

**T.C**  
**KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MAYA HÜCRELERİ VE İNVERTAZ ENZİMİNİN**  
**POLİ(ETİLENOKSİT) ELEKTROTLARDA TUTUKLANMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Ömer SEÇGİN**

**Anabilim Dalı: Kimya**  
**Programı: BİYOKİMYA**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hüseyin Bekir YILDIZ**

**KARAMAN – 2013**

## TEZ ONAYI

Ömer SEÇGİN tarafından hazırlanan “**Maya hücreleri ve invertaz enziminin poli(etilenoksit) elektrotlarda tutuklanması**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman:

İmza:

Doç. Dr. Hüseyin Bekir YILDIZ

Jüri Üyeleri

İmza:

Doç. Dr. Hüseyin Bekir YILDIZ

Yrd.Doç. Dr. Murat YILDIZ

Yrd.Doç. Dr. Oktay TALAZ

Tez Savunma Tarihi: 12/12/2013

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Enstitü Müdürü**

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

**Ömer SEÇGİN**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### MAYA HÜCRELERİ VE İNVERTAZ ENZİMİNİN POLİ(ETİLENOKSİT) ELEKTROTLARDA TUTUKLANMASI

Ömer SEÇGİN

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hüseyin Bekir YILDIZ

Aralık – 2013, 56 sayfa

PEO olarak kodlanan tiyofen sonlu poli(etilen oksit) ve 3-metiltiyenil metakrilat ve p-vinilbenziloksi poly (etilen oksit) birimleri içeren ve CP olarak kodlanan kopolimerin sabit potansiyel altında yapılan elektroliz yardımıyla su-sodyum dodesil sülfat (SDS), su-paratoluen sülfonik asit (PTSA) ve asetonitril (AN)-tetrabütülamonyum tetrafloroborat (TBAFB) solvent-elektrolit çiftleri kullanılarak PEO ve CP'nin pirol (Py) ile kopolimerleri sentezlendi. CP ve PEO'nun pirol kullanılarak elde edilen kopolimerleri invertaz enzimi ve mayahücrelerinin tutuklamaları için kullanıldı. Enzim elektrotlarının optimum pH ve sıcaklıkları, çalışma kararlılıkları ve raf ömürleri tayin edildi. Bu enzim elektrotlarının kinetik parametreleri de ayrıca incelendi.

**Anahtar Kelimeler:** İletken Polimerler, Elektrokimyasal Polimerleşme, Enzim Tutuklaması, İvertaz Enzimi, Maya Hücresi

## ABSTRACT

Ms Thesis

### IMMOBILIZATION OF YEAST CELLS AND INVERTASE IN POLY(ETHYLENEOXIDE) ELEKTRODES

Ömer Seçgin

Karamanoğlu Mehmetbey University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Hüseyin Bekir YILDIZ

December, 2013, 56 pages

Graft copolymerization of Thiophene ended poly(ethylene oxide) (PEO) and random copolymer (CP) of 3-methylthienyl methacrylate and *p*-vinylbenzyloxy poly(ethyleneoxide) CP and PEO with pyrrole (Py) were achieved in H<sub>2</sub>O - sodium dodecylsulfate (SDS), H<sub>2</sub>O - *p*-toluenesulphonic acid (PTSA) and acetonitrile (AN) - tetrabutylammonium tetrafluoroborate (TBAFB) solvent electrolyte couples via constant potential electrolyses. Immobilizations of yeast cells and invertase enzyme were performed in the matrices obtained via copolymerization of PEO and CP with pyrrole. Immobilization was carried out via entrapment of enzyme in matrices during the polymerization of pyrrole. Temperature optimization, operational stability and shelf-life of the enzyme electrodes were investigated. Maximum reaction rate (V<sub>max</sub>) and Michaelis-Menten constant (K<sub>m</sub>) were determined.

**Keywords:** Conductive Polymers, Electrochemical Polymerization, Enzyme Immobilization, Invertase Enzym, Yeast Cell

## **ÖNSÖZ**

Tez konusunun belirlenmesi, çalışmanın yürütülmesi ve tez yazımı aşamasında beni yönlendiren ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Hüseyin Bekir YILDIZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**Ömer SEÇGİN**

**Aralık, 2013**

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>ÖNSÖZ</b> .....	iii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	vii
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	ix
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	2
2.1. İletken Polimerlerin Tarihçesi .....	2
2.2. İletken Polimerler .....	2
2.3. İletken Polimerlerin Yapısı .....	4
2.4. İletken Polimerlerin Sentezi .....	5
2.4.1. Elektrokimyasal polimerizasyon .....	6
2.4.2. Kimyasal Polimerizasyon .....	7
2.4.3. Piroliz .....	8
2.4.4. Kondenzasyon Polimerizasyonu .....	8
2.4.5. Emülsiyon .....	9
2.4.6. Gaz Fazı Yöntemi .....	9
2.4.7. Ara-Yüzey Polimerizasyonu .....	10
2.5. İletken Polimerlerde İletkenlik .....	10
2.5.1. İletken Polimerlerde Elektronik İletkenlik .....	10
2.5.2. İletken Polimerlerde İyonik İletkenlik .....	11
2.6. İletken Polimerlerde İletkenlik Teorisi .....	12
2.6.1. Band Teorisi .....	13
2.6.2. İletken Polimerlerde Doping İşlemi .....	16
2.6.3. İletken Polimerlerde Atlama (Hopping) Olayı .....	18
2.6.4. İletken Polimerlerin Kullanım Alanları .....	19
2.7. Biyobileşenler .....	22
2.8. Biyobileşen İmmobilizasyonu .....	22
2.9. Enzim İmmobilizasyonunda Kullanılan Yöntemler .....	22
2.9.1. Kovalent Bağlama .....	22
2.9.2. Çapraz Bağlama .....	23
2.9.3. Adsorbsiyon .....	24

2.9.4. Tutuklama .....	25
2.9.5. Kapsülleme .....	26
2.10. Mikrobiyal Hücreler .....	26
2.10.1. Mayalar .....	27
2.11. Enzimler.....	30
2.11.1. Enzimlerin Genel Özellikleri .....	31
2.11.2. Enzimlerin Normal Katalizör Maddelerden Farkları.....	33
2.11.3. Enzimlerin Aktivitesinin Takip Yöntemleri .....	34
2.11.4. Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler .....	35
2.11.5. Enzim Aktivite Tayininde Kullanılan Yöntemler.....	35
2.12. İnvertaz Enzimi ve Kullanım Alanları.....	36
<b>3. MATERYAL ve METOT .....</b>	<b>39</b>
3.1. Materyal .....	41
3.1.1. Kullanılan Kimyasallar .....	41
3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar .....	41
3.3. Ekmek Mayası ve İnvertaz Enzimlerinin PPy ve CP-co-PPy Matrislerine İmmobilizasyonu.....	41
3.4. Kinetik Parametrelerin Belirlenmesi .....	42
3.5. İnvertaz Enziminin Aktivitesinin Belirlenmesi .....	42
3.6. Optimum pH ve Sıcaklığın Belirlenmesi.....	43
3.7. Raf Ömrünün Belirlenmesi.....	43
3.8. Protein Miktarının Belirlenmesi .....	43
<b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA .....</b>	<b>44</b>
4.1. Enzim Elektrotları İçin Protein Tayini.....	44
4.2. Kinetik Çalışmalar .....	44
4.3. Optimum pH ve Sıcaklığın Belirlenmesi.....	45
4.4. Raf Ömrünün Belirlenmesi.....	48
4.5. Protein Miktarının Belirlenmesi .....	49
4.6. Enzim Elektrotlarının Yüzey Yapılarının İncelenmesi .....	50
<b>5. SONUÇLAR.....</b>	<b>51</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>52</b>



## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Çizelge

### Sayfa

<b>Çizelge 2.1</b> : Değişik asitlerle dop edilmiş polianilin'in iletkenlik değerleri .....	16
<b>Çizelge 2.2</b> : Dop edilmiş bazı iletken polimerlerin yapıları ve iletkenlikleri .....	18
<b>Çizelge 4.1</b> : Serbest ve tutuklanmış invertaz için kinetik parametreler .....	44
<b>Çizelge 4.2</b> : Serbest ve tutuklanmış ekme k mayası için kinetik parametreler .....	45

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 : Bilinen bazı iletken polimerlerin kimyasal yapıları .....	3
Şekil 2.2 : Politiyofen için elektrokimyasal sentetik yöntem .....	6
Şekil 2.3 : Prolün demir (III) klorür ile kimyasal polimerizasyonu .....	8
Şekil 2.4 : Sulu çözeltideki NaCl tuzunun iyonik iletkenliğinin polimerde çözünmüş bir tuzun iyonik iletkenliği ile arşılaştırılması.....	11
Şekil 2.5 : Konjugasyon hatalarının poliasetilen üzerinde gösterimi.....	13
Şekil 2.6 : Orta büyüklükteki polimer molekülünde bağ ve anti bağ orbitallerinin oluşumu.....	14
Şekil 2.7 : İletken, yarı iletken ve yalıtkan maddelerde band aralığı .....	15
Şekil 2.8 : Zincir üzerinde, zincirler arasında ve partiküller arasında yükün taşınması .....	18
Şekil 2.9 : Enzim immabilizasyonunda kullanılan kovalent bağlama yöntemi .....	23
Şekil 2.10 : Bazı bifonksiyonel reaktiflerin kimyasal formülleri .....	24
Şekil 2.11 : Enzim immabilizasyonunda kullanılan çapraz bağlama yöntemi.....	24
Şekil 2.12 : Enzim immabilizasyonunda kullanılan adsorbsiyon yöntemi .....	25
Şekil 2.13 : Enzim immabilizasyonunda kullanılan tutuklama yöntemi.....	26
Şekil 2.14 : Enzim immabilizasyonunda kullanılan kapsülleme yöntemi.....	26
Şekil 2.15: Glikoz fermantasyon reaksiyonu .....	29
Şekil 2.16: İnvvertazın katalizlediği reaksiyon .....	37
Şekil 3.1: CP-co-PPy iletken kopolimer yapısı .....	39
Şekil 3.2: PEO-co-PPy kopolimer iletken yapısı.....	40
Şekil 3.3: Ekmek mayasının iletken kopolimer içerisine immobilizasyonun şematik gösterimi .....	40
Şekil 4.1: İnvvertaz enziminin ve maya hücresinin pH değişimine bağlı olarak bağlı aktivite değişimi.....	46
Şekil 4.2: İnvvertaz enziminin ve maya hücresinin sıcaklık değişimine bağlı olarak bağlı aktivite değişimi.....	47
Şekil 4.3: İnvvertaz enziminin ve maya hücresinin zamana bağlı olarak bağlı aktivite değişimi.....	48

<b>Şekil 4.4:</b> İnvvertaz enziminin ve maya hücresinin kullanım kararlılığına bağlı olarak bağlı aktivite değişimi.....	49
<b>Şekil 4.5:</b> Maya hücresinde CP-co- PPy ve PEO-co-PPy ait SEM görüntüleri.....	50

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
<b>GOD</b>	Glikoz oksidaz
<b>POD</b>	Peroksidaz
<b>K<sub>m</sub></b>	Michaelis-Menten sabiti
<b>NMR</b>	Nükleer Manyetik Rezonans
<b>PAn</b>	Polianilin
<b>PT</b>	Politiyofen
<b>PPy</b>	Polipirol
<b>PEO</b>	Polietilenoksit
<b>S</b>	İletkenliğin birimi (siemens)
<b>[S]</b>	Substrat derişimi
<b>V</b>	Reaksiyon hızı
<b>V<sub>max</sub></b>	Reaksiyonun maksimum hızı

## 1. GİRİŞ

Bir reaksiyonu hızlandıran ve reaksiyondan değişikliğe uğramadan çıkan maddeye "katalizör" denir. Enzimler katalizör olmalarına rağmen 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.

Enzimler kimyasal tepkimelere katıldıklarında birçok ölçülebilir reaksiyon ürünü (proton, elektron, ışık ve ısı gibi) meydana getirdiklerinden, anılabilecek olan immobilize enzim elektrot oluşturmak, bunu bir iletken aşı kopolimerini sentezleyip matris olarak kullanımıyla çeşitli enzimlerinin (İnvertaz, Glikoz v.b.) bu matriste tutuklanmaları ve bunların enzim aktivitelerinin ve raf ömürlerinin belirlenmesinin önemi açıkça görülmektedir.

PEO olarak kodlanan tiyofen sonlu poli(etilen oksit) ve 3-metiltiyenil metakrilat ve p-vinilbenziloksi poly (etilen oksit) birimleri içeren ve CP olarak kodlanan kopolimerin sabit potensiyel altında yapılan elektroliz yardımıyla su-sodyum dodesil sülfat (SDS), su-paratoluen sülfonik asit (PTSA) ve asetonitril (AN)-tetrabütülamonyum tetrafloroborat (TBAFB) solvent-elektrolit çiftleri kullanılarak PEO ve CP'nin pirol (Py) ile kopolimerleri sentezlendi. CP ve PEO'nun pirol kullanılarak elde edilen kopolimerleri glukoz oksidaz tutuklamaları için kullanıldı.

Bu çalışmada ekmek mayası ve invertaz tiyofen sonlu poli (etilenoksit) / Polipirol (PEO-co-PPy) ve 3-metiltiyenil metakrilat-co-p-vinil benziloksi poli (etilenoksit) / polipirol (CP-co-PPy) matrisleri içerisine immobilize edilmiştir. poli(vinil alkol) ve pirol'den oluşan kopolimer matris olarak kullanılarak invertaz enzimleri elektrokimyasal yöntemle tutuklandı. Kinetik parametreleri  $V_{max}$  (maksimum reaksiyon hızı) ve  $Km$  (substrat ilgisi) hem sertbest hemde immobilize enzimler için belirlendi. Enzim elektrotlarının optimum pH ve sıcaklıkları, çalışma kararlılıkları ve raf ömürleri tayin edildi. Bu enzim elektrotlarının kinetik parametreleri de ayrıca incelendi

## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. İletken Polimerlerin Tarihçesi

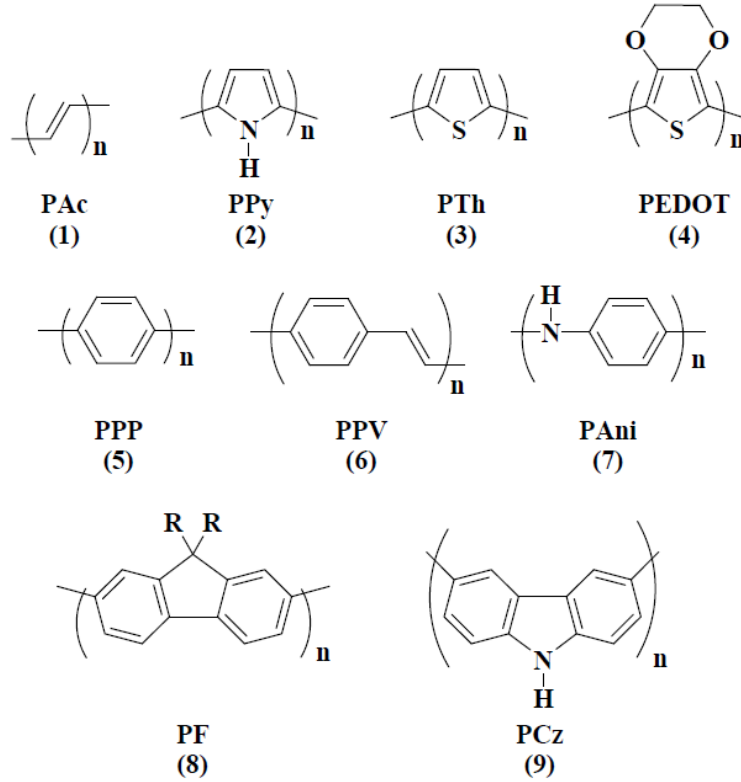
İletken polimerler alanında yapılan ilk araştırma, poliasetilen (PAC) üzerine yapılmıştır. PAC siyah toz halinde, iletken olmayan bir polimerdir. Hideki Shirakawa, 1974 yılında Zigler-Natta katalizörü kullanarak yeterince iletken olmayan gümüş renginde PAC filmler hazırlamıştır. Ardından, 1977 yılında, Hideki Shirakawa, Alan J. Heeger ve Alan G. MacDiarmid çalışmayı daha da ilerleterek bu filmlerin iyot, klor ve flor buharında yükseltgendiğinde, iletkenliğin 109 kat arttığını ve dolayısıyla, poliasetilenin neredeyse bir metal gibi iletken olabileceğini göstermişlerdir. Böylece, polimerlerin genelde yalıtkan oldukları yorumu bu keşifle değişmiş ve Shirakawa, Heeger ve MacDiarmid bu buluşlarından dolayı 2000 yılı Kimya Nobel Ödülü'nü almışlardır (Freund ve Deore 2007; Chiang ve ark. 1977; Shirakawa ve ark. 1977; Shirakawa 2001; Heeger 2001; MacDiarmid 2001).

Diğer taraftan, elektriksel iletkenlik gösteren iletken polimerlerin keşfi için MacDiarmid ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalar sonucunda, 1973 yılında inorganik iletken bir polimer olan poli(sülfür nitrür) (SN)<sub>x</sub> sentezlenmiştir. (SN)<sub>x</sub> oldukça yüksek iletkenliğe sahiptir ve oda sıcaklığındaki iletkenliği (~10<sup>3</sup> S/cm) bakırın iletkenliğine (~10<sup>5</sup> S/cm) çok yakındır (Walatka ve ark. 1973). Son yıllarda, poliasetilenen daha iyi özelliklere sahip olmaları umulan yeni iletken polimerler sentezlenmiştir (Şekil 2.1). Günümüzde oldukça ilgi çeken bu yeni iletken polimerler sınıfını, polianilinler (PAni), politiyofenler (PTh), polifuranlar (PFu), polipiroller (PPy), poli(p-fenilen)ler (PPP), poli(p-fenilen vinilen)ler (PPV) gibi polimerler oluşturmaktadır (Freund ve Deore 2007). Özellikle ilginç özellikler sergileyen ve elektrokromik cihazların yapımında kullanılan 3,4-etilendioksitiyofenin (EDOT) keşfedilmesiyle bu alandaki çalışmalar büyük ivme kazanmış ve pek çok yeni çalışma literatüre kazandırılmıştır. Bu bağlamda, farklı fonksiyonel gruplar içeren yeni monomerlerin sentezi, polimerlerinin hazırlanması ve çeşitli teknolojik uygulamalarda kullanılması ile ilgili çalışmalar yoğun bir şekilde devam etmektedir.

