

**KONDENZASYON METODUYLA NANOPLATFORMLARA SCHIFF
BAZI TAKILMASI VE GLUKOZ OKSİDAZ ENZİMİNİN
BİOKATALİZÖR OLARAK İNCELENMESİ**

Seda KAYHAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EKİM 2013
ANKARA**

Seda KAYHAN tarafından hazırlanan “KONDENZASYON METODUYLA NANOPLATFORMLARA SCHİFF BAZI TAKILMASI VE GLUKOZ OKSİDAZ ENZİMİNİN BİOKATALİZÖR OLARAK İNCELENMESİ” adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

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

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

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

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

Prof. Dr. Mustafa HAYVALI
Kimya Anabilim Dalı, A.Ü.

Tez Savunma Tarihi: 07/10/2013

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

Prof. Dr. Şeref SAĞIROĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

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

Seda KAYHAN

**KONDENZASYON METODUYLA NANOPLATFORMLARA SCHIFF
BAZI TAKILMASI VE GLUKOZ OKSİDAZ ENZİMİNİN
BİOKATALİZÖR OLARAK İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Seda KAYHAN

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Ekim 2013

ÖZET

Bu çalışmada, öncelikle, Polistiren A-NH₂ (PSA) ile salisilaldehit (Sal), 5-metilsalisilaldehitin (5-CH₃Sal) katılma-ayrılma reaksiyonu sonucunda iki adet Schiff bazı içeren polimerler sentezlendi.

Modifiye olmuş tüm polimerlerin yapısı FT-IR, GPC gibi spektral analizler ve element analizlerinin yanı sıra yüzey yapısında meydana gelen değişiklikler SEM-EDX analizi ile incelendi.

Sonrasında ise, (PSA), (PSA-SalH) ve (PSA-SalCH₃) kodlu modifiye olmuş polimerlere, adsorpsiyon yöntemi ile Glukoz oksidaz (GO_x) enzimi immobilize edildi. Serbest ve immobilize GO_x enzim üzerine sıcaklık, pH, tekrar kullanım, depolama kararlılığı gibi parametrelerin etkisi araştırıldı. (PSA)'e immobilize edilen enzim için, iki adet optimum pH belirlenmiş olup, bunlar sırası ile 4,0 ve 7,0 dir. (PSA-SalH) ve (PSA-SalCH₃)'ya immobilize edilen enzimin optimum pH sı ise sırasıyla 7,0 ve 6,0 olarak bulundu. (PSA), (PSA-SalH) desteklerine tutturulan enzimin optimum sıcaklığı 80 °C olarak belirlenirken (PSA-SalCH₃) polimer için iki optimum sıcaklık 40 °C ve 70 °C olarak belirlendi.

Lineweaver-Burk eğrileri çizilerek, V_{max} ve K_m değerleri her bir polimer desteğine tutturulan enzim için hesaplanarak, (PSA) için pH=4 ve t=80 °C'de 1,641 mM.min⁻¹ ve 1,031 mM; pH=7 ve t=80 °C'de 1,266 mM.min⁻¹ ve 0,917mM olarak belirlendi. (PSA-SalH) için pH=7 ve t=80 °C'de 1,069 mM.min⁻¹; 0,549 mM olarak belirlenirken, (PSA-SalCH₃) desteği için pH=6 ve t=40 °C'de ve pH=6 ve t=70 °C'de sırasıyla 2,216mM.min⁻¹; 0,813 mM olarak hesaplandı.

Bilim Kodu : 201.1.005

Anahtar Kelimeler : Schiff bazı, Polistiren A-NH₂, modifiye polimer, immobilizasyon ve glukoz oksidaz

Sayfa Adedi : 71

Tez Yöneticisi : Doç. Dr. Nurşen SARI

**NANOPLATFORMS ATTACHED SCHIFF BASES BY CONDENSATION
METHOD; INVESTIGATION OF GLUCOSE OXIDASE ENZYME AS
BIOCATALYSTS**

(M.Sc. Thesis)

Seda KAYHAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

October 2013

ABSTRACT

Polymer-bound Schiff-base ligands were prepared from Polystyrene A-NH₂ (PSA) and salicylaldehyde (Sal) and 5-methylsalicylaldehyde (5-SalCH₃). Firstly, all of the modified polymers were characterized on the basis of FT-IR and GPC spectral analyses studies. The changes in the surface structure of modified polymers were examined with SEM-EDX analysis.

