üstünlüklerinin metallerin elektriksel özellikleri ile birleştirilmesi polimer kimyası alanında oldukça önemlidir. Bu nedenle iletken polimerler üzerine yapılan çalışmalar yoğun şekilde sürdürülmektedir. Metallerin, polimerlere göre elektriksel özellikleri, üstün dirençleri ve genleşme avantajları yanında ağır, pahalı ve korozyona meyilli olmaları gibi dezavantajları bulunmaktadır. Benzer şekilde metalik yapıdaki yarı iletkenlerin de kırılma olmaları, saflaştırma ve işlenmelerinin güç olması gibi olumsuzluk vardır (Vala ve diğ. 1964).

İlerleyen yıllar içinde yapılan çalışmalarla farklı iletken polimerlerin sentezi ve iletkenlik değerlerinin artırılması yönünde önemli gelişmeler gözlenmiştir. Örneğin konjuge  $\pi$ -bağlarına sahip olan anilin, pirol, furan, tiyofen, inden ve azulen gibi organik maddelerden iletken polimerler sentezlenmiştir.

## 2.2 İletken Polimerler

İletken polimerler hazırlanış ve elektriği iletme mekanizmalarına göre üçe ayrılmaktadır. Bunlar; iyon-polimer katı elektrolit sistemleri, elektronik iletken materyallerin iletken olmayan polimerlerle filmleri ve elektronik taşınma ile elektriği ileten polimerlerdir.

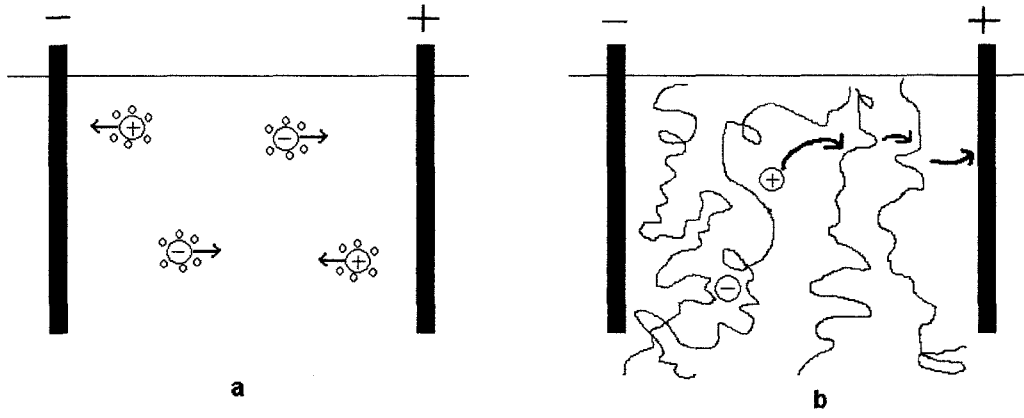
### 2.2.1 Polimerlerde iyonik iletkenlik

Bazı polimer molekülleri tuzlar için katı çözücüdürler. Bu özellikten yararlanarak elektriği iyonik mekanizma üzerinden ileten polimerler hazırlanabilmektedir. Suda çözünen NaCl'ün elektriği iletme mekanizmasına dayanarak bu tür polimerlerdeki iyonik iletkenlik açıklanabilmektedir.

NaCl çözeltisinde  $\text{Na}^+$  ve  $\text{Cl}^-$  iyonlarının elektrik potansiyeli altında zıt elektrotlara göçü ile elektrik iletir (Şekil 2.1a). Ortamdaki çözücü moleküllerinin çözünen molekülün iki iyonunu solvatize etme yeteneğine bağlı olarak iyonların birbirinden ayrılması kolaylaşır.

Genelde iyonik iletkenlik gösteren polimerlerin yapısında elektron verici bir grup bulunmaktadır. Polimerin yapısında yer alan bu gruplar tuzun katyonik bileşiği ile zayıf bağlar oluştururlar. Böylece polimer, tuzun her iki iyonunu veya birini solvatize eder ve iyonların ayrılmasını kolaylaştırır. İyonlar birbirinden yeterince uzaklaşmadığı sürece iyon çifti olarak kalmayı tercih edeceklerinden yük taşıyıcı olarak görev yapamayacaklardır.

Ancak, solvatizasyon ile iyonlar yeterince birbirinden ayrılırsalar da uygun elektroda göç etmek için yeterli hareketliliğe sahip değilseler, böyle bir sistem zayıf iletkendir. Bu nedenle polimerin yeterince esnek olması ve iyon göçüne izin verecek yeterli serbest hacime sahip olması gerekir. Kısaca, polimerin camsı geçiş sıcaklığı ve kristallik derecesi düşük olmalıdır.



Şekil 2.1 Sulu çözeltideki NaCl tuzunun iyonik iletkenliğinin polimerde çözülmüş bir tuzun iyonik iletkenliği ile karşılaştırılması

a) sulu NaCl çözeltisi, b) polimerde çözülmüş tuz

Tuzların uygun polimerlerde katı çözeltilerinin hazırlanması oldukça önemlidir. Bu amaçla polimer ve tuz için genel bir çözücü seçilir. Ayrı ayrı hazırlanan çözeltiler karıştırılarak çözücü uçurulur. Böylece polimer-tuz filmi oluşturulur.

Polimerde iyonik iletkenliğin mekanizması tam aydınlatılmamış olmasına rağmen şu şekilde açıklama getirilmektedir. Ortamda kullanılan elektrolitin anyon veya katyonlarının her ikisi veya biri polimer zinciri üzerindeki gruplara zayıfça bağlanırsa, bu gruplar polimerin ısı etkisi ile yapacağı eğilip bükülme hareketleri ile zincirler arasında taşınacaklardır. Bu taşınma polimer üzerindeki bir grubun bir başka polimer zincirindeki benzer gruba iyon transferi şeklindedir.

Eğer ortama elektriksel potansiyel uygulanırsa iyon difüzyonu tek yönde olacaktır. Örneğin, katyon, bir polimer molekülünden diğerine atlayarak katoda doğru göç edecektir (Şekil 2.1b). Burada iyon difüzyonuna olanak sağlayan serbest hacmin, iyon taşınmasındaki önemi ortaya çıkmaktadır. Bu mekanizma, amorf polimerlerin, elektriksel iletkenliği açıklamada niçin daha uygun olduğunu ve sıcaklığın yükseltilmesiyle iletkenliğin niçin arttığını açıklamaktadır.

Katı polimerik elektrolitlerde kullanılan tuzlar düşük kristal enerjisine sahip olmalıdır. Aksi takdirde iyon birleşmeleri ve yüksek kristal enerjisi nedeniyle iyon-çiftlerinin

ayrılması zorlaşır ve polimer ile solvatizasyonu güçleşir. Bu nedenle triflatat gibi büyük hacimli anyonlar kullanılır.

Polimerdeki tuz derişiminin de iletkenlik üzerinde önemli etkisi bulunmaktadır. Tuz derişimi düşük tutulduğunda iletkenlik değeri de düşüktür. Bu durumda iyonlar birbirinden daha iyi ayrılmış olmasına rağmen, iletkenliğe katkıda bulunan iyon sayısı azdır. Tuz derişimi arttırıldığında iletkenlik değeri artarak bir maksimumdan geçmekte ve daha sonra düşmeye başlamaktadır. Bu düşüş, kısmen iyon çifti oluşumunun bir sonucudur. Ayrıca iyonların polimerler arasında çapraz bağ oluşturmalarından da kaynaklanmaktadır. Bunun sonucu olarak polimerin camsı geçiş sıcaklığı artmakta ve iyon hareketliliği azalmaktadır.

### **2.2.2 İletken materyal-polimer filmleri**

Yalıtkan polimerlerin iletken polimerlere dönüştürülmesi grafit veya metal parçacıkları gibi iletken özellikteki materyallerin polimerlere katılması yöntemi ile gerçekleştirilebilmektedir. Polimer zincirine metal parçacıklarının katılması ile bazen oldukça yüksek iletkenliğe sahip (1.0 S/cm) filmler elde edilebilmektedir. Bu filmlerde elektronik iletkenlik değeri iletken parçacıklar arasındaki temasın derecesine oldukça bağlıdır. Poliakrilonitril veya poliesterlerin pirolizi de yarı iletken aralığına düşen bir elektriksel iletkenlik gösteren materyal verir.

### **2.2.3 Polimerlerde elektronik iletkenlik**

İletken polimerlerin üçüncü grubunu ise katı hallerinde elektriği elektronik iletkenlik mekanizmasıyla ileten makro moleküller oluşturmaktadır. Bu tip iletme gösteren polimerlerin, elektronların polimer zinciri boyunca göç etmesine ve zincirden zincire atlamasına olanak sağlayabildiği belirtilmektedir. Polimerlerdeki elektronik iletkenlik, metaller veya metalik yarıiletkenlerdeki elektronik iletkenliğe benzer davranış gösterir.

Bu tür iletkenlik poli(sülfür nitril) veya poliasetilendeki gibi yapısında düzenli konjügasyon ve delokalize olmuş çift bağları bulunduran polimerlerde görülmektedir.

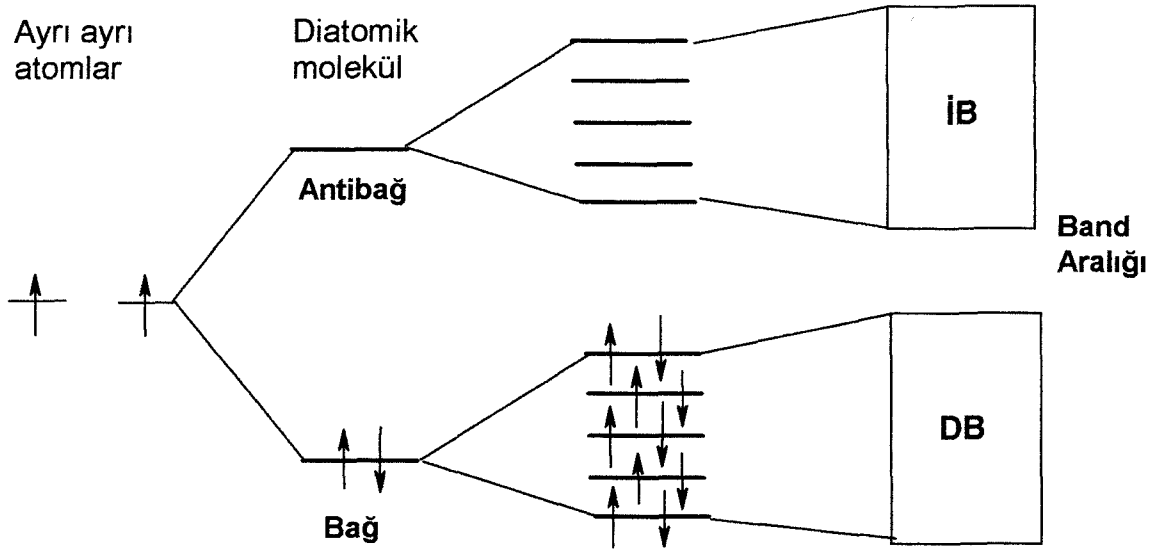
a. Band teorisi;

İletken, yalıtkan, yarıiletken ve polimerlerde elektronik iletkenliğinin mekanizması “band teorisi” ile açıklanmaktadır.

Band teorisine göre aralarında kimyasal bağ oluşan iki atomun atom yörüngeleri kaynaşarak, aynı sayıda molekül yörüngesi oluşturur. Örneğin, iki H atomundaki 1s yörüngeleri kaynaşarak iki tane molekül yörüngesi oluşmaktadır. Yeni molekül yörüngelerinden birinin enerji düzeyi 1s yörüngesinin enerji düzeyinden düşük, diğeri ise yüksektir. Enerji düzeyi düşük olan molekül yörüngesine bağ yörüngesi, yüksek olan molekül yörüngesine antibağ yörüngesi adı verilir. 2H atomuna ait olan  $2e^-$ , enerjisi düşük olan molekül bağ yörüngesine geçer ve böylece enerji bakımından daha uygun  $H_2$  molekülü oluşur.

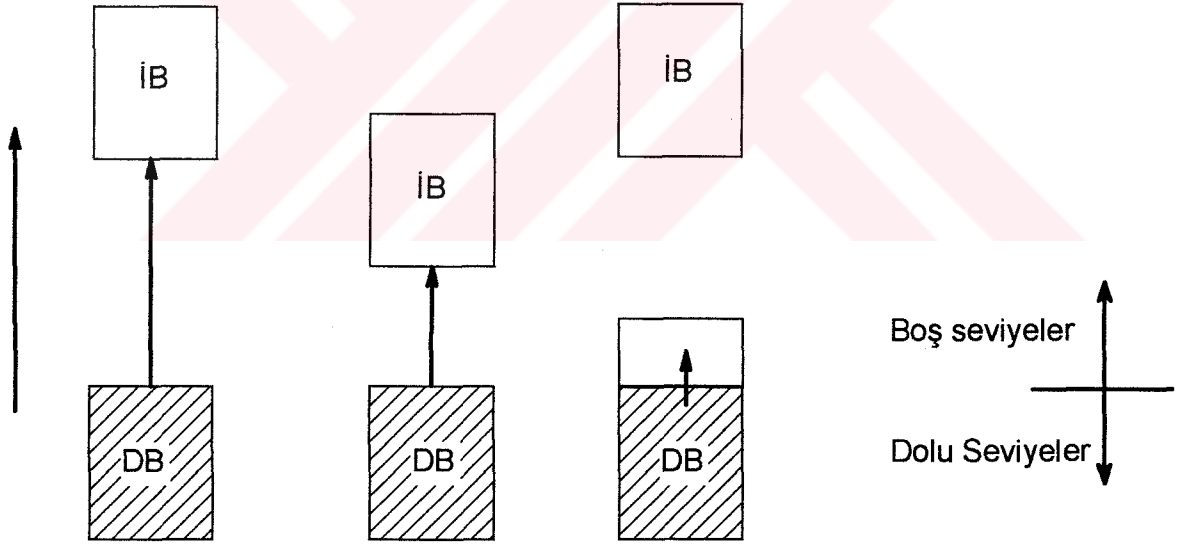
Polimer moleküllerinde atom sayısının çok fazla olması bağ ve antibağ orbitallerinin sayısını arttırmaktadır. Bunun sonucu olarak da fazla sayıda molekül orbitalleri oluşmaktadır. Bu bağ orbitallerinin çakışması sonucu oluşan banda değerlik (valans) bandı denir. Aynı şekilde çok fazla sayıdaki antibağ orbitallerinin çakışması ile de iletme bandı oluşmaktadır (Şekil 2.2). Bu iki band birbirinden band aralığı olarak bilinen bir enerji aralığı ile ayrılmaktadır.

Metallerdeki elektronların metal hacmi içinde serbest olarak hareket ettikleri kabul edilir. Şekil 2.3’de de görüldüğü gibi metallerde değerlik bandı, boş olan iletme bandı ile üst üste gelmiştir. Elektriksel iletkenlik en düşük iletme bandı içindeki elektronların hareketi ile sağlanır. Değerlik bandındaki elektronların boş iletme bandına geçebilmesi için enerjiye ihtiyaç yoktur.



Şekil 2.2 Orta büyüklükteki polimer molekülünde bağ ve antibağ orbitallerinin oluşumu

Yalıtkanlarda değerlik bandı dolu, iletme bandı boştur ve birbirinden belli büyüklükte enerji aralığı ile ayrılmıştır. İletme bandına elektronların geçişi ancak yeterli enerji sağlandığında elektron akışı ile mümkün olacaktır. Bu nedenle yalıtkanların iletkenlikleri çok düşüktür.



Şekil 2.3 Metal, yarıiletken ve yalıtkan katıların enerji seviyelerinin gösterimi

Yarıiletkenlerde ise, yalıtkanlardakine benzer şekilde değerlik bandı dolu, iletme bandı boştur. Değerlik bandı ile iletme bandı arasındaki enerji aralığı ısıtmayla verilecek enerji ile aşılabilecek kadar küçüktür. Bu yolla iletme bandına geçen elektronların bıraktıkları

boşluklar bu bantta kalan elektronların bir elektrik alanı etkisinde hareket edebilmelerine olanak sağlamaktadır

#### b. Yalıtkanlar

Elektriksel iletkenlik, değerlik bandı, iletme bandı veya band aralığı içinde yer alan yeni enerji seviyelerindeki çiftleşmemiş elektronların varlığı ile ilişkilidir.

Yapıda yer alan çiftleşmemiş elektronlar ısı veya ışık etkisi ile aktifleştirildikten sonra değerlik bandının en üst seviyesinden iletme bandının en düşük seviyesine atlayarak geçebilirler. İşte yalıtkan materyallerde, bu band aralıkları elektronların sıçramasını engelleyecek büyüklüktedir.

#### c. Yarıiletkenler

Yalıtkanlara göre daha dar band aralığına sahip materyallerdir. Yarıiletkenler  $10^{-7}$ - $10^2$  S/cm değerleri arasında iletkenlik gösterirler. İletme iki yolla oluşturulabilecek çiftleşmemiş elektronlar yardımıyla sağlanır.

Birincisi, eğer band aralığı küçükse değerlik bandının en yüksek enerji seviyelerinden iletme bandının en düşük seviyelerine elektronların atlaması için gerekli enerji ısı veya ışık etkisi ile sağlanacaktır. İletme bandına atlayan elektron burada serbestçe hareket edecektir ve zincir boyunca pozitif yüklü elektroda doğru göç ederek akım taşıyıcı görevini yapacaktır.

İkincisi ise, yarıiletken polimerlerin elektriksel iletkenliğinin bir dış kaynak yardımıyla ortama elektronların eklenmesi veya uzaklaştırılması ile mümkündür. Elektronların eklenmesi polimerin elektrokimyasal hücrede indirgenmesi ile veya elektron veren küçük moleküllerin ilavesi ile gerçekleştirilebilir. Polimerin elektrokimyasal yükseltgenmesi ile veya elektron alıcı maddelerle polimerin muamele edilmesi ile polimer molekülünden elektron uzaklaştırılabilir. Bu işlemler ile yük taşıyıcıların sayısı artırılabilirdiği gibi eklenen elektronların band aralığı içinde yeni enerji seviyeleri işgal etmesiyle band aralığı seviyesi düşürülür.

#### d. Metaller

Metaller, boş iletme bandı ve kısmen dolu değerlik bandına sahip materyallerdir. Metaller komşu atomlarla kovalent bağ yapmayan, çiftleşmemiş elektron bulunduran birçok metalik atom içerir. Değerlik bandının en düşük seviyelerinde bulunan elektronlar kolayca aynı bandın dolu olmayan en yüksek enerji seviyelerine geçebilirler. Burada elektronların bir enerji seviyesi bulmak için band aralığını geçmelerine gerek yoktur.

Böylece, metalik iletkenler değerlik bandında, elektronlardan daha fazla enerji seviyelerine sahiptirler. Yarıiletkenler ve yalıtkanlar ise, enerji seviyeleri kadar elektron içermektedirler. Bu durum, metalleri yalıtkanlar ve yarıiletkenlerden ayıran önemli bir özelliktir.

#### 2.2.4 İletkenlik ve katılama

Bir polimerin iletken özellik gösterebilmesi için yapısında konjuge çift bağ içeren zincir bulundurmasının gerekli olduğu Glarum tarafından belirtildiği rapor edilmiştir. Glarum konjuge polimerlerde elektriksel iletkenliğin, yapıda yer alan konjuge  $\pi$  bağları ile sağlandığını ileri sürmüştür. Bu nedenle çıkış maddesi olarak kullanılacak monomerlerin polimer zincirinde korunabilen aromatik veya konjuge karbon-karbon çift bağları bulunduracak yapıda olması gerekmektedir (Beret ve diğ.,1968

Asetilen gazını yüksek derişimde katalizör ile etkileştirerek reaktör duvarlarında film halinde elde ettikleri poliasetilenin cis-trans şeklinin  $10^{-9}$  S/cm, trans-trans şeklinin  $10^{-5}$  S/cm gibi yalıtkan-yarıiletken sınırına yakın iletkenlik gösterdiğini açıkladıklarında bu çalışma dikkate alınmamıştır. Ancak bu çalışma, mekanik özellikleri ilerlemiş poliasetilen film sentezi açısından önemli bir gelişme olmuştur (Shirakawa ve diğ., 1971). Daha sonra sentezledikleri saf poliasetileni alkali metaller, radikal anyonlar ve elektrokimyasal olarak indirgediklerinde veya  $AsF_5$ ,  $SbF_5$ ,  $I_2$  gibi elektron alıcı gruplar ile ve elektrokimyasal olarak yükseltgediklerinde iletkenliğinde önemli oranda artış gözlemeleri iletken polimerler açısından büyük bir gelişme olarak kabul edilmiştir. İletken polimer terimini de ilk kez bu çalışmada Mac Diarmid kullanmıştır. Polimer içindeki elektronların iletkenliğe katkıda bulunması “sentetik metaller” adı altında yeni bir bilim dalının ortaya çıkmasına yol açmıştır (Mac Diarmid ve diğ.,1987) .



Polimerlerde iletkenlik  $\sigma$ , taşıyıcı derişimi (birim hacim başına düşen taşıyıcı sayısı)  $n$  ve taşıyıcı hareketliliği  $\mu$ ' ye bağlıdır. Aşağıdaki denklem ile hesaplanır.

$$\sigma = e n \mu \quad (2.1)$$

Elektronlar polimer zinciri boyunca farklı bağ uzunlukları ve yük taşıyıcılarının etkinliğinden dolayı polimer içinde ve polimer zinciri boyunca hareket edemezler. Ayrıca band aralığının artması ile taşıyıcı derişimi üstel olarak azalmaktadır. Saf halde konjuge polimerler büyük band aralıklarına sahip olduğundan dolayı taşıyıcı derişimi normal sıcaklıkta çok düşüktür. Bu nedenle, konjuge polimerlerin zincir yapıları iletme için uygunsa da düşük taşıyıcı derişimi nedeni ile düşük iletkenliğe sahiptirler.

Bu polimerleri elektriksel iletken yapabilmek için hareketli yük taşıyıcılarının (dopant) eklenmesi gerekir. Bu durum konjuge  $\pi$  yapısına sahip olan polimerleri elektron alan ve elektron veren gruplara yükseltgeme ve indirgeme işlemleri ile sağlanmaktadır. Örneğin, elektron çekici bir grubun polimerlerden bir elektron uzaklaştırması ile polimer yükseltgenir ve zincir üzerinde bir radikal katyon oluşur. Eğer radikal katyon yüksek dopant derişimlerinde anyonların kulon yükü perdelenmesiyle veya ısı enerjisi yardımıyla anyon ile bağlanma enerjisini yenebilirse, polimer zincirinde hareket ederek iletkenliğe katkıda bulunur. Bu işlem katkılama (doping) olarak adlandırılmaktadır. Katkılama terimi bir anlamda farklı değerlendirilebilmektedir. Çünkü dopant derişimi, katkılanmış inorganik yarıiletkenlerdekine göre oldukça yüksektir. İnorganik maddeleri yarı iletken hale getirmek için ilave edilen katkılama maddeleri ppm mertebesinde dir. Fakat iletken polimerlerde dopant, polimer bileşiminin %50' sini oluşturmaktadır. Böyle bir sistem katkılanmış polimerlerden daha çok iletken yük transfer kompleksi olarak tanımlanabilir. Ancak, katkılama (dop etme) terimi literatürde yerleşmiş ve genel kullanımda kabul edilmiştir.

Katkılama, işleminde polimerlerin değerlik bandındaki elektronlar ya bir yükseltgen ile koparılır ve değerlik bandı pozitif yüklü hale getirilir veya indirgen madde boş iletkenlik bandına bir elektron verebilir. Bu işlemlerde, yükseltgenmeye karşılık gelen p-türü katkılama, indirgenmeye karşılık gelen n-türü katkılama olarak adlandırılır. Buradaki p-tipi ve n-tipi iletken polimerler, p ve n tipindeki yarıiletkenler ile karşılaştırılmaz. Çünkü, her ikisi de farklı mekanizmaya sahiptir. Silisyum ve germanyum gibi elementlerin oluşturduğu p-tipi yarıiletkenlerde, yalnızca kristalin bağ yapısının gerekenden daha az

elektrona sahip olduğu anlamında pozitifdir. Arsenik ve antimon gibi elementlerin oluşturduğu n-tipi yarıiletkenlerde ise, kristal bağ yapısının gerekenden fazla elektrona sahip olması anlamında negatifdir. Her iki yapıda kristalin kendisi elektrikçe nötraldir.

Kimyasal olarak doping işleminde şu ana kadar literatürde en çok yayınlanan katkılama molekülleri;  $AsF_5$ ,  $I_2$ ,  $SbF_5$ ,  $AlCl_3$ ,  $ZrCl_4$ ,  $FeCl_3$ ,  $Br_2$ ,  $IF_5$ ,  $O_2$ ,  $NO_2PF_6$ ,  $NO_2SbF_6$ ,  $MoCl_5$ ,  $WCl_6$  ve liste hızla gelişmeye devam etmektedir. Bu örneklerden  $AsF_5$ , ve  $I_2$  ilk kullanılan yükseltgeyici katkı maddeleridir.

Elektrokimyasal katkılama işleminde ise, polimerin yükseltgenmesi veya indirgenmesine elektrik akımı neden olur ve karşıt iyon elektrik alanı ile elektrolit çözeltisinden sisteme çekilir. Elektron alıcı bir grubun katılması için yani yükseltgenmeyi oluşturmak için uygulanan voltaj pozitif potansiyeldir. Yükseltgenmiş polimeri daha fazla yükseltgemek için uygulanan voltaj yeterli olmadığı zaman elektrokimyasal katkılama işlemi durur.

Elektrokimyasal katkılama işlemi kimyasal katkılama işlemi ile çok benzer ilerler. Ancak, elektrokimyasal katkılama işleminde yükseltgenme veya indirgenme için gerekli enerji, dış voltaj kaynağı ile sağlanırken oluşan iyonlaşmış polimerin karşıt iyonu destek elektrolitten sağlanır.

Katkılama derecesinin kontrolü ile yarıiletken bir materyal, metale veya kararlı bir ara hale dönüştürülebilmektedir. Son yıllarda perklorik asit, sülfürik asit veya triflorometansülfonik asit gibi güçlü protonik asitlerin “proton dopantlar” olarak kullanıldığı bulunmuştur.