### 2.2. İletken Polimerler

Polimerler çok sayıda monomerin kovalent bağlarla birbirine bağlanarak oluşturduğu iri moleküllerdir (Saçak, 2006). Polimerler genel olarak yalıtkan maddeler olarak düşünülmüş ve

elektriği iletmeleri istenmeyen bir durum olarak kabul edilmiştir (Stokheim, 1986).



**Şekil 2.1.** Bilinen bazı iletken polimerlerin kimyasal yapıları. (1) poliasetilen (PAC), (2) polipirol (PPy), (3) politiyofen (PTh), (4) poli(3,4-etilendioksitiyofen) (PEDOT), (5) poli(pfenilen) (PPP), (6) poli(p-fenilen vinilen) (PPV), (7) polianilin (PAni), (8) polifluoren (PF) ve (9) polikarbazol (PCz)

İletken polimerler 1970'lerde keşfedildikten sonra elektriksel iletkenliğe sahip polimerlere karşı ilgi önemli ölçüde artmıştır. Bilim ve teknoloji alanındaki hızlı gelişmelere bağlı olarak yeni malzeme arayışları, iletken polimerlerle ilgili çalışmaların da hız kazanmasına neden olmuştur. Bu çalışmalarda; polimerik malzemeler veya bazı sentetik organik maddelere, inorganik metal veya yarı iletkenlerin özelliklerini kazandırmak amaçlı araştırmalar yapılmaktadır. Daha da ileriye giderek, metaller ve yarı iletkenlerde doğal olarak var olmayan bazı özellikler, iletken polimerlere sentetik yoldan kazandırılmaya çalışılmaktadır (Yıldız ve ark., 1993).

İletken polimerler, genellikle "sentetik metal" olarak bilinen konjuge sistemlerdir ve  $\pi$ -orbital sistemine sahiptirler (Gerard ve ark., 2002). Polimerlerin elektronik iletkenlik gösterebilmesi polimer örgüsünde, elektronların zincir boyunca taşınmasını sağlayan uygun yerlerin bulunmasına bağlıdır. Bu koşulu ana zincirdeki konjuge çiftli bağlar sağlar (Saçak, 2006). Bu nedenle iletken polimerler, diğer polimerlerin sahip olmadığı elektrik, elektronik, manyetik ve

optik özelliklere sahiptirler (Forster ve Vos, 1992).

Polimerleri yüksek düzeyde iletken hale getirebilmek için konjugasyonun yanında polimerin katkılanması (doping) işlemi de önerilmektedir. Katkılama yoluyla konjuge çift bağlı polimerlerin iletkenliği kimyasal ve elektrokimyasal yollarla değiştirilebilmektedir (Yıldız ve ark., 1993). Katkılama (doping) işlemiyle polimer yapısına iletkenliği sağlayacak olan elektronlar verilir veya elektronlar alınarak polimer örgüsünde artı yüklü boşluklar oluşturulur. İletken polimerlerde iletkenliğin nasıl sağlandığı çok basit bir yaklaşımla bu boşluklar üzerinden açıklanabilir. Artı yüklü bir boşluğa başka bir yerden atlayan elektron, geldiği yerde de artı yüklü bir boşluk oluşturacaktır. Bu işlemler ard arda zincir boyunca veya zincirler arasında yinelenerek elektrik iletilir (Saçak, 2006).

İletken polimerlerin iletkenliklerinin metal, yarı iletken ve yalıtkanlarla karşılaştırılması yapılmıştır ve iletken polimerlerin iletkenliğinin geniş bir aralığa yayıldığı görülmüştür. İletken polimerlerin, kolay işlenmeleri, esneklikleri, estetik görünüşleri, hafiflikleri ve kimyasal açıdan inert olmaları onları üstün kılmaktadır. Metaller de elektriksel iletkenliği yüksek, üstün mekaniksel özelliklere sahiptirler. Ancak metaller, polimerlerden daha ağırdırlar, pahalıdırlar ve polimerler gibi kolayca şekillendirilemezler. Ayrıca kolay korozyona uğradıkları için kullanımları sınırlıdır (Saçak, 2006).

Metallerin elektriksel iletkenlikleri ve mekaniksel özelliklerini, polimerlerin özellikleriyle birleştirerek bir tek malzemede toplayabilmek her zaman ilgi çeken bir araştırma konusu olmuştur. Bu amaçla yapılan ilk yaklaşımlar polimerlerin uygun iletken maddelerle karışımlarının hazırlanmasına yöneliktir. Denenen yollardan birisi polimerlere metal tozları gibi parçacıkların katılması ve iletkenliğin polimer örgüsüne sokulan metal faz üzerinden sağlanması olmuştur. Polimer içerisinde uygun bir tuz çözüp iyonik iletkenlikten yararlanmak bir başka yaklaşımdır. Bu değinilen iki yaklaşımda da polimerin kendisi yalıtkanlık özelliğini koruyarak iletkenliği sağlayan diğer bir bileşen için taşıyıcı faz işlevi yapar. Bir polimerin kendisinin doğrudan elektriği elektronlar üzerinden iletilebileceği ilk kez PA üzerinde yapılan çalışmalarla anlaşılmıştır (Saçak, 2006).

### **2.3. İletken Polimerlerin Yapısı**

İletken polimer kavramı, yapısında bulunan elektronlarla yeterli düzeyde elektriksel iletkenliği sağlayabilen polimerler için kullanılmaktadır. Polimerlerin elektriksel iletkenlik gösterebilmesi için, polimer örgüsünde elektronların zincir boyunca taşınmasını sağlayan



uygun yerlerin bulunması gerekir. Organik iletken polimerlerde bu koşulu, monomer yapısında ve zincir boyunca polimer üzerinde bulunan konjuge çift bağlar sağlamaktadır. Bundan dolayı, monomerlerin polimer zincirinde korunabilecek aromatik veya konjuge karbon-karbon çift bağları içeren yapıda olmaları gerektiği literatürde verilmektedir (Berets ve Smith 1968). Ancak, çoğu zaman konjügasyon yüksek düzeyde iletkenlik için tek başına yeterli değildir. Konjuge çift bağlara sahip polimerlerin iletkenliği katkılama (doping veya doplama) işlemiyle arttırılır. Katkılama işleminde polimer yapısına iletkenlik sağlayacak olan elektronlar verilerek yani, indirgenme ile polimer örgüsünde eksi yükler oluşturulur veya polimer yapısından elektronlar kopartılarak yükseltgenme yoluyla artı yükler oluşturulur. Dolayısıyla konjuge çiftli bağlar içeren polimer zincirinde elektronik uyarma sonucunda, bir elektronun artı yüklü bir boşluğa veya merkeze geçmesiyle geldiği yerde de bir artı yüklü boşluk oluşacaktır. Bu şekildeki elektron hareketliliği ard arda zincir boyunca veya zincirler arasında yinelenerek elektrik iletilir.

#### **2.4. İletken Polimerlerin Sentezi**

İletken polimerler, yaygın olarak kimyasal ve elektrokimyasal polimerizasyon yöntemleri kullanılarak sentezlenir. Diğer taraftan, iletken polimerlerin sentezi için fotokimyasal polimerizasyon, metatez polimerizasyonu, plazma, piroliz ve katı-faz polimerizasyonu gibi yöntemler de kullanılmaktadır (Kumar ve Sharma 1998).

İletken polimerleri sentezlemek için belli başlı dört metot kullanılmaktadır. Bunlar; elektrokimyasal polimerizasyon, kimyasal polimerizasyon, piroliz ve katalitik polimerizasyon teknikleridir. Bu polimerizasyon metotlarından sıkça kullanılanları elektrokimyasal polimerizasyon ve kimyasal polimerizasyondur.

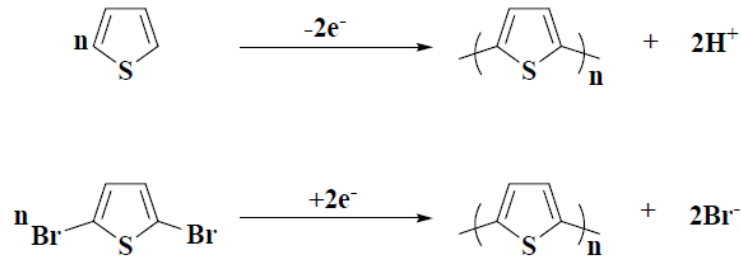
İletken polimerlerin sentezinde, başlangıçta kullanılan monomerler sonuçta oluşan polimerin yapısında korunabilen tipik aromatik veya çoklu konjuge bağ yapısına sahiptirler. Örneğin asetilenin polimerizasyonu sonucu konjuge etilen birimleri içeren polietilen oluşmaktadır. Benzenin polimerizasyonunda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

### 2.4.1. Elektrokimyasal polimerizasyon

Elektrokimyasal polimerizasyon, bir elektrot yüzeyinde yürüyen reaksiyonlarda oluşan ürünlerin başlattığı polimerizasyon tekniği olarak tanımlanabilir. Bu yöntemde, elektrot zincir büyümesini katalitik olarak başlatır.

Elektrokimyasal polimerizasyonda kullanılan başlatıcı, polimerizasyon ortamındaki monomerin veya elektroliz çözeltisinin yükseltgenmiş veya indirgenmiş şekli olabilir. Elektrokimyasal polimerizasyonda monomer, uygun bir çözücü ve destek elektrolit ile birlikte elektroliz hücresine konularak elektroliz edildiğinde elektrot yüzeyinde veya çözeltide polimer oluşmaktadır. Elektroliz hücresi genellikle çalışma, karşıt ve referans elektrottan oluşan üç elektrotlu bir sistemdir (Lund ve Baizer 1991).

Elektrokimyasal yöntemle polimerleştirme elektrot yüzeylerinde redoks aktif polimer filmleri hazırlamak için sıkça kullanılır. Poliheterosikliklerin elektrokimyasal sentezi anodik (yükseltgeyici) ya da katodik (indirgeyici) yolla gerçekleştirilebilir (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2.** Politiyofen için elektrokimyasal sentetik yöntem

Anodik elektrokimyasal yöntemle hazırlanan polimerler genellikle diğer kimyasal ve elektrokimyasal yöntemlerle karşılaştırıldıklarında gelişmiş özellikler gösterirler. Anodik elektropolimerizasyonun avantajları aşağıdaki gibi sıralanabilir (Roncali 1992; Chan ve Ng 1998).

i) Yüksek elektrokimyasal aktif ve iletken olan polimer filmi elektrot yüzeyinde kolayca üretilebilir.

ii) Film inceliği, morfolojisi ve iletkenliği uygulanan potansiyel, polimerleştirme süresi ve elektrokimyasal potansiyel, tarama hızı yoluyla kolaylıkla kontrol edilebilir.

iii) Polimerizasyon sürecini ve oluşan iletken polimerin özelliklerini elektrokimyasal ve spektroskopik teknikler kullanılarak reaksiyon ortamında (*in-situ* olarak) araştırma imkanı sağlar.

Çözücünün türü, elektrolit sistem, monomer derişimi, monomer seçimi ve elektrotlar,

elektrokimyasal polimerizasyon işlemiyle elde edilen iletken polimerin özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir (Zotti 1997).

Elektrokimyasal polimerizasyonda ortamdaki iyonik iletkenliği garanti etmek için, kullanılan çözücü yüksek dielektrik sabitine sahip olmalı ve destek elektroliti çok iyi çözmelidir. Aynı zamanda, polimerin yükseltgenmesi veya indirgenmesi için gerekli olan potansiyellerde çözücü elektroliz olmamalıdır. Bu nedenle nitriller, yüksek dielektrik sabitine ( $\epsilon=37$  asetonitril için) sahip oldukları ve hem yükseltgenme hem de indirgenme için geniş potansiyel aralığı imkanı sağladıklarından dolayı yaygın olarak tercih edilirler (Zotti 1997).

#### **2.4.2. Kimyasal Polimerizasyon**

Yükseltgen kimyasal maddelerin kullanıldığı, pahalı ve oldukça yararlı kimyasal polimerizasyon yöntemleri ile organik iletken polimerler hazırlanabilir.

Kimyasal polimerizasyon tekniğinde, monomerik parçalar kondenzasyon yoluyla veya yükseltgenme-eşleşme ile polimerleştirilir. Yükseltgen eşleşme, monomerin Friedel Crafts reaksiyon koşulları altında yükseltgenmesi (oksidasyonu) ile gerçekleşir. Bunun yanı sıra,  $FeCl_3$ ,  $RuCl_3$ ,  $MoCl_5$  gibi Lewis asitleri de kimyasal polimerizasyonda kullanılır (Koeckelberghs ve ark. 2007; Nicolas ve ark. 2007).

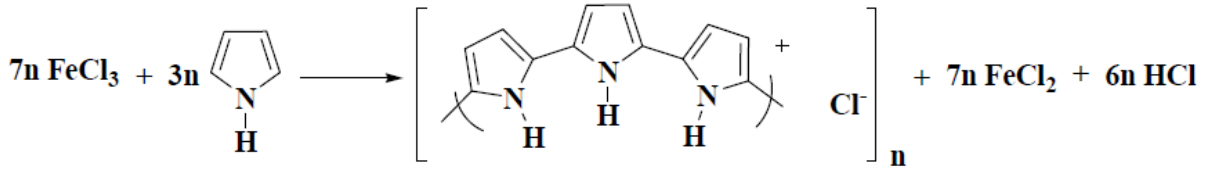
Monomerin uygun bir çözücüdeki çözeltisi, bu yükseltgen kimyasal maddelere maruz bırakıldığında, monomerin radikal katyonları meydana gelir. Kimyasal olarak aktif olan bu radikal katyonlar monomer molekülleri ile reaksiyona girerek oligomerleri veya çözünmeyen polimerleri verir (Malinauskas 2001). Bu yöntemle, süstitüe heterosiklik ve diğer aromatik monomerlerin iyi çözünebilir polimerleri sentezlenebilir.

Metalik karakter taşıyan polimerlerin sentezi yaygın olarak iki kimyasal yöntemle gerçekleştirilebilir: (McCullough 1998).

i) Monomerin demir (III) klorür ( $FeCl_3$ ) veya başka bir geçiş metali varlığında yükseltgenmesi,

ii) 2,5-Dihalotiyofenlerin katalitik Grignard eşleşme reaksiyonları.

Yükseltgeme tepkimesi çözeltideki yükseltgen kimyasal madde aracılığıyla sağlanır. Tiyofen ve pirol türevlerinin kimyasal polimerizasyonunda yükseltgen madde olarak çoğunlukla  $FeCl_3$  kullanılır. Şekil 2.3'da pirolün  $FeCl_3$  kullanılarak yapılan kimyasal polimerizasyonu gösterilmiştir (Wallace ve ark. 2003).



**Şekil 2.3.** Pirolün demir (III) klorür ile kimyasal polimerizasyonu

İletken polimerlerin sentezi için kimyasal yöntemler, elektrot sınırlamasının olmaması, düşük maliyet ve hız gibi avantajlara sahiptir. Kimyasal yöntemle polimerizasyonda, polimer nötral formundan daha sert (rijit) olan yükseltgenmiş formda oluşur ve kuvvetli yükseltgenme reaktifleri kullanıldığı için polimerizasyon sırasında fazla yükseltgenme ve parçalanma meydana gelebilir. Diğer taraftan, kullanılan yükseltgen maddelerin pahalı reaktifler olması da yöntemin bir dezavantajıdır.

### 2.4.3. Piroliz

Piroliz, iletken organik materyaller elde etmek için bilinen en eski yöntemdir. Bu yöntemde uzun bir aromatik yapı oluşturmak için ısıtma ile polimerden halojen, oksijen ve azot gibi hetero atomlar uzaklaştırılır pirolizin bu safhasında yapıda meydana gelen küçük değişimler karbon atomları üzerinde zincir boyunca devam eder. Böylece taşıyıcı yük hareketliliği artar ve serbest radikalleri oluşturarak yük taşıyıcıların sayısını da artırır. Isısal uyarma ile oluşan radikaller konjuge yapıda sürekli olarak bulunurlar. Serbest radikaller katyonlar oluşturmak için elektron verici veya anyonlar oluşturmak için elektron alıcı olarak etki edebilirler. Polimer hidroliz ürünü, piroliz şartlarını içeren kararlı polimerin doğasına ve şekline bağlı olarak bir film, toz veya lif şeklinde olabilmektedir (Mac Diarmid ve ark. 1987)

### 2.4.4. Kondenzasyon Polimerizasyonu

Kondenzasyon polimerleri benzer veya farklı yapıdaki poli-fonksiyonel monomerlerin, genellikle küçük bir molekül çıkararak reaksiyona girmesiyle elde edilir. Burada en önemli koşul monomerlerin poli-fonksiyonel oluşudur. OH, COOH, NH<sub>2</sub>, gibi fonksiyonel gruplardan en az iki tane taşıyan monomerler esterleşme, amidleşme, vb. gibi reaksiyonlarla, küçük moleküller çıkararak, kondenzasyon polimerlerini oluşturular. İletken polimerlerden poliparafenilen (PPP) kondenzasyon polimerizasyonu ile

sentezlenmiştir. Bu tip polimerizasyonda polimer zincirinin tekrar eden biriminin molekül formülü, polimerin oluşumunda yer alan monomerde bulunan atomlardan yoksundur. Elde edilen PPP'nin iletkenlik değeri  $10^{-4}$  S/cm olarak ölçülmüştür. Bu değer  $I_2$ ,  $AsF_5$ ,  $SbCl_6$ ,  $IF_5$ ,  $SO_3F$  gibi uygun dopantlar ile  $10^2$  S/cm arttırılmıştır (Toptaş, 2006).

#### **2.4.5. Emülsiyon**

Emülsiyon polimerizasyonunda birbiri ile karışmayan iki faz söz konusudur. Monomer fazı dağıtıcı faz içinde emülsiyon halinde dağıtılmıştır. Çeşitli emülsiyon yapıcı maddeler kullanılarak monomer fazı dağıtma fazı içinde emülsiyon halde kararlı olarak tutulur. Emülsiyon polimerizasyonunda, emülsiyon ortamı olarak genellikle su kullanılır. Monomer emülsiyon yapıcı bir madde yardımı ile bu ortamda dağıtılır. Polimerizasyon başlatıcısı suda çözünen bir maddedir ve serbest radikalleri üretir. Emülsiyon yapıcı aktif bir madde olup, hidrofil ve hidrofob gruplar içerir. Monomerin az bir kısmı misellerin içine girer, büyük bir kısmı ise monomer damlaları halinde dağılır. Polimerizasyon bir serbest radikalın misel içinde difüzyonu ile başlar ve misel aktiftenmiş olur. Damlacıklardan difüzyon yoluyla geçen monomer, polimer taneciklerini sürekli olarak besler. Polimer tanecikleri büyürken monomer damlacıkları küçülür. Polimerleşme %50-80 ilerlediğinde monomer damlacıkları tükenir. Geri kalan monomerlerin tümü polimer tanecikleri içinde bulunur. Genellikle %100 polimerleşmeye erişilir. Emülsiyon polimerizasyonu yöntemi ile de iletken polimerler sentezlemek mümkündür (Österholm ve ark. 1994). Bu yöntemde monomer, apolar veya zayıf polar bir çözücü ve asidik bir tuz, emülsiyon oluşturan dedosilbensülfonik asit (DBSA) gibi bir yüzey aktif madde ile eş zamanlı olarak karıştırılmakta, belli sıcaklık ve süre sonunda viskoz bir emülsiyon oluşmaktadır. Bu emülsiyon da çöktürülerek saflaştırılmakta ve böylece iletken olabilen polimerler elde edilmektedir.