After that, Glucose oxidase were immobilized onto (PSA), (PSA-SalH) and (PSA-SalCH₃) modified polymer with using the adsorption method. The influence of temperature, pH and reusability, storage capacity on the free and immobilized Glucose oxidase were investigated. The immobilized glucose oxidase on (PSA) showed two optimum pH values that were pH = 4 and pH = 7 (PSA-Sal)-GO_x and (PSA-SalCH₃)-GO_x were showed optimum pH values as 7 and 6, respectively. (PSA) and (PSA-SalH) were showed optimum temperature as 80 °C.

Kinetic parameters were calculated as 1.641 mM min⁻¹ / 1.031 mM.; 1.266 mM min⁻¹ / 0.917 mM, 1.069 mM min⁻¹ / 0.549 mM and 2.216 mM min⁻¹ / 0.813 mM, for K_m / V_{max} respectively; (PSA), (PSA-SalH) and (PSA-SalCH₃) bound enzymes.

Science code : 201.1.005

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

Number of pages : 71

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. NurşenSARI

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım boyunca her konuda beni yönlendiren, saygı değer hocam, ikinci annem, tez danışmanım Doç. Dr. Nurşen SARI' ya bilgisini ve tecrübelerini paylaştığı için teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca yardımlarını hiç esirgemeyen saygıdeğer hocalarım Doç. Dr. Hayrettin TÜMTÜRK'e ve Doç. Dr. Fatma ARSLAN'a teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan maddi ve manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan çok değerli babam Osman Vedat KAYHAN'a, değerli annem Ayşe Hilal KAYHAN'a, canım teyzelerim Hacer ŞİMŞEK'e ve Hatice TUFANA'a, sevgili kardeşim Simge KAYHAN'a teşekkür ederim.

Laboratuvarında yanımda olan değerli arkadaşım Zehra Nehir BAĞCACIER'e teşekkür ederim.

Laboratuvarında ve laboratuvar dışında yanımda olan çok kıymetli dostlarım, kardeşlerim Nurbanu ÖZDEM'e ve Aslı KAHRAMAN'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi Müdürlüğüne 05/2012-68 kodlu "Modifiye edilmiş Poli(stiren) üzerine Glukoz Oksidaz enziminin immobilizasyonu" isimli olarak, yüksek lisans tezime sağladıkları katkılardan dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|--------------|
| ÖZET..... | iv |
| ABSTRACT..... | vi |
| TEŞEKKÜR..... | viii |
| İÇİNDEKİLER..... | ix |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ..... | xii |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ..... | xiii |
| RESİMLERİN LİSTESİ..... | xvii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR..... | xviii |
| 1.GİRİŞ..... | 1 |
| 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI..... | 2 |
| 2.1. Schiff Bazları..... | 2 |
| 2.2. Schiff Bazı İçeren Koordinasyon Polimerler..... | 3 |
| 2.3. Nanoküre Polimerler Üzerine Yapılan Uygulamalar..... | 11 |
| 2.4. Enzim ve Enzim İmmobilizasyonu..... | 14 |
| 2.4.1. Enzim..... | 14 |
| 2.4.2. Enzim immobilizasyonu | 15 |
| 2.4.3. Enzim immobilizasyon yöntemleri | 16 |
| 2.4.4. Glukoz oksidaz enzimi ve özellikleri..... | 21 |
| 2.4.5. Glukoz oksidaz enziminin üzerine yapılan çalışmalar..... | 21 |
| 3. MATERYAL VE METOT..... | 27 |
| 3.1. Deneyde Kullanılan Kimyasal Maddeler, Aletler, Cihazlar ve Teknikler..... | 27 |
| 3.1.1. Kimyasal maddeler..... | 27 |