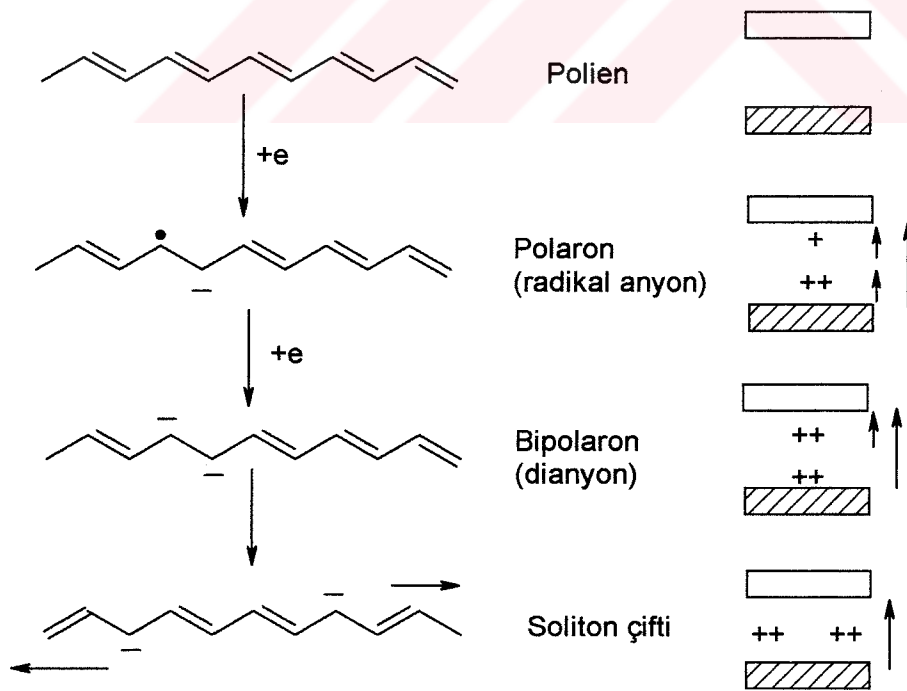
### **2.2.5 Polimerlerde iletkenlik teorisi**

Dopantlar, iletkenlik üzerinde neden bu kadar önemli bir etkiye sahip olduğu, dopant içeren bir sistemde yük taşıyıcıların neler olduğu şu şekilde açıklanabilir.

Kimyasal veya elektrokimyasal indirgenme sonucu oluşabilecek çiftleşmemiş elektronlar, iletme bandının en düşük seviyelerine geçerek akım taşıyıcı görevi yapmaktadırlar. Tersine yükseltgenme işleminde ise, değerlik bandının en dış seviyesindeki elektronlar uzaklaşarak pozitif yükler oluşturmakta ve geride kalan çiftleşmemiş elektronlar akım taşıyıcı görevi yapmaktadırlar.

Örneğin, poliasetilene katkılama ile eklenen bir elektron iletme bandına geçemez fakat band boşluğu içinde bir ara elektronik seviyeye geçer (Şekil 2.4). Burada oluşan indirgenme ürünü bir radikal anyondur. Boşluk içindeki enerji seviyesi  $\pi$  - bağının iki elektronu ile ve /veya indirgenme ile eklenen bir elektron ile doldurulmuştur. Bu şekilde oluşan yapıya “polaron” adı verilir. Aynı yere ikinci bir elektronun eklenmesi ile oluşan dianyon ise “bipolaron” adını alır (Şekil 2.4). Bipolaronlar çiftleşmiş elektron içermektedirler. Fakat band içindeki enerji seviyeleri elektronların iletme bandına atlamasını kolaylaştırmaktadır. Poliasetilenin yükseltgenmesinde ise değerlik bandından bir elektron uzaklaşarak bir radikal katyon yani bir pozitif polaron, daha ileri yükseltgenme işlemi ile de pozitif bipolaronları oluşturmak üzere birbirlerini etkiler. Bu durumda iki radikalın birleşmesi ile yeni bir  $\pi$ -bağı oluşmaktadır. Oluşan  $\pi$ -bağı enerji bakımından iki radikal katyonun bağlarından daha kararlıdır. Bipolaronlardaki pozitif yüklerin akışkanlığının yüksek olması nedeniyle iletkenliğe asıl katkıda bulunanların bipolaronlar olduğu açıklanmıştır.

Poliasetilen, doymamış zincirler arasında iki farklı ve eşit enerjili rezonans seviyelerine sahip tek polimerdir. Cis-trans poliasetilenin, trans-trans poliasetilene izomerleşmesi sırasında oluşan konformasyonal değişikliklerden ortaya çıkan yapı;



Şekil 2.4 Poliasetilen örneğinin indirgenmesi ile oluşan polaron, bipolaron ve soliton çifti yapılarının band aralığındaki yerleşimi hatasına soliton denir (1).



(1)

Solitonlar, iletkenlik olayında alternatif bir mekanizma sağlamaktadırlar. Solitonun enerji seviyesi band aralığının ortasında yer almaktadır (Şekil 2.4). Örneğin, sistemde bir elektronun değerlik bandından iletme bandına sıçraması için 0.7 eV enerji gerekliken bir soliton oluşturmak için yalnızca 0.4 eV enerji gereklidir.

Katkılama poliasetileninde solitonların akım taşıyıcı görevini yaptıkları belirtilmiştir. Şekil 2.4' de gösterildiği gibi bir polaron boşluğun ortasındaki enerji seviyesinde daha düşük enerjide iki negatif solitona ayrılmaktadır. Bu durumda akım, yüklü solitonlar ile taşınabilmekte ve hatalı kısımlar zincir boyunca hareket etmektedirler.

### 2.3 İletken Polimerlerin Sentezi

İletken polimerleri sentezlemek için belli başlı dört metod kullanılmaktadır. Bunlar; elektrokimyasal polimerizasyon, kimyasal polimerizasyon, piroliz, katalitik polimerizasyon (Ziegler-Natta katalizörlü) teknikleridir. Bu polimerizasyon metotlarından sıkça kullanılanları elektrokimyasal polimerizasyon ve kimyasal polimerizasyondur.

İletken polimerlerin sentezinde, başlangıçta kullanılan monomerler sonuçta oluşan polimerin yapısında korunabilen tipik aromatik veya çoklu konjuge bağ yapısına sahiptirler. Örneğin asetilenin polimerizasyonu sonucu konjuge etilen birimlerini içeren polietilen oluşmaktadır. Benzenin polimerizasyonunda ise birbirine kovalent bağlı aromatik zincirli poli(p-fenilen) oluşur. Bu şekilde elde edilen iletken polimerlerin yapısında  $\pi$ - konjugasyonununun uzatılması çok önemlidir.

#### 2.3.1 Elektrokimyasal polimerizasyon

Elektrokimyasal polimerizasyon, bir elektrot yüzeyinde yürüyen reaksiyonlarda oluşan ürünlerin başlattığı polimerizasyon olarak tanımlanmaktadır. Bu yöntemde elektrot zincir büyümesini katalitik olarak başlatır. Elektrokimyasal polimerizasyonda kullanılan başlatıcı, polimerizasyon ortamındaki monomerin veya elektroliz çözeltisinin

yükseltgenmiş veya indirgenmiş şekli olabilir (Funt ve diğ. 1970,1971). Stiren ve izobütil vinil eterin elektrokasyonik polimerizasyonunda başlama basamağının mekanizmasını açıklamaya çalışmışlardır. Bu araştırmacılar başlama basamağındaki destek elektrolitin anyonunun yükseltgendiğini veya monomerin büyümekte olan radikal katyona yükseltgendiğini açıklamışlardır.

Elektrokimyasal polimerizasyonda monomer, uygun bir çözücü ve destek elektrolit ile birlikte elektroliz hücresine konularak elektroliz edildiğinde elektrot yüzeyinde veya çözeltide polimer oluşmaktadır.

Elektrokimyasal polimerizasyon işlemlerinde kullanılan elektroliz hücresi genellikle çalışma, karşıt ve referans elektrottan oluşan üç elektrotlu bir sistemdir.

Elektrokimyasal yolla yapılan ilk sentez Letheby tarafından anilin içeren seyreltik sülfürik asit ( $H_2SO_4$ ) çözeltisinde, anilinin anodik polimerizasyonu sonucu Pt elektrot üzerinde mavi-siyah renkli, suda çözülmeyen polianilin polimerinin eldesidir. Daha sonra bu metod Szavasy tarafından kullanılmıştır. Bu çalışmadan sonra 1940' lı yılların sonunda bazı vinil monomerlerinin elektrokimyasal polimerizasyonunun incelenmesine kadar konu ile ilgili yayına rastlanmamıştır (Rembold, 1947).

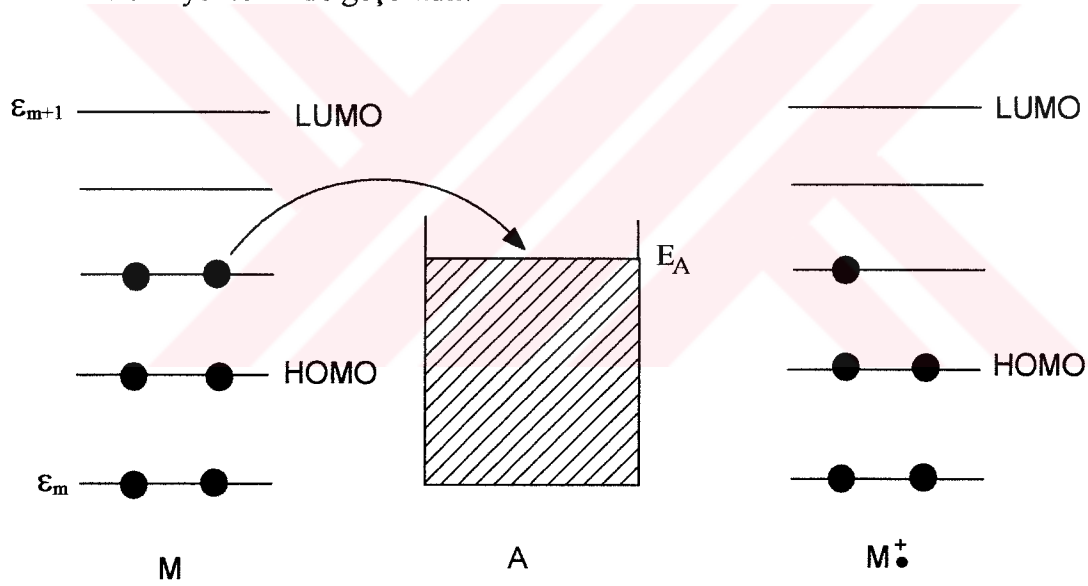
Elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi diğer polimerizasyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında bazı avantajlara sahiptir; örnek olarak reaksiyonlar oda sıcaklığında tamamlanabilmektedir. Potansiyel ya da akım zamanla değiştirilerek filmlerin kalınlığı kontrol edilebilmektedir. Homojen filmler elde etmek mümkün olmaktadır. Ayrıca polimerin dopingi istenilen iyon ile gerçekleştirilmektedir. Elektrokimyasal polimerizasyon yönteminde reaksiyonların başlama ve bitiş basamakları hassas bir şekilde kontrol edilebilmektedir. Buna bağlı olarak molar kütle dağılımı da kontrol altında tutulabilmektedir. Bunun yanında, elektrokimyasal polimerizasyon yöntemi seçici potansiyel kontrolü ile istenilen özellikli kopolimerlerin üretiminde önemli rol oynamaktadır. Polimerizasyon hızının incelenmesi sırasında ise hızlı olan elektrokimyasal yöntemlerin kullanılması avantaj sağlamaktadır. Kimyasal yöntemlerle aktivasyonu mümkün olmayan monomerler (ketonlar, aldehitler, tiyoketonlar vs.) elektrot potansiyeli ile kolayca aktifleştirilebilmektedirler. Elektrot potansiyeli monomeri kimyasal başlatıcılara göre daha kuvvetli etkileyebilmektedir.

Elektrokimyasal polimerizasyon yönteminde başlama indirekt ve direkt yolla yapılabilmektedir.

İndirekt başlamada, ortama destek elektrolit olarak elektroaktif tuzlar katılmakta veya sistemdeki bütün türlerin yükseltgenme potansiyellerinden daha yüksek potansiyel uygulanmaktadır.

Direkt başlamada ise monomerler polimerleşmeyi sürdürecektir kendi radikal kationlarını veya kationlarını oluşturmak üzere anoda elektron transferinde bulunurlar. Burada HOMO enerji seviyesinden bir elektron anoda aktarılır (Şekil 2.5).

Elektrokimyasal polimerizasyon yönteminde elektroliz işlemi iki şekilde gerçekleştirilebilir; Sabit potansiyel elektrolizi ve sabit akım elektrolizi. Direkt başlama her iki elektroliz yönteminde geçerlidir.



Şekil 2.5 Anodun enerji bandı, monomer ve monomerin radikal kationunun moleküler enerjilerinin gösterimi

### 2.3.1.1 Sabit potansiyel elektrolizi

Bu tip elektrolizde polimerizasyon, potansiyeli sabit tutulan elektrot yüzeyinde ilerler. Çalışma elektrodunun potansiyeli potansiyostat ile referans elektroda göre istenilen değere ayarlanabilmektedir. Çalışma ve referans elektrot arasındaki bu potansiyel polimerizasyon

potansiyeli olarak adlandırılır. Potansiyelin sabit tutulması ile ortamda istenmeyen ürünlerin oluşumu engellenmektedir.

Sabit potansiyel elektrolizinde, gösterilen üç elektrodlu (çalışma, karşıt ve referans) hücre kullanılmaktadır. Üç elektrodlu hücre sistemini kullanmanın birkaç nedeni vardır; birincisi, çalışma elektrodun potansiyelini uygun referans elektroda göre sabit tutmak; ikincisi, elektrokimyasal hücredeki IR düşüşünü yenmek; üçüncüsü ise referans elektrottan akan aşırı akımı engellemek içindir.

Polimerizasyon hücresinde kullanılan referans elektrot Luggin kapileri yardımıyla çalışma elektroduna yaklaştırmıştır. Luggin kapilerinin amacı ölçümlerdeki IR düşüşünden gelen hata payını en aza indirmektir. Çalışma ve karşıt elektrodu içeren yarı hücreler birbirinden orta poroziteye sahip bir disk ile ayrılmıştır.

Sabit potansiyel elektrolizinde, sabit tutulacak potansiyelin değeri dönüşümlü voltametri tekniği ile tayin edilmektedir. Dönüşümlü voltamogramlarda akım uygulanan potansiyelin bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirilir. Sistemden geçen akım, voltaj tarama hızına, elektron transfer hızına ve elektroaktif maddenin yüzeye difüzyonuna bağlıdır.

### **2.3.1.2 Dönüşümlü voltametri yöntemi**

Dönüşümlü voltametri (CV) sistemi, potansiyostat, fonksiyon jeneratörü, XY kaydedicisi ve bir CV hücresinden oluşmaktadır.

CV, monomerlerin ve polimerlerin, elektroaktif türlerin elektrokimyasal davranışını incelemek için kullanılan en yararlı yöntemlerden biridir. Bu yöntemde çalışma elektrodu (Pt, Au, grafit vb), karşılaştırma elektrodu ve referans elektrot (doymuş kalomel elektrot veya  $Ag/Ag^+$ ) dan oluşan üç elektrodlu bir CV hücresi kullanılmaktadır.

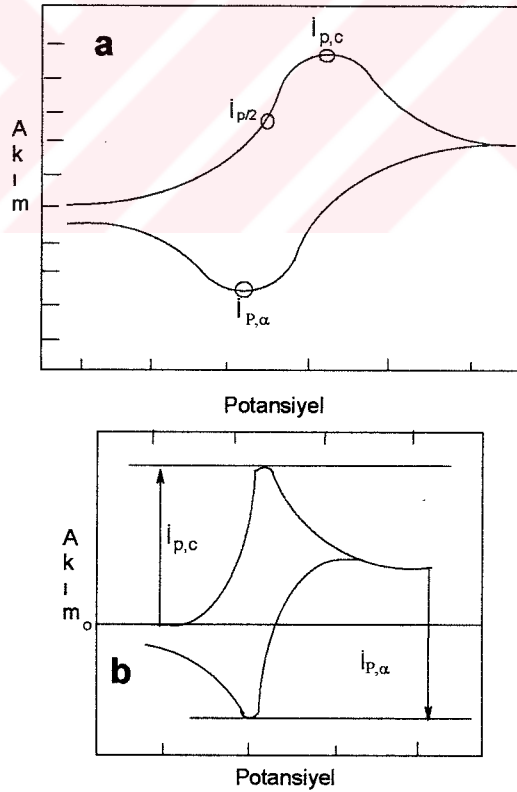
CV işlemlerinde, çalışma elektrodun potansiyeli zamana karşı taranırken, devreden geçen akım, potansiyele karşı XY kaydedicisiyle kaydedilerek voltamogramlar elde edilmektedir. Geçen akım elektroaktif türlerin elektrot yüzeyine difüzyonuna, transfer edilen elektronların sayısına, elektrot alanına ve voltaj tarama hızına bağlıdır. Akımda gözlenen

artışın tepe noktası, monomerin elektron aktarımı potansiyelini yani çalışma potansiyelini verir. CV tekniği ile hem indirgenme hem de yükseltgenme potansiyeli ölçülebilmektedir.

Böylece, oluşan elektrot reaksiyonlarının tersinir olup olmadığı hakkında bilgi elde edilebilmektedir.

Tersinir olarak yürüyen elektrot reaksiyonlarında ilk olarak anodik ve katodik pik potansiyelleri arasındaki farkın 57-60 mV arasında olması gerekir. İleri doğru ilk taramada pik potansiyeli ile yarı pik potansiyeli arasındaki fark 56 mV olmalıdır (Şekil 2.5a). Ayrıca katodik pik akımının anodik pik akımına oranı 1 olmalıdır. ( $I_{p,k}/I_{p,a} = 1$ ) (Şekil 2.5b).

Tersinmez yürüyen tepkimelerin voltamogramlarında geri taramada katodik dalga yer almamaktadır. Tersinir tepkimelerde pik potansiyeli tarama hızından bağımsız iken, tersinmez tepkimelerde pik potansiyeli tarama hızına bağlıdır. Elektron transfer hızının ve kütle transfer hızının yavaş olduğu elektrot reaksiyonları tersinmez reaksiyonlar gibi davranmaktadır. Ayrıca elektron transferinin yavaş, kütle transfer hızının hızlı olduğu tepkimelerin voltamogramları da tersinmez tepkimelerinkine benzemektedir.



Şekil 2.5 Tersinir bir reaksiyona ait voltamogramlar a) pik potansiyelleri ve akımları b) pik akımları oranının ölçülmesi



### 2.3.1.3 Sabit akım elektrolizi

Bu metotta iki elektrotlu hücre kullanılır ve elektroliz boyunca akım sabit tutulur. Yalnızca anot ve katot arasına doğrudan akım uygulanır. Metod, uygulamada basit olmasına rağmen, bazı dezavantajlara sahiptir. Potansiyel değişken bir parametre olduğundan dolayı ortamda monomer dışında bulunan çözücü ve elektrolit gibi maddelerin yükseltgenmesi sonucu istenmeyen ürünler oluşmaktadır. Ayrıca ortamda oluşan ürünün daha ileri yükseltgenmesi ve indirgenmesi de mümkündür. Böylece ortamda oluşan türlerin yapısı belirlenememektedir.

### 2.3.2 Kimyasal yöntem

Kimyasal yöntemde, uygun bir çözücüde çözülen monomer bir yükseltgeme veya indirgeme aracı olarak kullanılan bir kimyasal madde ile etkileşerek polimerleşir. Bu yöntemde yükseltgenme basamağının kontrol edilememesi ve oluşan ürünün saf olmaması dezavantaj oluşturmaktadır.

Kimyasal yöntemde, kullanılacak olan katkılama maddesi ve katalizörün elde edilecek iletken polimerin elektriksel iletkenliği üzerinde önemli etkisi bulunmaktadır. Örneğin, Toshima tarafından yapılan poli(p-fenilen)' in sentezi çalışmasında doping maddesi olarak  $\text{CuCl}_2$  ve katalizör olarak  $\text{AlCl}_3$ ' ün kullanılması ile elde edilen polimer elektriksel iletkenlik göstermemiştir. Ancak katkılama maddesi olarak  $\text{AsF}_5$  veya Li gibi maddelerin kullanılması ile 0.3-500 S/cm arasında değişen iletkenlik gözlenmiştir. Pirolin  $\text{FeCl}_3$ -metanol ortamında kimyasal polimerizasyonu ile yaklaşık 200 S  $\text{cm}^{-1}$  iletkenlik gösteren polipirrol sentezlenmiştir (Machida ve diğ., 1989).

Sharikawa 1977'de poliasetilen filmi  $\text{AsF}_5$  ile yarı-iletkeneye dönüştürdüktan sonra asetilenin farklı türevlerinin polimerizasyonu için birçok dopant yanında katalizörler incelemiştir. İncelenen en önemli katalizörün Ziegler-Natta katalizörü olduğu belirtilmiştir. Diğer katalizörler çok az kullanılmıştır.

Genelde Ziegler-Natta katalizörleri, periyodik sistemde I. ve III. sıradaki metallerin organometalik bileşikleriyle IV. ve VIII. sıradaki geçiş metallerinin bileşiklerinin birlikte kullanıldığı katalizörlerdir.

Bu katalizörlerde geçiş metali bileşiği katalizör ( $TiCl_4$ ,  $VCl_4$  gibi) olarak, organometalik bileşik (dietyl alüminyum klorür gibi) ise kokatalizör olarak tanımlanmıştır. Bu tür koordinasyon katalizörleri polimerizasyonu başlatmak yanında koordinasyon yetenekleri sayesinde monomer birimlerinin polimer zincirlerine hep aynı düzende katılmalarını sağlarlar.

### **2.3.3 Piroliz**

Piroliz, iletken organik materyaller elde etmek için bilinen en eski yöntemdir. Bu yöntemde uzun bir aromatik yapı oluşturmak için ısıtma ile polimerden heteroatomlar (halojenler, oksijen ve azot gibi) ayrılmaktadır (Grossie ve diğ., 1958).

Piroliz, konjugasyonu genişleterek yük taşıyıcı hareketliliğini ve serbest radikaller oluşturarak yük taşıyıcılarının sayısını arttırmaktadır. Bu serbest radikaller katyonlar oluşturmak için elektron verici veya anyonlar oluşturmak için elektron alıcı olarak etki edebilirler. Polimer pirolizinin ürünü, başlangıç polimerinin yapısı ve piroliz şartlarına bağlı olarak toz, film veya lif halinde olabilmektedir.

### **2.4 İletken Polimerlerin Kullanım Alanları**

İletken polimerler çeşitli elektrokimyasal özelliklerinden dolayı çok değişik alanlarda kullanılabilir. Şarj olabilen piller, fotoelektrokimyasal hücreler, elektrokromik aletler ve iyon seçici elektrotların yapımında kullanılmaları yanında sensör olarak kullanım alanları bulunmaktadır.

En önemli iletken polimerler arasında yer alan polianilin'nin diğer polimerlere göre hızlı ve kolay hazırlanabilmesi, neme ve yükseltgenmeye karşı kararlı oluşu gibi sahip olduğu avantajlardan dolayı kuru ve nemli pil yapımında kullanılabileceği önerilmiştir (Mac Diarmid ve diğ., 1987).

PPy iletken polimeri ile hazırlanan bir pilin performansını incelemiştir. Bu çalışmada Pt üzerinde sentezlenerek hazırlanan Pt/PPy elektrotu katot olarak, Li/Ni elektrodununda anot

olarak kullanılmasıyla hazırlanan pilin şarj/deşarj özelliği incelenmiştir (Osaka ve diğ. 1988).

Günümüzde insan ve çevrenin korunması her şeyden önemli olduğu için, sıcaklık, basınç, nem ve kimyasal maddeler gibi fiziksel ve kimyasal değişiklikleri ölçmek için yeni ve gelişmiş sensörlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle, iletken polimerlerin sensör olarak kullanımı son yıllarda büyük ilgi çekmektedir. Bunlar pH sensörleri, gaz sensörleri ve biyosensörler olarak üç grupta toplanmıştır. Örneğin, süzgeç kağıdına emdirilen polipirol oda sıcaklığında amonyak gazına karşı duyarlıdır. Gazlar kuvvetli indirgen ve yükseltgen özellik gösterebildiklerinden polimer filmlerin iletkenliklerini etkilerler. İletken polimerlerin bu özelliklerinden yararlanılarak çeşitli gaz sensörleri yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada polibisfenol-A-karbona (PC) polianilin filminin iletkenliğinin çeşitli kimyasalların buharları karşısındaki değişimi incelenmiştir (Doğan ve diğ., 1993). Örneğin, NH<sub>3</sub> buharının filmin direncini arttırdığı, HCl buharının ise direnci azaltıcı bir etki yaptığı gözlenmiştir. Polianilin'den başka diğer iletken polimerlerinde gaz sensör olarak kullanılabilecekleri belirtilmiştir. NO gazına maruz bırakılan politiyofen filmlerin iletkenliğinin arttığı, CO ve NO<sub>2</sub> gazlarına maruz bırakıldığında ise iletkenliğinde çok az azalmalar olduğu tespit edilmiştir. İletken polimerlerin otomobil endüstrisinde yakıtlardaki oksijen seviyesini tayin etmek amacıyla galvanik katı elektrolit olarak kullanıldığı literatürde yer alan çalışmalar arasındadır (Sukeerthi ve Contractor, 1994).

Bazı iletken polimerlerin asidik ve bazik ortamlardaki akım, direnç gibi iletkenlik özellikleri incelenerek, bu maddelerin pH sensörü olarak kullanılabilecekleri gösterilmiştir. Örneğin, polianilin'nin iletkenliği pH' ın ve elektrokimyasal potansiyelin bir fonksiyonudur. Polianilin'nin iletkenliği düşük pH' larda ve +0.5V - +0.9V aralığında yüksektir.

İletken polimerlerin biyosensör olarak kullanımlarında, biyolojik çözeltinin pH'ı ile iletken polimerin iletkenliğindeki değişiklik, biyolojik kökenli moleküller için sensör amaçlı kullanılmaktadır (Alva ve Phadke, 1994).

İletken polimerlerin diğer kullanım alanları fotovoltajik hücreler ve transistörler oluşturmaktadır. Ayrıca katalitik elektrot olarak da kullanılabilmektedirler. Örneğin, Ag ve

Pt parçacıkları ile karıştırılmış politiyofen H<sup>+</sup> unun indirgenmesi için katalizör olarak kullanılmaktadır.

Elektriksel devrelerde diğer metaller veya bakır teller yerine hafif oldukları için poliasetilen lifleri kullanmak mümkün olmaktadır. Ayrıca, bataryalarda ve yakıt hücrelerinde de hafif elektrotlar olarak poliasetilenin kullanılması uygundur.

İletken polimerler elektronik iletkenliklerinin bir sonucu olarak düşük frekanslı elektromagnetik radyasyonu absorblayarak elektromagnetik girişime karşı koruyucu bir kılıf görevi yapmaktadır.

Son yıllarda iletken polimerler kullanılarak diyot , transistör, rezistör ve kapasitör gibi elektronik alet ve cihazların yapımında kullanıldıklarından ticari uygulama alanları bulmaktadırlar. Bu cihazlarda, kullanılan polimerin indirgenme ve yükseltgenmesine bağlı olarak oluşan kimyasal sinyaller elektrik sinyaline çevrilerek okunabilmektedir. Polianilin ve mikro elektronik aletlerden yararlanılarak bir kimyasal transistör elde edilmiştir (Paul ve diğ., 1985).

Dop edilmiş iki farklı veya aynı polimerin kullanılmasıyla üretilen bir transistörde, politiyofen (PT) yarı iletken olarak, PPy ise kaynak ve akıtıcı elektrot olarak kullanılmıştır (Maiti,1994).