#### **2.4.6. Gaz Fazı Yöntemi**

Gaz fazı polimerizasyonunda, polimerizasyon reaksiyonları genellikle fotokimyasal olarak monomer buharında başlatılır. Yüksek mol kütleli polimer uçucu olmadığından büyümekte olan polimer tanecikleri bir sis oluşturur. Monomer molekülleri, gaz fazından büyümekte olan tanecik içine difüzyonla girer. Bu yöntemle, genellikle yalıtkan bir polimer matrisi

ve bir yükseltgen madde karışımına belli bir sıcaklıkta maruz bırakılan monomer, buhar fazında polimerleştirilerek çöktürülmekte ve bu şekilde iletken polimer veya kompozitler hazırlanmaktadır.

#### **2.4.7. Ara-Yüzey Polimerizasyonu**

Bu yöntemde, iki fazlı bir sistemin ara yüzeyinde iletken polimer sentezlenmektedir. Bir tuzun sulu çözeltisi ve bir asit çözeltisinin karışımından oluşan polar bir faz ile, monomer ve benzen, toluen gibi çözücülerin karıştırılmasıyla oluşan apolar bir faz arasındaki ara yüzeyde iletken polimer sentezlenmektedir (Genies ve ark. 1990).

### **2.5. İletken Polimerlerde İletkenlik**

#### **2.5.1. İletken Polimerlerde Elektronik İletkenlik**

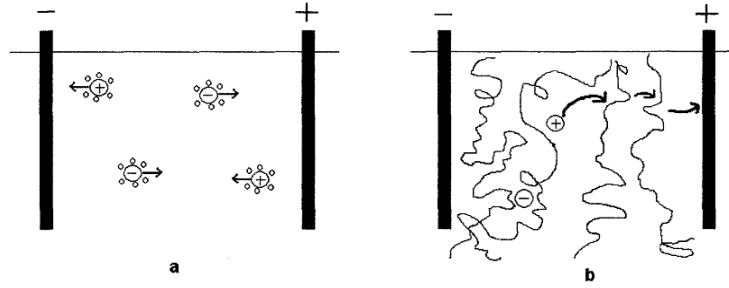
Elektriği, elektronik yolla ileten poliasetilen, polianilin, polipirol gibi polimerlerde iletkenlik mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Elektronik iletkenliğin açıklanmasına yönelik kuramsal yaklaşımlardan birisi band kuramıdır. Birer elektronu bulunan benzer iki atomun bir araya gelerek oluşturduğu iki atomlu bir bileşiğin ( $H_2$ ), bağ yapmadan önceki ve bağ yaptıktan sonraki elektron düzeyleridir (Batır, 2009). Polimerlerde delokalize elektronlar tarafından sağlanan elektriksel iletkenlik metallerde ve yarı iletken sistemlerde olduğu gibi Band Teorisi ile açıklanır. Bu teoriye göre organik maddeler yüksek enerjili elektronlar ile iletkenlik bandı arasında geniş enerji aralığına sahip delokalize elektronlara sahiptirler ve bu nedenle yalıtıcıdır (Kittel,

1986). Elektriksel iletkenliğin olabilmesi için elektronların serbestçe hareket etmesi gerekir. Bu da dolu ve boş bantların birbirine bitişik olması ile sağlanabilir. Eğer bir maddede enerji bantlarından biri elektronlarla tamamen dolu ve kendisinden sonra gelen boş enerji bandı ile arasındaki enerji farkı büyük ise, madde yalıtıcıdır. Metallerde ise bu enerji bandı olmadığı için elektronlar kolayca hareket edebilecek ve böylece iletkenlik sağlanmış olacaktır. Buna göre bazı polimerler, metallere yalıtıcılar arası bir iletkenliğe sahiptir. Bu polimerlere iletken polimerler denir. Bir polimerin iletkenliğinin büyüklüğü, örgüsündeki yük taşıyıcıların sayısı ( $n$ ) ve bunların hareket yetenekleriyle ( $\mu$ ) yakından ilişkilidir. Bu

ilişki,  $e$  elektron yükünü göstermek üzere,  $\sigma = n \cdot \mu \cdot e$  şeklindedir. Artı yük taşıyıcıların (katyon veya artı yüklü boşluklar) bulunduğu tuz çözeltilerinde ve yarı iletkenlerde, artı yük taşıyıcıların iletkenliğe olan katkısı yukarıdaki bağıntıya eklenmelidir (Saçak, 2004).

### 2.5.2. İletken Polimerlerde İyonik İletkenlik

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



**Şekil 2.4.** Sulu çözeltideki NaCl tuzunun iyonik iletkenliğinin polimerde çözünmüş bir tuzun iyonik iletkenliği ile karşılaştırılması, a) Sulu NaCl çözeltisi, b) Polimerde çözünmüş tuz

NaCl çözeltisinde Na<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> iyonlarının elektrik potansiyeli altında zıt elektrotlara göçü ile elektrik iletilir (Şekil 2.2a). Ortamdaki çözücü moleküllerin çözünen iki iyonu 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 yapmayacaklardır.

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

Polimerlerde iyonik iletkenliğin mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olmasına rağmen şu şekilde açıklama getirilebilir. 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 hareketi 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 2.2b).

Burada iyon difüzyonuna olanak sağlayan serbest hacmin, iyon taşınmasındaki önemi ortaya çıkmaktadır. Bu mekanizma, amorf polimerin, elektriksel iletkenliğini açıklamada niçin daha uygun olduğunu ve sıcaklığın yükselmesiyle iletkenliğin niçin arttığını açıklamaktadır (Şahmetlioğlu, 2004).

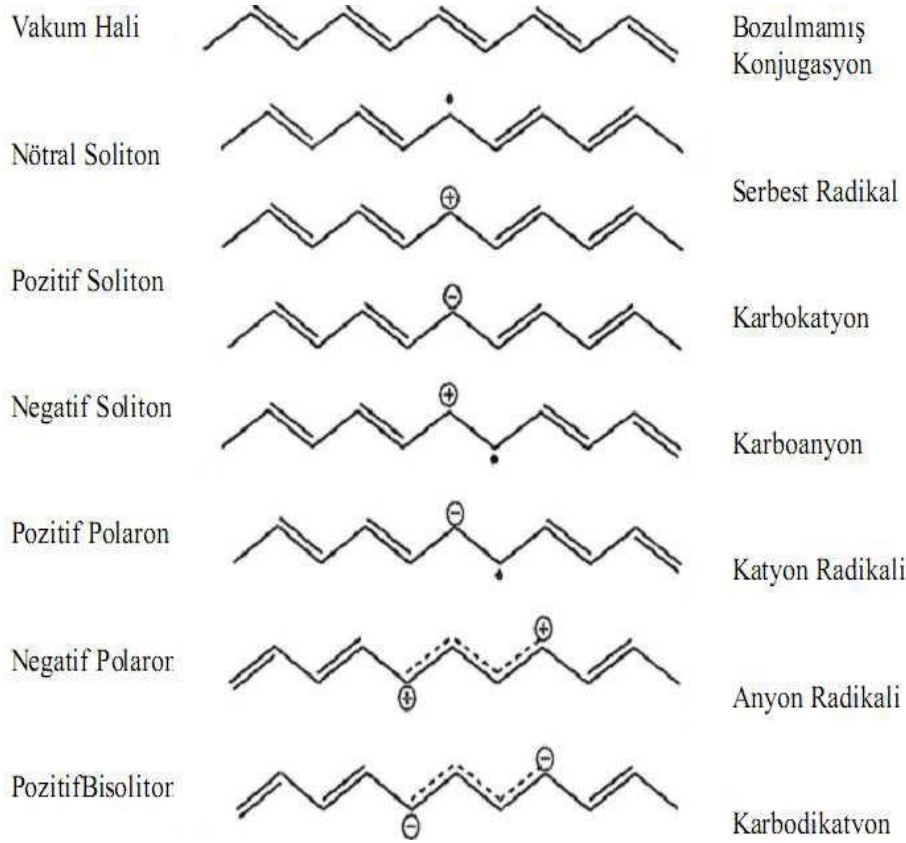
## 2.6. İletken Polimerlerde İletkenlik Teorisi

Poliasetilen, polianilin ve polipirol gibi konjuge polimerlerin optik absorpsiyon çalışmaları sonucunda, bu polimerlerin değerlik bandını iletkenlik bandından ayıran yasak enerji aralığının yarı iletkenlerde olduğu gibi 1,4-3 eV arasında olduğu anlaşılmıştır. Bir yarı iletkende elektronun, değerlik bandından iletkenlik bandına çıkması ile sistemin yapısı değişmez. Konjuge çift bağ yapısına sahip polimerlerde ise elektronik uyarma, örgünün relaksasyonuna neden olmaktadır. Polimerlerde iki tür yapısal relaksasyon olduğu kabul edilmektedir. Birincisi polimer zinciri boyunca oluşan tek düze relaksasyon, ikincisi ise lokal olarak yapısal deformasyona neden olan relaksasyondur. Bunların sonucunda polimer zinciri üzerinde serbest radikal (soliton) olarak isimlendirilen farklı spin yük konfigürasyonuna sahip hata merkezleri oluşturulabilmektedir. Şekil 2.3'de oluşabilecek hata türleri, poliasetilenin yapısı üzerinde iletkenlik teorilerinde kullanılan katı hal fiziği terimleri (solda) ile kimyasal isimlendirmeler (sağda) birlikte verilerek gösterilmiştir (Can, 2010).

Katkılama sonucu oluşan solitonun enerji düzeyi, poliasetilenin yasak enerji aralığının ortasında yer alır. Poliasetilen ve diğer konjuge polimerlerde katılama ile polaronik hatalar da oluşur ve polaronun elektronik enerji düzeyleri yasak enerji aralığında simetrik olarak, iletkenlik ve değerlik bandına yakın konumlarda bulunur. Katkı maddesinin fazla eklenmesi durumunda veya elektrokimyasal olarak katılama miktarının dolayısıyla polaronların derişimi daha da artırılırsa, polaronlar kendi aralarında etkileşerek bipolaronları oluştururlar. Soliton türü hataların sadece zincir boyunca aktarımının mümkün



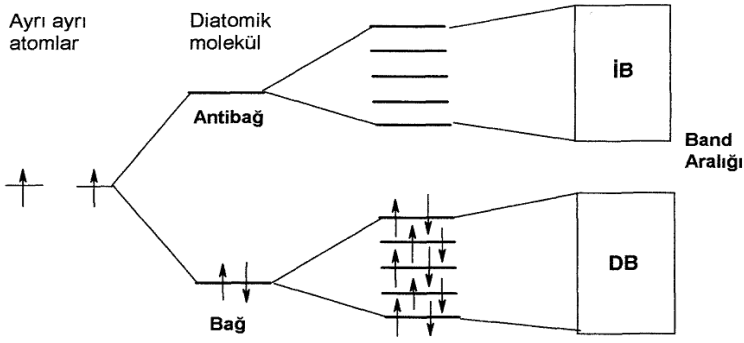
olmasına karşılık bipolaronik hataların bir zincir üzerinden diğerine atlayabilecekleri belirtilmiştir. Sonuç olarak katkılama ile yasak enerji aralığındaki enerji düzeylerine yerleşen soliton, polaron ve bipolaron gibi yapılar polimerlere iletkenlik kazandırmaktadır (Aydın, 2002).



Şekil 2.5. Konjugasyon hatalarının poliasetilen üzerinde gösterimi

### 2.6.1. Band Teorisi

Elektriği, elektronik yolla ileten poliasetilen, polianilin, polipirol gibi polimerlerde iletkenlik mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. İletken polimerlerde elektronik iletkenlik kuramsal yaklaşımlardan biri olan band kuramı ile açıklanmaktadır. Birer elektronu bulunan benzer iki atomun bir araya gelerek oluşturduğu iki atomlu bir bileşiğin (H<sub>2</sub>), bağ yapmadan önceki ve bağ yaptıktan sonraki elektron enerji düzeyleri Şekil 2.4’de görülmektedir.

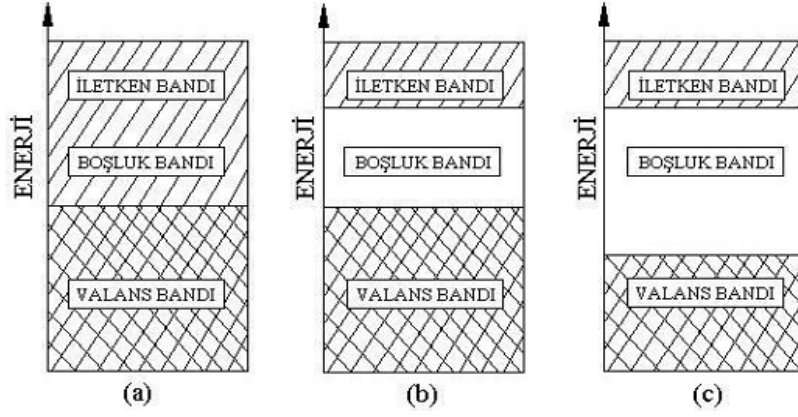


**Şekil 2.6.** Orta büyüklükteki polimer molekülünde bağ ve anti bağ orbitallerinin oluşumu (Şahmetlioğlu, 2004).

Bağ oluşumu sırasında iki yeni enerji düzeyi ortaya çıkar. Bunlar, iki elektronun bulunduğu bağ enerji düzeyi (bağ orbitali) ve boş olan antibağ enerji düzeyidir (antibağ orbitali). Bağ enerji düzeyindeki elektronlar, ısı veya ışık etkisiyle yeterli enerji alarak daha yüksek enerjili antibağ enerji düzeyine çıkabilirler. Daha karmaşık moleküller (birden fazla elektronu olan moleküller) arasında bağ oluşumu da aynı şekilde açıklanabilir. Moleküle her yeni atom katılmasında, molekülün elektronik yapısına yeni bir bağ ve anti bağ enerji düzeyi eklenir. Bu durum, yine Şekil 2.4’de orta büyüklükte bir molekül için gösterilmiştir.

Molekül büyüklüğü arttıkça bağ orbitallerinin sayısı artar ve orbital enerji düzeyleri arasındaki fark azalır. Bir noktada birbirinden net ayrılmış enerji düzeyleri yerine sürekli görünümdeki bir enerji bandı oluşur. Bu banda, bağ bandı veya valens bandı denilir. Bağ bandı içerisinde bulunan elektronlar kolayca yerlerini değiştirerek band içerisinde hareket edebilirler.

Bağ bandı oluşumuna benzer şekilde sayıları sonsuza yaklaşan antibağ orbitalleri de başka bir enerji bandı oluşturur (iletkenlik bandı). Yüksek mol kütleli polimerlerde yüzlerce, binlerce atom bulunacağı için molekül orbitallerinin sayısı oldukça fazladır. Bağ bandı ve iletkenlik bandı arasındaki aralığa band eşiği veya band aralığı, bu aralığın geçilmesi için gerekli enerjiye ise band eşik enerjisi adı verilir. Maddelerin yalıtkan, yarı iletken, iletken şeklinde elektriksel iletkenlikleri açısından gruplandırılmasında band eşik enerjisinin büyüklüğü önemlidir.



Şekil 2.7. İletken (a), yarı iletken (b) ve yalıtkan (c) maddelerde band aralığı

Elektriksel iletkenlikten, iletkenlik bandında, bağ bandında veya bağ eşiğindeki yeni bir enerji düzeyinde bulunan çiftleşmemiş elektronlar sorumludur. Bu tür serbest elektronlar, sisteme uygulanan potansiyele bağlı olarak uygun yönde hareket ederler. Bağ bandı enerji düzeyleri tamamen elektronlarca dolu olduğunda elektronların bir yöne akımını sağlamak zordur. Böyle bir sistemde ısı veya ışık uyarısıyla serbest elektronlar oluşturulabilir. Yeterli enerjiye ulaşan bağ bandının en üst düzeyindeki elektronlar, band eşiğini geçerek iletkenlik bandının en alt düzeyindeki enerji seviyesine yerleşirler. Yalıtkanlarda bağ eşiği bu geçişe izin vermeyecek kadar geniştir. Geleneksel polimerlerin çoğu benzer davranış gösterdikleri için yalıtkanlardır. Yarı iletkenlerde band eşik uyarısı, yalıtkanlardan daha küçüktür ve iletkenlikleri  $10^{-6}$  -  $10^2$  S/cm aralığında değişir. Bu düzeydeki elektriksel iletkenlik düşük gibi gözükse de, yeterli elektrik akımı sağlayacak büyüklüktedir. Ana zinciri üzerinde ardı ardına tek ve çift bağ sıraları içeren konjüge polimerler yarı iletkenlik gösterebilirler.

Yarı iletken polimerlerde valans bandı ve iletkenlik bandı arasındaki enerji seviyesi yeterince düşük olduğunda, ısı veya ışık etkisiyle serbest elektronlar iletkenlik bandının en düşük enerji düzeyine geçebilirler. Bu elektronlar iletkenlik bandı içerisinde hareket ederek yük taşıyıcı işlevi yapar ve zincir boyunca ilerleyerek artı yüklü yöne doğru yönlenir. Bu sırada bağ bandı içerisinde kalan artı yük boşluğu, polimer zinciri üzerinde elektrona ters yönde hareket eder. Elektrik bu yolla ileten maddelere intrinsik yarı iletkenler denir ve iletkenlikleri sıcaklık ya da ışık yoğunluğunun artışıyla yükselir.

Serbest elektron oluşturma yollarından ikincisi, dıştan yapılan bir etkiyle polimerden elektron almak veya polimere elektron vermektir. İndirgen ya da yükseltgen kimyasallar veya elektrokimyasal yöntem bu amaçla kullanılabilir. Önceden tanımlandığı gibi, bir polimere uygun yöntemlerle elektron verilmesine veya elektron uzaklaştırılmasına doplama veya dop

etme denir. Doplama amacıyla kullanılan kimyasal maddelere dopant adı verilir. Polimer sentezinde kullanılan dopantın türü polimerin iletkenlik düzeyini etkiler. Dop işlemiyle yük taşıyıcıların sayısı artırılır. Polimere elektron verilmiş ise, bu elektronlar band bağı eşliğinde yeni bir enerji düzeyine yerleşebilir ve band eşik enerjisini düşürür.