Sayfa

| | |
|---|----|
| 3.1.2. pH metre..... | 27 |
| 3.1.3. Çalkalamalı su banyosu | 27 |
| 3.1.4. SEM-EDX (taramalı elektron mikroskobu)..... | 28 |
| 3.1.5. UV-GB spektrumu | 28 |
| 3.1.6. GPC (büyükölükçe ayırma) | 28 |
| 3.1.7. Element analizi..... | 28 |
| 4. DENEYSEL BÖLÜM..... | 29 |
| 4.1. Schiff Bazı İçeren Polimerlerin Hazırlanması (Genel Yöntem)..... | 29 |
| 4.1.1. (PSA-SalH) polimerinin sentezi..... | 29 |
| 4.1.2. (PSA-SalCH ₃) polimerinin sentezi..... | 29 |
| 4.2. (PSA), (PSA-SalH), ve (PSA-SalCH ₃) Polimerlerinin İmmobilizasyon İşlemleri..... | 30 |
| 4.2.1. Enzimin immobilizasyonu | 30 |
| 4.2.2. Serbest β-glukoz oksidazın aktifliğine pH etkisi | 30 |
| 4.2.3. İmmobilize β-Glukoz oksidazın aktifliğine pH etkisi..... | 30 |
| 4.2.4. Serbest β-Glukoz oksidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi..... | 30 |
| 4.2.5. İmmobilize β-Glukoz oksidazın aktifliğine sıcaklığın..... | 31 |
| 4.2.6. Serbest β-Glukoz oksidaz enziminin aktifliğine substrat derişiminin etkisi..... | 31 |
| 4.2.7. İmmobilize β-Glukoz oksidazın aktifliğine substrat derişiminin Etkisi | 31 |
| 4.2.8. İmmobilize β-Glukoz oksidazın tekrar kullanılabilirliği..... | 31 |
| 4.2.9. İmmobilizasyon işlemlerinde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı | 32 |

Sayfa

| | |
|--|----|
| 5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA | 34 |
| 5.1. Schiff Bazı Takılı Polimerlerin Karakterizasyonu..... | 34 |
| 5.1.1. (PSA) polimeri | 35 |
| 5.1.2. (PSA-SalH) polimeri..... | 37 |
| 5.1.3. (PSA-SalCH ₃) polimeri..... | 39 |
| 5.2. İmmobilizasyon Üzerine Olan Çalışmalar | 41 |
| 5.2.1. İmmobilize β-Glukoz oksidaz enziminin aktifliğine pH etkisi..... | 41 |
| 5.2.2. İmmobilize edilen β-Glukoz oksidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi | 43 |
| 5.2.3. İmmobilize β-Glukoz oksidaz enziminin aktifliğine substrat derişiminin etkisi..... | 45 |
| 5.2.4. İmmobilize β-Glukoz oksidaz enziminin tekrar kullanılabilirliği..... | 49 |
| 5.2.5. İmmobilize β-Glukoz oksidaz enziminin depolama kararlılığı..... | 52 |
| 6. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ..... | 54 |
| KAYNAKLAR | 58 |
| EKLER..... | 63 |
| EK-1.XIII. Ulusal Spektroskopi Kongresi Kitapçığının Kapak Sayfası Görüntüsü.. | 64 |
| EK-2.XIII. Ulusal Spektroskopi Kongresine 'Glukoz oksidaz enziminin aktif bölgelelerinin spektrofotometrik olarak incelenmesi' isimli sözelsunum özeti | 65 |
| EK-3.XXV. Ulusal Biyokimya Kongresi Kitapçığının Kapak Sayfası Görüntüsü ... | 66 |
| EK-4.XXV. Ulusal Biyokimya Kongresine 'Nanokürel Polimerik Destek Üzerine Biyokataliz Olarak Glukoz Oksidaz Enziminin Kullanımı' isimli sözel sunum özeti..... | 67 |
| ÖZGEÇMİŞ | 68 |

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| Çizelge | Sayfa |
|--|--------------|
| Çizelge 5.1. Modifiye edilen polimerlerin M_w , M_n ve element analiz yüzdeleri..... | 37 |
| Çizelge 5.2. İmmobilize enzim ve serbest enzim için kinetik parametreler..... | 49 |