Fotokimyasal hücreler tarafından güneş enerjisinin kimyasal ya da elektrik enerjisine dönüştürülmesi ile ilgi çeken uygulama alanlarından birisi olmuştur. Bu alanda yapılan bir çalışmada, ince Pt film tabakası ile modifiye edilmiş olan silisyum fotoanodun yüzeyi PPy ile kaplanmıştır. Bu işlemin elektrodu daha dayanıklı ve kararlı hale getirdiği gösterilmiştir. PPy kaplanmış bu elektrodun Pt kaplı silisyum elektroda göre daha yüksek fotovoltaj özelliğine sahip olduğu da belirtilmiştir (Scotheim ve diğ.,1982).

Dopant ile etkileştirilen iletken polimerlerin optik spektrumlarının değişim gösterdiği gözlenmiştir. Bu özelliğinden dolayı gösterge (display) aletlerinde elektrokromik materyal olarak kullanımı teklif edilmiştir (Akthar ve diğ., 1988).

İletken polimerler, çeşitli organik, inorganik ve biyolojik molekül ve iyonlara karşı seçimli geçirgen olmaları dolayısıyla inert elektrotlar üzerine film halinde kaplanarak, çok sayıda modifiye elektrot yapımında kullanılmaktadır. Modifiye elektrot özelliklerinin incelendiği çalışmalardan birinde,  $CF_3COONa$ ,  $Na_2SO_4$  gibi destek elektrolit içeren asidik ve bazik ortamlarda, anilin ve türevlerinin elektrokimyasal olarak polimerleştirilmesi ile sentezlenen PAN filminin çözelti pH' ından bağımsız iyon seçici elektrot karakter taşıdığı gösterilmiştir (Oyama ve diğ., 1985).

Farklı miktarlarda PAN içeren süspansiyonlardan elde edilen PAN' in iletkenliğinin  $10^{-7} - 10^{-3}$  S/cm aralığında değiştiği gözlenmiştir (De Paoli ve diğ., 1991).

Polioksimetilen (POM)/polianilin filmleri, polianilin- $HClO_4$  ile trioksanın katyonik polimerizasyonu ile elde edilen polioksimetilen tozlarının karıştırılması ile ve PAN- $HClO_4$  ve POM' nin  $BF_3OEt_2$  katalizörü altında yığın polimerizasyonu ile hazırlanmıştır (Terlemezyan ve diğ., 1993).

İletken olmayan polimerler içerisinde iletken polimerlerin dispersiyonu ile hazırlanan PVC/PAN filmlerin termoelektrik güçleri ve iletkenlikleri incelenmiştir. Blendlerin iletkenliğinin saf polianilinin iletkenliğinden düşük olduğu ve sıcaklık arttıkça termoelektrik güçlerin arttığı gözlenmiştir (Subramaniam ve diğ., 1993).

Geçirgen ve iletken poli(etilen teraftalat) (PET)/PAN filmleri, anilin absorbe olmuş PET filmlerinin HCl içeren sulu  $(NH_4)_2S_2O_8$  çözeltisinin buharına tutulması ile kimyasal olarak sentezlenmiştir. Oluşan filmler 0,1-0,2 S/cm iletkenlik ve 450-700 nm arasında % 70' den daha büyük geçirgenlik göstermişlerdir (Zhang ve diğ., 1991).

Polistiren/polianilin filmleri anilin ve benzende dağıtılmış polistiren ve sodyum dodesilsülfat içeren çözeltide emülsiyon polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Anilin polimerizasyonu yükseltgeyici maddenin emülsiyon ortamına ilavesi ve çok hızlı karıştırılması ile gerçekleştirilmiştir. Film ya çökerek ya da uygun madde ile çöktürülerek ayrılmıştır. Elde edilen filmin iletkenliği 3-5 S/cm olarak bulunmuştur (Ruckenstein ve Yang, 1993).

## 2.5 Polipirol

Polipirolün yapısının pirol birimlerinin katılma ve süstitüsyon reaksiyonlarına çok istekli 2- ve 5- konumlarından birleşerek oluştuğu bilinmektedir. Ancak tam kimyasal konfigürasyonu bilinmemektedir. Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonunun mekanizmasının monomerin radikal katyonunun oluşumu ile ilerlediğine inanılmaktadır (Şekil 2.8). İlk yükseltgenme basamağında oluşan radikal katyonunun ya dimer oluşturmak üzere bir başka radikal katyon ile yada nötral bir monomer ile reaksiyona girdiği belirtilmektedir. Elektrokimyasal polimerizasyon işlemlerinde, monomeri yükseltgemek için yeterli potansiyel uygulandığı zaman radikal oluşumu gerçekleşeceği için, iki radikalın birleşmesi daha olasıdır. Ayrıca uygulanan potansiyelde elektrot yüzeyinde nötral monomere rastlanmayacaktır (Şekil 2.8).

Polimerizasyon ortamında radikal katyon ile reaksiyon verebilecek nükleofiller bulunmuyorsa,  $2H^+$  iyonu kolayca ayrılarak dimerik katyon oluşacaktır. (Qian ve diğ. 1991) Zincir büyümesi büyüekte olan zincirin aktif ucunun bir başka aktif uçla reaksiyonu ile sonlanabilir (Şekil 2.8).

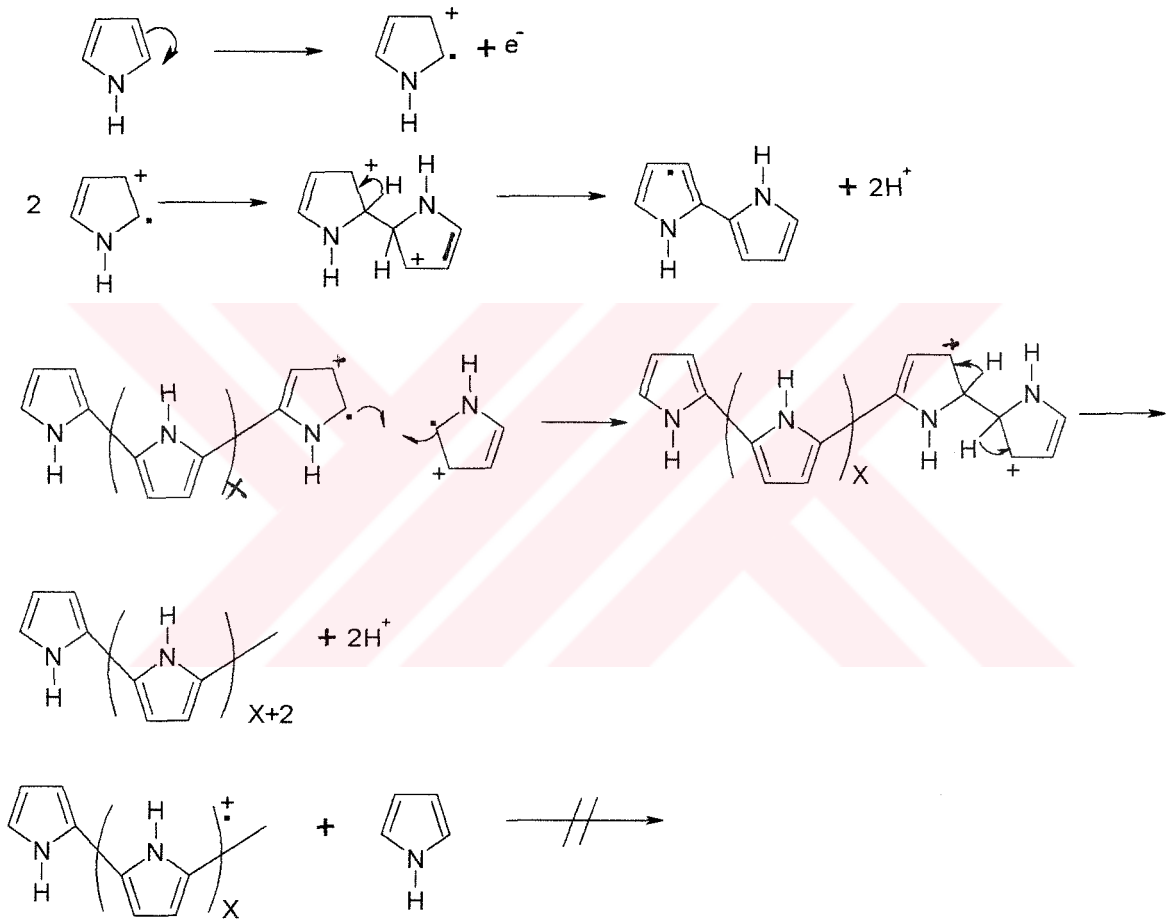
Asetonitril çözücüsünde tetraetilamonyum tetrafloroborat doping maddesi ile sentezlenen PPy' ün 1-50 S/cm aralığında iletkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Omastova ve diğ. , 1993).

Sabit potansiyel elektrolizi ile pirol ve tiyofen içeren ortama damla damla pirol ilave edilerek pirolün elektrokimyasal polimerizasyonu ile hazırlanmıştır.(Kojima ve diğ., 1995) Yapılan bir çalışmada da tiyofenin polimerleştirildiği yüzey üzerinde furan ve furan üzerinde tiyofen polimerleştirilmiştir. Bunun yanında anilin üzerinde tiyofen ve tiyofen üzerinde anilin polimerleştirilerek hazırlanan iletken polimerlerin özellikleri incelenmiştir (Talu ve diğ., 1996).

Sulu çözeltilerden elektrokimyasal olarak hazırlanan,  $TsO^-$ ,  $SO_4^-$ ,  $NO_3^-$  katkılı, PPy filmlerin iyi elektriksel iletkenlik gösterdiği gözlenmiştir. Örneğin,  $NaNO_3$  elektroliti ile 4-30 S/cm,  $TsONa$  elektroliti kullanıldığında 60-200 S/cm arasında iletkenlik değeri ölçülmüştür (Qian ve Qiu, 1987).

Elektrokimyasal polimerizasyon ile perklorat ve p-toluensülfonat dopantlı PPy filmler hazırlanmış. Bu filmlerin morfolojisi, kimyasal yapısı, elektrokimyasal özellikleri ve mekanik özellikleri üzerine uygulanan potansiyelin etkisi incelenmiştir (Kaplin ve diğ., 1995).

Poli(vinil klorür) (PVC) polimerinin yüzeyinde pirolün polimerleşmesi ile hazırlanan PVC/PPy filmleri 5-50 S/cm aralığında iletkenlik değeri göstermiştir. Filmlerin mekanik özelliklerinin saf PVC' nin mekanik özelliklerini gösterdiği belirlenmiştir (De Paoli ve diğ., 1985).



Şekil 2.8 Pirolün elektrokimyasal polimerizasyonunun mekanizması

Poliakrilonitril (PAN)/PPy filmleri farklı polimerizasyon şartları altında polianilin polimeri üzerinde pirolün polimerizasyonu ile elde edilmiştir. Hazırlanan filmlerin elektriksel iletkenliği incelenmiş ve  $10^{-2}$ - $10^{-3}$  S/cm iletkenlik değeri gösterdiği belirlenmiştir. İletkenliğin monomer ve elektrolit derişimi ile arttığı, uygulanan potansiyel ve sıcaklık ile azaldığı gözlenmiştir (Park ve Han, 1992).

Sabit potansiyel elektrolizi ile polikarbonat kaplı Pt elektrotlar üzerinde pirolün polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Yapıya giren PPy yüzdesine göre iletkenliğin değişimi incelenmiş. Yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskobu ile incelenmiştir (Geibler ve diğ., 1991).

Poli(etilen teraftalat) (PET) filmlere emdirilmiş polipirolün sulu  $FeCl_3$  ile polimerizasyonu sonucu PET/PPy filmler elde edilmiştir. Oluşan filmlerin oldukça geçirgen (633 nm de %70-85) ve 0.03-0.1 S/cm iletkenlik gösterdiği belirlenmiştir (Li ve Song, 1991).

İletken poli(vinil klorür) (PVC)/PPy ve selüloz asetat (CA)/PPy filmleri karşı difüzyon polimerizasyonu ile hazırlanmıştır. Pirol ve yükseltgeyici madde çözeltileri arasına suda şişmiş CA ve asetonitrilde şişmiş PVC konarak pirol ve yükseltgeyicinin difüzyonu ile film yüzeyinde polipirol oluşmaktadır. Yükseltgeyici madde ile temas halindeki yüzeyin iletkenliğinin 40 S/cm ye ulaştığı gözlenmiştir (Dubitsky ve Zhubanov, 1993).

Kimyasal polimerizasyon ile  $AgNO_3$ ,  $FeCl_3$ ,  $Fe(NO_3)_2$ ,  $Cu(NO_3)_2$  veya  $Cu(NO_3)_2 \cdot AlCl_3$ ' ün sulu çözeltilerinden sentezlenen toz halindeki PPy' ün  $2,7 \times 10^{-2}$  S/cm ve film halinde sentezlenen PPy' ün 2.8 S/cm iletkenlik gösterdiği bulunmuştur (Chao ve March, 1988).

Poli(4-vinilpiridin)' in bakır iyonları ile kompleksi pirol ve su buharına maruz bırakılarak iletken polimerik filmler hazırlanabilmiştir. Oluşan filmlerin iletkenliğinin 60 S/cm olduğu bulunmuştur (Mohammadi ve diğ., 1994).

Buharlaştırma yöntemi ile poliakrilonitril (PAa)/PPy filmleri hazırlanmıştır. Bu yöntem ile elde edilen filmlerin yüksek iletkenliğe ve iyi mekanik özelliklere sahip olduğu gözlenmiştir. Oluşan filmlerin iletkenliğinin sıcaklık ile değişimi incelenmiştir (Bhat ve Sundaresan, 1991).

## 2.6 Enzimler

Enzimler, canlı hücreler tarafından sentezlenen, protein yapısında olan ve biyolojik aktiviteye sahip moleküllerdir. Temelde bütün biyokimyasal reaksiyonlar enzimler tarafından katalizlenir.



Enzimler, ileri derecede organize olmuş protein molekülleridir. Hayat canlı hücre içinde zincirleme devam eden biyokimyasal reaksiyonlar dizisi sonunda ya hücreye gerekli olan makro moleküllerin inşa edildiği ya da büyük moleküllerin parçalanarak enerjinin açığa çıkarıldığı bir süreçtir. Bunların dışında hücrenin gereksinim duyduğu daha küçük moleküllerde yapılabilir. Burada enzimlerin görevi gerek büyük moleküllerin yıkımında, gerekse büyük moleküllerin yapım süreci olan biyokimyasal reaksiyon basamaklarında substrat dediğimiz moleküllere kimyasal bir grubu eklemektir.

Bu kimyasal gruplar çok farklı ve değişik olabilir. Bir metilen ( $\text{CH}_3$ ) bir amin ( $\text{NH}_2$ ) bir hidroksit ( $\text{OH}$ ) bir hidrojen ( $\text{H}$ ), keto ( $\text{CO}$ ), aldehit ( $\text{O}=\text{C}-\text{H}$ ), bir karbondioksit ( $\text{CO}_2$ ) grubu olabilir.

Biyokimyasal reaksiyonların her basamağında bu kimyasal gruplar eklenerek büyük moleküller inşa edilir. Ya da bu kimyasal gruplar kopartılarak, büyük moleküller daha küçük parçalara ayrılırlar. Enzimler bu görevi sırasında başka organik moleküllere veya bazı kofaktörlere gereksinim duymaktadırlar. Biyokimyasal reaksiyon basamaklarında enzimler tarafından koparılan ya da eklenen bu kimyasal grupların taşıyıcı moleküllerine gereksinim vardır. Bu kimyasal grupların taşıyıcısı olan moleküller koenzimlerdir. Koenzimler olmadan biyokimyasal reaksiyonların devamlılığı sağlanamaz.

## 2.7 Enzimlerin Genel Özellikleri

Enzimler canlı hücreler tarafından sentezlenir. Ancak aktivite göstermeleri için hücre içinde bulunmaları şart değildir. Hücreden ayrı “*invitro*” sistemlerde de aktivite gösterebilirler Enzimler oldukça özel yapı kazanmış büyük moleküllerdir. Enzim proteininde bulunan amino asitlerin dizilişi enzimin belirli konformasyon ve üç boyutlu yapı kazanmasında önemlidir. Enzimin konformasyonu ve uzaydaki üç boyutlu yapısı yalnız enzimin aktivitesinde değil aynı zamanda metabolik olayların kontrolünde de önem taşır. Enzimler hücrenin metabolizmasını oluşturan binlerce kimyasal reaksiyonu yöneten moleküllerdir. Enzimin etkileyerek değişime uğrattığı moleküllere “enzimin substratı” denir. Tek substratı olan enzimler olduğu gibi birden fazla substratı kullanan enzimlerde vardır. Bazı enzimler tümüyle protein yapısında metal yada şeker yada lipitlerle bağlı durumdadır. Enzimin yapısında bulunan ve protein yapısında olmayan bu yapılara

“prostatik grup” adı verilir. Bu prostatik grup bir metal iyonu ise “kofaktör” olarak adlandırılır. Şayet bu prostatik grup ısıya dayanıklı organik bir bileşik ise proteinle birleşen bu organik gruba da “koenzim” adı verilmektedir.

Enzimlerde dializ edilemeyen ve ısıya dayanıksız protein kısmına apoenzim adı verilir. Enzim bu durumda inaktif haldedir. Bu apoenzim kısmı bir kofaktör yada bir koenzimle kompleks yaptıktan sonra aktif hale geçer. Böyle enzim-koenzim kompleksi oluşması ile aktif hale geçen enzime de “holoenzim” adı verilir.

Hücresinin metabolizmasının düzenlenmesi oldukça güç bir biyolojik olay olarak karşımıza çıkar. Hücredeki biyokimyasal reaksiyonlar dizisinde bir enzimin ürünü diğer bir enzimin substratı olmakta ve hücre ortamında bütün ara metabolitlerin belirli bir konsantrasyonda tutulması sağlanmaktadır. Enzimler karşılıklı etkileşimde bulunarak hücre metabolizmasının düzenlenmesinde etkin rol oynarlar.

Hücredeki biyokimyasal reaksiyonlar dizisinde görev yapan enzimlerden birisi sentezlenemez yada yanlış sentezlenirse o kademedeki görev yapan enzim yeterli metabolik aktivite gösteremeyeceğinden metabolik reaksiyonlar dizisi o noktada kesilir ve son ürün oluşamaz.

Metabolik yollarda görev yapan enzimlerin substrat konsantrasyonları metabolik yolların düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu konsantrasyon değişimleri enzimleri aktive yada inhibe edebilmektedir. Bu ara metabolitlerden birisinin yüksek konsantrasyonu derhal bir önceki kademenin enzimini inhibe edecektir. Metabolik yolun sonundaki ürün belli bir konsantrasyona ulaştıktan sonra bağdaki enzimi inhibe eder ve metabolik yolu durdurur.

Enzim alanında yapılan ilk çalışmalar 1760-1829 yılları arasına rastlamaktadır. 1835 yılında Berzellius patatesten elde edilen enzimler karışımının, nişastayı  $H_2SO_4$  den daha fazla yıkması olayını gözlemiş ve bundan etkilenmiştir. Berzellius o zamanki gözlemlerine göre ileri bir görüş ortaya atmış ve canlı organizmadaki bütün maddelerin katalizörlerin etkisi altında yapıldığını iddia etmiştir. Gözlemci bu katalizörleri kimyacıların kullandıkları katalizör maddeler olarak değerlendirmiş ama bunların protein olduklarını fark edememiştir.

Biyolojik reaksiyonlarda kimyasal reaksiyonlar gibi katalizörler etkisi ile hızlandırılır. Fakat biyolojik sistemlerde görülen bu katalizörlerin kimyacıların katalizörlerinden farklı olduğu dikkati çekmiş ve bu biyolojik katalizörler üzerinde çalışmalar yoğunlaştırılmıştır. 1860 yılında Pastör fermantasyonun enzimler tarafından başarıldığını, maya hücrelerinin yapı ve canlılığına bağlı olduğunu savunmuştur.

Pastör ayrıca enzim için organize olmuş ferment deyimini kullanmıştır. Aktivite göstermesi için de hücrede bulunması şartını getirmiştir. Pastör diğer katalizör maddeler için ise anorganize ferment deyimini kullanmış bunların aktivite göstermeleri için hücre içinin şart olmadığını savunmuştur.

Liebig adlı araştırmacı bu tanımlamaya karşı çıkmış enzim moleküllerinin katalitik aktivitesinin kalıtsal özelliklerden ileri geldiğini savunmuştur. 1894 yılında Chittendon tarafından ileri sürülen üç kavram enzimoloji tarihinde bir dönüm noktası olmuştur. Bu kavramlar bugün bile geçerliliğini kaybetmemiştir. Bu kavramlar şöyle özetlenebilir.

1-Enzimler proteinlerden oluşmuştur

2-Katalitik aktivite enzim yapısına özel, enzime bağlı olarak ortaya çıkmıştır.

3-Enzimler pasif katalizörler olmayıp substratları ile ara kompleksler yaparak görev yapan aktif moleküllerdir.

Proteinlerden enzimleri son yıllarda geliştirilen yöntemlerle hücre ortamından ve aktivite göstermeyen diğer proteinlerden ayırmak ve saf halde elde etmek mümkün olmuştur. 1897 yılında Alman Buchner kardeşler maya hücrelerinden alkolik fermentasyonu katalize eden enzimleri kaba olarak saflaştırmayı başarmışlardır. Bu olgu enzimlerin aktivite göstermeleri için hücre içinde bulunmalarının şart olmadığını göstermiştir. Enzimlerin saf halde ve kristal olarak elde edilmeleri uzun çalışmalar sonucunda başarılmıştır. İlk defa 1926 yılında J.B.Summer Canavalia enciformis denen bir fasulye türünden üreaz enzimini kristal halde elde etmeyi başarmış ve yapıların protein olduğunu savunmuştur. Oysaki bundan 4 yıl önce 1922 yılında Villstotter adlı araştırmacı enzimleri aktivite göstermeyen yalnız taşıyıcı ödev gören moleküller olarak tanımlamış katalitik aktivitenin bu protein yüzeyine bağlanmış protein tabiatında olmayan bileşikler tarafından olduğunu savunmuştur. Nihayet 1930 yılında Nurthrop, pepsini, 1931'de tripsini 1934 'de

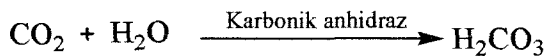
kimotripsini saf ve kristal halde elde ederek yapılarının protein olduğunu açıklamıştır. Bu bulgular enzimlerin proteinlerden oluştuğu fikrinin benimsenmesine yol açmıştır.

Bugün enzimlerin aktivite göstermeleri için gerekli olan fakat protein yapısında olmayan kofaktörlerin ve koenzimlerin enzime sıkıca bağlanarak prostetik grup oluşturduklarını bilmekteyiz. 1904 yılında Harden ve Young düşük molekül ağırlığına sahip ısıya dayanıklı bir molekül olan koenzim A yada bugünkü adıyla Nikotin amid adenin dinükleotid NAD'yi fermentasyon enzimlerinin aktivite göstermeleri için gerekli bir faktör olarak saptamışlardır. Kunitz ve Nurthrop 1934 yılında tripsin enziminin proteolitik aktivite kaybının enzim proteinin denatürasyon derecesine bağlı olduğunu hesaplamıştır. Aynı şekilde pepsinin ultraviyole yada beta ve gama radyasyonlarına tabii tutulduklarında enzimin yıkılma ve denatürasyona bağlı olarak aktivite kaybının ortaya çıktığını saptamışlardır.

Bugünkü bilgilerimizin ışığında gerçekten denatüre olmuş enzimler aktivite gösterememektedir. Yine 1934 yıllarında Herriot ve Nurthrop bazı fonksiyonel grupları bloke ettikleri zaman enzim aktivitesinin kaybolduğunu açıklamışlardır. Özellikle fenol halkasının OH grubunu asetillediklerinde aktivitenin kaybolduğunu fakat deasetilasyon yaptıklarında yani hidroksil grubunu açığa çıkardıklarında enzimin tekrar aktivite gösterdiğini açığa çıkarmışlardır.

## 2.8. Enzimlerin Normal Katalizör Maddelerden Farkları

1-Enzimler, canlı hücreler tarafından sentezlenen protein yapısında biyolojik katalizörlerdir. Canlı sistemlerde binlerce enzim bulunur ve yaşamlarını enzimlerle devam ettirirler. Enzimler, organik katalizörlere oranla aktivasyon enerjisini çok daha fazla düşüren moleküllerdir. Enzimlerde çok büyük bir katalitik güç vardır. Örneğin, CO<sub>2</sub>'den hidrasyonu yani su alması gibi basit bir tepkime bile karbonik anhidraz denen bir enzim tarafından katalizlenir.



Bu enzim sayesinde, saniyede 10<sup>5</sup> CO<sub>2</sub> molekülü hidratlaştırılabilir. Bu enzim olmadan da tepkime çok yavaş olarak meydana gelebilir. Fakat enzim varlığında tepkimenin hızı 10<sup>7</sup>

kat artar. Bu enzim olmasaydı dokularda yanma sonucu oluşan CO<sub>2</sub> kan içine ve kan içinden de akciğer alveollerine aktarılması kısa sürede tamamlanamazdı ve hücreler CO<sub>2</sub> zehirlenmesinden ölebilirlerdi. Bu enzim iki yönlü olarak reaksiyon gösterebilmekte, alveollere geldiğinde karbonik asit yine karbonik anhidraz enziminin etkinliği ile CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O'ya ayrışmakta CO<sub>2</sub> soluk verme ile dışarı atılmaktadır.

2-Enzimler, tepkimeleri özgül olarak katalize ederler. Katalizatör maddeler, pek çok kimyasal tepkimede rol oynarlarken enzimler genellikle tek bir tepkimeyi katalize etmektedirler.

3-Bazı enzimler, yapı bakımından birbirine benzeyen substratların hepsinin etkileyebilmektedirler. Bu tip enzimlere gevşek özgüllük gösteren enzimler adı verilmektedir. Örneğin, pepsin, tripsin, kimotripsin gibi enzimler her çeşit proteini substrat olarak kabul edip parçalayabilmektedirler. Bu enzimlerin birbirlerinden farkları protein polipeptid zincirinde etkiledikleri peptid bağlarının farklı olmasıdır. Pepsin enzimi polipeptid zincirinde glutamik asit ve aspartik asit arasındaki peptid bağı, tripsin enzimi ise arginin ve lizin arasındaki peptid bağı kırılmaktadır. Lipazlar her çeşit lipidi substrat olarak kullanmaktadır. Bunlara karşılık diğer bir grup enzim ise kesin özgüllük göstermektedir. Örneğin, üreaz enzimi yalnız üreyi, fumaraz enzimi yalnız fumarik asiti, süksinik dehidrogenaz enzimi yalnız süksinik asiti etkilemektedir. Hatta bazı enzimlerde bu durum molekülün D ve L şeklini ayırt edecek kadar ileri derecededir.

Enzimler, substratları ile etkileşmelerinde enzim-substrat oluşumunda aktif merkezleri kullanmaktadırlar.

## **2.11 Enzimlerin Aktivitesinin Takip Yöntemleri**

- 1- Enzimi substratının azalan konsantrasyonunun takibi ile,
- 2- Enzim ürününün artan konsantrasyon takibi ile,
- 3- Enzimatik reaksiyonda koenzim görev alıyorsa okside yada redükte forma dönüşen koenzimlerin değişen konsantrasyonlarının takibi ile enzimlerinin aktiviteleri tayin edilir.