**Çizelge 2.1.** Değişik asitlerle dop edilmiş polianilin'in iletkenlik değerleri (Batır, 2009)

Asit	İletkenlik (S/cm)
Hidroklorik asit	$1,7 \times 10^{-1}$
Fosforik asit	$4,5 \times 10^{-2}$
Formik asit	$3,3 \times 10^{-4}$
<i>p</i> -toluen sülfonik asit	$4,6 \times 10^{-6}$

Çoğu metal atomu tek elektrona sahiptir, komşuluğundaki bir başka metal atomuyla da kovalent bağ yapmaz. Bu nedenle Şekil 2.5'de görülebileceği gibi metallerin bağ bandı kısmen dolu, iletkenlik bandı ise boşdur. Ayrıca, elektron hareketi için engel oluşturan bir band eşığı de söz konusu değildir. Metal elektronları, valens bandın düşük enerjili orbitallerinde yüksek olasılıkla bulunurlar ve aynı band içerisinde veya aynı band ile örtüşmüş iletkenlik bandında geçebilecekleri daha üst enerji düzeyli boş yerler her zaman vardır. Elektron iletimini kısmen dolu valens ya da iletkenlik bandı üzerinden veya band eşığı geçişiyle kolayca sağlarlar (Saçak, 2006).

### 2.6.2. İletken Polimerlerde Doping İşlemi


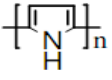
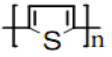
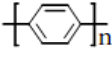
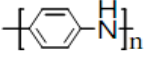
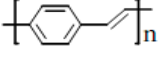
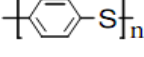
Doping yapma işlemi, iletken polimerler hazırlamak için konjuge  $\pi$  bağlarına sahip olan bir polimeri uygun bir reaktif ile indirgemek veya yükseltmek ile gerçekleştirilir (Trung ve ark., 2005).

Polimerler aşağıdaki tekniklerle doplanabilirler (Bernasik ve ark., 2005):

1. Gaz fazında doping,
2. Çözelti ortamında doping,
3. Elektrokimyasal doping,
4. Radyasyon kaynaklı doping,
5. İyon değişimi dopingi.

Bu tekniklerden ilk üçü daha az maliyetli olduğu için tercih edilmektedir. Gaz fazında doping işleminde, polimerler vakum altında dopantın buharına maruz bırakılır. Çözelti ortamında doping işlemi ise; doping maddesinin çözünebildiği bir çözücünün kullanılması ile gerçekleştirilebilir. Doping yoluyla iletkenliğin sağlanabilmesi şu şekilde açıklanabilir: Polimerlerde değerlik kabuğundaki elektronlar ya yükseltgen bir reaktif ile koparılabilir ve değerlik kabuğu pozitif hale gelir veya indirgen bir reaktif ile boş iletkenlik bandına bir elektron verilebilir. Bu işlemler, yükseltgenmeye karşılık olmak üzere p-türü doping, indirgenmeye karşılık olmak üzere n-türü doping olarak isimlendirilir. Doping işlemi sırasında doping moleküllerinin hiç birisi polimer atomları ile yer değiştirmez, doping molekülleri yalnızca elektronların enerji kabuklarından geçişlerine yardımcı olurlar. Doping yapıcı maddeler veya dopantlar ya güçlü indirgen veya güçlü yükseltgen maddelerdir. Bunlar kolaylıkla iyon oluşturabilen inorganik tuzlar veya bileşikler, nötral moleküller, organik dopantlar ve polimerik dopantlar olabilirler (Randriamahazaka ve ark., 2005). Dopantların yapısı iletken polimerlerin kararlılığında önemli rol oynar.

## Çizelge 2.2. Dop edilmiş bazı iletken polimerlerin yapıları ve iletkenlikleri

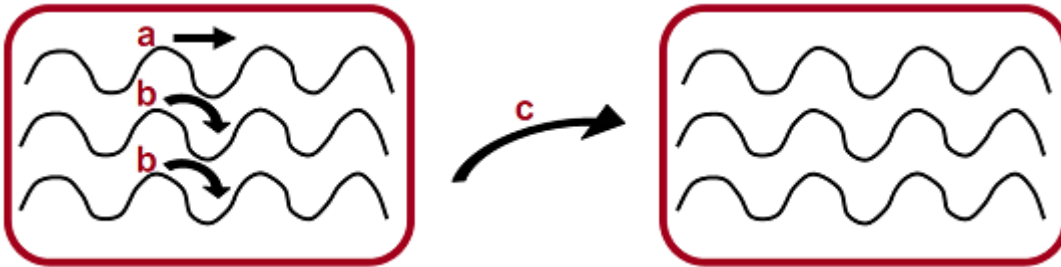
Polimer	Tekrareden birim	Doping maddeleri	Renk	
			doyurulmamış	doyurulmuş
Poliasetilen (trans) (PA)		I <sub>2</sub> , Br <sub>2</sub> , Li, Na, AsF <sub>5</sub>		
Polipirol (PPyr)		BF <sub>4</sub> <sup>-</sup> , ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , tosilat	sarı- yeşil	mavi- siyah
Politiyofen (PT)		BF <sub>4</sub> <sup>-</sup> , ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , tosilat, FeCl <sub>4</sub> <sup>-</sup>	kırmızı	mavi
Poliparafenilen (PPP)		AsF <sub>5</sub> , Li, K		
Polianilin (PANI)		HCl, asitler	mavi	yeşil
Poli(parafenilen vinilen) (PPV)		AsF <sub>5</sub>		
Polifenilen sulfid (PPS)		AsF <sub>5</sub>		

### 2.6.3. İletken Polimerlerde Atlama (Hopping) Olayı

Son yıllarda iletken polimerlerde iletkenliğin yalnızca uzun konjuge zincirler sayesinde oluşmadığı, fakat polimer zincirinde elektronik yükün hareketini açıklayan başka bir faktörün rol oynadığı belirlenmiştir. Buna atlama (hopping) denilmektedir (Wang ve ark., 1992).

Polimer zincirinde elektronik yükün hareketi üç şekilde olmaktadır:

- Kristal bir yapıda zincir üzerinde
- Kristal bir yapıda zincirden zincire
- Amorf bir bölgede zincirden zincire



Şekil 2.8. a) Zincir üzerinde yükün taşınması, b) Zincirler arasında yükün taşınması, c)

Partiküller arasında yükün taşınması

Buradan yola çıkılarak ve konjuge sistemlerden biraz taviz verilerek yukarıda bahsedilen hopping olgusunun artırılmasına çalışılmaktadır. Bu ise, son yıllarda aşı ve karışım türü polimerlerin ele alınmasına yol açmıştır.

#### **2.6.4. 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 kullanımını 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 polimeri erinde 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' in 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>4+</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 , transistor, 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 transistor 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 akıtcı 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-HC104 ile tnoksanın katyonik polimerizasyonu ile elde edilen polioksimetilen tozlarının karıştırılması ile ve PAN-HC104 ve POM' nin BF30Et2 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 HC1 içeren sulu (NFL<sup>+</sup>SaOs 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).

## **2.7. Biyobileşenler**

Enzimler, mikroorganizmalar, organeller, doku kesitleri, antikorlar, nükleik asitler ve biyolojik zarlar içine yerleşmiş kimyasal reseptörler, sensörlerde biyobileşen olarak kullanılırlar. Biyoreseptörler analiz edilecek maddeyi dönüşüme uğratar ve bu dönüşüme eşlik eden değişimler dönüştürücü tarafından algılanır. Yüksek spesifikliklerinden dolayı enzimler en yaygın kullanılan biyo materyallerdir. Uygun bir enzimin bulunamaması veya enzimin kararsız olması ve birden çok sayıda maddenin tayini durumlarında hücre sistemleri ve tercihen mikroorganizmalar kullanılır (Telefoncu, 1999).

## **2.8. Biyobileşen İmmobilizasyonu**

Biyosensörler farklı özellikteki iki elemanın [dönüştürücü ve biyobileşen] kombinasyonu ile oluşurlar. Uygun biyoreseptör ve dönüştürücü seçildikten sonra bunların birbirine bağlanması aşılması gereken en önemli sorundur. Bu bağlama işlemi biyoreseptör immobilizasyonu olarak tanımlanır. Bağlama işleminde çok değişik yöntemler kullanılabilir. Hangi yöntemin kullanılacağı seçilen dönüştürücü ve biyoreseptöre göre belirlenir. İmmobilizasyon biyoreseptörün kararlılığı ve tekrar kullanımını açısından büyük avantaj sağlar. Biyosensör immobilizasyonunda başlıca dört yöntem kullanılmaktadır (Telefoncu, 1999).

## **2.9. Enzim İmmobilizasyonunda Kullanılan Yöntemler**

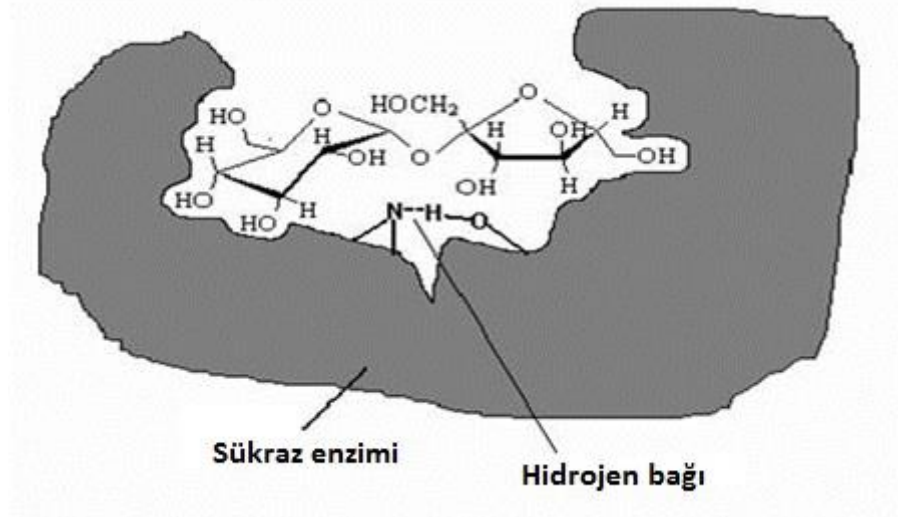
### **2.9.1. Kovalent Bağlama**

Enzimler doğrudan dönüştürücü veya önceden uygun bir film veya tabaka ile kaplanmış dönüştürücüye kovalent olarak bağlanabilirler. Enzimler aktifleştirilmiş dönüştürücü yüzeylerine bağlanabileceği gibi önceden uygun bir materyale kovalent bağlanarak immobilize edilen enzim preparatının dönüştürücü yüzeyinde bir film veya tabaka oluşturmasıyla da biyosensörler hazırlanabilir (Telefoncu, 1999).

Enzimlerin kovalent bağlanmasında dikkat edilecek önemli nokta, bağlanmanın enzim aktivitesi için aktif merkezdeki amino asitler üzerinden gerçekleşmemesi ve bu

grupların sterik olarak rahatsız edilmemesidir. Kovalent bağlanma enzim molekülü üzerindeki fonksiyonel gruplar üzerinden gerçekleşir (Telefoncu, 1999).

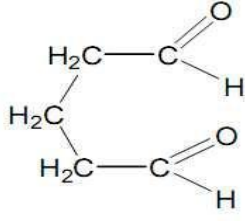
Enzimler kimyasal olarak kovalent bağlarla selüloz, sefadesks, agaroz, poliakrilamid, porlu seramik gibi suda çözünmeyen taşıyıcılara bağlanırlar.



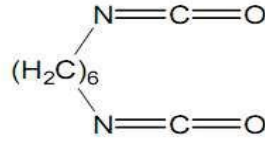
Şekil 2.9. Enzim immabilizasyonunda kullanılan kovalent bağlama yöntemi

### 2.9.2. Çapraz Bağlama

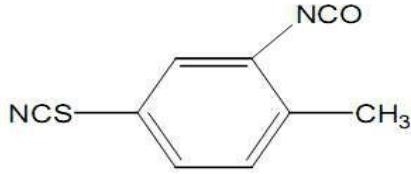
Bu yöntem biyosensör hazırlanmasında daha çok tutuklama ve kovalent bağlama yöntemlerinin kombinasyonu şeklinde uygulanır. Çapraz bağlayıcı reaktif olarak gluteraldehit, heksametilen diizosiyanat, diflorodinitrobenzen, bismaleimidoheksan, disüksinilsüberat sık kullanılır. İki fonksiyonlu reaktifler enzimler yanında organeller, hücreler ve antijenlerin immobilizasyonunda da uygulanır. Bazı çapraz bağlayıcıların formülleri Şekil 2.4 'de verilmiştir (Telefoncu, 1999).



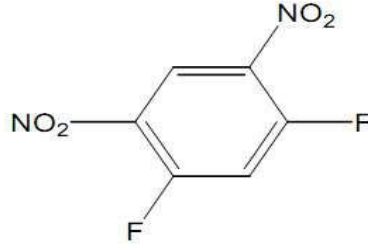
Glutaraldehit



Hekzametilendiizosiyanat



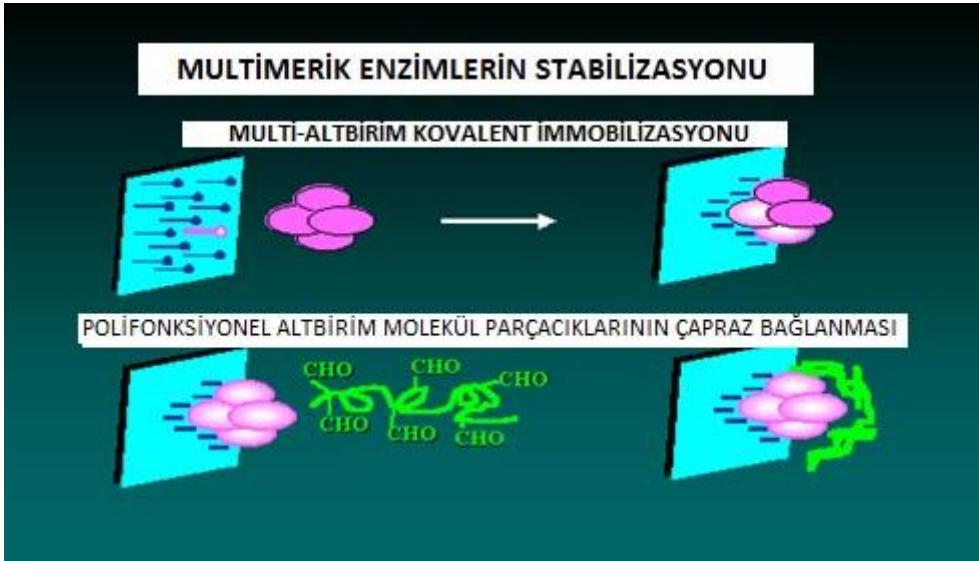
2-Izosiyanato-4-izotiyosiyanato-toluen



1,5-difloro-2,4-dinitrobenzen

Şekil 2.10. Bazı bifonksiyonel reaktiflerin kimyasal formülleri

Enzimler glutaraldehit, alifatik diaminler gibi bifonksiyonel reaktiflerle çapraz bağlanırlar. Bu reaktifler enzim molekülleri arasında bağ oluştururlar. Glutaraldehit enzim moleküllerinin amino gruplarından, diaminler ise karboksil gruplarından çapraz bağlarlar.



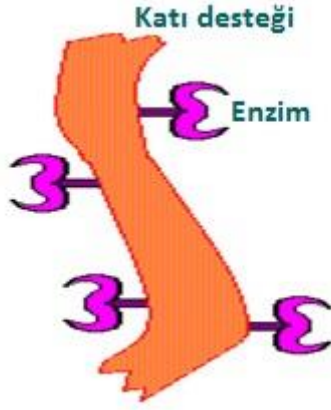
Şekil 2.11. Enzim immobilizasyonunda kullanılan çapraz bağlama yöntemi

### 2.9.3. Adsorbsiyon

Bu yöntemde biyobileşenin film veya tabakaya adsorbe olması sağlanır. Biyobileşenlerin kimyasal yapısı ve fiziksel durumuna göre immobilizasyon yöntemi

belirlenir. Enzimler için uygulanan tüm immobilizasyon yöntemleri protein yapısındaki diğer biyoreseptörler için de uygulanabilir. Örneğin; hayvan ve bitki dokuları zar yapısında olduklarından farklı immobilizasyon yöntemleri uygulamak gerekir (Telefoncu, 1999).

Enzim moleküllerinin taşıyıcıların yüzeyine adsorblanmaları esasına dayanır. Kolay bir yöntemdir. Agaroz, sefadeks türevleri, selüloz türevleri, metal tuzları ve mineraller adsorban olarak kullanılırlar.

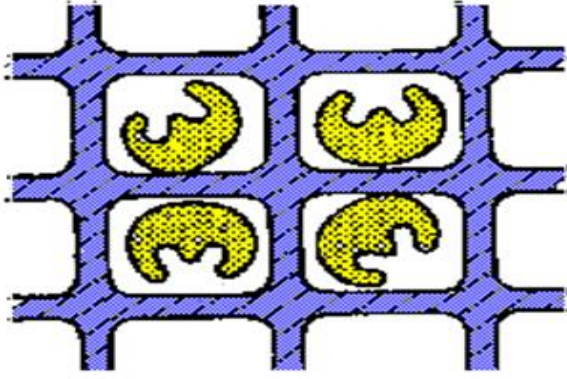


Şekil 2.12. Enzim immabilizasyonunda kullanılan adsorbsiyon yöntemi

#### 2.9.4. Tutuklama

Biyoreseptörün bir membran veya tabaka içerisinde hapsedilmesidir. Enzimler makromoleküler yapıları proteinler olup polimer jel tabakalarda ve daha basit olarak diyaliz membranlarında tutuklanabilirler. Bu yöntem enzimler yanında organeller, hücreler ve antikorlar için de uygulanabilir. Elektrokimyasal polimerleşme diğer bir tutuklama yöntemidir (Telefoncu, 1999).

Enzimler yapay ya da doğal polimer kafesleri içinde tutuklanırlar. Polimer kafesler içine substrat girer ve ürün dışarı çıkar. Çapraz bağlı poliakrilamid jeller, Ca alginat, kapa karragenan bu polimerlerin örneklerindedir.



Şekil 2.13. Enzim immabilizasyonunda kullanılan tutuklama yöntemi

### 2.9.5. Kapsülleme

Enzimler çeşitli tipteki membranlar içine alınırlar. Bu membranlar yarı geçirgendir. Düşük molekül ağırlıklı substratı ve molekülleri geçirirler. Hegza metilen diamin mikrokapsüllemeye kullanılır.