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil | Sayfa |
|---|-------|
| Şekil 2.1. Schiff bazı oluşum reaksiyonu..... | 2 |
| Şekil 2.2. Pirodoksal-5-fosfat[(4-formil-5-hidroksi-6-metilpridin-3-il)metoksi]- fosforik asit' in açık geometrik yapısı ve top-sopa modeli..... | 3 |
| Şekil 2.3. PSt-CH ₂ -S kodlu bileşiğin sentezi..... | 4 |
| Şekil 2.4. PSt-CH ₂ -SMOA kodlu bileşiğin sentezi..... | 4 |
| Şekil 2.5. (Aminometil)polistiren ve vanilin tepkimesi sonucunda oluşan Schiff bazı | 4 |
| Şekil 2.6. (Aminometil)polistiren ve salisilaldehit türevlerinden sentezlenen Schiff bazları..... | 5 |
| Şekil 2.7. Stiren ve çeşitli çapraz bağlayıcılar | 5 |
| Şekil 2.8. Klorometilli polistiren..... | 6 |
| Şekil 2.9. Polistiren destekli dietilentriamino-salisilaldehit Schiff bazının hazırlanması..... | 6 |
| Şekil 2.10. PS-H ₂ L-Cu yapılı polimerin sentez yolu..... | 7 |
| Şekil 2.11. Mn(II) koordinasyon polimerinin sentez yöntem..... | 8 |
| Şekil 2.12. Polistiren (PS) destekli 4 verici atoma sahip Schiff bazı..... | 9 |
| Şekil 2.13. İnorganik yüzeye bağlı şelat grupları için öngörülen yapılar | 10 |
| Şekil 2.14. Yükseltgenme reaksiyonu için kullanılan polistiren destekli VO kompleksinin yapısı | 10 |
| Şekil 2.15. Enzim çalışma mekanizması..... | 15 |
| Şekil 2.16. Adsorbsiyon yöntemiyle enzim immobilizasyonunun şematik gösterimi..... | 17 |
| Şekil 2.17. İyonik bağlanma yöntemiyle enzim immobilizasyonunun şematik gösterimi..... | 17 |

Şekil Sayfa

| | |
|--|----|
| Şekil 2.18. Kovalent bağlanma yöntemiyle enzim immobilizasyonunun şematik gösterimi..... | 18 |
| Şekil 2.19. Çapraz bağlanma yöntemiyle enzim immobilizasyonunun şematik gösterimi..... | 19 |
| Şekil 2.20. Polimer matriks (kafes) içine hapsedme yöntemiyle enzim immobilizasyonunun şematik gösterimi | 20 |
| Şekil 2.21. Mikrokapsül içine hapsedme yöntemiyle enzim immobilizasyonunun şematik gösterimi..... | 20 |
| Şekil 2.22. Aspergillus, Penicillium ve Talaromyces flavus küfleri..... | 21 |
| Şekil 2.23. Kitosan-Grafit-Karbon nanotüplerden oluşan kompozit ile modifiye olmuş yüzeyin GO _x ile immobilizasyonunun şematik gösterimi..... | 22 |
| Şekil 2.24. Lüminol teşhisi için gerçekleşen mekanizma..... | 22 |
| Şekil 2.25. Grafit tabaka üzerine platin nanopartiküllerin yüklendiğine dair TEMfotoğrafı..... | 23 |
| Şekil 2.26. (a) CN _x -MWNTs ile modifiye olmuş yüzey (b) modifiye yüzeye GO _x immobilizasyonundan sonraki SEM görüntüleri..... | 24 |
| Şekil 2.27. İndolün yükselgenme mekanizması..... | 25 |
| Şekil 5.1. Sentezlenen polimerlerin katı haldeki fotoğrafları..... | 34 |
| Şekil 5.2. (PSA) için alınan büyüklükçe ayırma (GPC) spektrumunun bilgisayar ekranındaki görüntüsü..... | 35 |
| Şekil 5.3. (PSA) polimerinin FT-IR spektrumu | 35 |
| Şekil 5.4. (PSA) polimerinin EDS spektrumu | 36 |
| Şekil 5.5. (PSA-SalH) kodlu polimer için FT-IR spektrumu | 38 |
| Şekil 5.6. (PSA-SalH) kodlu polimerin EDS spektrumu | 39 |
| Şekil 5.7. (PSA-SalCH ₃) kodlu polimere ait FT-IR spektrumu..... | 40 |
| Şekil 5.8. (PSA-SalCH ₃) kodlu polimerin EDS spektrumu | 41 |