Bütün organik moleküller UV-görünür bölgede absorbans gösterirken dalga boyları birbirinden farklılık gösterir. Örneğin, bir nükleik asit ile bir amino asitin maksimum

absorbans yüzdeleri ise incelediğimiz molekülün tüpteki konsantrasyonuyla doğru orantılı olarak artar. Konsantrasyon yükseldikçe absorbans yüzdesi de yükselir. Konsantrasyon azaldıkça absorbans yüzdesi de azalır. Bu şekilde incelediğimiz molekülün absorbans değişimlerini inceleyerek tüp içindeki konsantrasyon değişimleri spektrofotometrik yolla tayin edilir.

## **2.12 Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler**

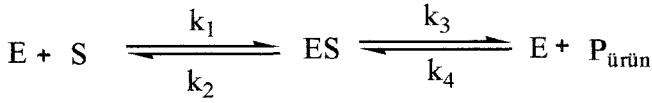
Enzimler hücre ortamında bulunan özgül substratı değişikliğe uğratarak ürüne dönüştürürler. Buna göre ortamda substrat konsantrasyonunun azalması ya da ürün konsantrasyonunun artması bize enzimin aktivitesini gösterir. Enzim aktivitesi miktarı enzim ünitesi ile tanımlanır. Bir ünite enzim standart koşullarda 25<sup>0</sup> C de 1 mikromol substratı, 1 dakikada ürüne çeviren enzim miktarı olarak tanımlanır.

Enzim aktivitesini etkileyen faktörler;

- 1- pH
- 2- Isı
- 3- Enzim konsantrasyonu
- 4- Substrat konsantrasyonu
- 5- Zaman
- 6- Reaksiyon ürünü
- 7- Çeşitli kofaktörler ve koenzimlerin konsantrasyonu
- 8- Işık ve diğer fiziksel faktörler
- 9- Allosterik etki
- 10- Hormon ve diğer biyolojik maddelerin etkisi

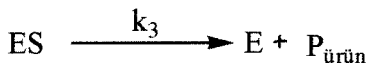
## **2.13 Enzim Aktivitesinin Kinetik Olarak Hesaplanması**

Enzimatik reaksiyonların kinetikleri üzerine ilk çalışmalar 1913 yılında Michaelis ve Menten adlı araştırmacılar tarafından yapılmış olup bugün kendi adları ile anılan kuramlarını ortaya atmışlardır. Bu araştırmacıların oluşturdukları Michealis-Menten kuralına göre enzim (E) önce substratla (S) birleşerek (ES) kompleksini yapar. Sonra ikinci kademedeki enzim substratını ürüne dönüştürür ve serbest enzim ve ürün ortaya çıkar.



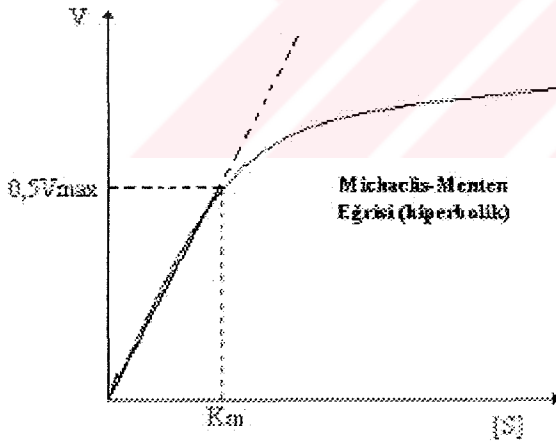
Buradaki  $k_1$  gibi bir hız sabiti ile ES kompleksi oluşmakta,  $k_2$  gibi hız sabiti ile de ES kompleksi geri enzim ve substrata ayrılmakta, ikinci kademedeki ise ES kompleksi  $k_3$  gibi bir hız sabiti ile enzim ve ürünü oluşturmakta,  $k_4$  gibi bir hız sabiti ile de enzim ve ürün, ES kompleksini geri oluşturmaktadır.

Serbest enzim ve ürünün ES kompleksine dönüşme hızı çok yüksektir ve ikinci basamağın yanında ihmal edilebilir. Bu durumda tepkime;



şeklinde gösterilebilir.

Substrat konsantrasyonunun artışına bağlı olarak reaksiyon hızı  $V$  grafiklenecek olursa hiperbolik bir eğri elde edilir.



Enzim  $E$ , substrat  $S$  ile  $k_1$  hız sabiti ile birleşir ve ES kompleksini oluşturur.  $[ES]$  nin yıkılışı iki türlü olur.  $[ES]$ 'nin bir kısmı  $k_2$  hız sabiti ile tekrar  $E$  ve  $S$ 'ye ayrılır. Diğer kısmı ise  $k_3$  hız sabitesi ile,  $E$  ve  $P$ 'ye dönüşür.



$$[ES]'nin oluşumu : ES = k_1 [E] [S]$$

$$[ES]'nin\ yikimi : ES = k_2[ES] + k_3[ES]$$

$$ES = [ES] (k_2 + k_3)$$

Denge halinde (Steady-State) [ES] oluşumu, yıkımına eşittir.

$$k_1 [E] [S] = [ES] (k_2 + k_3)$$

$$\frac{[E] [S]}{[ES]} = \frac{k_2+k_3}{k_1}$$

Reaksiyona giren E ve S maddelerinin konsantrasyonları reaksiyon sonucunda teşekkül eden [ES]' konsantrasyonuna bölünecek olursa standart bir değer elde edilir.

Ortamda mevcut bulunan total enzimin bir kısmının serbest halde bir kısmında [ES] halinde olduğunu düşünerek;

$$[E] = [E_t] - [ES] \text{ halindedir.}$$

$$\frac{([E_t] - [ES]) [S]}{[ES]} = K_m$$

$$[E_t] [S] - [ES] [S] = K_m [ES]$$

$$[E_t] [S] = K_m [ES] + [ES] [S]$$

$$[E_t] [S] = [ES] (K_m + [S])$$

$$[ES] = \frac{[E_t] [S]}{K_m + [S]}$$

Belirli şartlarda enzimatik reaksiyonun hızı (V), [ES]'nin E + P ye dönüşüm hızına eşit olacağından ;

$$V = k_3 [ES]$$



$$V = \frac{k_3 [E_t] [S]}{K_{m+} [S]}$$

Reaksiyon sonucunda bütün enzim substrat ile bağlanacağından maksimum hıza erişilmiş olur.

$$V_{\max} = k_3 [E_t]$$

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_{m+} [S]}$$

Michaelis- Menten denklemi

## 2.14 Enzim Aktivite Tayininde Kullanılan Yöntemler

Hücrede enzimlerin son derece küçük miktarlarının varlığı, doku özütlerinde veya sıvılarda bulunan bir enzimin miktarının tayininde, daha alışılmış organik veya inorganik maddelerin konsantrasyonunun tayininde rastlananlardan çok farklı problemler ortaya çıkarabilir. Bir enzimin katalitik aktivitesi kendi miktarının ölçülmesi için duyarlı ve spesifik bir araç sağlar.

Bir enzimin bir doku özütü veya başka bir biyolojik sıvı örneği içindeki miktarını ölçmek için o örnek içinde bulunan o enzim tarafından katalize olunan reaksiyon hızı ölçülür.

Uygun şartlar altında ölçülen hız varolan enzim miktarı ile orantılıdır. Mümkün olduğu takdirde, bu hız o enzimin ileri derecede saflaştırılmış şeklinin belli bir miktarı tarafından katalize olunan hız ile karşılaştırılır.

Aktivite tayinlerinde genellikle ya kaybolan substrat miktarı yada meydana gelen ürün miktarı tayin edilerek enzimlerin aktiviteleri ölçülmektedir.

Ünite: bir mikromol yahut  $10^{-6}$  mol substratı bir dakikada ve optimal koşullarda ürüne çeviren enzim miktarı bir ünite olarak kabul edilir. Enzim üniteleri International Unit (IU) şeklinde gösterilir. Substrat miktarı nanomol, pikomol' dür.

Spesifik aktivite: Bir miligram(mg) proteinde bulunan enzim ünite sayısıdır.

Spesifik aktivite = ÜNİTE/MİLİGRAM PROTEİN

Enzim aktivite tayininde kullanılan yöntemleri 7 başlık altında toplayabiliriz.

- 1- Spektrofotometrik yöntem
- 2- Thunberg yöntemi
- 3- Elektrot yöntemi
- 4- Polarimetrik yöntem
- 5- Kromatografik yöntem
- 6- Kimyasal tayin yöntemi

Spektrofotometrik yöntemde, pek çok enzimin substratı, ürünü veya koenzimi görünen ışıkta veya ultraviyole ışıkta bir tepe değeri göstererek absorbands vermektedir. Bu takdirde ya substratın kaybolması veya ürünün meydana gelişi veya koenzimdeki değişiklik spektrofotometreden tayin edilir. Spektrofotometrik yöntem kolaylığı, basitliği ve hassas oluşu ile diğer yöntemlere tercih edilmektedir. Belirli zamandaki (belirli şartlar altında ) OD (optik dansite ) değişimi belirli miktardaki enzim aktivitesini verir (Ersoy 1986).

## **2.15 Elektrotların Kimyasal Modifikasyonu**

Herhangi bir elektrot materyalinin istenen en temel özelliği yük transfer edebilmesi veya en azından yük transferinde sınırlayıcı olmasıdır. Yük transferi çeşitli şekillerde ortaya çıkar. Örneğin metallerde yük transferi iletkenlik bantlarındaki elektronların taşınması ile, yarı iletkenlerde iletkenlik bantlarındaki elektronlar veya valens bantlarındaki pozitif boşlukların taşınması ile gerçekleşir. Bazı oksit ve sülfürlerde ise yük transferi kristal örgüdeki iyonların hareketi ile sağlanır.

Elektroanalitik kimyada elektrot/ elektrolit ara yüzeyini geçen elektron sayısı ölçülerek pek çok analitik yöntemin uygulanabileceği bir önceki bölümde görülmüştü. Ancak, elektrotların elektron transfer edebilme yeteneği bazı spesifik olaylar sonucunda azalmakta ve bu tür elektrotların analitik uygulamaları sınırlanmaktadır. Sözü edilen spesifik olaylar elektrot yüzeyinde istenmeyen çökeltme veya adsorpsiyon ile bir aşırı gerilimin uygulanmasını gerektiren yavaş reaksiyon olaylarıdır. Bu olaylar elektrot yüzeyinin hazırlanması ile kısmen kontrol edilebilirse de 1970 ortalarına kadar yaygın olarak kullanılan elektrot materyalleri C, Au, Pt ve Hg ile sınırlı kalmıştır.

Elektrokimyada modifiye elektrot yaklaşımı elektrokimyacının elektrot yüzeyini kontrol edebilme arzusundan kaynaklanmıştır.

Elektrot yüzeyine bilinçli olarak bazı kimyasal ajanların tutturulması ile elektrot yüzeyinin tutturulan ajanın kimyasal özelliklerine sahip olacağı düşünülmüştür. Böylece elektrokimyasal reaksiyonların hızlarının ve seçiciliklerinin kontrolü (elektrokataliz) sağlanmış, olumsuz adsorpsiyon engellenmiş ve bazı durumlarda istenen optik özellikler kazandırılmış olabilecektir. Elektrokimyacılar tarafından elektrot modifikasyonu ile temelde dört kullanım alanı öngörülmektedir. Bunlar elektrokataliz, ön deriştirme, membran engeli ve elektro-salınmasıdır.

İmmobilize olan ajanlar genellikle elektroaktiftir. Polimer filmleri halinde elektroaktivite gerekli olmayabilir. Zira bu tür filmler ön derişim amacıyla veya substratın filmin permselectif özelliklerinden yararlanarak elektroda taşınması amacıyla kullanılabilir. Elektrot modifikasyonundaki ilk çalışmalar, elektroaktif ajanların monomoleküler katman halinde yüzeye adsorpsiyonu araştırmalarını içermiştir. Bu ilk kemisorpsiyon çalışmalarını ajanların belli kovalent bağlarla elektrot yüzeyindeki fonksiyonel gruplara tutturulması izlemiştir. Örneğin C veya Pt yüzeyleri kolaylıkla oksitlenerek yüzeyde zengin hidroksil grupları oluşur. Bu gruplarla da amid bağları oluşabilir.

Günümüzde en yaygın olarak kullanılan kimyasal modifikasyon şeması elektroaktif polimer ve çok moleküllü katman filmleridir. Bu tür ajanlar kovalent bağlı mono katmanlara kıyasla, elektrot yüzeylerine çok daha kolaylıkla uygulanır. Bundan başka, bu polimer filmleri  $10^5$  monomoleküler katmana eşdeğerde elektroaktif merkezler içerebileceklerinden elektrokimyasal özellikleri çok daha kolaylıkla gözlenir.

Elektroaktif veya inaktif polimer filmleri ön derişim ortamı veya membran engeli olarak da kullanılabilirler. Bu tür filmler bu amaç için genellikle güvenilir sonuç vermezler.

Polimer filmler elektrot yüzeyine polimer çözeltisinin buharlaştırılmasıyla, polimerin elektrokimyasal çökeltmesiyle veya elektroaktif monomerin elektrokimyasal polimerizasyonu ile uygulanır.

Bu filmler yüzeye kemisorpsiyon kuvvetleri ile tutulurlar. Genel olarak, polimer filmlerin kararlılığı mono katmanlardan çok daha iyidir veya tabiatıyla, kararlılık elektroanalitik kimya uygulamalarında, özellikle sensör geliştirme çabalarında çok önemlidir.

Elektroaktif polimer filmleri kendiliğinden hem iyonik hem de elektronik iletkenlik gösterirler. Bu filmler genelde üç sınıfta ele alınabilir: redoks polimerleri, iletken polimerler ve iyon değiştirme polimerleri. Redoks merkezleri içeren polimer filmler, redoks polimerleri olarak tanımlanıp indirgenmiş ve yükseltgenmiş redoks merkezlerinde elektron sıçraması (hopping) ile elektriği iletirler. o-kinon , pirol, süstitüe porfirin ve ferrosen polimerleri bu polimerlerin en belirgin örnekleridir.

İletken polimerler veya diğer bir adıyla organik metaller elektriği redoks polimerlerden çok daha etkin olarak delokalize metal benzeri bantlar vasıtası ile iletirler.

Polipirol bunlardan en çok bilineni olup, elektrokimyasal polimerizasyon ile kolayca elde edilebilir ve ftalosiyaninler ile enzimler gibi elektrokatalizörlerin tutuklanması amacıyla kullanılır.

İyon değiştirici polimer filmleri yüklerini dengeleyen karşı iyonların elektroaktif iyonlarla yer değiştirmesiyle elektroaktif yapılabilir. Örneğin; protonlu polivinilpiridin filmindeki  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{-3}$ ,  $\text{ClO}_4^-$  iyonu ile yer değiştirerek elektroaktif kılınabilir.

## **2.16 Elektrokimyasal Sensörler**

Herhangi bir elektrokimyasal sensörde, yanıt kimyasal reaksiyonlar ile elektrik arasındaki ilişkiden çıkarılmaktadır. Potansiyometrik sensörler hücre potansiyelinin, amperometrik sensörler hücre akımının ve iletkenlik sensörleri ise hücre direncinin ölçümüne dayanmaktadır.

### **2.16.1 Elektrokimyasal biyosensörler**

Biyosensörler, tayini yapılacak maddeye karşı oldukça seçici olarak davranabilecek bir biyoajan ile meydana gelen biyokimyasal aktivitenin elektriksel aktiviteye dönüştürüldüğü

bir çeviriciden oluşan ve bu suretle ilgili maddenin derişimi ile sinyal arasındaki ilişkiyi sağlayan araçlardır (Cosiner., 1999).

Genel anlamda dönüştürücü, sinyalin elektronik olarak yükseltildiği, depolandığı ve görüntülediği elektriksel bir kısımdır. İlgili türler ile biyokimyasal etkileşmenin yapısına bağlı olarak, potansiyometrik, amperometrik, optik, akustik, termometrik veya kondüktometrik dönüştürücü sistemlerinden bir tanesi kullanılabilir.

Tipik olarak enzimler, çeşitli enzim sistemleri, antibadiler, hücre membran bileşenleri, ve organeller gibi değişik biyoajan tipleri kullanılabilir.

Biyosensörlerin oldukça önemli bir kısmını oluşturan enzim elektrotların yapımında biyoajan olarak kullanılacak olan enzimler, gerek izolasyonları ve gerekse de saflaştırılmaları esnasındaki maliyetleri sebebiyle oldukça pahalı maddeler olduklarından, sürekli analizler için analiz edilecek ortam içerisine doğrudan katılması oldukça pahalı bir olaydır. Bu durum, enzimlerin rutin bir şekilde kullanılabilmesi için uygun bir matriks içerisinde immobilize edilmelerini zorunlu kılmaktadır.

### **2.16.2 İmmobilizasyon teknikleri**

Enzimler, immobilizasyon esnasında katalitik aktivitelerini korumak suretiyle dönüştürücünün yakınında uzayın belirli bölgelerinde fiziksel olarak lokalize olmaktadır. Enzimlerin katalitik aktivitelerini bozmamak suretiyle, değişik matrikslerde tutuklanmaları amacıyla, değişik immobilizasyon teknikleri kullanılmaktadır. Genel olarak, tekniğin seçimi enzime, kullanılan dönüştürücü tipine, analitin fizikokimyasal özelliklerine ve biyosensörlerin kullanıldığı işlem şartlarına bağlıdır. Geleneksel olarak kullanılan immobilizasyon teknikleri 4 ana grupta toplanabilir (Cosiner., 1999).

Katı yüzeyde fiziksel adsorpsiyon

Çapraz bağlanma

Kovalent bağlanma

Polimerik jel yada mikrokapsüller içerisinde tutuklanma

### **2.16.2.1 Katı yüzeyde fiziksel adsorpsiyon**

Elektrot yüzeyi ile enzimin arasındaki Van der Waals çekim kuvvetlerine dayalı olan fiziksel adsorpsiyon metodu enzim immobilizasyonu için bilinen en eski ve en basit yöntemdir (Nelson., ve diğ. 1916). Fiziksel adsorpsiyon yöntemi, kısaca belirli miktarda enzim çözeltisini elektrot yüzeyine damlatmak ve çözücüyü buharlaştırmak suretiyle yapılmaktadır.

Tercihen, adsorpsiyon grafit elektrot yüzeylerine yapılmaktadır. Bu yöntemin en büyük dezavantajı ise, enzim ile elektrot arasındaki bağ kuvvetinin kolaylıkla kontrol edilememesi, bu sebeple enzimin yüzeye zayıf bir kuvvetle bağlanması sonucu kullanım esnasında, pH, iyonik güç, sıcaklık ve çözücü tipine bağlı olarak adsorbe olan enzimin yüzeyden kolaylıkla ayrılmasıdır.

### **2.16.2.2 Çapraz bağlanma**

Bu yöntemde enzimin immobilizasyonu, enzim moleküllerinin molekül içi yada moleküller arası çapraz bağlanması ile gerçekleştirilmektedir. Bu yöntem iki yada çok fonksiyonlu reaktifler vasıtasıyla üç boyutlu çapraz bağlı enzim yapısının elde edilmesine dayalıdır. Bu reaktifler suda çözünmez ve katı yüzeye adsorbe olur.

Glutaraldehit en sık kullanılan çapraz bağlayıcıdır. Fiziksel adsorpsiyon yönteminde bahsedilen enzimin elektrot yüzeyinden kolaylıkla difüzyonlanması, çapraz bağlayıcı kullanılmak suretiyle engellenmektedir (yani, biyosensörün kullanımı esnasında enzim kaybı minimumdur).

Bu yöntemin dezavantajı ise, çapraz bağlayıcı olarak kullanılacak olan bileşenin enzimin aktif bölgesi ile yapabileceği çapraz bağlanma olasılığı sebebiyle enzim aktivitesinde gözlemlenecek düşümedir. Dolayısıyla, kullanılacak immobilizasyon tekniği, yeterince aktif enzim immobilizasyonuna imkan tanımalıdır.

### **2.16.2.3 Kovalent Bağlanma**

Genel olarak, elektrot yüzeyine enzimlerin kararlı bir şekilde tutunması en iyi şekilde kovalent bağlanma metodu ile yapılmaktadır (Battaglini, diğ. 2000). Bu immobilizasyon

tekniki için ön şart enzim ve elektrot yüzeyinde uygun fonksiyonel grupların varlığının sağlanabilmesidir. Enzimlerdeki fonksiyonel gruplar amino asit kalıntılarıyla sağlanır.

Enzimin katalitik aktivitesi için esas olan amino asitler kovalent bağlanmada kullanılmamalıdır. Bu teknikte, genellikle immobilize olan enzim aktivitesi düşüktür.

Üstelik, enzimin elektrot yüzeyine olan ilgisi konformasyonel değişikliklerle de etkilenebilir. Ayrıca, enzimin kovalent olarak bağlanacağı, metal, grafit yada iletken polimerler kovalent bağlanma öncesi aktivite edilmek zorundadır.

Sonuç olarak, bu teknikte enzim elektrot yüzeyinde kuvvetli bir şekilde tutunmakla beraber, enzim aktif merkezinde olabilecek bir kovalent bağlanma, enzim aktivitesinde düşmeye sebep olacaktır.

#### **2.16.2.4 Mikrokapsüller içerisinde tutuklama**

Mikrokapsülleme, bir maddenin çok küçük kısımlarının etrafının doğal veya sentetik polimerlerle, metallere seramik silikon v.b. maddelerle veya sıvı yüzey yapıcı membranlarla sarılması işlemidir.

Bu yöntemde kullanılan çerçeve maddesi (membran) yarı geçirgen olmamalıdır. Ayrıca, bu yarı geçirgen membranın gözenek çapları substrat moleküllerinin kapsül içine girişine ve ürün moleküllerinin dışarı çıkışına olanak verecek bir büyüklükte olmalıdır. Substrat molekülleri ne kadar küçükse bu yöntem ile immobilize edilmiş enzimin verimliliği o ölçüde yüksek olacaktır.

#### **2.16.2.5 Polimerik matrislerde tutuklama**

Yukarıda bahsedilen immobilizasyon metodlarına ilaveten, özellikle son yıllarda oldukça popüler bir immobilizasyon tekniği olarak ortaya çıkan polimerik matrislerde tutuklama, çok katlı tabakaların elde edilebilmesi, polimerizasyon boyunca geçen yükü takip etmek suretiyle film kalınlığı ve immobilize enzim miktarının kontrol edilebilmesi ve metodun tek basamaklı bir proseste uygulanabilmesi gibi potansiyel avantajlara sahiptir.

## 2.17 Glikoz Elektrodu

Pankreas hormonu kandaki glikoz seviyesini insülin salarak kontrol etmektedir. Bu hormonun görevini kısmen veya tamamen yapamadığı şeker hastalarında ise kandaki glikoz düzeyi normal sınırların dışında kalmaktadır.

Bu hastalara, glikoz seviyelerini normal düzeyde tutmak amacıyla dışarıdan insülin verilmektedir. Dolayısıyla, teşhis açısından kandaki glikoz seviyesinin hızlı ve duyarlı bir şekilde ölçümü son derece önemlidir. Glikoz için geliştirilen ilk elektrot, Updike ve Hicks tarafından sunulan enzim esaslı glikoz elektrottur. Bu yaklaşımda, glikoz enzimatik reaksiyon esnasındaki oksijen harcanması yada hidrojen peroksit oluşumu ile ölçülebilir.

Daha düşük zemin akımı sebebiyle, enzimatik ürün hidrojen peroksitin izlenmesi oksijen harcanmasından daha hassas bir yöntemdir. Bu yöntemin en büyük avantajı ise glikoz oksidazın glikoza karşı oldukça seçici davranmasıdır. Bununla birlikte, kullanılan potansiyelde diğer yükseltgenbilir örnek bileşenlerin oksidasyonu bir dezavantaj olarak değerlendirilebilir.

Anılan dezavantaj, yüzeyin uygun bir membran ile kaplanması sonucu ortadan kaldırılabilir. Glikoz ölçümü için kullanılacak olan diğer elektrokimyasal enzimatik prob, Nagy ve arkadaşları tarafından geliştirilen iyot iyon seçici elektrot bazlı potansiyometrik glikoz elektrottur.

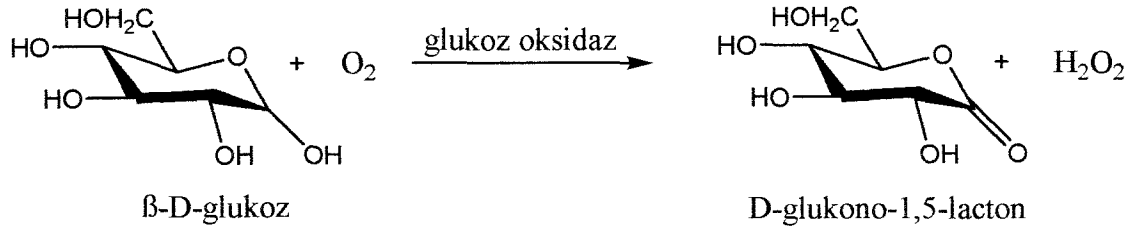
Bu yöntemde, örnek çözeltiye konan iyot iyonları enzimatik reaksiyon sonucu meydana getirilen hidrojen peroksit tarafından yükseltgenmek suretiyle, iyondaki değişim sensör yüzeyinde ölçülmektedir (Nagy ve diğ., 1973.). Benzer şekilde, flor iyon seçici elektrotta bu amaçla kullanılmaktadır.

Son zamanlarda, amperometrik glikoz ölçümü için tek basamakta uygulanabilirliği ve özellikle film kalınlığı ve immobilize olmuş enzim miktarının kontrol edilebildiği değişik polimerik matrislerde glikoz oksidazın immobilize edilmek suretiyle hazırlanabileceği polipirol(Yabuki ve diğ., 1990,; Matsue ve diğ., 1991.,; Janda ve diğ. 1991,; Kajiya ve diğ., 1991,; Tirkeş ve diğ., 2002.,; Gürsel ve diğ., 2003,), politiyofen(Zerbi ve diğ 1996), poli(o-aminofenol)(Pan ve diğ, 2004), polifenilenler(Sung ve diğ., 2000) gibi çok sayıda polimer bazlı biyosensörler geliştirilmiştir.



Bu yöntemde, elektrokimyasal polimerizasyon enasında glikoz oksidaz enzimi polimerik matriks içerisine immobilize olmaktadır.

Elektron akseptör olarak kullanılan  $O_2$  varlığında glikoz ve glikoz oksidaz arasındaki enzimatik reaksiyon aşağıdaki denklemlerle gösterilebilir.