Şekil 2.14. Enzim immabilizasyonunda kullanılan kapsülleme yöntemi

### 2.10. Mikrobiyal Hücreler

İnsanların gıda maddelerinde bulunan mikrobiyal hücreleri ne zaman fark ettikleri hakkında kesin bir tarih vermek mümkün değildir. Bununla birlikte, bu olayın mikrobiyolojinin bir bilim dalı olarak ortaya çıkmasında çok önemli olduğu kabul edilen bir gerçektir. İnsanın gelişim evresi "gıdaların toplandığı" ve "gıdaların üretildiği" dönemler olarak ikiye ayrılabilir. Birinci evre 1 milyon yıl öncesinden 8-10 bin yıl öncesine kadar bir süreyi kapsar. İnsanın bu evrede daha çok et yiyerek beslendiği, bitkisel gıdaların tüketilmesinin bu dönemin sonlarına

yakın başladığı kabul edilir. Ayrıca bu dönemde zamanla gıdaların pişirilerek tüketildiği de saptanmıştır. (Esen, 2008).

Gıdaların üretilmesi ise 8-10 bin yıl önce başlamıştır. İnsanların gıdaların bozulması ve gıda zehirlenmeleri gibi sorunlarla bu dönemin başında karşılaşmaya başladıkları sanılmaktadır. Hazırlanmış gıdaların bozulmasına ait ilk bulgular, M.Ö. 6000 civarına rastlamaktadır. Toprak çanakların ilk önce bu dönemde görülmesi, hububatların pişirilmelerinin ve gıdaların depolanmasının bu dönemde veya kısa bir süre sonra başladığını düşündürmektedir. Bira yapımının ilk kez M.Ö. 5000-7000 yıllarında Babil' de uygulandığına dair bulgular mevcuttur. Sümerlilerin ise tereyağını ilk elde eden kavim olduğu, ayrıca etleri ve balıkları tuzladıkları bilinmektedir. Süt, peynir ve tereyağının M.Ö. 3000 yılında Mısırlılarca kullanıldığı da saptanmıştır. M.Ö. 1000 civarında Romalıların deniz ürünlerinin muhafazasında kardan yararlandıkları belirtilmektedir. Tüm bunlara karşın, bu çağlarda insanların gıdaların muhafazasındaki temel kuralı anlamış oldukları ve yine gıdaların hastalıkların başlatılmasında oynadıkları rolü veya hastalıklı hayvanlardan elde edilen etlerin tüketilmesindeki tehlikeyi fark etmiş olmaları pek sanılmamaktadır. (Solakoğlu, 2013).

Mikrobia hücrelerin gıdaların bozulmalarında rol oynadığını belki de ilk ileri süren kişi A. Kircher adında bir keşiştir. 1658 yılında çürüyen vücutlar, bozulan et, süt ve diğer gıdalarda gözle görülmeyen "kurtçuklar" olduğunu ileri süren bu kişinin görüşleri pek taraftar bulmamıştır. Daha sonraları 1765'te L. Spallanzani kaynatıldıktan sonra sıkı bir şekilde kapatılmış bir kapta saklanan et suyunun bozulmadığını göstermiştir. Spallanzani bunu spontan generasyon doktrinini çürütmek amacıyla yapmış ancak, bu işlemde spontan generasyonunun hayati ögesi olan oksijenle ilişkiyi kestiği için kabul ettirememiştir. İnsanlık tarihindeki ilk büyük gıda zehirlenmesi olayı M.S. 943 yılında Fransa'da görülmüş ve *Claviceps purpurea* ile enfekte olmuş çavdar veya diğer hububatın tüketilmesi sonucu 40.000 kişinin öldüğü belirlenmiştir. Ergotizm diye adlandırılan bu zehirlenmeye daha önceki çağlarda da rastlanmıştır. Etlerin satılabilir ve satılamaz olarak nitelendirilmesi ilk kez İsviçre'de görülmüştür. 13. yüzyılda et kalitesi ile ilgili bilgiler artmış olmakla beraber, et kalitesi ile mikroorganizmalar arasındaki ilişkinin anlaşılması pek sanılmamaktadır. (Bilgiçli, 2000).

### **2.10.1. Mayalar**

Ekmek yapımında kullandığımız temel katkı maddelerinden olan maya tek hücreli bir canlı

olan "*Saccharomyces cerevisiae*"ın saflaştırılmasıyla elde edilen bir üründür. Mantarlar grubunda yer alan, tek hücreli canlılardan olan mayalar, çıplak gözle görülmeyecek kadar küçük, yuvarlak ve renksiz hücrelerden oluşmakta ve sıcakla temas edince çoğalmaktadırlar (Bilgiçli, 2000).

Mayaların fizyolojik yapılarının aerobik veya fakültatif anaerobik (istemli anaerobik) özelliğe sahip oldukları görülür. Zorunlu anaerobik (obligat) olarak bilinen maya türü yoktur. Endüstriyel önem taşımalarındaki en büyük etken, glikoz fermantasyonunu oldukça iyi gerçekleştiriyor olmalarıdır. Özellikle mayaların tanımlanmaları maya biyoteknolojileri için oldukça önemlidir (Yıldırım, 1997).

Mayalar; toprak, su ve havadan izole edilebilirler. Yüksek şekerli çevresel numunelerden izole edilmeleri gerçekleştirilebilir. Bunlar genellikle gıda bozucu mayalar olarak bilinirler. Ayrıca enfeksiyonlara sebep olan birçok maya türü de bulunmaktadır (Gönlüm, 1994).

Gelişme gösterdikleri ortamlara baktığımızda; daha çok inorganik tuzlarla karbonhidrat içeren hafif asidik besiyerlerinin olduğunu görürüz. Bakterilere karşı doğal bir korumanın sağlanması için besiyeri pH'sının 3,5-5,4 aralığındaki asidik düzeyde tutulması gerekmektedir (Anonim, 2013).

Mayaların tanımlanması ve çeşitliliğinin bilinmesi özellikle maya biyoteknolojisi için oldukça önemlidir. Henüz tanımlanmamış birçok maya genus ve türü olmasının yanında, tanımlanabilmiş 700 çeşit maya türü de mevcuttur. Türlerin ayırımında hem morfolojik hem de fizyolojik testler kullanılır (Solakoğlu, 2013).

Özellikle biyoteknolojik önemi yüksek maya türlerinin belirlenip, korunması ve saklanması son derece önemlidir. Gelişen teknoloji ile birlikte türler daha kolay karakterize edilebilmektedir. Mayalar ekonomik, sağlık ve sosyal açıdan bilinen en önemli organizmlardır ve çok eskilerden beri kullanılmaktadırlar. Şekerin maya tarafından fermantasyonu, alkollü içeceklerin üretimi, ekmek yapımında ekmeğin kabartılması ve şarap bira yapımı, binlerce yıldır kullanılan en eski biyoteknolojik faaliyetleridir. Mayalar özellikle geleneksel gıda fermantasyonları dışında genetik mühendisliği alanında da kullanılır. Başka canlılara ait proteinlerin veya bazı farmasötik ajanların daha kolay ve ucuz üretilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Örneğin insülin, interferon proteinleri ile aşı üretiminde gerekli hepatit B virüsünün kabuk proteinleri mayalar tarafından üretilmektedir (Esen, 2008).

Bazı endüstriyel mayalarda sentezlenen toksik bir molekül, bu özelliğe sahip olmayan mayalar için öldürücüdür. Özellikle bira sektöründe karşılaşılan bu problem biranın oluşumunu durdurmakla beraber biraya da kötü bir tat katmaktadır (Anonim, 2013).

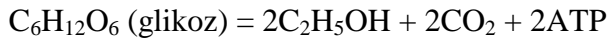
Fermantasyon sektöründe istenilmeyen mayaların sisteme girmesi ürün kalitesini



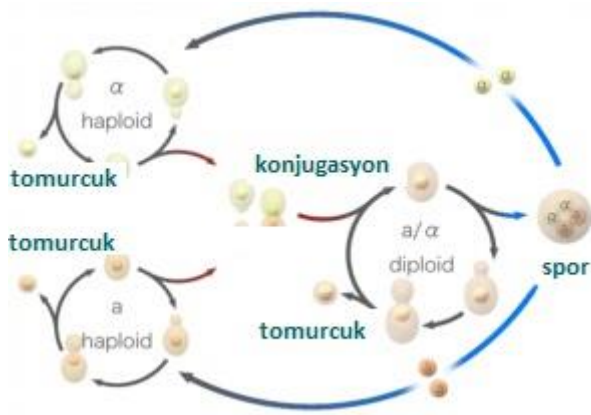
düşürmektedir. Buna önlem olarak; bağışıklık kazanmış maya türleri bu toksinlere karşı oluşturulur. Endüstriyel alanda kullanılacak mayaların bazı karakteristik özellikleri taşıması gerekmektedir. Şeker yüksek düzeyde kullanabilmesi, yüksek sıcaklığa dayanabilmesi, alkol üretiminin fazla olması, iyi bir aroma oluşturabilmesi, fermantasyonu hızlı gerçekleştirmesi ve genetik stabilitesinin yüksek olması bunlardan bazılarıdır (Delipınar, 2007).

Oksijen yokluğunda karbonhidratlar; karbondioksit ve alkole dönüştürülürler. Ortaya çıkan alkol (etanol) bira ve şarap üretimi için şişelenir. Ekmek yapımında ise ortaya çıkan alkol buharlaşır ve oluşan karbondioksit ekmeği kabartır (Anonim, 2013).

Glikoz fermantasyon reaksiyonu örneğine bakarsak;



Şeker (glikoz) = Alkol + Karbon Dioksit + Enerji (ATP)



**Şekil 2.15.** Glikoz fermantasyon reaksiyonu (Anonim, 2013)

Mayalar eşeyli ve eşeysiz olarak iki şekilde üreme özelliğine sahiplerdir. Eşeysiz üremeleri tomurcuklanma ile gerçekleşir. Ana hücreden oluşan bir tomurcuk yeterli büyüklüğe ulaştığında kopma gösterir ve ardında bir iz bırakarak ana hücreden ayrılır. Mayaların eşeyli üremesi ise farklı eşem tipine sahip hücreleriyle gerçekleşir. Askospor oluşumu ile eşeyli olarak ürerler. İki uyumlu mantar hücrelerinin bir araya gelmesi ve çekirdeğin mayoz bölünmesi ile oluşur (Solakoğlu, 2013).

Bira mayası olarak da bilinen bu madde, başta ekmek olmak üzere çeşitli unlu mamullerin, bira ve şarap gibi içkilerin üretiminde kullanılmaktadır. Mayalar hayatımızın her anında bulunmaktadır. Yoğurt, bira, ekmek vs. gibi ürünlerin oluşmasında mayaların veya tek hücreli canlıların önemi büyüktür. Mayalar genel olarak Yaş maya ve Kuru maya olarak ikiye ayrılır. Yaş maya kendi içinde sıvı maya ve yaş pres maya; kuru maya kendi içinde aktif kuru maya ve instant kuru maya olarak ikiye ayrılır. Bunların hepsi temelde aynı kullanımda farklı yöntemleri olan mayalardır. Örneğin, bazıları sulandırılarak bazıları ise direk una

kariştirilerek kullanılır. Fakat hepsinde ortak net bir özellik, canlı bir organizma olduğunu hatırlayarak saklama koşullarına uymalı ve mutlaka son kullanma tarihlerine dikkat edilmelidir (Solakoğlu, 2013; Anonim, 2013).

Maya, doğadaki en zengin aminoasit özleri, magnezyum, potasyum, krom, selenyum ve fosfor gibi mineralleri, B grubu vitaminleri içerdđi için özellikle spor yapanlara son derece yararlıdır. Bilim adamlarına göre maya, sağlığımız için çok yararlı bir besindir. Organizmanın kimyevi aktivitelerini uyararak en iyi şekilde çalışmasını sağlamaktadır. Hücrelerin büyüme ve üremesine yardımcı olmaktadır (Bilgiçli, 2000).

Günümüzde birçok alanda mayaların kullanılabilir olduğu görölmektedir. En yaygın örnekleri arasında ise ekmeğin kabartılması ve alkollü içki fermantasyonu gösterilebilir. Geleneksel gıda fermantasyonu ile beraber tıp alanında ve endüstride de sıklıkla kullanılmaktadır (Solakoğlu, 2013).

Yaş pres maya daha çok ekmekçilik sektöründe, Kuru maya ise evlerde kullanılmaktadır. Her ikisi de benzer proseslerle üretilir. Kuru maya farklı maya suşları ile üretilip daha sonra kurutulur. Ekmek mayası üretiminde saf maya kültürü ve melas kullanılır.

Maya olarak *Saccharomyces cerevisiae* kullanılmaktadır. şeker kamışı ve şeker pancarı temel karbon kaynağı olarak mayanın üremesinde kullanılır. Fermantasyon işlemi mayaların bir seri tankın içinde aerobik koşullarda serbest oksijen veya hava verilmesi ile gerçekteştirilir (Delipınar, 2007).

Ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) aerobik ve anaerobik metabolizmaya sahip mikroorganizmalara önemli bir örnektir. *Saccharomyces cerevisiae*, aerobik koşullarda üreme, anaerobik koşullarda ise fermantasyon gerçekteştirir. Ekmek mayası üretimi, mikroorganizmaların kendi kendisini yeniden yapmasına dayanır ve bu nedenle ortam sürekli havalandırılarak gerekli besin maddelerinin ilavesi gereklidir. Ekmek üretiminde undan sonra en önemli girdi, ekmek mayasıdır (Esen, 2008).

## **2.11. Enzimler**

Enzimler, ileri derecede organize olmuş protein moleküllerdir. 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 (CH<sub>3</sub>) bir amin (NH<sub>2</sub>) bir hidroksit (OH) bir hidrojen (H), keto (CO), aldehit (OC-H), bir karbondioksit (CO<sub>2</sub>) 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.

### 2.11.1. Enzimlerin Genel Özellikleri

Enzimler canlı hücreler tarafından sentezlenir. Ancak aktivite göstermeleri için hücre içinde bulunmaları şart değildir. Hücreden ayrı "*invitrd*" 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 "prostetik grup" adı verilir. Bu prostetik grup bir metal iyonu ise "kofaktör" olarak adlandırılır. Şayet bu prostetik 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.

Hücrenin 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 kademede 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 şartım 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.Sumner 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.

### **2.11.2. 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>'nin hidrasyonu yani su alması gibi basit bir tepkime bile karbonik anhidraz denen bir enzim tarafından katalizlenir.

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 kullanılmaktadır. 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 kullanılmaktadırlar.

### **2.11.3. Enzimlerin Aktivitesinin Takip Yöntemleri**

- 1- Enzimi substratın 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 boylan birbirinden farklılık gösterir. Örneğin, bir nükleik asit ile bir amino asitin maksimum

absorbans yüzdeleri ise incelediğimiz molekülün tüpteki konsantrasyonu ile 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.

#### **2.11.4. 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° 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

#### **2.11.5. 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 rastlanarlardan 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, pikomolP 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- Polorimetrik yöntem
- 5- Kromatografik yöntem
- 6- Kimyasal tayin yöntemi

Spektrofotometrik yöntemde, pek çok enzimin substratı, ürünü veya koenzimi görünen ışıktaki veya ultraviyole ışıktaki bir tepe değeri göstererek absorpsiyon 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).

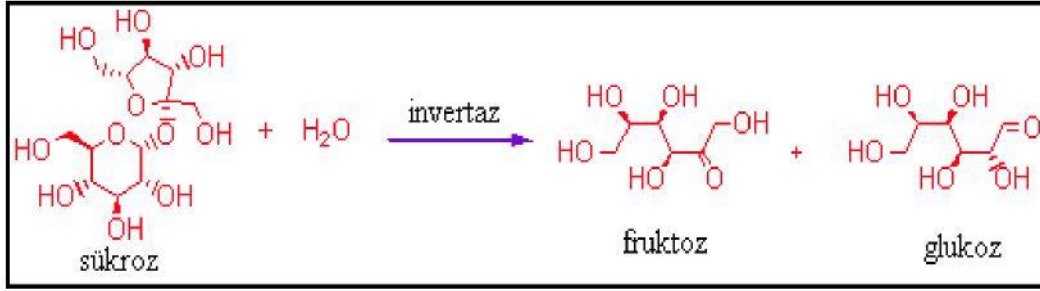
## **2.12. İnvvertaz Enzimi ve Kullanım Alanları**

İnvvertaz bilinen en eski enzimlerden biridir. Bu nedenle invvertazın yapısı ve kinetiği hakkında oldukça fazla bilgi mevcuttur. Mayadan elde edilen invvertazın en ilginç özelliklerinden birisi heterojen olmasıdır. Mayada invvertaz sentezinde 6 farklı gen görev almaktadır. Bu farklı genler birbirine benzer fakat birbirinin tamamen aynısı olmayan farklı invvertaz yapılarının üretilmesine neden olmaktadır. İnvvertaz (P-fruktofüranosidaz) (EC.3.2.1.26) sakkarozun



glukoz 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).

İnvertaz sükrozu, glukoz ve fruktoza hidroliz eden bir enzimdir (Şekil 3.1.) Sistematik ismi beta-fruktofuranozidaz (EC3.2.1.26) olan invertaz, beta-fructofuranoside kalıntılarının indirgen olmayan terminal bölgelerinin hidrolizinden sorumludur.



**Şekil 2.16.** İinvertazın katalizlediği reaksiyon

Glukoz ve fruktozdan oluşan bu karışım düşük kristallenme özelliğine sahiptir ve yüksek konsantrasyonlarda da sükroza kıyasla kristallenme özelliği oldukça azdır. Gıda sektöründe bu ürünlerin kullanımı ile gıdaların raf ömürlerinde uzamalar sağlanmaktadır.