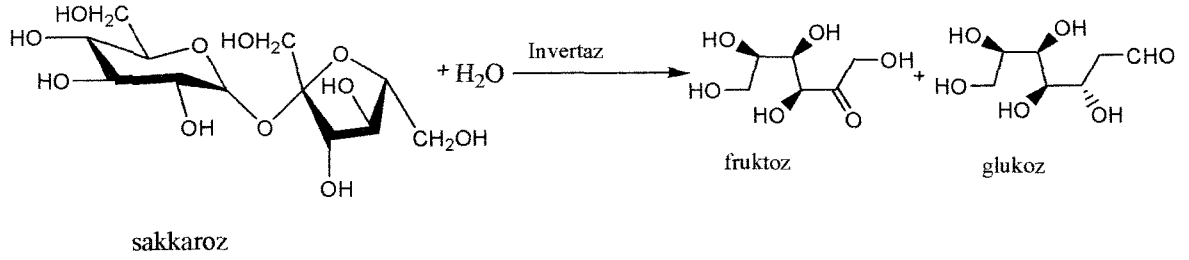
Glikoz oksidaz ( $\beta$ -D- glikoz: oksijen 1-oxidareduktaz)  $\beta$ -D- glikozu elektron akseptörü olarak moleküler oksijeni kullanarak D-glucano-1,5-lakton ve hidrojen peroksida oksidasyonunu katalizler. Glikoz oksidaz kandaki şekerin ve yiyecek maddeleri ile içeceklerdeki oksijen ve fazla şekerin ayrılmasının belirlenmesi için geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Glikoz oksidaz üretim türleri için glukonik asitin biyolojik üretimi için aspergillus ve penicilum türleri kullanılmaktadır.

Değişik matrislerde glikoz oksidazın immobilizasyonu birkaç literatürde rapor edilmiştir. Bu enzim için immobilizasyon metodları geniş olarak çapraz bağlama ve kovalent bağlanma esasına dayanır. Ayrıca glikoz konsantrasyonuna dayalı birkaç biyosensör yapılmıştır.

Mentil ve gilisidilmetakrilatın kopolimerine glikoz oksidazın kovalent bağla bağlanması (Hall 1996), fenol ve türevlerinin elektrokimyasal polimerizasyonu ile platin elektrotta glikoz oksidazın immobilizasyonu (Bartlett ve diğ., 1992), detaylı bir şekilde çalışılmıştır.

## 2.18 İnvvertaz Elektrodu

İnvvertaz ( $\beta$ -fruktofuranosidaz) (EC.3.2.1.26) sakkarozun glikoz ve fruktoz'a dönüşümünü aşağıdaki denklemde görüldüğü gibi katalizler. Bu hidroliz reaksiyonu, üründeki şeker karışımı nedeniyle yapma bal ve reçel yapımı için tatlandırıcı kristallenmeyen krema olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir (Sanchez ve diğ., 2001.; Torres ve diğ.,2002).



İnvertazın immobilizasyon yapılmış şeklinin kullanımının ticari başarısı oldukça düşüktür, bununla beraber, bütün enzimler arasında en çok çalışılan enzimlerden biridir. Çünkü çok pahalı ve çok uygulama alanına sahip enzimlerin immobilizasyonu için başlangıç model bir enzimdir. İnvertaz immobilizasyonu çok sayıda teknikle geniş bir kullanım alanına sahiptir (Wayne H. Pitcher, 1980).

İnvertaz selüloz asetat (De Paoli ve diğ., 1991), poli(etilen) (D'Souza ve diğ., 2002) gibi liflerin içine tutuklanmaktadır. Son zamanlarda elektropolimerizasyonla değişik iletken polimer matrislerine invertaz, enziminin tutuklanması bizim çalışma grubumuz tarafından detaylı bir şekilde incelenmektedir (Işık ve diğ., 2003.; Kiralp ve diğ., 2003.; Cirpan ve diğ., 2003.; Erginer ve diğ., 2002).

## BÖLÜM III

### MATERYAL ve METOD

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Kullanılan kimyasallar

Glikoz oksidaz, Tip II-S, (GOD, EC:1.1.3.4), peroksidaz, Tip II,(POD, EC: 1.11.1.7), o-dianisidin, sodyum dodesil sülfat (SDS), p-toluen sülfonik asit (PTSA), tetrabutil amonyum tetrafloroborat (TBAFB), Sigma firmasından temin edilmiştir. Sülfirik asit, hidrojen peroksit, diklormetan (Merck), Nelson reaktifinin hazırlanmasında sodyum karbonat (Riedel de haen), sodyum potasyum tartarat (Carlo Erba), sodyum bikarbonat (Merck), sodyum sülfat (Merck), bakır sülfat (Merck) ve arsenomolibdat reaktifinin hazırlanmasında amonyum hepta molibdat (Merck), sodyum hidrojen arsenat (Merck) kullanıldı. Sodyum hidroksit (Merck), hidroklorik asit (Merck), asetik asit (Merck), asetonitril (Merck), demir III klorür (Merck) firmalarından temin edilerek kullanılmıştır.

##### 3.1.2 Nelson reaktifi

Nelson A reaktifi: 25 g susuz  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 20 g  $\text{NaHCO}_3$ , 25g sodyum potasyum tartarat ve 200 g susuz  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  700 mL distile suda çözülür ve 1 litreye tamamlanır ve oda sıcaklığında saklanır

Nelson B reaktifi; 15 g  $\text{CuSO}_4$  100 mL distile suda çözülür ve derişik sülfirik asitten 1-2 damla ilave edilir ve oda sıcaklığında saklanır. Aktivite belirleme çalışmasından önce A ve B reaktifleri 25/1 (v/v) oranında karıştırılarak hazırlanır ve kullanılır.

##### 3.1.2 Arsenomolibdat reaktifi

25 g amonyum heptamolibdat tetrahidrat  $[(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$  450 mL distile suda çözülür ve 21 mL derişik sülfirik asit ilave edilir. 3 g sodyum arsenat dibasik-7-hidrat ( $\text{Na}_2\text{HAsO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 25 mL distile su ile çözülür ve hazırlanan molibdat solüsyonuna ilave

edilir. Hazırlanan çözelti 37 °C'de 24-48 saat bekletildikten sonra karanlıkta ve oda sıcaklığında saklanır.

### **3.2 Kullanılan Alet ve Cihazlar**

#### **3.2.1 <sup>1</sup>H NMR cihazı**

Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Ed. Fak. Kimya Bölümünde bulunan Bruker marka ve 400 MHz spektrometre cihazı ile <sup>1</sup>H NMR çalışması yapıldı. Çözücü olarak DMSO-d<sub>6</sub> ve standart olarak tetrametil silan kullanıldı.

#### **3.2.2 FT-IR cihazı**

Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Ed. Fak. Kimya Bölümünde bulunan Nicolet 510 markalı FTIR spektrometre cihazı ile FTIR çalışması yapıldı. Pelet hazırlama işlemlerinde KBr kullanıldı.

#### **3.2.3 DTA/DSC cihazı**

DTA/DSC çalışması Ortadoğu Teknik Üniversitesi Mühendislik Fak. Kimya Mühendisliği Bölümünde bulunan Du Pont 2000 markalı termal gravimetrik analizör ve differansiyel taramalı kalorimetri cihazı ile yapıldı. Tarama sıcaklık artışı 10°C/dak olarak ayarlandı ve azot atmosferde tarama yapıldı.

#### **3.2.4 Yüzey inceleme çalışmaları**

Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve uygulama Merkezinde bulunan Leon 440 marka taramalı elektron mikroskobu ile kopolimerlerin mikrofilmleri çekilmiştir.

#### **3.2.5 Potensiyostat**

Çalışma ve karşı elektrot arasında farklı, sabit potansiyelleri uygulamak ve IR düşmelerini elektroliz boyunca çalışma elektrodu ile referans elektrot arasındaki farklı potansiyellerle karşılaştırmak amacı ile Wenking POS-73 model potansiyostat kullanıldı.

### 3.2.6 Elektroliz hücresi

Çift bölmeli elektrokimyasal hücre kullanıldı. Çalışma ve karşı elektrot olarak platin kullanıldı. Bir gümüş tel ( $Ag/Ag^+$ ) referans elektrot olarak kullanıldı oksidasyonu önlemek için sistemden elektroliz boyunca azot gazı geçirildi.

### 3.2.7 UV-Görünür Spektrofotometre

Enzimatik reaksiyonlarda oluşan ürünlerin konsantrasyonlarının ölçülmesinde Shimadzu 160-A model spektrofotometre kullanıldı.

### 3.2.8 Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi

Bu çalışma İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Ed. Fak. Kimya Bölümünde bulunan Agilent 1100 RI cihazı molekül ağırlığı tayininde kullanıldı. THF çözücüsünün kullanıldığı  $30^{\circ}C$  çalışma sıcaklığında HR serisi kolonlar kullanılarak 0.3 mL/dak akış hızında çalışıldı.

### 3.2.9 İletkenlik ölçümü

Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Ed. Fak. Kimya Bölümünde dört nokta tekniği ile çalışan özel yapım cihaz ile iletkenlik ölçümleri yapıldı.

## 3.3 Metod

### 3.3.1 Tiyofen sonlu polivinilalkol sentezi (PVATH)

PVATH sentezi; İstanbul Teknik Üniversitesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Yusuf YAĞCI ve çalışma grubu tarafından yapılmıştır.

Magnetik karıştırıcılı ısıtıcı üzerinde bir cam balon içerisinde 2 g polivinilalkol(PVA) 60 mL DMF içinde çözüldü. 5.8 g tiyofen-3-asetikasit ve  $N,N'$ -disiloheksilkarbodiimit (DCCI)'nin 20 mL DMF'deki çözeltisi reaksiyon balonuna ilave edildi. Reaksiyon  $70^{\circ}C$ 'de 20 saat boyunca ısıtıldı. Sıcak haldeki reaksiyon ortamı bol miktarda etanol içerisine ilave edildi. Bu işlem polimerin beher dibinde hızlı bir şekilde toplanmasına neden oldu.

Sonra birkaç defa etanol ile yıkandı. Oluşan polimer THF’de çözülüp metanol içerisinde çöktürüldü. Bu işlem birkaç defa tekrarlandı. Sonra vakumda kurutuldu. 2.35 g açık kahverengi polimer (PVATH) elde edildi (Şekil 4.1).

### **3.3.2 Tiyofen sonlu polivinilalkol ile pirol’ün kimyasal yolla polimerizasyonu**

50 mL’lik iki boyunlu cam balonda magnetik karıştırıcılı ısıtıcı üzerinde 200 mg PVATH, 5 mL kloroform içerisinde N<sub>2</sub> atmosferinde çözüldü. Üzerine, 15 mL nitrometan’da çözülmüş 0.04 mol FeCl<sub>3</sub> ve 30 µL pirol içeren çözelti ilave edildi ve 8 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldı ürün metanol içerisinde çöktürülerek temizlendi ve birkaç defa metanol ve su ile yıkanarak vakum altında kurutuldu.

### **3.3.3 Tiyofen sonlu polivinilalkol ile tiyofen’in elektrokimyasal metotla kopolimerizasyonu**

% 1 PVATH içeren diklorometan çözeltisi Pt elektrot üzerine damlatılarak kaplandı. Bu elektrot çalışma elektrodu olarak kullanılarak, tiyofenin, elektrokimyasal metotla polimerizasyonu sonucu kopolimer sentezlendi. Elektroliz hücresinde asetonitril içerisinde 0.02 mol/L tiyofen ve 0.05 mol/L TBAFB destek elektrolit olarak ilave edildi. Referans elektrot olarak Ag/Ag<sup>+</sup> elektrot kullanıldı ve 2.0 V oksidasyon potansiyeli uygulandı. Yaklaşık 50 µm kalınlığında film elde edilinceye kadar elektroliz işlemine devam edildi. Elektrolizden sonra hücre içerisinde anod elektrot alınarak diklorometan ile birkaç defa yıkanıp reaksiyona girmeyen PVATH ortamdan uzaklaştırıldı.

### **3.3.4 Tiyofen sonlu polivinilalkol ile pirol’ün elektrokimyasal metotla kopolimerizasyonu**

% 1 PVATH içeren diklorometan çözeltisi Pt elektrot üzerine damlatılarak kaplandı. Bu elektrot çalışma elektrodu olarak kullanılarak pirol’ün elektrokimyasal metotla polimerizasyonu ile kopolimer sentezlendi. Elektroliz hücresinde 0.02 mol/L pirolün yanı sıra destek elektrolit olarak H<sub>2</sub>O/PTSA, H<sub>2</sub>O/SDS ve asetonitril/TBAFB sistemlerinin her biri ayrı çalışmalarda olmak üzere 0.05 mol/L miktarında ilave edildi. Referans elektrot olarak Ag/Ag<sup>+</sup> elektrot kullanıldı ve 1.0 V sabit potansiyel uygulandı. Yaklaşık 50 µm kalınlığında film elde edilinceye kadar elektroliz işlemine devam edildi. Elektrolizden

sonra filmler diklormetan ile birkaç defa yıkayıp reaksiyona girmeyen PVATh ortamdan uzaklaştırıldı.

### **3.3.5 Glikoz oksidaz enzimi ile modifiye edilmiş tiyofen sonlu polivinilalkol / polipirol matrisli enzim elektrodunun hazırlanması**

Elektroliz hücresine 2 mg/mL glikoz oksidaz enzimi, 50 µL pirol ve destek elektrolit olarak 0,6 mg/mL SDS veya PTSA içeren 30 mL asetat tamponu (pH=5,1) konuldu. Bu hücre içerisine Bölüm 3.3.3'de anlatıldığı gibi hazırlanan kaplı elektrot veya kaplanmamış Pt elektrot daldırıldı. Polimerizasyon işlemi 60 dk boyunca 1,0 V sabit potansiyel altında gerçekleştirildi. Elektrot distile su ile yıkayıp tutuklanmamış olarak yüzeye adsorplanan enzimler yüzeyden uzaklaştırıldı. Böylece hazırlanmış olan enzim elektrotlar, pH 5,1 asetat taponu içerisinde 4 °C sıcaklıkta kullanılmıncaya kadarsaklandı.

### **3.3.6 İvertaz enzimi ile modifiye edilmiş tiyofen sonlu polivinilalkol/polipirol matrisli enzim elektrodunun hazırlanması**

Elektroliz hücresine 2mg/mL invertaz enzimi, 50 µL pirol ve destek elektrolit olarak 0,6 mg/mL SDS veya PTSA içeren 30 mL asetat tamponu (pH=5,0) konuldu. PVATh ile kaplanan veya kaplanmayan Pt elektrotlar elektroliz hücresine daldırıldı. Polimerizasyon işlemi 60 dk boyunca 1,0 V sabit potansiyel altında polimerizasyon gerçekleştirildi. Elektrot distile su ile yıkayıp tutuklanmamış olarak yüzeye adsorplanan enzimler, yüzeyden uzaklaştırıldı. pH 5,0 asetat taponu içerisinde 4°C sıcaklıkta saklandı.

### **3.3.7 Glikoz oksidaz enziminin aktivitesinin belirlenmesi**

Serbest ve immobilize enzim aktivitesi belirlenmesinde Sigma yayınlarında belirtilen yöntem kullanıldı (Sigma Bülteni.,1993). Serbest glikoz oksidaz aktivitesinin tayini için, glikoz çözeltisi 15 mL'lik bir deney tüpüne alındı ve 25 °C'de termal dengeye gelinceye kadar su banyosunda bekletildi. 0,1 mL enzim çözeltisinin eklenmesinden sonra enzim-substrat arasındaki reaksiyonun gerçekleşmesi için 0, 2, 4, 6 dak. beklendi. Sonra 0,1 mL POD (60 PU/mL) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reaksiyonunu katalizlemek için ve 4 mL o-dianisidin renklendirici olarak ortama ilave edildi. Reaksiyon 0,5 mL 2,5 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eklenerek durduruldu. Spektrofotometrik ölçümler 530 nm'de gerçekleştirildi.

İmmobilize enzim aktivitesinin tayini için, enzim elektrodu glikoz çözeltisine yerleştirildi ve spesifik reaksiyon süreleri başlatıldı. Ölçümün devamı serbest enzim aktivitesinin belirlenmesinde olduğu gibi gerçekleştirildi. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> standart kalibrasyon eğrisi enzim aktivitesini belirlemek için kullanıldı. Çözeltilerin absorbanları 530 nm dalga boyunda UV spektrofotometresinde belirlendi.

### **3.3.8 İnvvertaz enziminin aktivitesinin belirlenmesi**

İmmobilize ve sertbest invertaz aktivitelerinin belirlenmesinde Nelson metodu kullanıldı (Nelson., 1944). Serbest invertaz aktivitesinin belirlenmesinde sakkaroz çözeltisi bir deney tüpüne konuldu ve 25°C'de termal dengeye gelinceye kadar bekletildi. Termal dengeye gelen tüplerin içerisine 0.1 mL enzim çözeltisinin eklenmesinden sonra enzim ile substrat arasındaki reaksiyon tamamlanincaya kadar 0, 2, 4, 6 dak. bekletildi ve her periyodun sonunda reaksiyonu sonlandırmak için 1 mL Nelson reaktifi eklendi. Kaynar su banyosunda 20 dak. bekletildikten sonra çözeltiler 10 dak. boyunca buzlu su banyosunda soğuyuncaya kadar bekletildi. Çözeltilerin absorbanları 540 nm dalga boyunda UV spektrofotometresinde belirlendi.

İmmobilize enzim elektrodunun aktivitesinin belirlenmesi için enzim elektrot sakkaroz çözeltisine yerleştirildi ve spesifik reaksiyon sürelerinden sonra elektrot çıkarılarak reaksiyonu sonlandırmak için 1 mL Nelson reaktifi eklendi reaksiyonun geriye kalan kısmı serbest invertaz enzimi aktivitesinin belirlenmesinde belirtildiği gibi gerçekleştirildi. Çözeltilerin absorbanları 540 nm dalga boyunda UV spektrofotometresinde belirlendi.

### **3.3.9 Kinetik parametrelerin belirlenmesi**

Serbest ve immobilize enzimlerin kinetik parametreleri, Michealis-Menten (K<sub>m</sub>) ve maksimum reaksiyon hızı (V<sub>max</sub>), sabit pH ve sabit sıcaklıkta değişik substrat konsantrasyonlarında belirlenmiştir. Glikoz oksidaz ve invertaz enzimlerinin her ikisi içinde Michealis-Menten kinetik parametreleri, Linewear-Burk noktalama yöntemi ile (K<sub>m</sub> ve V<sub>max</sub>) belirlendi (Lineweaver ve Burk, 1934). Her elektrot için Michaelis-Menten Sabiti (K<sub>m</sub>) ve maksimum reaksiyon hızı belirlendi. Farklı konsantrasyonlardaki glikoz (glikoz oksidaz için) ve sakkaroz (invertaz için) çözeltileri için aktivite çalışması yapılarak



kinetik parametreler belirlendi. Sonuçlar, beş paralel çalışmanın ortalaması alınarak Çizelge 4.2 ve 4.3’de verilmiştir.

### **3.3.10 Optimum sıcaklığın belirlenmesi**

İmmobilize invertaz ve glikoz oksidaz enzimlerinin optimum reaksiyon sıcaklığının belirlenmesi çalışmasında değişik inkübasyon sıcaklıklarında substrat konsantrasyonunun (~5 Km) olduğu çözeltilerde glikoz oksidaz için 15-60 °C sıcaklık aralığında, invertaz için 15-70 °C sıcaklık aralığında aktivite belirleme çalışması bölüm 3.3.7 ve 3.3.8 de anlatıldığı gibi yapıldı. Aktivite-sıcaklık grafiği çizilip, optimum çalışma sıcaklıkları belirlendi. Bulgular şekil 4.14a-b ve Şekil 4.15a-b’de verilmiştir.

### **3.3.11 Raf ömrünün belirlenmesi**

Hazırlanan enzim elektrotlarının raf ömürlerinin belirlenmesi çalışmasında haftada 2 defa aktivite Bölüm 3.3.7 ve 3.3.8’deki gibi belirlendi, çalışma yapılmadığı diğer zamanlarda elektrotlar tampon çözelti içerisinde buzdolabında saklandı. Bulgular Şekil 4.18 ve 4.19’da verildi.

### **3.3.12 Çalışma kararlılığının belirlenmesi**

Enzim elektrotlar ile bir gün boyunca 30 defa Bölüm 3.3.7 veya 3.3.8’de anlatıldığı gibi çalışılarak aktivite belirlendi ve Bulgular Şekil 4.16 ve Şekil 4.17’de verildi.

### **3.3.13 Filmlerin yüzeylerinin incelenmesi**

Hem enzim tutuklanmış hemde enzim tutuklanmamış polimer filmlerinin yüzeyleri incelendi. Elektrot yüzeyinde sentezlenen polimer filmler soyulduktan sonra tampon çözelti ve enzim tutuklanmamış filmler diklormetan veya su ile birkaç defa yıkanarak tutuklanmayan enzimler, yüzeydeki destek elektrolitler, ortamdan uzaklaştırıldı, sonra SEM ile filmlerin çözelti yüzeylerinin mikrofilmleri çekildi. Bulgular Şekil 4.12, ve 4.19 ve 4.20’de verildi.

### 3.3.14 Dönüşümlü voltamogram çalışması

Dönüşümlü voltamogram Asetonitril ve TBAFB ortamında PPy varlığında çalışma, karşı ve referans elektrotların kullanıldığı sistemde 1 v/s tarama hızı ile alındı.



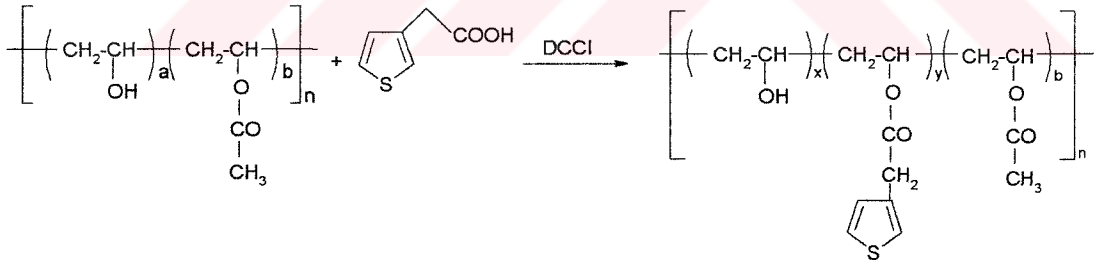
## BÖLÜM IV

### BULGULAR ve TARTIŞMA

Elektrokimyasal aktivitesi olan ve kolaylıkla film haline gelebilen düzenli polimerler pirol, tiyofen veya her ikisiyle de oksidatif polimerizasyonla daha düzenli kopolimerler elde edilebilir (Yağcı ve Toppare 2003), hidroliz dercesi %86,5-89 olan poli(vinil alkol) 3-tiyofen asetik asit ile esterifikasyonla modifiye edildi. Başlangıç polimeri sadece DMF ile ısıtılarak çözünmektedir. DCCI ile esterifikasyon reaksiyonu gerçekleştirildiğinde modifiye PVA genel organik çözücülerde çözünmez iken PVATH (Şekil 4.1) DMSO'da çözünür hale geldi. Reaksiyon esnasında yüksek konsantrasyonlarda reaktif kullanımı ve çözeltinin ısıtılması ile daha çözünebilen bir polimer elde edildi ve film elde etmede daha yaygın olarak kullanılan THF'de çözünür hale geldi.

Elde edilen bu polimer ile değişik elektrolitler kullanılarak sentezlenen iletken polimerler, invertaz ve glikoz oksidaz, immobilizasyonunda kullanıldı.

Enzim elektrodu hazırlandı ve karakterizasyonu yapıldı, optimum koşullar belirlendi. Ayrıca destek elektrolit etkisi, optimum sıcaklık, raf ömrü ve kaplı elektrotların çalışma ömrü belirlendi ve kopolimerin kullanımıyla enzim elektrottaki immobilizasyon etkinliği incelendi.



Şekil 4.1 Tiyofen sonlu poli(vinil alkol)'ün sentezi

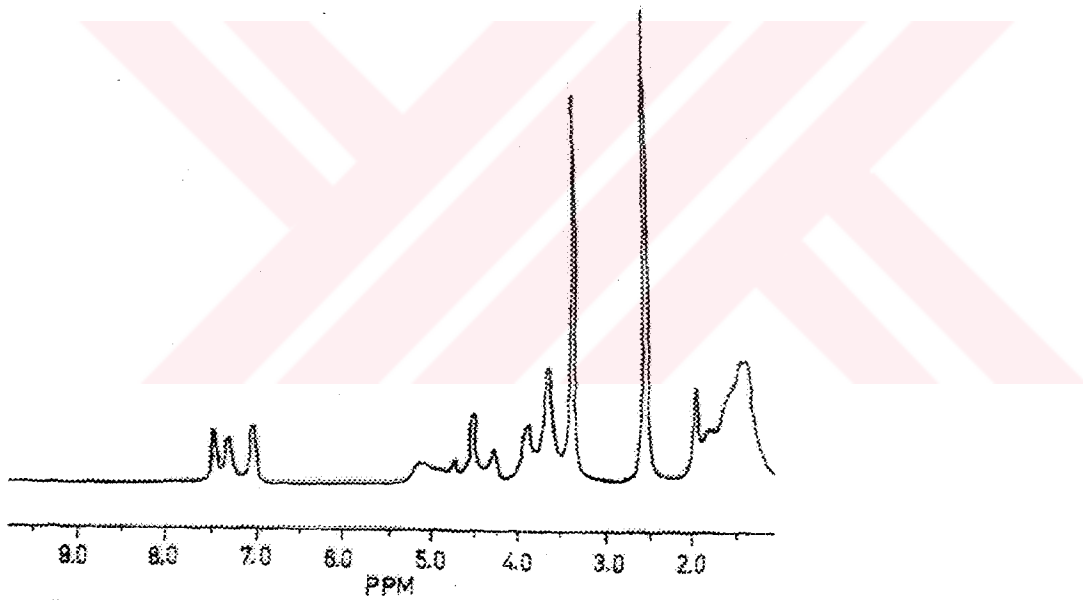
#### 4.1 <sup>1</sup>H NMR Spekturum Bulgularının Değerlendirilmesi

Elde edilen modifiye polimerin <sup>1</sup>H NMR spektrumu incelendiğinde (Şekil 4.2) 1.2-1.7 ppm'de CH<sub>2</sub> ana zincir protonlarına ait gerilme titreşimleri, 1.93ppm'de başlangıçtaki PVA'den kalan asetil grupları OCOCH<sub>3</sub>, 3.6 ppm'de tiyenil asetil grubundaki COCH<sub>2</sub>, 3.82 ppm'de OH protonları, 4.2-5.0 ppm'de ana zincirdeki CH protonları ve 6.99,7.26-7.43

ppm'de (tiyofengrubunun üç adet piki) görülmektedir. Aşağıdaki eşitlik kullanılarak polimerin tahmin edilen düzeni hesaplanmıştır.

$$\% \text{Th} = I_{\text{Ar}}100/3I_{\text{CH}} \text{ ve } \% \text{OCOCH}_3 = I_{\text{OCOCH}_3}100/3I_{\text{CH}}$$

%Th ve % OCOCH<sub>3</sub> sırayla tiyofen son grubun'daki birimlerin miktarını ve asetil gruplarını göstermektedir. I<sub>Ar</sub>, I<sub>OCH<sub>3</sub></sub> ve I<sub>CH</sub> sırasıyla aromatik bölgedeki tiyofen protonlarını, asetil gruplarındaki OCH<sub>3</sub> protonları ve ana zincirdeki CH protonlarını integrallerinin yoğunluklarını göstermektedir. Her iki durumda da asetil artıkları ile birimlerin bileşimi % 13 civarındadır ve başlangıç PVA'nın hidroliz derecesiyle uyum içerisinde. Tiyofen son birimlerinin sayısındaki artma ve OH sayısındaki azalma polimerin çözünürlüğünü artırmaktadır.



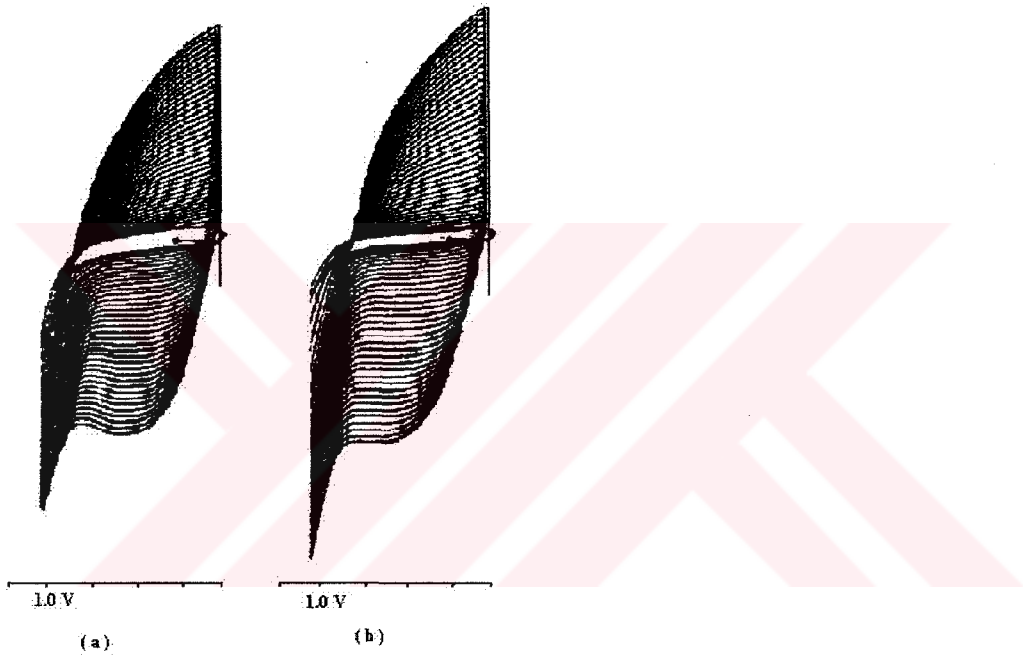
Şekil 4.2 PVATH'in <sup>1</sup>H-NMR spektrumu

#### 4.2 Molekül Ağırlığı Dağılımı

PVATH'in yapılan HPLC çalışması sonucun waters HR serisi HR4, HR3, HR2 serisi kolonlar kullanılarak THF çözücüsü ile 30°C'de yapılan çalışmada sayıca ortalama molekül ağırlığı Mn= 42000, ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı 57000 ve polidisperslik indeksi PDI= 1,36 olarak bulunmuştur.

### 4.3. Dönüşümlü Voltametri Çalışması

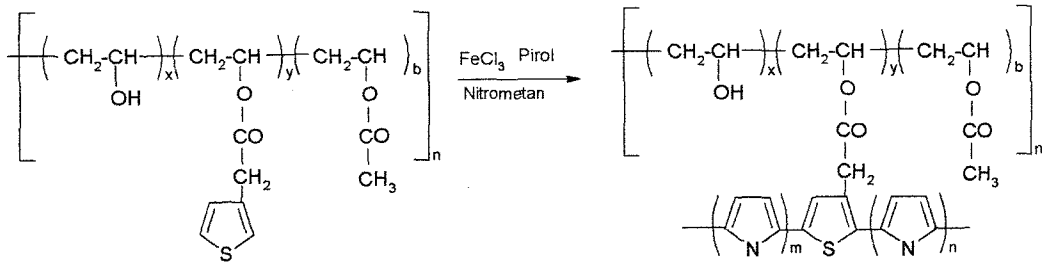
Dönüşümlü voltamogram TBAFB/Asetonitril elektrolit/çözücü sisteminde saf polipirol ortamda Dönüşümlü voltamogram alınmış ve Şekil 4.3a ve (TVATH/PPy'li) Şekil 4.3b verilmiştir. Şekil 4.3 a ve b'de görüldüğü gibi saf polipirol ve TVATH/PPy'li voltamogramlar birbirinden farklılık göstermektedir. Bu voltamogramların sonucundan oluşan ürünlerin bir birinden farklı olduğunu söylememiz mümkündür.



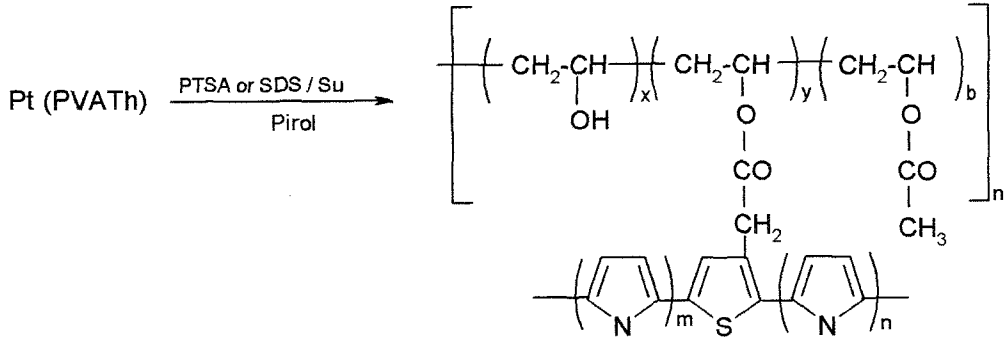
Şekil 4.3 Dönüşümlü voltamogramlar a) Saf polipirol b) PVATH/PPy

### 4.4 Kimyasal ve Elektrokimyasal Yöntemle Kopolimer Sentezi

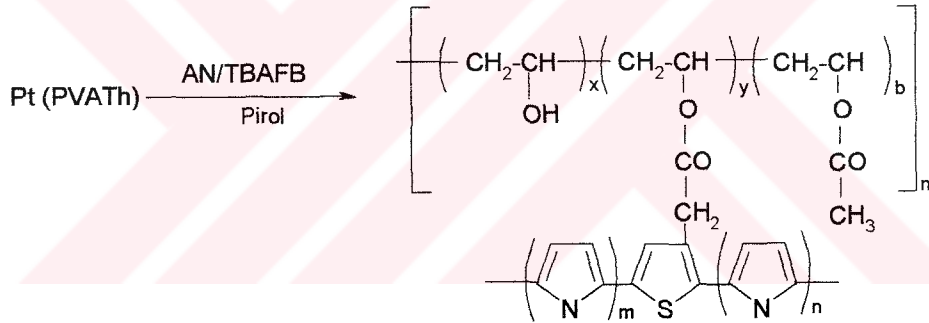
PVATH/PPy kopolimeri kimyasal metotla (Şekil 4.4) ve elektrokimyasal metotla üç farklı destek elektrolit varlığında su/PTSA, su/SDS ve asetonitril/TBAFB (Şekil 4.5a ve Şekil 4.5b) sentezlendi PVATH kopolimeri tiyofen varlığında da asetonitril/TBAFB elektrolit varlığında sentezlenmeye çalışıldı, ancak ortamda hiçbir reaksiyon gerçekleşmedi (Şekil 4.6).



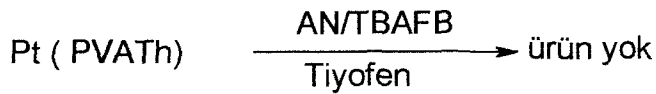
Şekil 4.4 Kimyasal metotla PVATH/PPy kopolimerinin sentezi



Şekil 4.5a Elektrokimyasal metotla sulu sistemde PVATH/PPy kopolimerinin sentezi



Şekil 4.5b Elektrokimyasal metotla sulu sistemde PVATH/PPy kopolimerinin sentezi

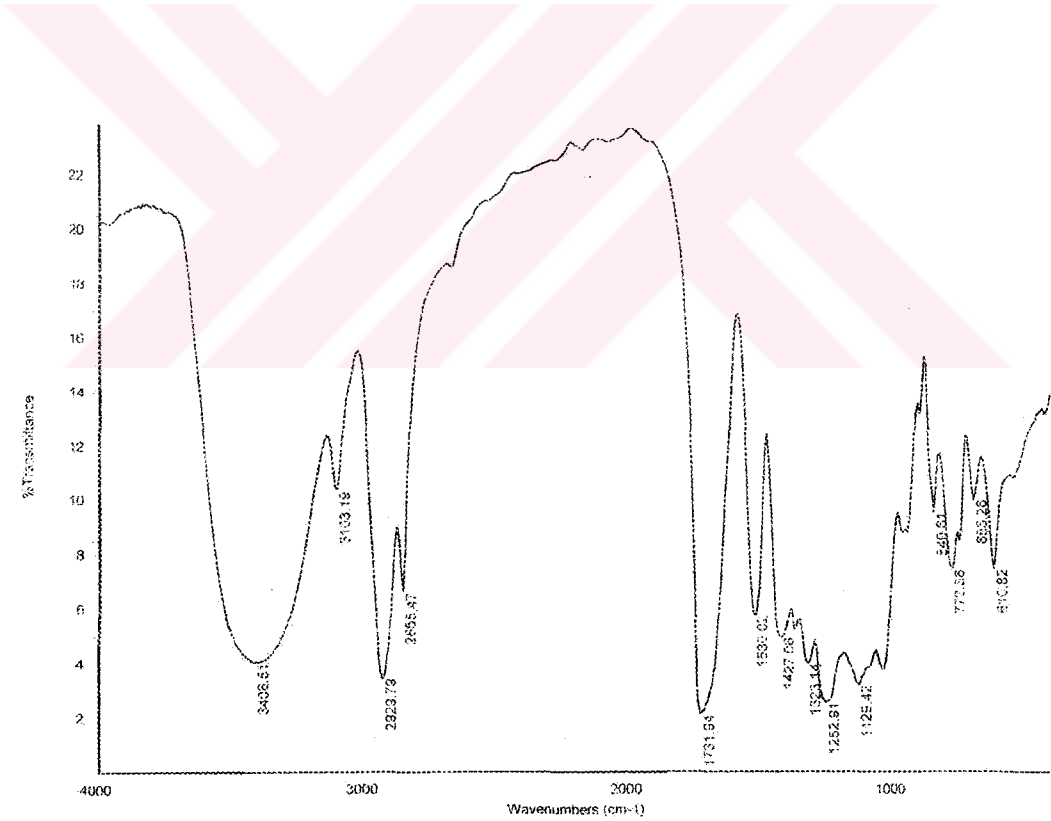


Şekil 4.6 Elektrokimyasal metotla sulu sistemde PVATH/PTh kopolimerinin sentezi

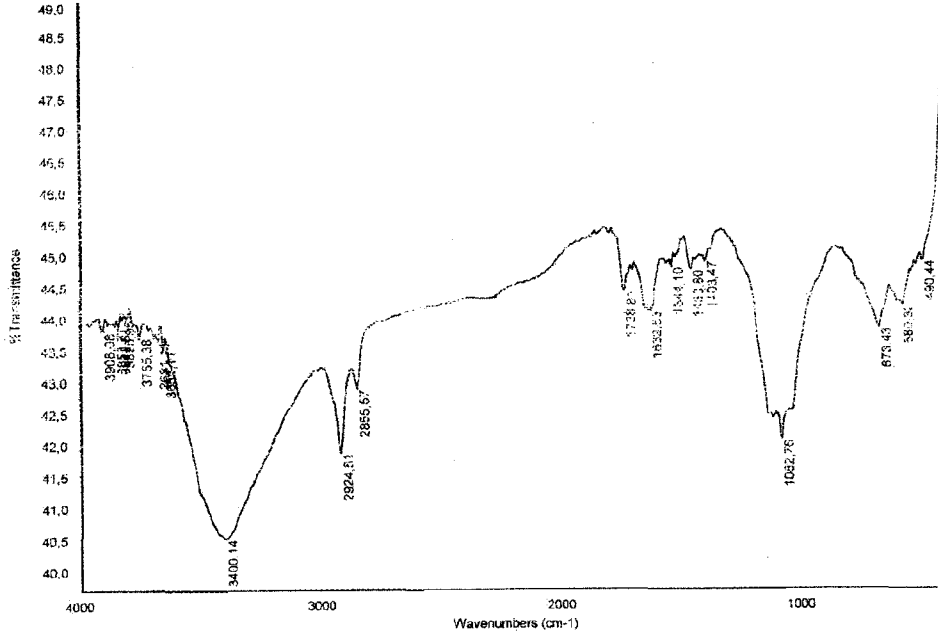
#### 4.5 FTIR Spektrum Bulgularının Değerlendirilmesi

Çıkış maddesi olan PVATH ile kimyasal yöntemle sentezlenen PVATH/PPy'nin FTIR spektrumları Şekil 4.7a ve Şekil 4.7 b'de verilmiştir. Spektrumlar üzerinde bileşik

yapısında bulunan işlevsel gruptaki bağlara ait. Eğilme ve gerilme titreşimlerinin dalga sayıları not edilmiştir. PVATH'nin FT/IR spektrumu incelendiğinde kısmen hidrolize olmuş PVA'nın genel absorpsiyonları görülmektedir; 3380  $\text{cm}^{-1}$  OH gerilmesi, 2942-2840  $\text{cm}^{-1}$  CH gerilmesi 1430  $\text{cm}^{-1}$  CH<sub>2</sub> eğilmesi 1320  $\text{cm}^{-1}$  CH eğilmesi, 1125  $\text{cm}^{-1}$  CC ve CO gerilme titreşimleri görülmektedir. 1730  $\text{cm}^{-1}$ 'de görülen çok güçlü absorpsiyon piki asetil grupları ve yeni oluşan asetil tienil bileşiklerinin karbonil gruplarından kaynaklanmaktadır. Kimyasal ve elektrokimyasal metodla yapılan sentezlerde var olan PVATH piklerinin yanı sıra çalışmamızın en karakteristik piki olan karbonil grubuna ait 1740  $\text{cm}^{-1}$ 'de bulunan absorpsiyon piki görülmektedir. Yapılan iletken kopolimer filmlerinin PVATH'in çözücüsü olan THF'de yıkandığını göz önünde bulundurursak reaksiyona girmeyen PVATH artıkları çözünecek ve filminden uzaklaşacaktır. Bu nedenle 1740  $\text{cm}^{-1}$ 'de bulunan karbonil pikinin varlığı reaksiyonumuzun PVATH'in bünyesinde bulunan tiyofen halkaları üzerinden yürüdüğü kanıtlanmış olmaktadır.



Şekil 4.7 a) PVATH' nin FTIR spektrumu



Şekil 4.7 b PVATH/PPy'nin FTIR spektrumu

#### 4.6 İletkenlik Ölçümleri

İletkenlik ölçümleri dört nokta tekniği ile yapılmıştır. Kimyasal yöntemle yapılan sentezde ve elektrokimyasal olarak yapılan ve PTSA, TBAFB veya SDS ile katkılanmış filmlerde yapılan iletkenlik ölçüm sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Elektrot yüzeylerin iletkenlik dağılım aralığı 0,2-4,1 S/cm ile çözelti yüzeylerinin 0,5-4,4 S/cm bulunmuştur. Filmlerin elektrot yüzeyleri ile çözelti yüzeylerinin iletkenlikleri arasında kayda değer bir farka rastlanmamıştır. Bu sonuçlara bakarak homojen bir film elde edildiğini söyleyebiliriz.

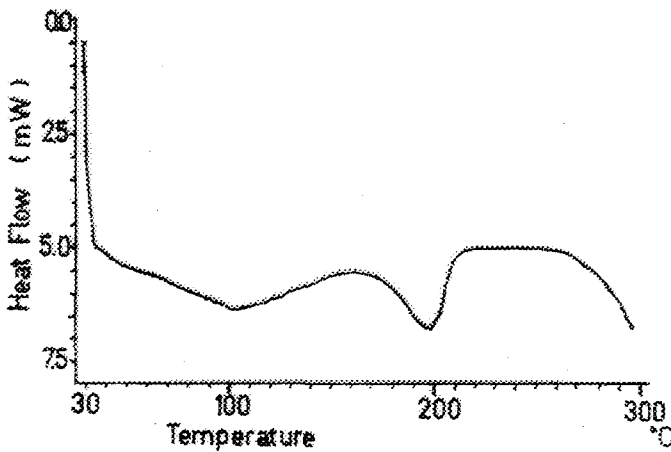
Çizelge 4.1 Tiyofen sonlu iletken kopolimerlerin iletkenlikleri

	Elektrot Yüzeyi (S/cm)	Çözelti Yüzeyi (S/cm)
Kimyasal Sentez	4.1	4.1
PVATH/PPy1 (PTSA katkılı)	0.3	4.4
PVATH/PPy1 (SDS katkılı)	0.2	3.0
PVATH/PPy1 (TBAFB katkılı)	0.3	0.5

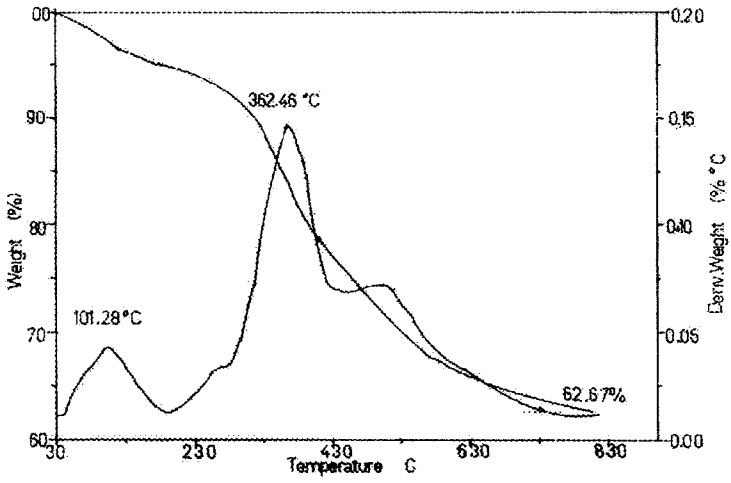


#### 4.7 Termal Analiz Bulguları

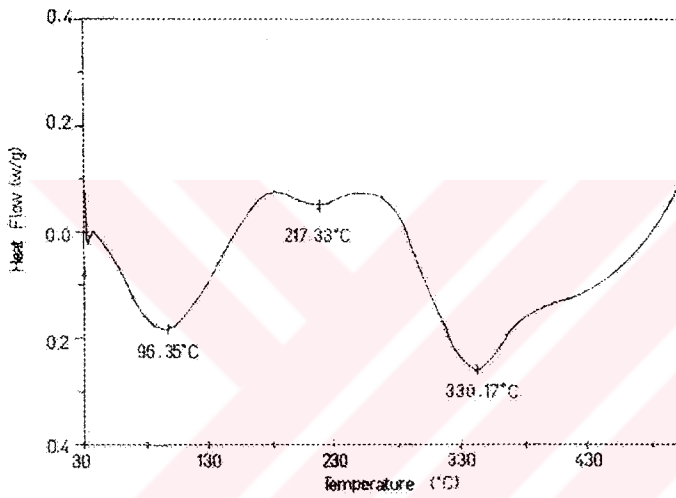
Başlangıç PVA ve PVATH'in DSC eğrileri incelendiğinde termal bozunmalarındaki farklılık açıkça görülmektedir 102 °C'de endotermik pik modifiye polimerdeki nemden gelen OH gruplarının ayrılmasından kaynaklanmaktadır. Muhtemelen hidroksil gruplarının sayısının azalmasından kaynaklanabilir (Şekil 4.8) 70-80 °C'ler arasında PVA'nın camsı geçişleri bu olgu içerisinde açıklanmaktadır. Bunlara ilaveten 197 °C'de bulunan PVA'ya ait endotermik pik PVATH'da bulunmamaktadır. PVATH/PPy (PTSA katkılı)'nın TGA eğrisi (Şekil 4.9a) incelendiğinde en büyük kütle kaybının 362 °C'de gerçekleştiği görülmektedir. DSC termogramı incelendiğinde (Şekil.4.9b) ise üç adet endotermik geçiş gözlenmektedir. Bunlardan birincisi polimer matrisinde bulunan çözücünün ayrılmasından, ikincisi dopant iyonlarının uzaklaşmasından ve 330 °C'de bulunan endotermik geçiş ise örneğimizin bozunmaya başlamasından kaynaklanmaktadır. PVATH/PPy (SDS katkılı) filmlerin TGA eğrisi (Şekil 4.10b) incelendiğinde 283 °C'de ana kütle kaybı görülmektedir. Aynı filmin DSC eğrisi (Şekil 4.10a ) incelendiğinde ise iki adet endotermik pik 89 °C'de matriste bulunan çözücünün ayrılmasına ait geçiş ve 256°C'de matrisin bozunmaya başlamasından kaynaklanan endotermik pik görülmektedir. TBAFB katkılı PVATH kopolimerinin TGA eğrisi(Şekil 4.11a) incelendiğinde 265 °C'de ana kütle kaybı görülmektedir. Bu kopolimerin DSC eğrisinde (Şekil 4.11b) ise 89 °C'de çözücünün matristen ayrılmasına ait endotermik pik ve 290 °C' de ise matrisin bozunmaya başlamasından kaynaklanan endotermik pik görülmektedir.



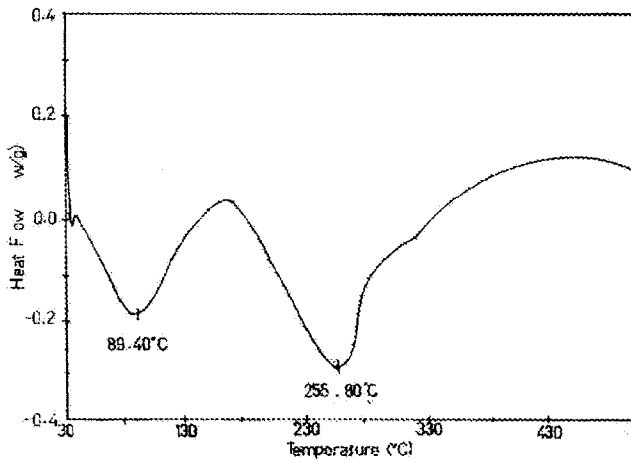
Şekil 4.8 PVATH'nin DSC termogramı



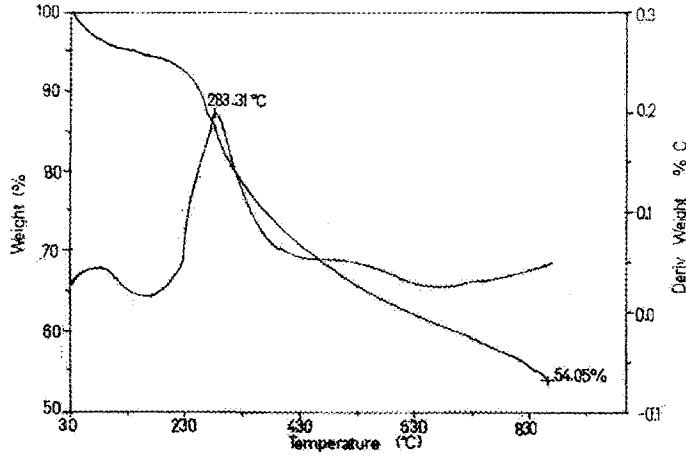
Şekil 4.9a PVATH/PPy (PTSA) TGA termogramı



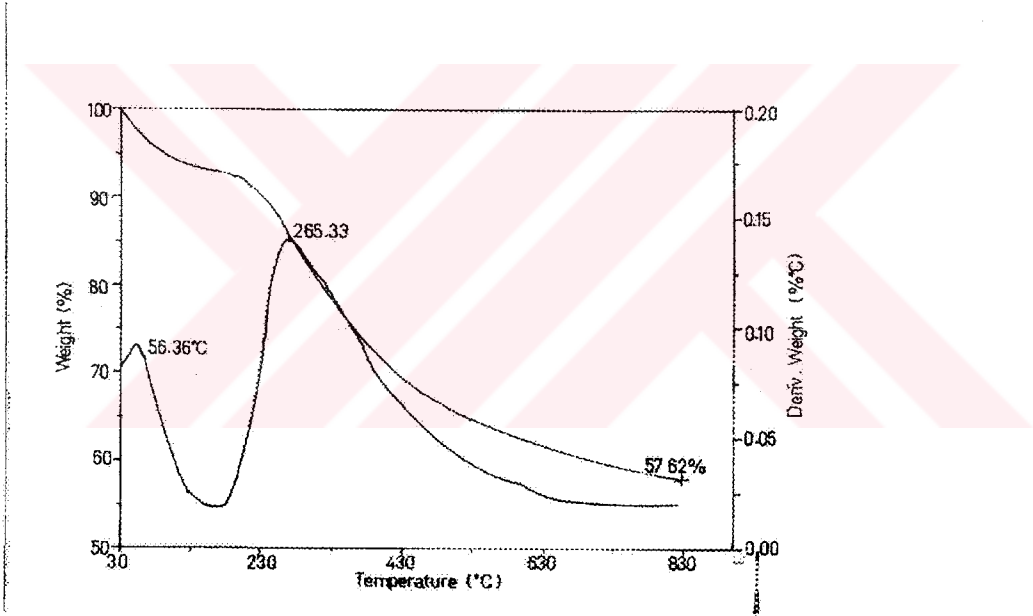
Şekil 4.9b PVATH/PPy (PTSA) DSC termogramı



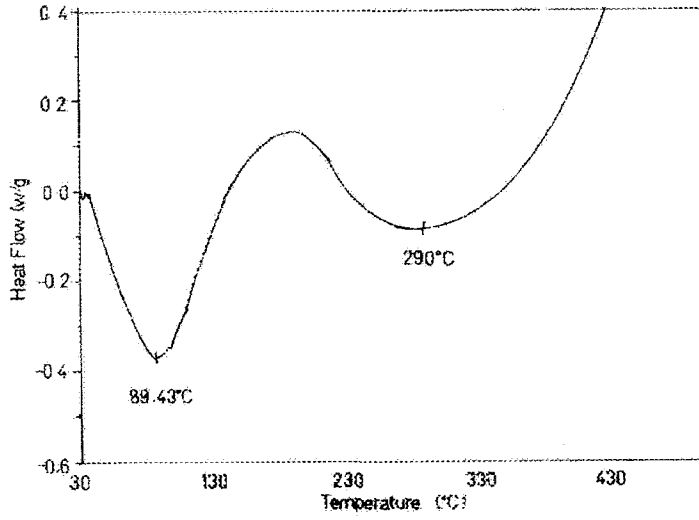
Şekil 4.10a PVATH/PPy (SDS) DSC termogramı



Şekil 4.10b PVATH/PPy (SDS) TGA termogramı



Şekil 4.11a PVATH/PPy (TBAFB) TGA termogramı



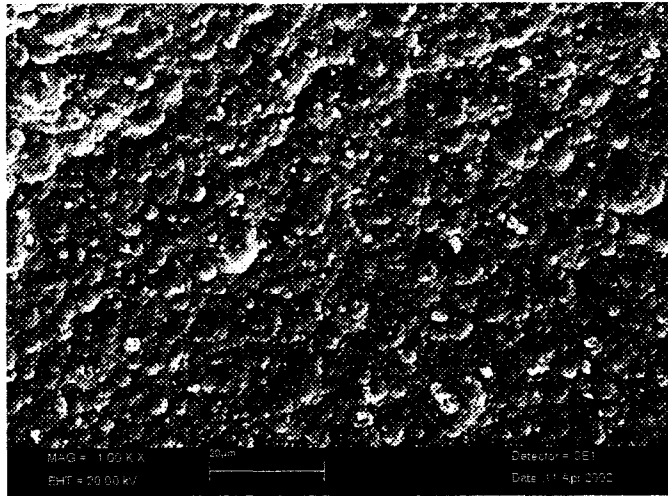
Şekil 4.11b PVATH/PPy (TBAFB) DSC termogramı

#### 4.8 Kopolimer Filmlerinin Yüzey Yapılarının Değerlendirilmesi

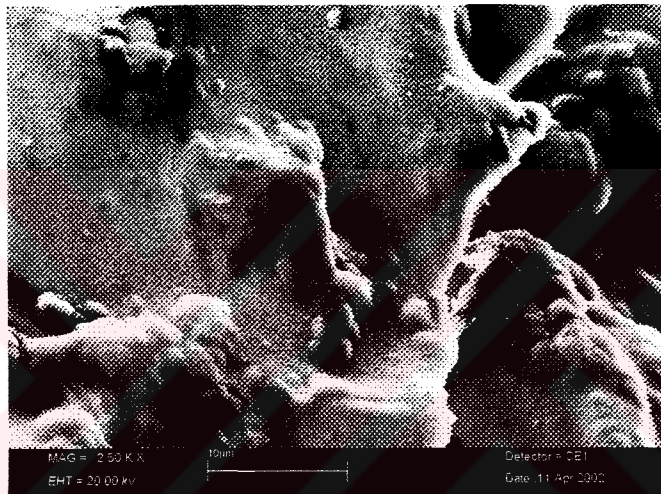
Şekil 4.12'de sentezlenen kopolimer filmlerinin çözelti yüzeylerinin mikrofilmleri görülmektedir. Bu mikrofilmleri incelendiğinde, yüzeylerin birbirinden oldukça farklı olduğu anlaşılabacaktır. Saf polipirolün bilinen karnibahar görünümünden (Şekil 4.12 d ve e) farklıdır. dışına çıktığı ve moleküllerin şekillerinin değiştiği gibi farklılıklar belirlenmiştir. Şekil 4.12 a-e incelendiğinde sentezlenen maddelerin saf polipirol olmadığı kanaati oluşmaktadır.