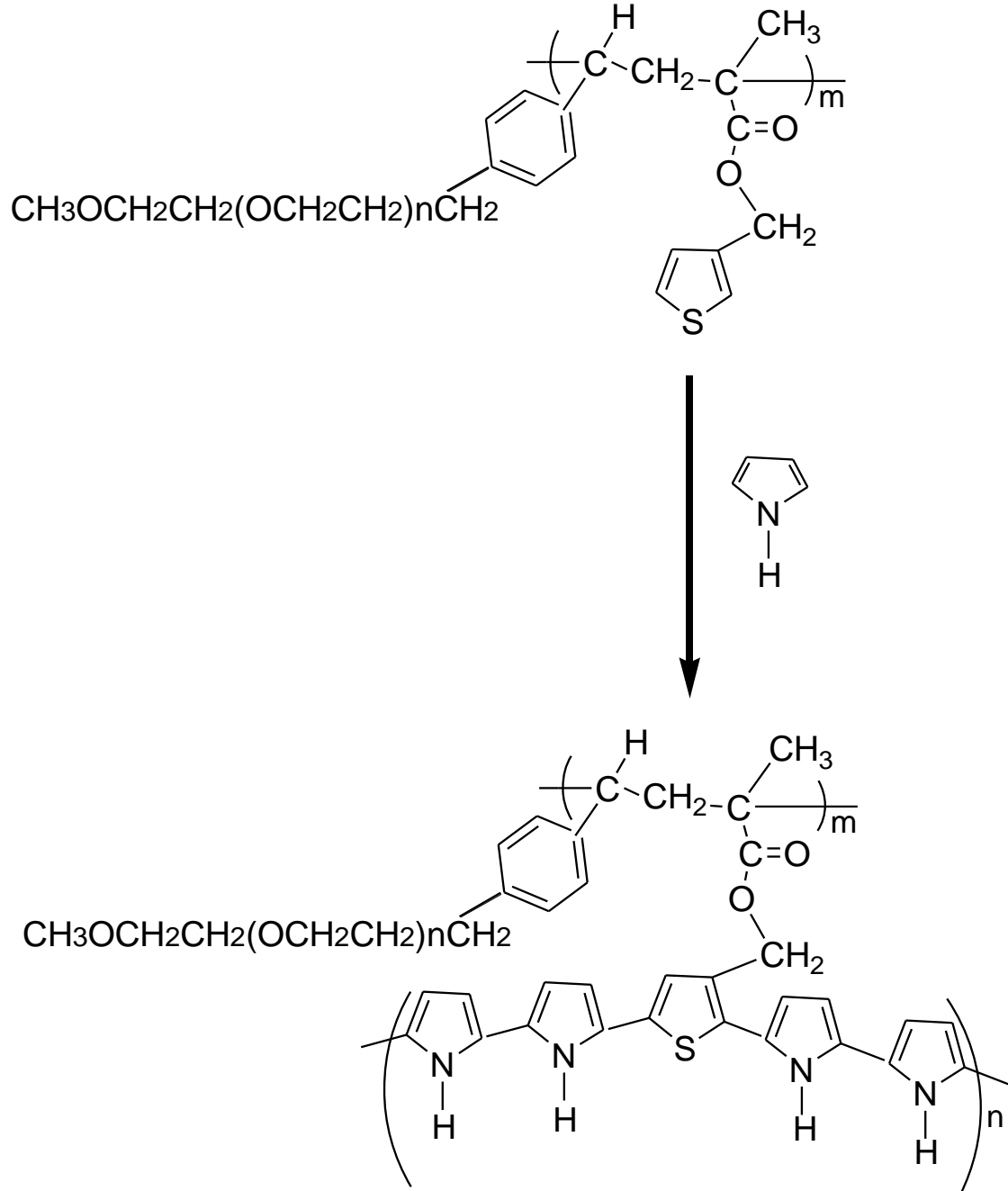
Invertaz selüloz asetat (De Paoli ve diğ., 1991), poli(etilen) (D'Souza ve diğ., 2002) gibi liflerin içine tutuklanmaktadır. Son zamanlarda elektropolimarizasyonla değişik iletken polimer matrislerine invertaz, enziminin tutuklanması bizim çalışma grubumuz tarafından detaylı bir şekilde incelenmektedir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

Gıda endüstrisinde yapay bal, krema, reçel ve sıvı şeker üretiminde immobilize invertaz yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca çok sayıda hazır gıdada sükroz yerine invertazın katalizlediği reaksiyon sonucunda oluşan fruktoz ürünü tercih edilmektedir. Çünkü fruktozun tatlandırma gücü daha yüksek ve kullanıldığı besin maddesi içinde kristallenmesi güçtür. Bu nedenle gıda endüstrisinde ürün kalitesinin artırılabilmesi için sükroz yerine fruktoz tercih edilmektedir. Ayrıca invertaz reaksiyonu ile sükrozdaki eşit miktarda glukoz ve fruktoz içeren karışım (invert şeker) oluşmaktadır. İinvert şekerin endüstriyel uygulamalarda işlenmesi daha kolay ve tatlandırma gücü sükroza kıyasla daha yüksektir. Ayrıca invert şeker kullanıldığında, ürünün uzun süreli saklama periyodu süresince taze yumuşak kaldığı görülmüştür. Bu nedenle invertaz enzimi ihtiyacı gıda endüstrisinde gün geçtikçe artmaktadır. İinvertazın

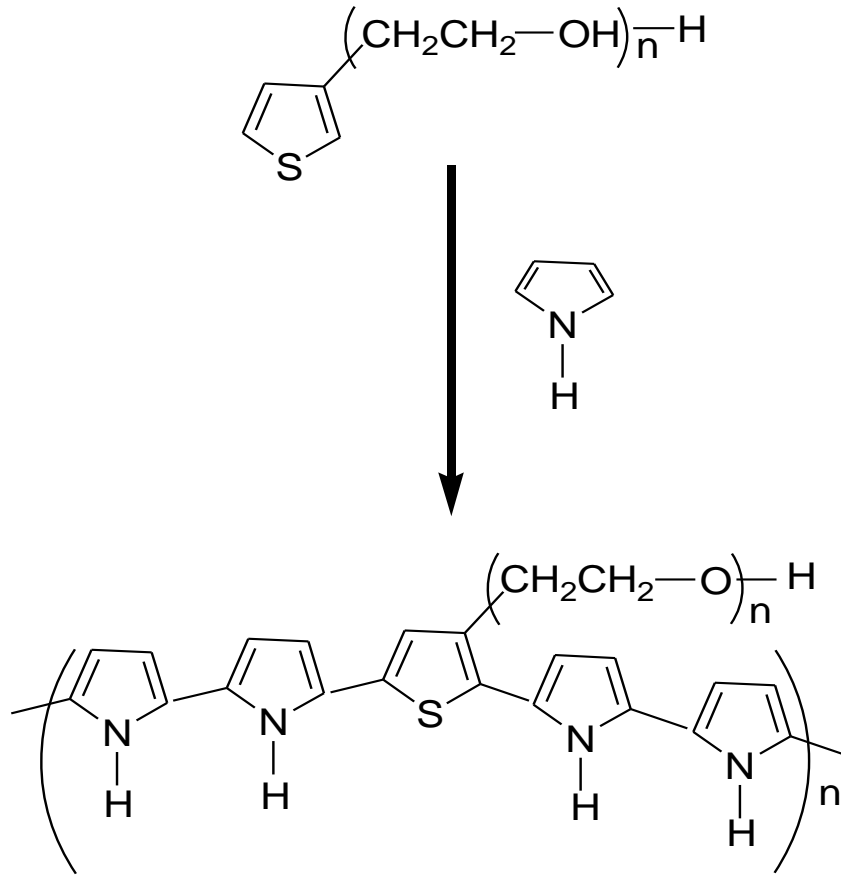
immobilizasyon yapılmış şeklinin kullanımının ticari başarısı oldukça düşüktür, bununla beraber, bütün enzimler arasında en çok çalışılan enzimlerden biridir. Çünkü çok pahalı ve çok uygulama alanına sahip enzimlerin immobilizasyonu için başlangıç model bir enzimdir. Invertaz immobilizasyonu çok sayıda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

### 3. MATERYAL ve METOT

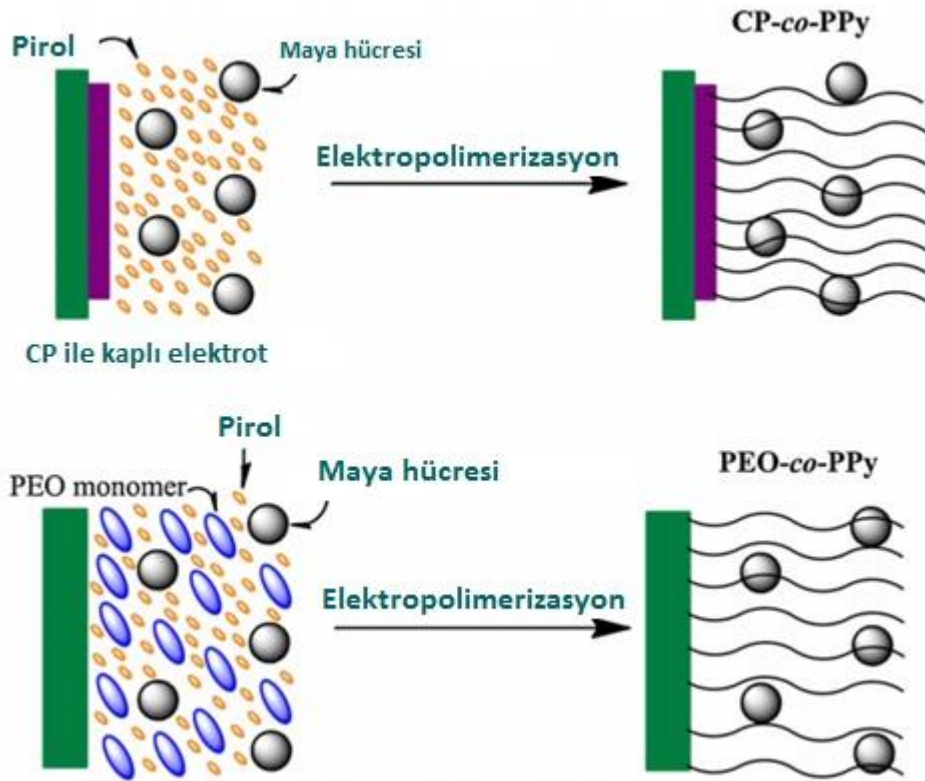
Bu çalışmada ekmeek mayası ve invertaz tiyofenonlu poli (etilenoksit) / Polipirol (PEO-co-PPy) ve 3-metiltiyenil metakrilat-co-p-vinil benziloksi poli (etilenoksit) / polipirol (CP-co-PPy) matrisleri içerisinde immobilize edilmiştir.



Şekil 3.1. CP-co-PPy iletken kopolimer yapısı



Şekil 3.2. PEO-co-PPy kopolimer iletken yapısı



Şekil 3.3. Ekmek mayasının iletken kopolimer içerisine immobilizasyonun şematik gösterimi

### 3.1. Materyal

#### 3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

Ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) Pak Maya (Türkiye) firmasından satın alınmış olup herhangi bir saflaştırma işlemi gerçekleştirilmeden kullanılmıştır. İnvvertaz (EC 3.2.1.26) Tip-V and tanik asit Sigma firmasından temin edilmiş olup hiçbir saflaştırma işlemi uygulanmadan kullanılmıştır. Pirol Merck firmasından satın alınıp kullanmadan önce distillenerek saflaştırılmış ve + 4 °C’ de buzdolabında muhafaza edilmiştir. sodyum dodesil sülfat (SDS) Merck firmasından alınmıştır. Nelson reaktifini hazırlamak için sodyum karbonat, sodyum potasyum tartarat, sodyum bikarbonat, sodyum sülfat, bakır sülfat pentahidrat, amonyum heptamolibdat tetrahidrat ((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O) ve sodyum arsenat (Na<sub>2</sub>HAsO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) Aldrich firmasından temin edildi.

#### 3.2. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Cihaz	Marka
UV- Görünür bölge spektrofotometresi (UV-vis)	Shimadzu UV-160-A
Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	JEOL JSM-6400 SEM
Analitik terazi	Sartorius BL 210 S
Etüv	Nüve FN 400
Saf su cihazı	Human Power I Scholar-UV
pH metre	Gnolab wtw Series
Potansiyostat	Potentiocan Wenking POS-73
Electrochemical Workstation	CHI 660b

#### 3.3. Ekmek Mayası ve İnvvertaz Enzimlerinin PPy ve CP-co-PPy Matrislerine İmmobilizasyonu

CP-co-PPy matrisi içerisine invvertaz enziminin immobilizasyonu CP-co-PPy matrisi içerisinde tutuklanması daha önce CP ile kaplanmış Pt elektrot (1 cm<sup>2</sup>) üzerine pirolün

elektropolimerizasyonu ile meydana gelir. Enzim elektrodu 1.2 mg/mL SDS destek elektroliti, 0.01 M pirol ve 0.6 mg/mL invertaz içeren 10 mL asetat tampon çözeltisi (pH 5.0) içerisinde hazırlandı. Enzim tutuklaması işlemi oda sıcaklığında 20 dakika boyunca 1.0 V sabit bir potansiyelde gerçekleştirildi. Hazırlanan enzim elektrotları kullanılmadıkları zaman asetat tampon çözeltisi içerisinde + 4 °C' de muhafaza edilmiştir. CP-co-PPy matrisi içerisine ekme mayasının tutuklanması işlemi invertaz enzimi tutuklama işleminde kullanılan 0.6 mg/mL invertaz enzimi yerine 1 mg/mL ekme mayasının kullanılması dışında invertaz enzimi tutuklanması prosedürü ile aynı işlem uygulanmıştır.

PEO-co-PPy matrisi içerisine invertaz enziminin tutuklanma işlemi için 0.6 mg/mL invertaz çözeltisi, 2 mg/mL PEO, 1.2 mg/mL destek elektrolit çözeltisi (SDS), 0.01 M pirol ve 10 mL 50 mM asetat tamponu tipik bir üç elektrodlu hücre içerisine konulmuştur. Üç elektrodlu hücre Pt çalışma elektrodu, karşıt elektrot ve Ag/Ag<sup>+</sup> (0.01 M) referans elektrottan oluşmaktadır. Enzim tutuklaması işlemi oda sıcaklığında 20 dakika boyunca 1.0 V sabit bir potansiyelde gerçekleştirildi. PEO-co-PPy matrisi içerisine ekme mayasının tutuklanması işlemi invertaz enzimi tutuklama işleminde kullanılan 0.6 mg/mL invertaz enzimi yerine 1 mg/mL ekme mayasının kullanılması dışında invertaz enzimi tutuklanması prosedürü ile aynı işlem uygulanmıştır. Hazırlanan enzim elektrotları kullanılmadıkları zaman 50 mM asetat tampon çözeltisi (pH 5.0) içerisinde + 4 °C' de muhafaza edilmiştir.

### **3.4. Kinetik Parametrelerin Belirlenmesi**

Serbest ve immobilize enzimlerin kinetik parametreleri, Michealis-Menten (Km) ve maksimum reaksiyon hızı (Vmax), sabit pH ve sabit sıcaklıkta değişik substrat konsantrasyonlarında belirlenmiştir. Farklı derişimlerdeki invertaz enzimi için Michealis-Menten kinetik parametreleri, Linewear – Burk noktalama yöntemi ile (Km ve Vmax ) belirlendi

### **3.5. İvertaz Enziminin Aktivitesinin Belirlenmesi**

Serbest ve immobilize enzim aktivitesinin belirlenmesinde Nelson metodu kullanıldı (N. Nelson, 1944) Sukroz çözeltisinin farklı derişimleri 25°C sıcaklıkta 10 dakika boyunca bekletildi. Daha sonra enzim elektrodu farklı reaksiyon zamanları (2, 4 ve 6 dk) için sukroz çözeltisi içerisine yerleştirildi. Elektroda taşınma sonrasında 1 mL **aliquots** damlatıldı ve

reaksiyonu sonlandırmak için 1 mL Nelson reaktifi eklendi. Tüpler 20 dakika boyunca kaynayan su banyosu içerisinde bekletildi ve daha sonra oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 1 mL arsenomolibdat eklendi. Son olarak her test tübüne 7 mL distile su eklendi ve **vortexing** ile karıştırıldı. Karıştırma sonrası boş çözeltinin ve subtrat çözeltilerinin absorbanları 540 nm'de çift ışın yollu spektrofotometre kullanılarak belirlendi. İvertazın tek biriminin aktivitesi pH 5 ve 25°C'de dakikada sukrozdan 1 µmol glukoz oluşturarak şekilde gelecek enzim miktarı olarak belirlendi.

### **3.6. Optimum pH ve Sıcaklığın Belirlenmesi**

İmmobilize invertaz enziminin optimum reaksiyon sıcaklığının belirlenmesi için reaksiyon sıcaklığı 10 °C ile 80 °C arasında değiştirilip, sukroz konsantrasyonu her durum için 10 Km olarak sabit tutulmuş ve immobilize invertaz enziminin optimum reaksiyon sıcaklığının belirlenmiştir. İmmobilize invertaz enziminin optimum pH değerinin belirlenmesi için 25 °C'de invertaz ve 50°C'de ekmek mayası konsantrasyonu 10 Km olarak sabit tutulmuş ve pH 4 ile 11 arasında değiştirilerek immobilize invertaz enziminin ve ekmek mayasının optimum pH değeri saptanmıştır.

### **3.7. Raf Ömrünün Belirlenmesi**

İvertaz enziminin ve ekmek mayası hücre elektrotlarının raf ömrünün belirlenmesi için bir aktiviteleri bir hafta boyunca herdün ve bir haftadan sonra 40 gün boyunca beş günde bir ölçüldü. Her sistem için ölçümler boyunca sukroz derişimi 10 Km'de sabit tutuldu.

### **3.8. Protein Miktarının Belirlenmesi**

Protein belirlenme ölçümleri Bradford metodu kullanılarak yapılmıştır. Bu ölçümler sırasında bir hacim stok çözelti ile 4 hacim saf su karıştırmasıyla Bradford reaktif çözeltisi hazırlanmıştır. Protein kalibrasyon eğrisinin hazırlanması için bovin serum albumin (BSA) kullanılmıştır. Değişik konsantrasyonlarda BSA 1 mL ve 2 mL Bradford çözeltisi katılarak hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin absorbanları 595 nm'de ölçüldü. Enzim elektrodu içerisinde tutuklanan protein miktarı direk ölçülemeyeceğinden, burada protein miktarı,

elektroliz solüsyonu elektrolizden önce ve sonra ölçülerek bulunmuştur. Bu elektrolizden önceki ve sonra protein miktarlarının farkı bize enzim elektrodu içerisindeki protein miktarını verir.

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. Enzim Elektrotları İçin Protein Tayini

Serbest enzimin aktivitesi için 81.7  $\mu\text{mol/dk.mg}$  protein miktarı bulunmuştur. Enzim elektrotları için protein tayini sonuçları CP-co-PPy/invertaz ve PEO-co-PPy/invertaz enzim elektrotları için protein tayini sonuçları sırasıyla 4.68 ve 3.39  $\mu\text{g}$  protein olarak bulunmuştur.