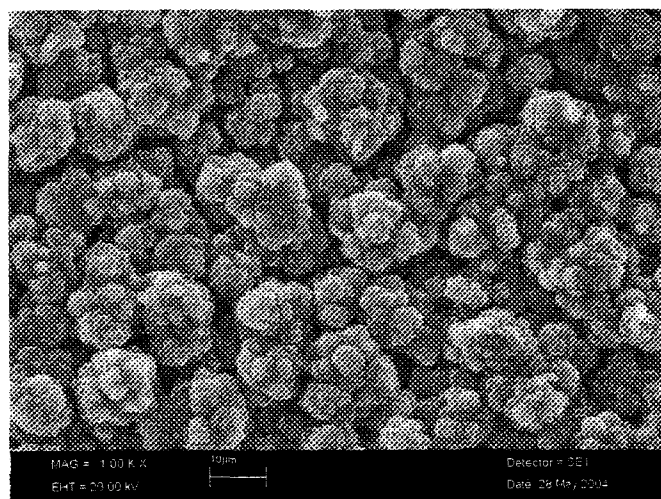
(a)



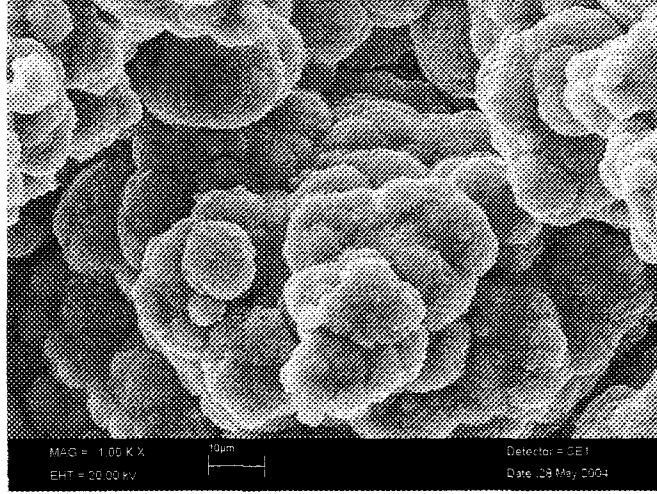
(b)



(c)



(d)



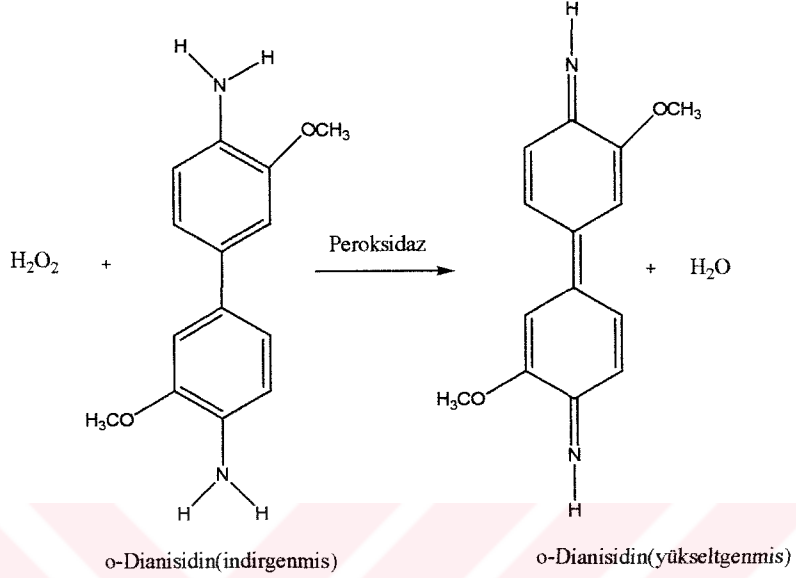
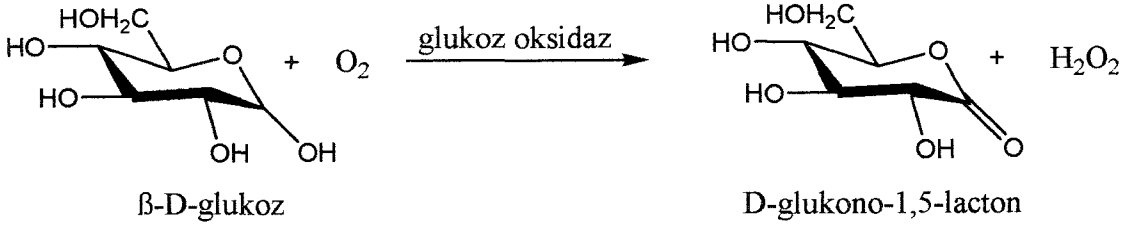
(e)

Şekil 4.12 SEM Mikrofilmleri (a) PVATh/PPy'nin çözelti yüzeyi (PTSA), (b) PVATh/PPy'nin çözelti yüzeyi (SDS) (c) PVATh/PPy'nin çözelti yüzeyi(TBAFB) (d) PPy'nin çözelti yüzeyi (TBAFB) (e) PPy'nin çözelti yüzeyi (PTSA)

#### 4.9 Enzim Aktivitesi

Serbest ve immobilize invertaz aktivite ölçümleri materyal ve metod bölümünde anlatılan metota göre yapıldı (Bölüm 3.3.7). İvertaz aktivitesini tayin etmek için, her spektrofotometrik ölçümden sonra elde edilen eğimler ( Sabit substrat konsantrasyonunda, sabit sıcaklık ve pH'da zamana karşı absorbans eğimleri) standart kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırıldı. (absorbansa karşı glikoz konsantrasyonu). İvertaz aktivitesinin bir birimi, pH=5'te ve 25°C'de sakkarozdan dakikada 1  $\mu$ mol glikoz oluşturmak için gerekli enzim miktarı olarak tanımlanır.

Serbest ve immobiize enzimin glikoz oksidaz atktivite ölçümleri materyal metod bölümüde anlatıldığı gibi gerçekleştirildi (Bölüm 3.3.6). Enzim aktivite ölçümleri aşağıdaki reaksiyonda gösterildiği gibi, (Şekil 4.13) meydana gelen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin ölçümüne dayanmaktadır.



Şekil 4.13 Glikoz oksidazın reaksiyonları

Aktiviter; zamana karşı absorbans eğrisinin eğiminin  $H_2O_2$  konsantrasyonu ile absorbans oluşturduğu standart kalibrasyon eğrisinin karşılaştırılması ile tayin edildi. Glikoz oksidaz enziminin aktivitesinin bir birimi  $pH=5.1$  te  $25^\circ C$ 'de 1  $\mu mol$  D-glukonik asit ve  $H_2O_2$  oluşturmak için gerekli enzim miktarı olarak tanımlanır.

#### 4.10 Elektrolit Seçimi

İnvertazın immobilizasyonu PPy ve PVATh/PPy matrisleri kullanılarak enzim (1 mg/mL miktarında) içeren asetat tamponu içerisine SDS veya PTSA elektrolitleri katılarak gerçekleştirildi.

İnvertazın immobilizasyon işlemi 60 dk süre ile 0,6 mg/mL elektrolit SDS içeriği ile asetat tamponu ( $pH=5$ ) içerisinde gerçekleştirildi. Elektroliz sonunda yaklaşık 20  $\mu m$  kalınlığında homojen siyah filmler elde edildi.

Destek elektrolit olarak PTSA (0.6 mg/mL) varlığında, invertazın immobilizasyonu gerçekleştirildi. Elektroliz işlemi 60 dk süreyle 1,0 V sabit potansiyel altında gerçekleştirildi, fakat PTSA destek elektroliti ile yapılan aktivite çalışmasında bir aktivite belirlenemedi. Bunun nedeni olarak; SDS'nin yüzey aktif özelliği nedeniyle enzimin çalışma elektroduna difüzyonu daha kolay olduğundan kaynaklandığı düşünülebilir

Glikoz oksidaz enziminde ise yine benzer çalışmalar yapılarak sonuca ulaşılmıştır. Burada da elektroliz ortamında destek elektrodu 0.6mg/mL miktarında SDS veya PTSA ve pH=5.1 asetat tamponunda kullanılarak elektoliz gerçekleştirilmiş. Elektroliz 60 dk süre ile yapılmıştır. Bu enzim içinde yine SDS de aktivite belirlenirken PTSA'nın destek elektrolit olarak kullanıldığı ortamda yapılan enzim elektrotlarda aktivite belirlenememiştir.

Her iki enzim çalışmasında da PTSA elektroliti ile yapılan enzim elektrotlarında aktivite belirlenemediği için çalışmalarda SDS elektroliti ile yapılan enzim elektrotları kullanılmıştır.

#### 4.11 Kinetik Parametreler

Serbest ve immobilize enzimlerin kinetik parametreleri, Michealis-Menten ( $K_m$ ) ve maksimum reaksiyon hızı ( $V_{max}$ ), sabit pH ve sabit sıcaklıkta değişik substrat konsantrasyonlarında belirlenmiştir. Glikoz oksidaz ve invertaz enzimlerinin her ikisi içinde Michealis-Menten kinetik parametreleri, Lineweaver-Burk noktalama yöntemi ile ( $K_m$  ve  $V_{max}$ ) belirlendi (Lineweaver ve Burk, 1934). Serbest ve immobilize edilmiş invertaz'ın  $K_m$  ve  $V_{max}$  değerleri Çizelge 4.2'de serbest ve tutuklanmış glikoz oksidaz'ın  $K_m$  ve  $V_{max}$  değerleri ise Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 İvertaz enzimi için kinetik parametreler

	$K_m$	$V_{max}$
Serbest invertaz enzimi	24,2	82,3
Polipirol matrisli enzim elektrot	45	3,2
PVATh/Polipirol matrisli enzim elektrot	60	0,40

Çizelge 4.2 incelendiğinde polipirol ve PVATh/PPy matrisleri için  $K_m$  değerleri bize enzimin süstrata karşı olan ilgisinin serbest enzime göre azaldığını göstermektedir. Ama bu tutuklanmış enzimler için beklenen bir özelliktir. Çünkü enzimi matrisin içinde tutuklayarak substratın enzime ulaşmasını zorlaştırmaktadır. Polipirol matrisi söz konusu



olunca enzimatik tepkimenin PVATh/PPy matrisine göre biraz daha hızlı olduğu aynı zamanda enzim afinitesinin de daha yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.3 Glikoz oksidaz enzimi için kinetik parametreler

	Km	Vmax
Serbest Glikoz oksidaz enzimi	17,26	18,41
Polipirol matrisli enzim elektrot	19,96	1,16
PVATh/Polipirol matrisli enzim elektrot	22,58	1,97

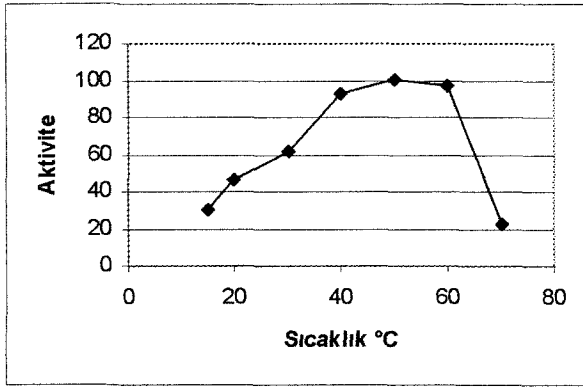
Çizelge 4.3 incelendiğinde Vmax ve Km değerleri her iki matris için de bir birine yakın olduğu görülmektedir. Her ne kadar aktivitede düşüş varsa da Km değerleri serbest enziminkiyle neredeyse aynıdır. Bu değerlere göre enzimin tutuklanmış olması afinitesine negatif bir etki yaratmamıştır. Ortamdaki matrisin varlığı enzimle substratın buluşmasında zorluk çıkarmamış, sadece enzimatik tepkimenin hızı serbest enzime göre çok daha düşük olmuştur. Burada enzimin afinitesinde değil, aktivitesinde bir düşüş vardır. Aktivitedeki düşüş, substratın enzime ulaşma zorluğundan değil enzimin içinde olduğu dolayı aktif bölgesinin etkilenmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

#### 4.12 Sıcaklığın Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

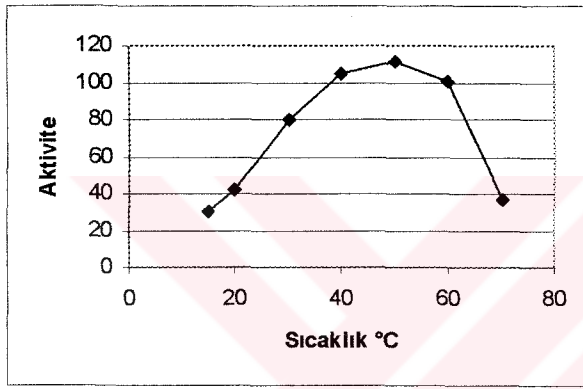
SDS katkılı PVATh/PPy kopolimer matrisine immobilize edilmiş invertaz enzim elektrodunun sıcaklığa karşı davranışı incelendi. Sıcaklık aralığı 15-70 °C aralığında incelenmiş ve sonuçları Şekil 4.14a ve b de verilmiştir. İvertaz elektrodu için maximum sıcaklık aralığı 40-60 °C olarak tespit edilmiştir. Saf polipirol matrisi için maksimum aktivitenin elde edildiği sıcaklık 50-60 °C olarak belirlenmiştir. Serbest invertaz için daha önce yapılan çalışmalarda maksimum sıcaklığın 50-60 °C arasında değiştiği belirlenmiştir. İvertaz enzimi için yapılan optimum sıcaklık çalışması daha önce yapılan çalışmalarla bir paralellik içerisindedir ve literatür bilgilerine uyum göstermektedir (Işık ve diğ., 2003; Gürsel ve diğ., 2003; Çirpan ve diğ., 2003; Alkan ve diğ., 1999).

Glikoz oksidaz enzimi için maksimum aktivitenin elde edildiği sıcaklık, hem PPy hemde PVATh/PPy matrisli elektrotlarda 30°C olarak belirlenmiştir. 40-60°C'ler arasında ise PVATh/PPy matrisi PPy'den daha kararlı bir aktivite göstermektedir. Sonuçlar şekil 4.15a ve b de verilmiştir. Yine bu enzim için serbest enzimin sıcaklık taraması literatür benzer

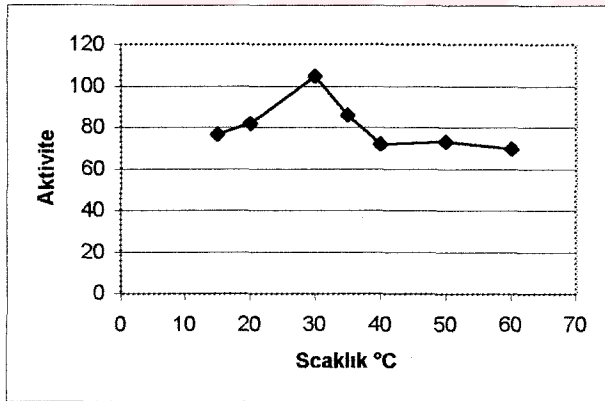
sonuçlar vermektedir. Enzim elektrotları için saptanan sonuçlar daha önce yayımlanmış olan literatür bilgileri ile uyumludur (Işık ve diğ., 2003; Grsel ve diğ., 2003).



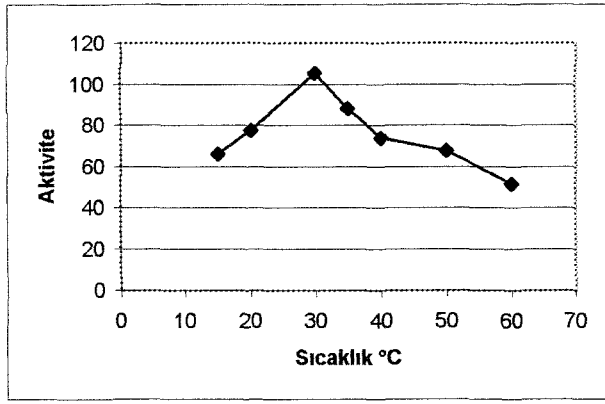
şekil 4.14a PVATH/PPy matrisli invertaz elektrodunun aktivite-sıcaklık grafiği



şekil 4.14b PPy matrisli invertaz elektrodunun aktivite-sıcaklık grafiği



şekil 4.15a PVATH/PPy matrisli glikoz oksidaz elektrodunun aktivite-sıcaklık grafiği

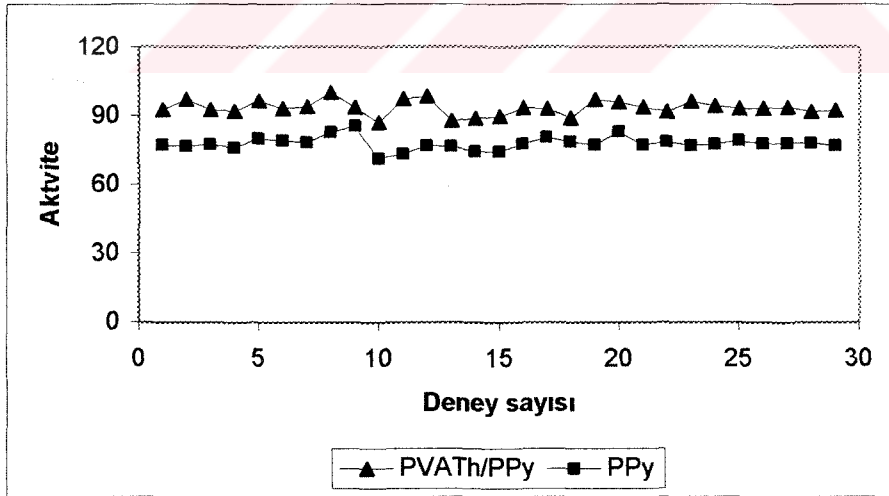


Şekil 4.15b PPy matrisli glikoz oksidaz elektrotunun aktivite-sıcaklık grafiği

#### 4.13 Çalışma Kararlılığı

Bu çalışmada bir gün boyunca bir biri ardınca yapılan ölçümlerle elektrotların çalışma kararlılığı belirlenmiştir.

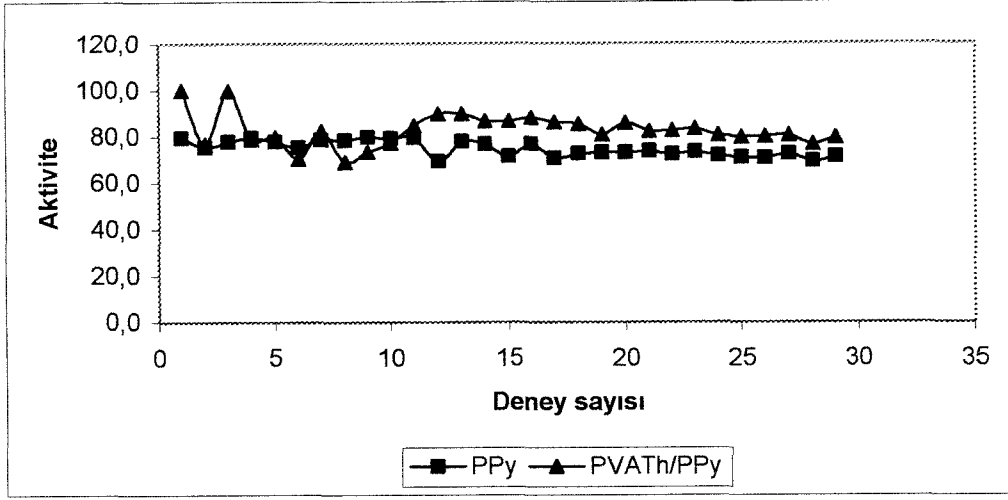
İnvertaz tutuklanmış saf PPy ve PVATH/PPy matrisleri ile yapılan elektrotlarda gün boyunca 30 defa birbiri ardınca yapılan ölçümlerde enzim elektrotların aktiviteleri kararlılığını sürdürmüştür. Şekil 4.16'da verilen grafiklere bakıldığında PVATH/PPy matrisinin aktivitesinin saf PPy den daha yüksek olduğu görülmektedir.



Şekil 4.16 İnvertaz elektroduna ait kararlılık grafiği

Glikoz oksidaz enzimi tutuklanmış olan saf PPy ve PVATH/PPy matrisleri ile hazırlanan enzim elektrotların bir gün boyunca bir biri ardınca yapılan aktivite ölçümleri sonucunda Şekil 4.17 de verilen grafikler elde edilmiştir. Grafikler incelendiğinde PVATH/PPy

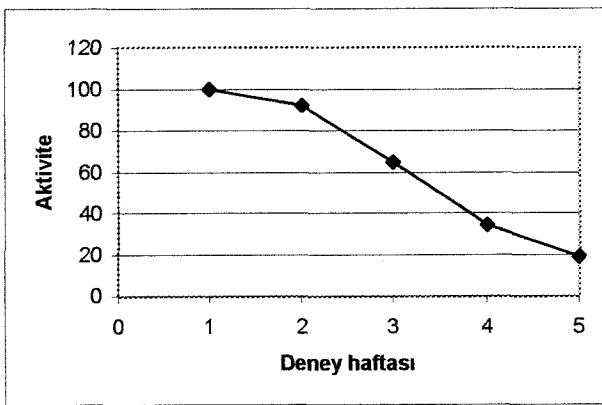
matrisine tutuklanmış olan glikoz oksidaz enziminin saf PPy matrisinde tutuklanmış olan glikoz oksidaz enziminden daha yüksek aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. 30 deneme boyunca aktivitelerin yaklaşık aynı düzeyde kaldığı belirlenmiştir.



Şekil 4.17 Glikoz oksidaz elektrodunun kararlılık grafiği

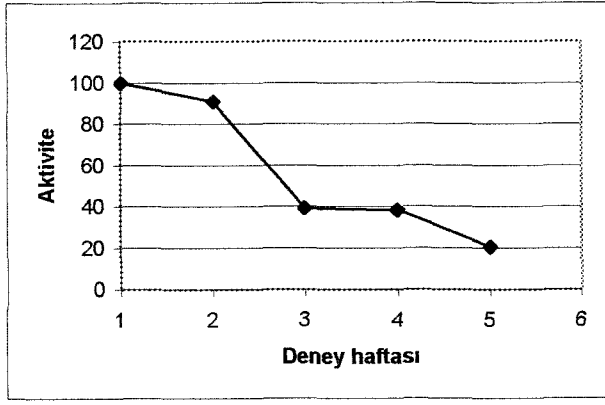
#### 4.14 Enzim Elektrotların Raf Ömrünün Belirlenmesi

Enzim elektrotların raf ömürlerini belirlemek için haftada bir kez olmak üzere toplam dört hafta boyunca aktivite ölçümü yapılarak grafikler şekil 4.18 ve 4.19'da verilmiştir. İnvirtaz enziminin tutuklandığı PVATH/PPy matrisli enzim elektrodunun aktivitesinde zamana göre düzenli bir şekilde azalma görülmüştür (Şekil 4.18).



Şekil 4.18 İnvirtaz elektrodunun raf ömrü

Şekil 4.19'de görüldüğü gibi Glikoz oksidaz enzimi ile yapılan raf ömrü çalışmasında elektrotların ömrü 15 gün olarak belirlenmiştir.

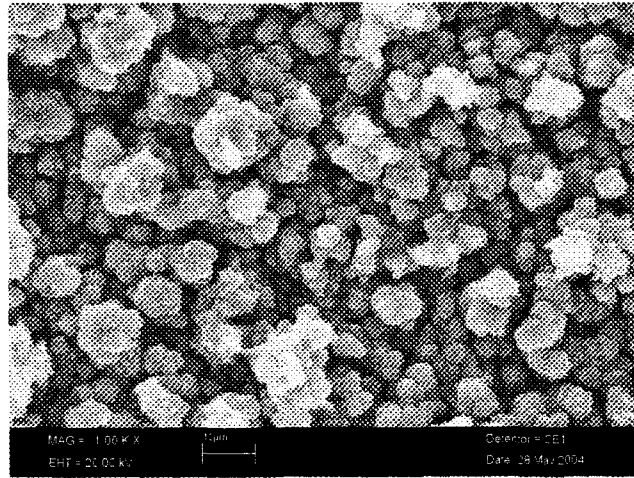


Şekil 4.19 Glikoz oksidaz enzim elektrodunun raf ömrü

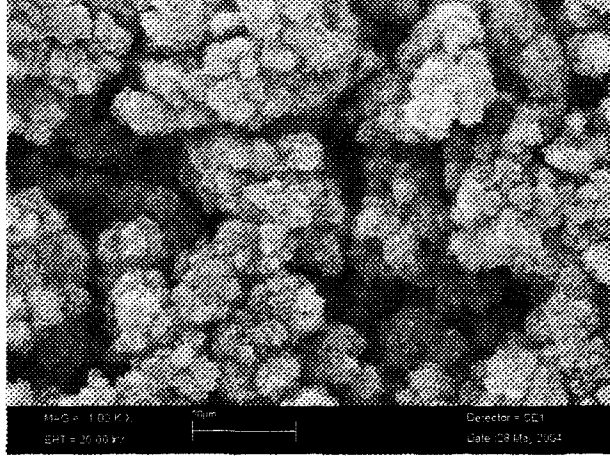
#### 4.12 Enzim Elektrotların Yüzey Yapılarının İncelenmesi

Şekil 4.20a ve b 'de invertaz enziminin tutuklanmış olduğu matrislerin yüzey mikrofilmleri görülmektedir. Yüzey mikro filmleri incelendiğinde, PPy matrisli enzim filminin yüzeyi ile PVATh/PPy matrisli enzim filminin yüzeylerinin bir birinden farklı olduğu görülmektedir.

Glikoz oksidaz enzimlerinin tutuklanmış olduğu matrislere ait olan yüzey mikrofilmleri şekil 4.21a ve b 'de verilmiştir. Burada da filmler incelendiği takdirde matrislerin farkından kaynaklanan yüzey yapıları açık bir şekilde görülmektedir.

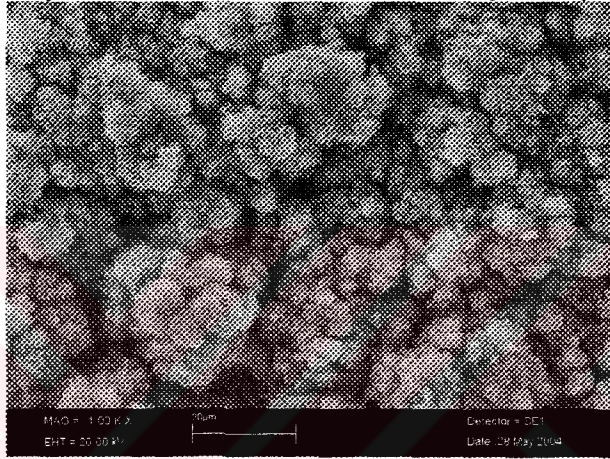


(a)

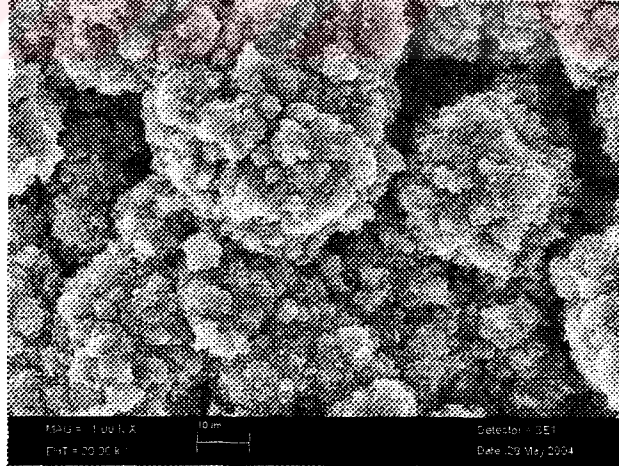


(b)

Şekil 4.19 SEM Mikrofilmleri (a) PPy matrisli invertaz enzim filminin çözelti yüzeyi(SDS)  
(b) PVATH/PPy matrisli invertaz enzim filminin çözelti yüzeyi (SDS)



(a)



(b)

Şekil 4.20 SEM Mikrofilmleri (a) PPy matrisli glikoz oksidaz enzim filminin çözelti yüzeyi(SDS) (b) PVATH/PPy matrisli glikoz oksidaz enzim filminin çözelti yüzeyi (SDS)

## BÖLÜM V

### SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. Tiyofen Sonlu poli(vinil alkol) polimerinden yola çıkılarak PVATH/PPy kopolimeri değişik elektrolitler kullanılarak sentezlendi. Ancak pirol ile polipirol kopolimeri elde edilirken tiyofen ile kopolimer elde edilemedi
2. Kullanılan polimerin ve elde edilen kopolimerlerin yapısı <sup>1</sup>H-NMR, FT/IR, HPLC, SEM, CV, termal analiz gibi karakterizasyon teknikleri kullanılarak karakterize edildi.
3. PVATH'in molekül ağırlığı Mn:42000 Mw:57000 PDI:1.36 olarak belirlendi
4. Elde edilen kopolimerler enzim matrisi olarak kullanılıp invertaz ve glikoz oksidaz enzimleri tutuklandı.
5. Kopolimerin dönüşümlü voltamogramı ve saf polipirolün dönüşümlü voltamogramı alınarak karşılaştırıldığında bir birinden farklı sonuçlar gösterdiği belirlendi
6. Elde edilen kopolimerlerin iletkenlikleri Dört nokta tekniği ile belirlendi ve 4 S/cm ile 0,2 S/cm arasında sonuçlar belirlendi.
7. Kopolimer filmleri ile yapılan termal incelemede ısıya karşı en dayanıklı kopolimerin 362 °C'sıcaklıkta bozunmaya başlayan PTSA katkılı sulu sistemde sentezlenen kopolimer olduğu gözlemlendi.
8. Kopolimerlerin yüzey yapıları incelendiğinde yüzey yapılarının saf polipirolde farklılık gösterdiği gözlemlenirken elde edilen filmlerin PVATH polimerinin çözücüsü olan THF ile yıkanmış hali ile yıkanmamış hali arasında çözelti yüzeyinde bir farklılık tespit edildi.
9. Elde edilen enzim elektrotlarının enzim aktiviteleri incelendiği zaman SDS ile katılan enzim elektrotunda aktivite belirlenirken PTSA ile katılan enzim elektrotlarında aktivite gözlenmedi.

10. Kinetik parametreler,  $V_{max}$  ve  $K_m$  değerleri belirlendi. İvertaz enzimi için PVATh/PPy matrisinde  $K_m=60$  ve  $V_{max}=0.40$  olarak belirlendi. Glikoz Oksidaz enzimi için aynı matraste  $K_m=22.58$  ve  $V_{max}=1.97$  olduğu gözlemlendi
11. Optimum sıcaklık belirlendi ve çalışılan matris için invertazda 40-60°C aktivitenin en yüksek durumda olduğu gözlemlenirken, glikoz oksidaz enziminde 30°C sıcaklıkta aktivitenin maksimum değere ulaştığı gözlemlendi.
12. Çalışma kararlılığında PVATh/PPy matrisinin her iki enzim içinde saf polipiroiden daha kararlı bir şekilde çalıştığı belirlendi.
13. Enzim elektrotların raf ömürleri için bir aylık bir dönemde haftalık çalışma peryotlarında çalışıldı ve tampon çözelti içerisinde ve +4°C'de saklanmak koşulu ile invertaz enzimi için üç, glikoz oksidaz enzimi için iki hafta raf ömrü belirlendi.
14. Enzim elektrotlarından elde edilen filmlerin yüzey morfolojileri taramalı elektron mikroskobu ile incelendi ve PVATh/PPy matrisi içerisinde tutuklanan enzimler ile saf PPy içerisinde tutuklanan enzimlerin oluşturdukları yüzey görünülerinin bir biri ile farklılık gösterdiği belirlendi.



## KAYNAKLAR

- Akhtar, M., Weakuem, H.A, Paiste, R.M. and Gaughan, K. 1988, Polyaniline thin film elektro chromic devices, *Synth. Met.*, 26, 203-208
- Alkan, S., Toppar, L., Hepuzer, Y. and Yagcı, Y., 1999, Block Copolymers of thiophene-capped poly(methyl methacrylate) with pyrrole, *J. of polymer science:part a:polymer chemistry* 37, 4218-4225
- Alkan, S., Toppare, L., Hepuzer, Y. and Yagcı, Y. 2001, Synthesis and characterization of conducting block copolymers of thiophene-ended polystyrene with polypyrrole, *Synthetic Metals* 119, 133-134
- Alkan, S., Toppare, L., Bakir, U., Yağcı Y., 2000, "Immobilizasyon of urease in conducting thiophene-capped poly(methyl methacrylate)/ pyrrole matrices" *Synthetic Metals* 119, 1-5.
- Alkan, S., Toppare, L., Hepuzer, Y., Yağcı, Y., 2001, "Synthesis and characterization of conducting block copolymers of thiophene-ended polystyrene with polypyrrole" *Synth. Metals.*,119,335
- Alkan, S., Toppare, L., Yağcı, L., Hepuzer, Y., 1999, "Immobilization of invertase in conducting thiophene-capped poly(methylmetacrylate)/polypyrrole matrices" *J.Biyomater. Sci. Polymer Edn*, 10, 1223-1235
- Alkan, S., Toppare, L., Hepuzer, Y., Yağcı, Y., 1999, " Blok Copolymers of Thiophene-Capped Poly(metil metacrylate) with pyrrole" *Journal of Polymer Science*, 37, 4218-4225
- Alva, S. and Phadle, R.S., 1994 , Conducting polymers in the fabrication of effect biyosensor, *Ind. J. Chem.*, 33 (A), 561-564
- Arica, M. Y., Yavuz, H., Patir, S., Denizli, A.,2000 " Immobilization of glucoamylase onto spacer-arm attached magnetic poly(metilmethacrylate) microspheres: characterization and application to a continuous flow reactor" *Journal of Molecular Catalysis*, 11, 127-138
- Battaglini, F.; Bartlett, P. N.; Wang, J. H., 2000, Covalent Attachment of Osmium Complexes to Glucose Oxidase and the Application of the Resulting Modified Enzyme in an Enzyme Switch Responsive to Glucose, *Anal. Chem*, 72(3); 502-509.
- Bartlett, P.N., Tebbutt, P., and Tyrrell, C.H., 1992 Immobilization of glucose oxidase in thin films of electrochemically polymerized phenols., *Analytical Chemistry*, 64, 138-142
- Berets, D.J., Smith, D.S., 1968, Electrically conducting polymer, *trans. Faraday Soc.*, 64, 823

- Bhadani, S. N., Kumari, M. Gupta, S.K.S. and Sahu G.C., 1997, Preparation of conducting fibers via the electrochemical polymerization of pyrrole J. Apply Polymer Science 64, 1073-1077
- Bhat, N. V. And Sunderasan, E., 1991, structural and electrical behavior of polypyrrole composite film, J of Appl. Polym. Su., 42, 1615-1622
- Bozkurt, A., Akbulut, U. and Toppare, L. 1996, Conducting polymer composites of polypyrrole and polindene Synthetic Metals 82, 41-46
- Chao, T.H. and March, J., 1988, A study of polypyrrole synthesized with oxidativetransition metal ions, J. of Poly. Sci. Polymer Chemistry, 26, 743-753
- Cirpan, A., Alkan, S., Toppare, L., Cianga, A. and Yagci, Y. Synthesis and characterization of conducting copolymers of thiophene-3-yl acetic acid cholesteryl ester with pyrrole, *J. of materials science*, 37 (2002) 1767-1775
- Cirpan, A., Alkan, S., Toppare, L., Hepuzer, Y., and Yağcı, Y., 2003, Immobilization of invertase in conducting copolymers of 3-methylthienyl methacrylate, *Biyoelectrochemistry*, 59,(1), 29-33
- Cirpan, A., Alkan, S., Toppare, L. David, G. Yagci, Y. 2001, Synthesis and electroactivity of pyrrole end-functionalized poly(2-methyl-2-oxazoline), *European Polymer Journal* 37, 2225-2229
- Cosiner, S., 1999, Biyomoleculer immobilization on electrode surfaces by entrapment or attachment to electrochemically polymerized films. A review, *Biyosensors & Biyelectronics* 14, 443-456
- De Paoli, M., Eliana, R. and Rodrigues, M.A., 1991 Polyoniline /cellulose acetate composites: conductivity and electrochromic properties, *Synrh. Met.*, 41-43, 973-978
- De Paoli, M., Waltman, R. J. Diaz, A.F. and Dragon, J., 1985, An electrically conductive plastik composite derived from polypyrrole and poly (vinyl chloride), *J. of Polym. Sci. Polym. Chem.*, 23, 1687-1698
- Doğan, S. Akbulut, V., Yalçın, T. and Süzer, Ş., 1993, Conducting Polimers of aniline 11. A composite as a gas sensör *Synth. Met.*, 60, 27-30
- Dubitsky, Y. A. and Zhubanov, B.A., 1993 Polypyrrole–poly (Vinyl chloride) and polypyrrole – celluso acetate composite films by opposite – diffusion polymerization, *Synth. Met.*, 53, 303-307
- D'Souza, S. F., and Godbole, S. S., 2002, Immobilization of invertase on rice husk using polyethylenimine, *Journal of Biyochemical and Biyophysical Methods*, 52, 59-62

- Erginer, R., Toppare, L., Aklan, S., and Bakir, U., 2000, Immobilization of invertase in functionalized copolymer matrices, *Reactive and Functional Polymers*, 45, 227-233
- El-Rahman, 1997, Preparation and characterization of conducting copolymer films from 5-aminoquinoline and aniline J. of Applied Electrochemistry 27, 1061-1068
- Ersoy, E., Bayşu, N., 1986, Biyokimya, Ankara Üniversitesi yayınları, 388-411
- Funt, B. L. and Blain, T. J., 1970, Elektroactive polymers, J. Polym. Sci. , A-1, 8,3339
- Flunt, B. L. and Blain , T. J. , 1971, Electrochemical polymerization of aniline , J. Polym. Sci. 9, 115
- Geibler, V., Hallensleben, M. L. and Toppare , L. , 1991 Conducting polymer composites of poly (N-methylpyrrole) and poly (bisphenol – A – carbonate), Adv. Mater. 3, 104-106
- Grossie, N., Micheill, J. C., 1958, Electropolymerization and physicochemical properties of aniline, J. Polym. Sci., 17, 707
- Gunaydın, O., Toppare, L., Yağcı, Y., Harabagiu, V., Pıntela, M. and Simionescu B.C., 2002, Synthesis of conducting polysiloxane and polypyrrole graft copolymers Polymer bulletin 47, 5001-5008
- Gürsel, A., Aklan, S., Toppare, L., Yağcı, Y., 2003, Immobilization of invertase and glukose oxidase in conducting H-type polysiloxane/polypyrrole block copolymers, *React. and Func. Poly.* 57, 57-65
- Hall, C.E., Data, D. and Hall, E. A. H., 1996. Parameters which influence the optimal immobilisation of oxidase type enzymes on methacrylate copolymers as demonstrated for amperometric biosensors. *Analytica Chimica Acta*, 323, 87-96
- Işık, S., Alkan, S., Toppare, L., Cianga, I., and Yağcı, Y., 2003, Immobilization of invertase and glucose oxidase in poly 2-methylbutyl-2-(3-thienyl) acetate/polypyrrole matrices, *European Polymer Journal*, 39-12, 2375-2381
- Iovu, H., Hubca, G., Iovu, M and Dimonie, M. 1998, Conductive polymers obtained by iodine-doping of polyisoprene synthesized with lanthanide-based catalysts, *Revue Roumaine de Chimie* 43, 341-346
- Janda, P. and Weber J., 1991, Quinone-mediated glucose oxidase electrode with the enzyme immobilized in polypyrrole, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 300, 119-127.
- Kajiya, Y., Tsuda, R., and Yoneyama, H., 1991, Conferment of cholesterol sensitivity on polypyrrole films by immobilization of cholesterol oxidase and ferrocenecarboxylate ions, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 301, 155-164

- Kaplan, D.A. and Qutubuddin, S., 1996, Elektrochemically synthesized polypyrrole films effect of polymerization potential and electrolyte type, *Polymer*, 36, 1275-1286
- Kızılyar, N., Akbulut, U., Toppare, L., Özden, M.Y., Yağcı, Y., 1999 “ Immobilization of invertase in conducting polypyrrole/polytetrahydrofuran graft polymer matrices” *Synthetic Metals*, 104, 45-50
- Kiralp, S., Toppare, L., and Yağcı, Y., 2003, Immobilization of invertase in copolymers of thiophene functionalized menthyl ester with pyrrole, *Synthetic Metals, Volumes 135*, 79-80
- Kojima, T., Hayakawa, H., Tsuchiya, M. and Kai, Y., 1995, Preparation of polypyrrole / polthiophene double layers by electrochemical polymerization of pyrrole in the presence of thiophene, *J. of Appl. Polym. Sci.*, 55, 1855 – 1859
- Kojima, K., Unuma, T., Yamauchi, T., Shimmura, M. And Miyauchi, S., 1997, Preparation of polypyrrole covalently attached with glucose oxidase and its application to glucose sensing *Synth. Met.*, 85, 1417-1418
- Koncki, R., Wolfbeis, O.S., 1999, “Composite films of Prussian blue and N-substitued polypyrroles: covalent immobilization of enzymes and application to near infrared optical biosensing” 14, 87-92
- Letheby, H., 1862, Conducting polymers, *J. Chem. Sci.* 15, 161
- Lineweaver, H., Burk, D., 1934, The Determination of Enzyme Dissociation Constants, *J. Am. Chem. Soc.*, 56(3); 658-666
- Li, C. and Song, Z., 1991, Diffusion-oxidative polymerization of transparent and conducting polypyrrole-poly (ethylene terephthalate) composites, *Synth. Met.*, 40, 23-28.
- Loveday, D.C., Hmyene, M. and Ferraris, J. P. 1997, Synthesis and characterization of p- and n- dopable polymers, *Synthetic Metals* 84, 245-246
- MacDiarmid, A. G., Yang, L.S., Huang, W. S., and Humphrey B. D., 1987 Polyaniline: Electrochemistry and application to rechargeable batteries *Synthetic Metals*, 18, 393-398
- Machida, S., and S. Miyata, S., 1989 Chemical synthesis of highly electrically conductive polypyrrole *Synthetic Metals*, 31, 311-318
- Martı, S., 1994, Recent trends in conducting polymers. Problems and promises ind, *J. Chem.*, 33 A, 524-239
- Mohammedi, A., Paul, D.W., Inganas, O., Nilsson, J.O. and Lundström, I. 1994, Elektically conductive composite prepared by template polymerization of pyrrole into a complexed polymer, *J. of Poly m. Sci. Polym. Chemistry*, 32, 495-502

- Mu, S. and Kan, J. 1998, The effect of salts on the electrochemical polymerization of aniline, *Synthetic Metals* 92, 149-155
- Matsue, T., Kasai, N., Narumi, M., Nishizawa, M., Yamada, H., and Uchida, I., 1991, Electron-transfer from NADH dehydrogenase to polypyrrole and its applicability to electrochemical oxidation of NADH, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 300, 111-118
- Nagy, G., Von Storp, L. H., and Guilbault, 1973, G. G., Enzyme electrode for glucose based on an iodide membrane sensor., *Analytica Chimica Acta*, 66, 443-445.
- Nelson, M., J., and Griffin, E., G., 1916, Adsorption of Invertase. *J. Am. Chem. Soc.*; 38(5), 1109-1115.
- Okuzaki, H., Kondo, T. and Kunugi, T., 1998, Characteristics of water in polypyrrole films, *Polymer* 40, 995-1000
- Omastova, M., Kosina, S., Skakalova, V. and Janlula, D., 1993, Electrochemical preparation of thick porous polypyrrole layers, 1993, *Synth. Met.*, 53, 227-235
- Omastava, M., Pavlinec, J., Pionteck, J. and Simon, F., 1997, Synthesis, Electrical Properties and Stability of Polypyrrole-Containing Conducting Polymer Composites *Polymer International* 43, 109-116
- Omastava, M. and Simon, F. 2000, Surface characterizations of conductive poly(methyl methacrylate)/polypyrrole composites, *J. of materials science* 35, 1743-1749
- Osaka, T., Naoi, K. and Ogano, S., 1988, Effect of polymerization anion on electrochemical properties of polypyrrole and on Li / Lic104/ Polypyrrole battery performance, *J. Electrochem Soc: Electrochem, Sci, and Tech.*, 135 (5), 1071 – 1077
- Oyama, N., Ohsaka, T. and Shimizu, T., 1985, Electrochemically polymerized N,N dimethyl aniline film with ion – exchange properties as an electrode modifier, *Anal Chem.*, 57,8,1526-1532
- Pan, D., Chen, J., Yao, S., Nie, L., Xia, J. and Tao., 2004, Amperometric glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in electropolymerized *o*-aminophenol film at copper-modified gold electrode, *Sensors and Actuators B: Chemical, In Press, Corrected Proof, Available online 7 June 2004*,
- Park, Y.H. and Han, H., 1992, Preparation of conducting polyacrylonitrile / polypyrrole composite films by electrochemical synthesis and their electrical properties, *J. Of Polym. Sci.*, 45, 1973-1982

- Paul, E. W., Ricco, A.J. and Wington, N.S., 1985, Resistance of polyaniline films as a function of electrochemical potential and the fabrication of polyaniline based microelectronic devices, *J. Phys. Chem.*, 89, 1441-1447
- Popkurov, G.S., Barsoukov, E. and Schindler, R.N. 1997, Investigation of conducting polymer electrodes by impedance spectroscopy during electropolymerization under galvanostatic conditions *J. of Electroanalytical Chemistry* 425, 209-216
- Osaka, T., Komaba, S., Amano, A., Fujino, Y., Mori, H., 2000, "Electrochemical molecular sieving of the polyion complex film for designing highly sensitive biosensor for creatinine" *Sensor and Actuators B*, 65, 58-63
- Qian, R. and Qiu, J., 1987, Electrochemically prepared polypyrroles from aqueous solutions, *Polymer Journal*, 19, 157-172
- Qian, R., Pei, Q. and Hwang, Z., 1991, The role of H<sup>+</sup> ions in the electrochemical polymerization of pyrrole, 192, 1263-1273
- Rembold, E. A. , 1947, Ph D. Dissertation, Ohio State University, Columbus
- Ruckenstein, E. and Yang, S., 1993, An emulsion pathway to electrically conductive polyaniline – polystyrene composites, *Synth. Met.*, 53, 283-292
- Sanchez, M. P., Huidobro, J. F., Mato, I., Muniategui, S., Sancho, M. T., 2001, Evolution of Invertase Activity in Honey over Two Years, *J. Agric. Food Chem.*, 49(1); 416-422.
- Shrikaw , H. and Ikeda, S., 1971, Electrochemical properties of polyaniline, *Polym. J.*, 2,31
- Sigma Technical Bulletin No 510, The enzyme and Colorimetric Determination of Glucose, Sigma Chemical Co., St Louis, MO., USA, (1983)
- Shrikawa, H., Macdiarmid, A. G., Chiang, C. K., Heeger, A. J., 1977, *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 578
- Scotheim, T., Petersson, L.G., Inganas, O. and Lundström, I., 1982, Photoelectrochemical behaviour of n. si electrodes protected with pt. Polypyrrole, *J. Electrochem. So.: Electrochem. Sci. and Teach.*, 129-8, 1737-1741
- Subramaniam, C. K., Kaiser, A. B., Gilberd, P. W. and Wessling, B., 1993, Electronic transport properties of polyaniline / pvc blends, *J. of Polym. Scin Polym.Phys.*, 31, 1425-1430
- Sukeerthi, S. and Contractor, A. Q., 1994, Applications of conducting polymers as sensors, *Ind. J. Chem.*, 33 (A), 565-571
- Szaways, E. C., 1900, Electrochemical preparation of polyaniline, *J. Chem. Soc.*, 77, 207

- Sung, W. J.; Bae, Y. H., 2000, A Glucose Oxidase Electrode Based on Electropolymerized Conducting Polymer with Polyanion-Enzyme Conjugated Dopant, *Anal. Chem.*, 72(9); 2177-2181.
- Talu, M., Kabasakaloğlu, M. And Oskovı, H. R., 1996, Electrochemical copolymerization of thiophene and aniline, *J. Polym. Sci : Part A, Polym. Chem.*, 34, 2981-2989
- Tam, J.M., Daminati, A, 2002, Reversible Immobilization of Invertase on Sepabeads Coated with Polyethyleneimine: Optimization of the Biocatalyst's Stability, *Biyotechnol. Prog.*, 18(6); 1221-1226.
- Terlemezyan, Z. , Ivanova, B. and Tacheva, S., 1993, Electrically conductive polyaniline / polyoxymethylene blends, *Evr. Poly. J. ,* 29,1019-1023
- Tirkeş, S., Toppare, L., Aklan, S., Bakır, U., Önen, A., Yağcı, Y., 2002, Immobilization of glikose oxidase in Polypyrrole/polytetrahidrofuran graft copolymers, *Int. J. Biyo. Macr.*, 30, 81-87
- Torres, R., Mateo, C., Fuentes, M., Palomo, J. M., Ortiz, C., Fernandez-Lafuente, R., Guisan,
- Toshima, N. and Hara, S., 1995, Direct sy nthesis of conducting polymers from momomers, *prog. poly. sci.*, 20,155-183
- Wayne H. Pitcher, 1980, Immobilized Enzymes for Food processing, CRC Pres 135-151
- Vala, M. T., Silbey, R., Rice, S.A., Jortner, J., 1964, *J. Chem. Phys.*, 41,2846
- Vidal, C. J., Garcia E., and Castillo, J., 1998, "Elektropolymerization of pyrrole and immobilization of glucose oxidase in a flow system: influence of the operating conditions on analytical performance" *Biyosensors & Biyoelektronics* ,13, 371-382
- Yin, W. and Ruckenstein, E. 2001, A water-soluable self-doped conducting polypyrrole based copolymer, *J. Appl. Polym. Sci.* 79, 86-89
- Yabuki, S., Shinohara, H., Ikariyama, Y., and Aizawa, M., 1990 Electrical activity controlling system for a mediator-coexisting alcohol dehydrogenase-NAD conductive membrane., *Journal of Electroanalytical Chemistry* 277, 179-187
- Yagci, Y., Toppare, L., 2003, Electroactive macromonomers based on pyrrole and thiophene: a versatile route to conducting block and graft polymers, *Polymer International*, 52, 1573-1578
- Yurtsever, M. and Toppare, L. 1999, Theoretical investigation of block copolymerization of tetrahydrofuran and pyrrole, *Polymer* 40, 5459-5463
- Zerbi, G., and Agosti, E., 1996, Conducting polymer-protein interactions in composite films: A spectroscopic study, *Synthetic Metals, Volume 79, 107-113*

Zhang, H. and Li, C., 1991, Chemical synthesis of transparent and conducting polyaniline poly(ethylene terephthalate) composite films, Synth. Met. 47, 143-146





## ÖZGEÇMİŞ

1971 Kayseri iline bağlı Pınarbaşı ilçesinde doğdu. İlk Orta ve Lise eğitimini Pınarbaşı lisesinde tamamladı. 1993 yılında Erciyes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde başladığı Lisans eğitimini 1997 yılı bahar döneminde Kimya bölüm üçüncüsü olarak tamamladı. Aynı yıl Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilimdalında başladığı Yüksek Lisans eğitimine Araştırma görevlisi olarak başladığı Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilimdalına yatay geçiş yaparak devam etti. Prof. Dr. Kadriye KAYAKIRILMAZ'ın danışmanlığında sürdürdüğü "Epoksi Reçinelerinin Üretimi Bağlayıcı ve yapıştırıcı Olarak Kullanımının araştırılması" isimli yüksek lisans tezini 2000 yılında tamamladı. Aynı yıl Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilimdalında Doktora eğitimine başladı. Basılmak üzere kabul edilen ve basılan 2 adet Yurt dışı yayımı vardır. Ulusal ve uluslararası kongerlerde 8 tebliği sunmuştur. Ocak 1998 tarihinden bu yana Niğde Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde Araştırma görevlisi olarak görev yapmaktadır.

Evli ve bir çocuk babası olan Ertuğrul ŞAHMETLİOĞLU'nun yabancı dili İngilizce'dir.