### 4.2. Kinetik Çalışmalar

Kinetik parametreler, enzimin substrata karşı ilgisini tanımlayan Michaelis-Menten sabitiyle ( $K_m$ ), enzimatik tepkimenin maksimum tepkime hızını ( $V_{max}$ ) içerir. Düşük  $K_m$  değeri enzimin substrata karşı yüksek ilgisini tanımlar. Bu parametreler  $1/V_0$ 'a karşılık  $1/[S]$  konsantrasyonuna karşı çizilen Lineweaver-Burk eğrisinden elde edilir. Bu sistem Michaelis-Menten eşitliğine uyar. Doğrusal olan bu eğri herhangi bir yerden doygun substrat konsantrasyonuna ekstrapole edilebilir. Hiç deney yapılmazsa bile bu ekstrapole edilmiş grafikten  $V_{max}$  ve  $K_m$  değerleri bulunabilir. İvertaz ve ekemek mayasının immobilizasyonun kinetik çalışmaları sabit sıcaklık ve pH'da substrat derişimi değiştirilerek belirlendi.

Enzimsiz ve immobilize edilmiş invertazın CP-coPPy ve PEO-co-PPy matrislerindeki kinetik sabitleri Tablo 1'de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Serbest ve tutuklanmış invertaz için kinetik parametreler

	$K_m$	$V_{max}$
Serbest invertaz	25.2 mM	81.7 $\mu\text{mol/dk.mg}$ protein
PEO-co-PPy/invertaz	16.3 mM	4.71 $\mu\text{mol/dk.cm}^2$
CP-co-PPy/invertaz	19.4 mM	3.28 $\mu\text{mol/dk.cm}^2$



Enzim elektrotların reaksiyon hızı iletken polimerin gözenekli yapısından dolayı enzim substratının kompleks oluşturma zorluğu yüzünden azalmıştır. CP-coPPy elektrodu ile PEO-co-PPy matrisinin Vmax değerleri kıyaslandığında CP-coPPy elektrodunun Vmax değeri PEO-co-PPy matrisinin Vmax değerinden daha düşük olduğu görülmektedir.

Sukroz hidroliz olarak fruktoz, glukoz ve maya hücrelerini oluşturur. Tannik asit ve gallik asit sukroz enziminin başlatıcılarıdır. Sukroz enziminin başaltıcılarından biri kullanılırsa sadece ekmek mayasının sadece invertaz enzimi belong to Km ve Vmax hesaplanır. Tablo 2 CP-co-PPy ve PEO-co-PPy matrislerindeki serbest ve tutuklanmış maya hücrelerinin kinetik sabitlerini göstermektedir.

**Çizelge 4.2.** Serbest ve tutuklanmış ekmek mayası için kinetik parametreler

	Km	Vmax
Serbest ekmek mayası	67.2 mM	76.8 $\mu\text{mol/dk.mg}$ protein
PEO-co-PPy/ekmek mayası	22.7 mM	2.93 $\mu\text{mol/dk.cm}^2$
CP-co-PPy/ekmek mayası	24.3 mM	1.67 $\mu\text{mol/dk.cm}^2$

Serbest ekmek mayası için Km değeri 67.2 mM olarak hesaplanmıştır. Tablo 2'deki hesaplanan Km değerlerine göre PEO-co-PPy/ekmek mayası ve CP-co-PPy/ekmek mayası elektrotlarının Km değerleri ile serbest ekmek mayası için belirlenen Km değeri kıyaslandığında matrislerin Km değerlerinin serbest ekmek mayası Km değerinden yaklaşık üç kat daha düşük olduğu bulunmuştur. CP-co-PPy/ekmek mayası elektrodunun Vmax değeri PEO-co-PPy/ekmek mayası elektrodunun Vmax değerinden daha düşüktür. Düşük Km değeri daha yüksek enzim-substrat etkileşimi gösterir.

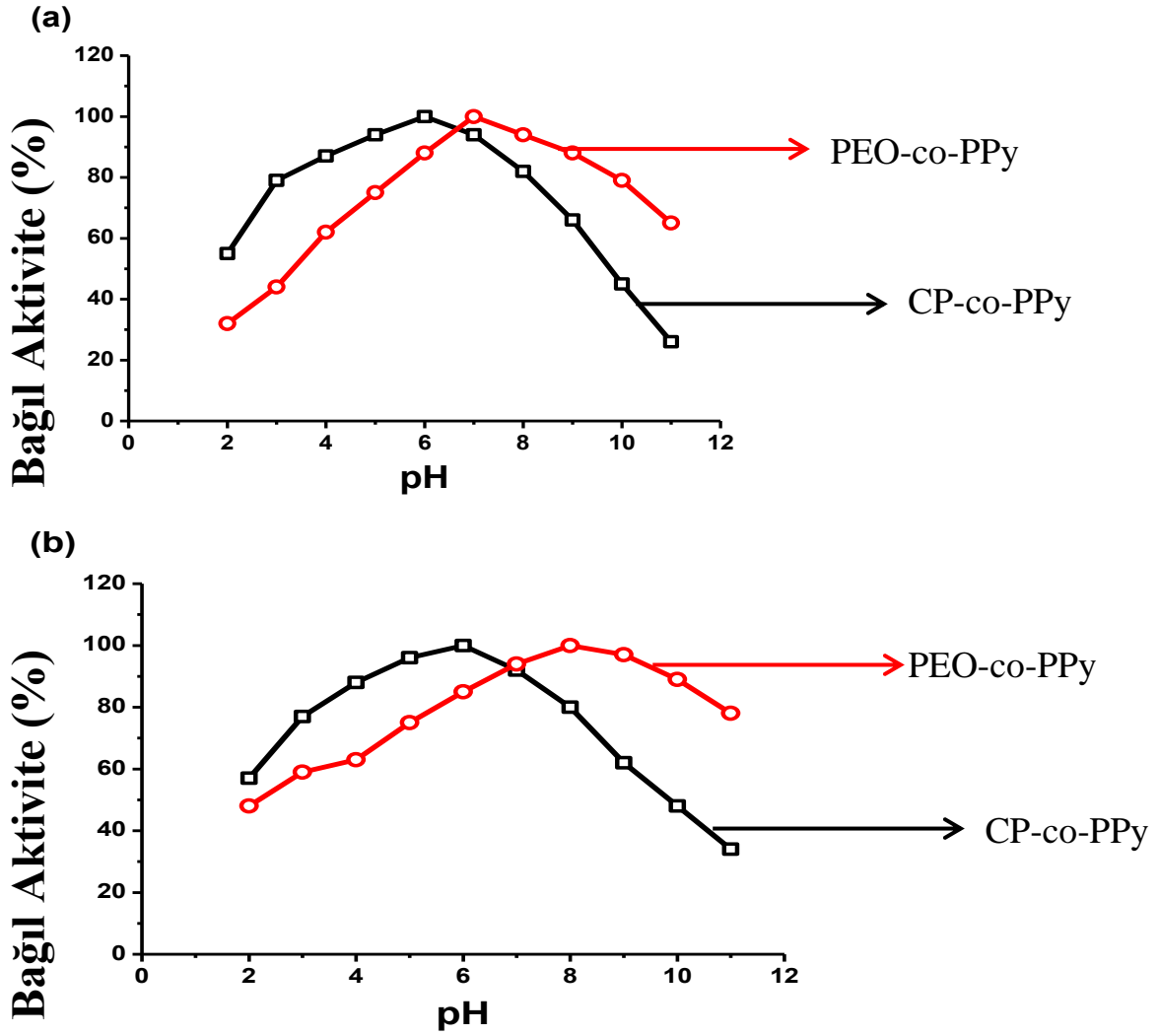
### 4.3. Optimum pH ve Sıcaklığın Belirlenmesi

İnvertaz enziminde PEO-co-PPy matrisi için maksimum aktivite pH 7' de görülmüştür. CP-co-PPy matrisi için maksimum aktivitenin görüldüğü pH değeri 6'dır.

Maya hücresinde PEO-co-PPy matrisi için maksimum aktivite pH 8' de görülmüştür. CP-co-PPy matrisi için maksimum aktivitenin görüldüğü pH değeri 6'dır.

İnvertaz enziminde, PEO-co-PPy matrisinin enzim aktivitesi pH 6-8 aralığında yüksektir.

Maya hücresinde ise, PEO-co-PPy matrisinin enzim aktivitesi pH 7-9 aralığında yüksektir. İnvvertaz enziminde CP-co-PPy matrisinin enzim aktivitesi pH 5-7 aralığında yüksektir. Maya hücresinde ise, CP-co-PPy matrisinin enzim aktivitesi pH 5-7 aralığında yüksektir. Yukarıdaki sonuçlar baz alındığında, invertaz enzimi ve maya hücresindeki PEO-co-PPy ve CP-co-PPy matrisleri için ortaya çıkan maksimum pH değerleri birbirine yakın olduğu göze çarpmaktadır.

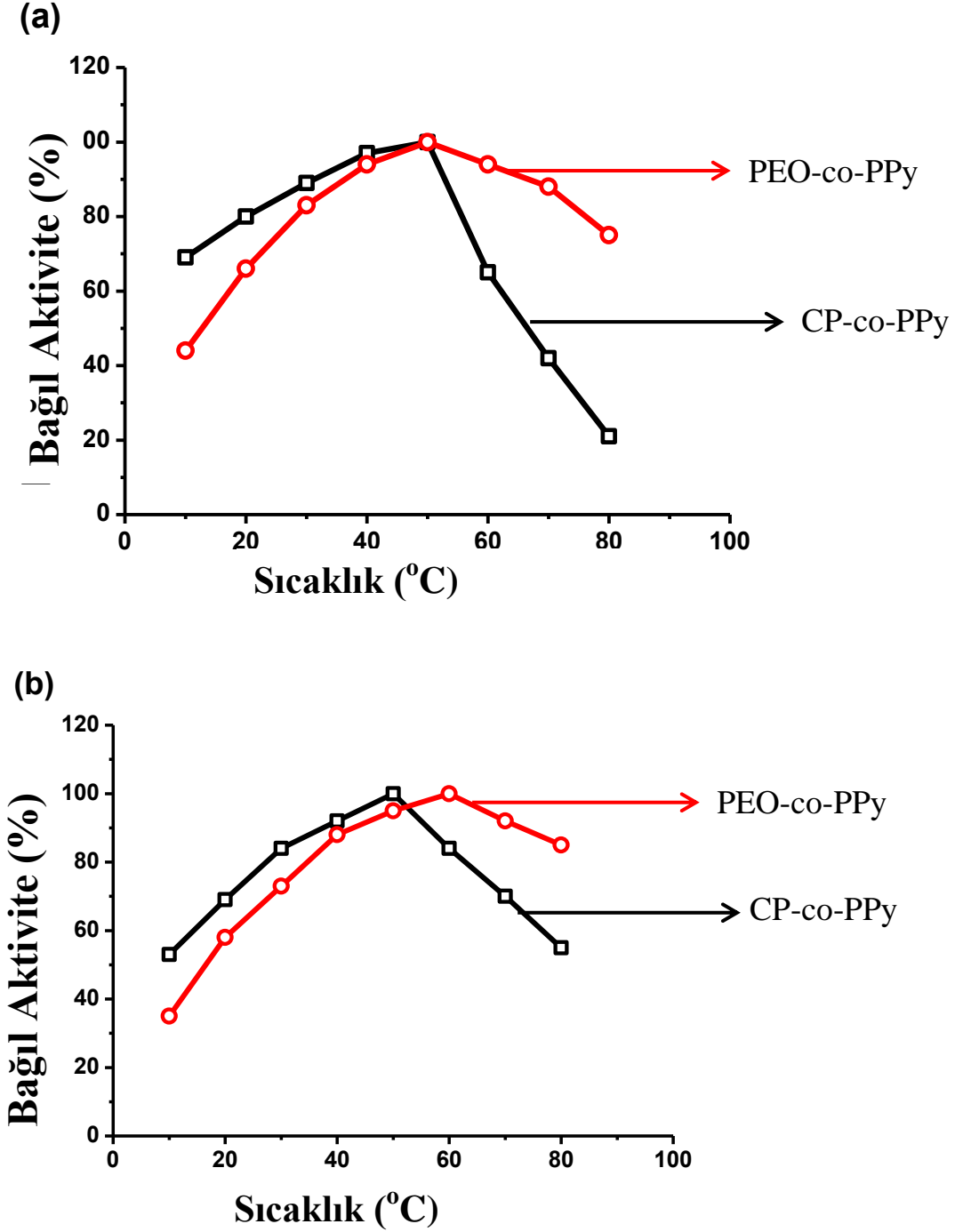


Şekil 4.1. (a) İnvvertaz enziminin pH değişimine bağlı olarak bağlı aktivite değişimi (b) Maya hücresinin pH değişimine bağlı olarak bağlı aktivite değişimi

İnvvertaz enziminde PEO-co-PPy ve CP-co-PPy matrisleri için maksimum enzim aktivitesi 50°C olarak ölçülmüştür.

Maya hücresinde PEO-co-PPy matrisi için maksimum enzim aktivitesi 60°C olarak ölçülürken, CP-co-PPy matrisi için maksimum enzim aktivitesi 50°C olarak ölçülmüştür.

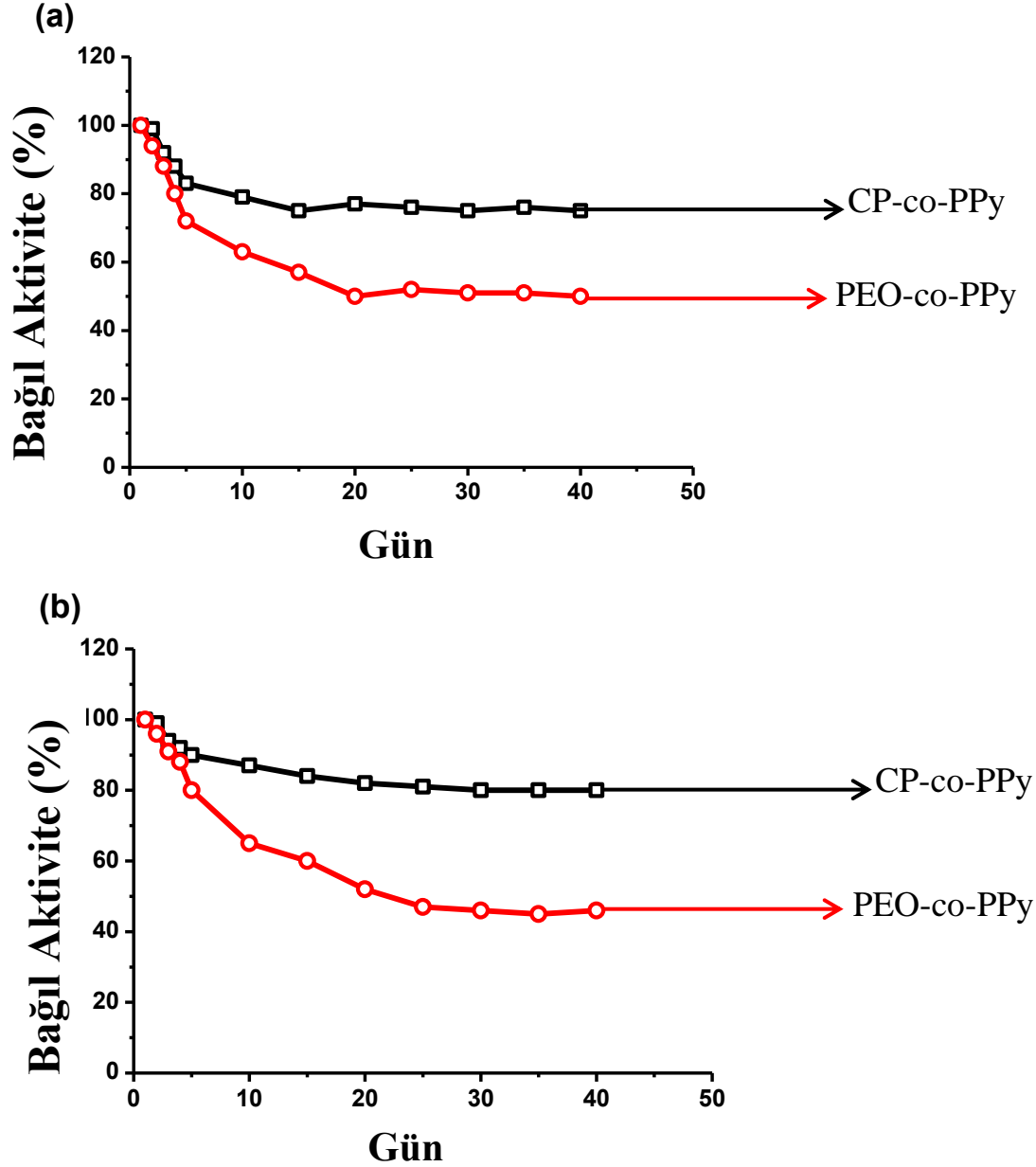
Sıcaklık-enzim aktivitesi sonuçları göz önüne alındığında sıcaklık değerlerinin birbirine yakın sonuçlar gösterdiği göze çarpmaktadır.



Şekil 4.2. (a) İvertaz enziminin sıcaklık değişimine bağlı olarak bağlı aktivite değişimi (b) Maya hücresinin sıcaklık değişimine bağlı olarak bağlı aktivite değişimi

#### 4.4. Raf Ömrünün Belirlenmesi

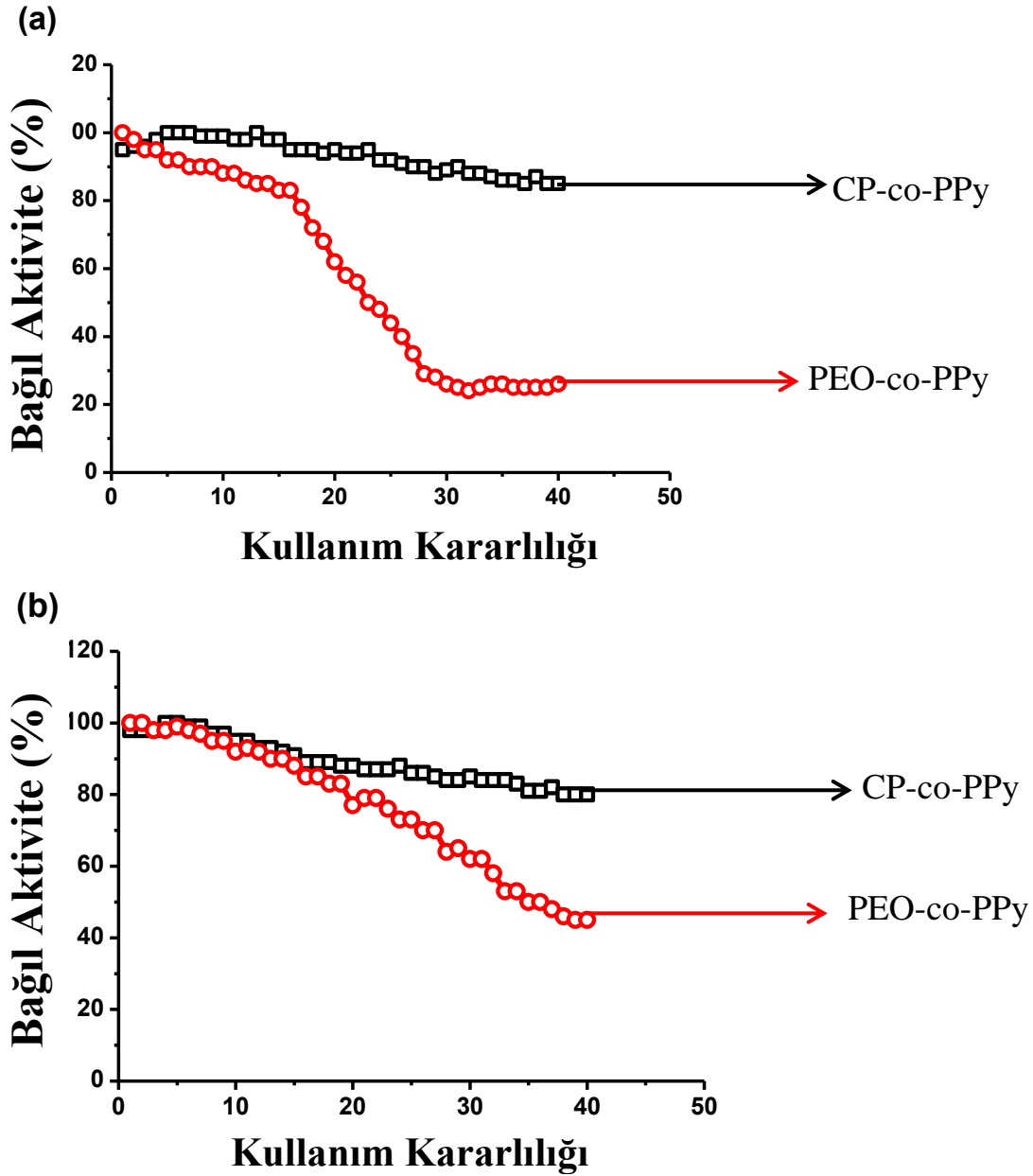
Enzimler kendi katalitik aktivitelerini çok kolay kaybettikleri ve denatüre oldukları için enzimlerin dikkatli depolanması ve bakımı çok önemlidir. Enzim elektrotlarının tekrar kullanılabilirlik bakımından stabilitesi 1 günde 25 °C' de 40 başarılı ölçüm yapılarak çalışılmıştır.



Şekil 4.3. (a) İvertaz enziminin zamana bağlı olarak bağlı aktivite değişimi (b) Maya hücresinin zamana bağlı olarak bağlı aktivite değişimi

#### 4.5. Protein Miktarının Belirlenmesi

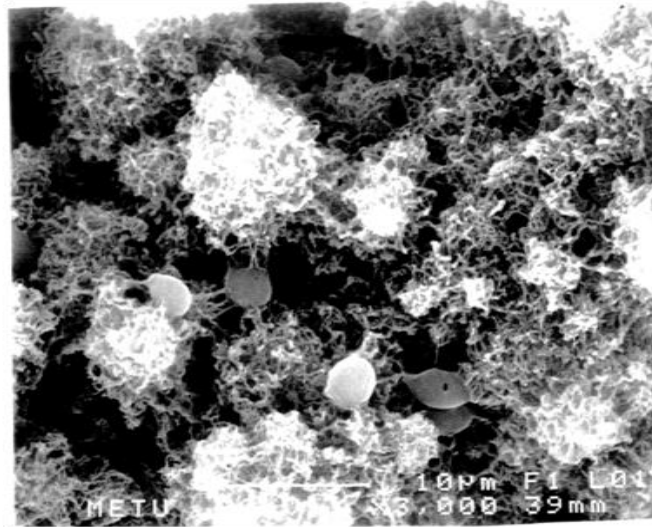
PEO-co-PPy ve CP-co-PPy Enzim elektrotları için İvertaz enziminin kullanım kararlılığına bağlı olarak bağıl aktivite değişimi ile Maya hücresinin kullanım kararlılığına bağlı olarak bağıl aktivite değişimi protein tayini birbirine yakın sonuçlar vermektedir.



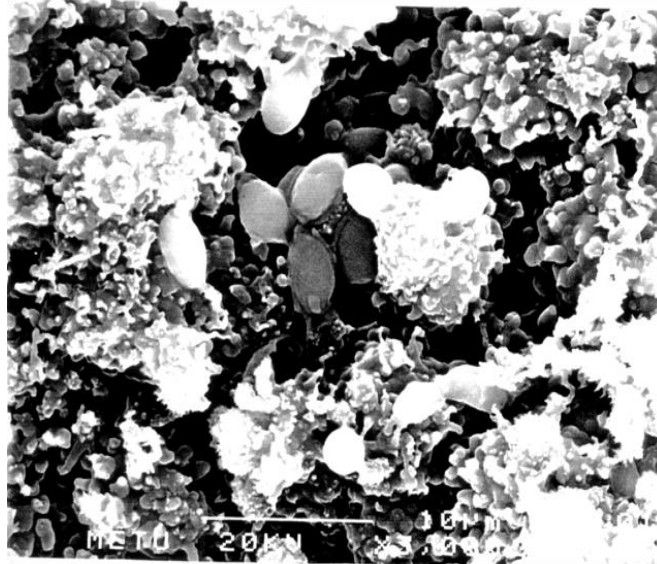
Şekil 4.4. (a) İvertaz enziminin kullanım kararlılığına bağlı olarak bağıl aktivite değişimi (b) Maya hücresinin kullanım kararlılığına bağlı olarak bağıl aktivite değişimi

#### 4.6. Enzim Elektrotlarının Yüzey Yapılarının İncelenmesi

Maya hücrelerinde PEO-co-PPy ve CP-co-PPy enzim elektrodunun taramalı elektron mikroskobu (SEM) tarafından elde edilen mikrografik görüntüleri Şekil 4.5’de görülmektedir. Bu bulgular bize maya hücrelerinin PEO-co-PPy ve CP-co-PPy kopolimerlerinin içerisinde başarılı bir şekilde tutuklandığını göstermektedir.



(a)



(b)

**Şekil 4.5.** (a) Maya hücrelerinde CP-co-PPy’ye ait SEM görüntüsü (b) Maya hücrelerinde PEO-co-PPy’ye ait SEM görüntüsü

## 5. SONUÇLAR

Bu çalışmada invertaz enzimi ve maya hücrelerinin PEO-co-PPy ve CP-co-PPy iletken kopolimer matrisleri içerisinde başarılı bir şekilde tutuklanarak, PEO-co-PPy/Maya hücreleri ve CP-co-PPy/İnvertaz enzim elektrotları elde edildi.

İnvertaz enziminde PEO-co-PPy matrisi için maksimum aktivite pH 7' de görülmüştür. CP-co-PPy matrisi için maksimum aktivitenin görüldüğü pH değeri 6'dır. Maya hücrelerinde PEO-co-PPy matrisi için maksimum aktivite pH 8' de görülmüştür. CP-co-PPy matrisi için maksimum aktivitenin görüldüğü pH değeri 6'dır. İnvertaz enziminde, PEO-co-PPy matrisinin enzim aktivitesi pH 6-8 aralığında yüksektir. Maya hücrelerinde ise, PEO-co-PPy matrisinin enzim aktivitesi pH 7-9 aralığında yüksektir. İnvertaz enziminde CP-co-PPy matrisinin enzim aktivitesi pH 5-7 aralığında yüksektir. Maya hücrelerinde ise, CP-co-PPy matrisinin enzim aktivitesi pH 5-7 aralığında yüksektir. Bu sonuçlar baz alındığında, invertaz enzimi ve maya hücrelerindeki PEO-co-PPy ve CP-co-PPy matrisleri için ortaya çıkan maksimum pH değerleri birbirine yakın olduğu göze çarpmaktadır.

İnvertaz enziminde PEO-co-PPy ve CP-co-PPy matrisleri için maksimum enzim aktivitesi 50°C olarak ölçülmüştür. Maya hücrelerinde PEO-co-PPy matrisi için maksimum enzim aktivitesi 60°C olarak ölçülürken, CP-co-PPy matrisi için maksimum enzim aktivitesi 50°C olarak ölçülmüştür. Sıcaklık-enzim aktivitesi sonuçları göz önüne alındığında sıcaklık değerlerinin birbirine yakın sonuçlar gösterdiği saptanmıştır.

Yapılan çalışmalarda PEO-co-PPy/Maya hücreleri ve CP-co-PPy/İnvertaz enzim elektrotlarının sıcaklık, pH, raf ömrü ve kullanım kararlılıklarına göre birbirine yakın sonuçlar verdiği gözlemlendi.

Böylece elde edilen sonuçlar invertaz enzimi yerine maya hücrelerinin kullanılabilceğini göstermektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Akbulut, U., 1999. İletken Polimerlerle Transduser Hazırlanması. Biyosensörler, Telefoncu A., *Biyokimya Lisans Üstü Yazokulu*, Kuşadası, 10-16.
- Aydın, A., 2002. Pirolün Elektrokimyasal Polimerizasyonuna Organik Asit Etkilerinin İncelenmesi. *Yüksek Lisans Tezi. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir.
- Batır, G.G., 2009. 3-[ (2,5-Dimetil-4-Brom)Fenil ] Tiyofenin Elektrokimyasal Polimerizasyonu, Karakterizasyonu ve Glikoz Biyosensörü Olarak Geliştirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta.
- Berets, D. J. ve Smith, D. S. 1968. Electrical properties of linear polyacetylene, *Trans. Faraday Soc.*, 64, 823-828.
- Bernasik, A., Haberko, J., Włodarczyk-Miskiewicz J., Raczowska, J., Luzny, W., Budkowski, A., Kowalski, K. ve Rysz, J., 2005. Influence of humid atmosphere on phase separation in polyaniline-polystyren thin films. *Synthetic Metals*, 53, 516-522.
- Can, F., 2010. Glukoz Oksidaz Enziminin İletken Polimerlere İmmobilizasyonu Ve Karakterizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Hatay.
- Chan, H. S. O. ve Ng, S. C. (1998), "Synthesis characterization and applications of thiophene-based functional polymers", *Prog. Polym. Sci.*, 23, 1167-1231.
- Chiang, C. K., Fincher, C. R. J., Jr., Park, Y. W., Heeger, A. J., Shirakawa, H., Louis, E. J., Gau, S. C. ve MacDiarmid, A. G. 1977. Electrical conductivity in doped polyacetylene, *Physical Review Letters*, 39, 1098- 1101.
- Coşkun, K., 2009. Kimyasal ve elektrokimyasal yöntemlerle İletken polimerlerin sentezi ve Membran Uygulamaları . *Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta.
- Devlin, T., 1997. Text book of Biochemistry with clinical correlations 136-139. Dinçkaya, E., 1999. Biyosensörler. *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları*, 81 s, İzmir.
- Erdem, H.A., 1997. Pirolün Akrilik Asit ile Kopolimerizasyonu. *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul.
- Forster, R.J. and Vos, J.G., 1992, *Comprehensive Analytical Chemistry*, Elsevier, Amsterdam,



27.

- Freund, M. S. ve Deore, B. A. (2007), *Self-Doped Conducting Polymers*, John Wiley & Sons, Ltd., England.
- Gerard, M., Chaubey A. ve Malhotra B.D., 2002, Application of conducting polymers to biosensors, *Biosens. Bioelectron.*, 17, 345-359.
- Heeger, A. J. (2001), "Semiconducting and metallic polymers: the fourth generation of polymeric materials (Nobel lecture)," *Angewandte Chemie-International Edition*, 40, 2591-2611.
- Kalaycı, G., 2008. Polianilin/Aktif Karbon Kompozit Maddesinin Sentezi, Karakterizasyonu Ve İletken Film Yapımı . *Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kahramanmaraş.
- Koeckelberghs, G., De-Cremer, L., Persoons, A. ve Verbiest, T. (2007), "Influence of the substituent and polymerization methodology on the properties of chiral poly(dithieno[3,2-b:2',3'-d]pyrrole)s", *Macromolecules*, 40, 4173-4181.
- Kumar, D. ve Sharma, R. C. (1998) "Advances in conducting polymers", *Eur. Polym. J.* , 34, 1053-1060.
- Li, J. ve Lin, X., 2007. Glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in poly (o-aminophenol) film on polypyrrole Pt nanocomposite modified glassy carbon electrode. *Biosensors and Bioelectronics*, 22, 2898–2905.
- Lund, H. ve Baizer, M. M. (1991), *Organic Electrochemistry*, Marcel Dekker, Inc., New York, 121-195.
- Macdiarmid, A. G., Somasiri, N. L. D., Wu, Q. ve Mu, S. L., 1985. Electrochemical Characteristics of Polyaniline Cathodes and Anodes in Aqueous-Electrolytes. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*. 121 (1-4) 187-190.
- MacDiarmid, A. G. (2001), "Synthetic metals : a novel role for organic polymers (Nobel lecture)", *Angewandte Chemie- International Edition*, 40, 2581-2590.
- MacDiarmid, A.G., Chiang, J.C., Richter, A.F. ve Epstein, A.J. 1987. Polyaniline: A new concept in conducting polymers. *Synthetic Metals*, 18; 285-290.
- McCullough, R. D. (1998), "The Chemistry of Conducting Polythiophenes", *Adv. Mater.*, 10, 1-24.
- Muhammet, S.M., 2008. Kolesterol Tayini İçin Biyosensör Hazırlanması. *Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- Nicolas, M., Guittard, F. ve Geribaldi, S. (2007), " Synthesis and properties of new fluorinated ester, thioester, and amide substituted polythiophenes. Towards

- superhydrophobic surfaces”, *J. Polym. Sci: Part A: Polymer Chemistry*, 4707-4719.
- Özcan, L., 2008. Polipirol İletken Polimerinin Biyosensör Olarak Kullanımı. *Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Eskişehir.
- Özyılmaz, G., 2005. Glukoz Oksidaz ve Katalazın Ayrı Ayrı ve Birlikte İmmobilizasyonu ve Karakterizasyonu. *Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.
- Pişkin, E., 1986. Biyosensörler. Temel ve Uygulamalı Enzimoloji. *Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları*, İzmir. 205-223.
- Randriamahazaka, H., Noel, V., Guillerez, S. ve Chevrot, C., 2005. Interpenetrating organic conducting polymer composites based on polyaniline and poly(3,4-ethylenedioxythiophene) from sequential electropolymerization. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 585, 157-166.
- Roncali, J. (1992), “Conjugated poly(thiophenes): synthesis, functionalization, and applications”, *Chem. Rev.*, 92 (4), 711-738.
- Saçak, M., 2004. Polimer Kimyası. *Gazi Kitabevi*, 525 s, Ankara Saçak, M., 2006. Polimer Kimyası. *Gazi Kitabevi*, 525s. Ankara.
- Saçak, M., 2006, Polimer Kimyası, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Gazi Kitabevi, Türkiye.
- Shirakawa, H. (2001), “The discovery of polyacetylene film: the dawning of an era of conducting polymers (Nobel lecture),” *Angewandte Chemie-International Edition*, 40, 2574-2580.
- Shirakawa, H., Louis, E. J., MacDiarmid, A. G., Chiang, C. K. ve Heeger, A. J. (1977), “Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of polyacetylene, (CH)<sub>x</sub>,” *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 578- 580.
- Stokheim, T.A., 1986, Handbook of Conducting Polymers, M. Dekker, New York, 1-2.
- Şahmetlioğlu, E., 2004. İletken Aşı Kopolimerlerin Sentezi ve Bunların Enzim Tutuklama Matrisleri Olarak Kullanımları. *Doktora Tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Niğde.
- Telefoncu A., 1986. İmmobilize Enzimler ve İmmobilizasyon Yöntemleri. *Temel ve Uygulamalı Enzimoloji Biyokimya Lisans Üstü Yaz Okulu*, İzmir, 1-16, 193- 249.
- Telefoncu A., 1999. Biyoreseptör immobilizasyonu. *Biyokimya Lisans Üstü Yazokulu*, Kuşadası, 42-61.
- Topbaş, N., 2006. Anilin ve Poliakrilonitril Kullanarak Kimyasal Polimerizasyon Yöntemi İle İletken Kompozit Lif Hazırlanması. *Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen*

*Bilimleri Enstitüsü, Ankara.*

- Toppare, L., 2003. *Bilim ve Teknik Dergisi Yayınları*, Kasım, 86-87.
- Toshima, N. ve Hara, S., 1995. Direct synthesis of conducting polymers from simple monomers. *Progress in Polymer Science*, 20, 155-183.
- Trung, T., Trung, T.H. ve Ha, C., 2005. Preparation of cyclic voltammetry studies on nickel-nanoclusters containing polyaniline composites having layer-by-layer structures. *Electrochimica Acta*, 51, 984-990.
- Walatka, V. V .J., Labes, M. M. ve Perlstein, J. H. (1973), "Poly(sulfide nitride), a one-dimensional chain with a metallic ground state," *Physical Review Letters*, 31 (18), 1139-1142.
- Wallace, G. G., Spinks, G. M., Kane-Maguire, L. A. P. ve Teasdale, P. R. (2003), *Conductive Electroactive Polymers*, Ch. 2, 51, CRC Pres, NewYork.
- Wang, Z.H., Scherr, E.M., Mac Diarmid, A.G. ve Epstein, A.J., 1992. Transport and EPR studies of polyaniline: A quasi-one-dimensional metallic states. *Physical Review B*, 45, 4190-4202.
- Yavuz, A.G., 2005. Polivinil Ferrosen Modifiye Elektrodunu Temel Alan Glukoz Biyosensörünün Geliştirilmesi. *Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.*
- Yıldız, A., Arca, M., Pekmez, K. ve Pekmez, N., 1993, İletken polimerlerin elektrokimyasal sentezi katkılanması ve özelliklerinin araştırılması, Tübitak Projesi, Ankara, 1.
- Yildiz, H.B., Kiralp, S., Toppare, L. ve Y. Yagci, 2005. *Int. J. Biol. Macromol.* 37, 174-178.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Ömer SEÇGİN  
Doğum Tarihi ve Yer : 01.06.1975 /Konya  
Medeni Hali : Evli  
Yabancı Dili : İngilizce  
Telefon : 53255272137  
e-mail : [omersecgin42@gmail.com](mailto:omersecgin42@gmail.com)

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Karamanoğlu Mehmetbey Üniv.	2013
Lisans	19 Mayıs Üniv.	2000
Lise	Cumhuriyet Lisesi	1993

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2009- ----	A.Tayyar And.Lisesi	Kimya Öğrt.

### Yayımlar