| | |
|--|--------------|
| Şekil 5.9. (PSA) kodlu polimerin pH grafiği | 42 |
| Şekil | Sayfa |
| Şekil 5.10. (PSA-Sal) kodlu polimerin pH grafiği | 42 |
| Şekil 5.11. (PSA-SalCH ₃) kodlu polimerin pH grafiği..... | 42 |
| Şekil 5.12. (PSA), (PSA-Sal) ve (PSA-SalCH ₃) kodlu polimerlere ait karşılaştırmalıolarak çizilen pH grafiği..... | 43 |
| Şekil 5.13.(PSA) kodlu poimerin pH 4,0 deki sıcaklık grafiği..... | 43 |
| Şekil 5.14. (PSA) kodlu polimerin pH 7,0 deki sıcaklık grafiği..... | 44 |
| Şekil 5.15. (PSA-Sal) kodlu polimerin pH 7,0 deki sıcaklık grafiği..... | 44 |
| Şekil 5.16.(PSA-SalCH ₃) kodlu polimerinin pH 6,0 daki sıcaklık grafiği..... | 45 |
| Şekil 5.17. (PSA) kodlu polimerin pH 4,0 de 80 °C sıcaklık değerinde Lineaweaver-Burk grafiği..... | 46 |
| Şekil 5.18. (PSA) kodlu polimerin pH 7,0 de 80 °C sıcaklık değeri için Lineaweaver-Burk grafiği..... | 46 |
| Şekil 5.19. (PSA-Sal) kodlu polimer için pH 7,0 de 80 ° sıcaklık değeri için Lineaweaver-Burk grafiği | 47 |
| Şekil 5.20. (PSA-SalCH ₃) kodlu polimerin pH 6,0 da 40 °C (A) ve 70 °C (B) sıcaklık değerleri için Lineaweaver-Burk grafikleri..... | 48 |
| Şekil 5.21. (PSA) kodlu polimer için pH 4,0 de 80 °C sıcaklık değeri için tekrar kullanılabilirlik grafiği | 50 |
| Şekil 5.22. (PSA) kodlu polimerin pH 7,0 de 80 °C sıcaklık değeri için tekrar kullanılabilirlik grafiği | 50 |
| Şekil 5.23. (PSA-Sal) kodlu polimerin pH 7,0 de 80 °C sıcaklık değeri için tekrar kullanım grafiği | 51 |
| Şekil 5.24. (PSA-SalCH ₃) kodlu polimer için pH 6,0 da 40°C sıcaklık değeri için tekrar kullanım grafiği..... | 51 |
| Şekil 5.25. (PSA-SalCH ₃) kodlu polimerin pH 6,0 da 70 °C sıcaklık değeri için tekrar kullanım grafiği | 52 |
| Şekil 5.26. (PSA) kodlu polimer için depolama kararlılığı grafiği..... | 52 |

| Şekil | Sayfa |
|--|--------------|
| Şekil 5.27. (PSA-SalH) kodlu polimer için depolama kararlılığı grafiği..... | 53 |
| Şekil 5.28. (PSA-SalCH ₃) kodlu polimer için depolama kararlılığı grafiği..... | 53 |
| Şekil 6.1. Modifiye edilmiş polimerler için öngörülen yapılar..... | 54 |
| Şekil 6.2. Glukoz oksidazın iki boyutlu görünümü..... | 56 |
| Şekil 6.3. Glukoz oksidaz ve polimer arasında öngörülen hidrojen bağının oluşumu..... | 57 |

RESİMLERİN LİSTESİ

| Resim | Sayfa |
|---|--------------|
| Resim 2.1. Nanopartikül içine hapsedilmiş bir ajanın kan hücreleri ile beraber olan bir animasyon görüntüsü..... | 12 |
| Resim 2.2. Nanopartiküllerin kullanılması; A) Hıv vürüsünden elde edilen proteinin gümüş nanokapsüler içinde hapsedilmesi, B) İlaç yüklü nanokapsülün yapısını gösteren şematik görüntü, C) İlaç yüklü (koyu mavi) kapsül'ün tümöre takılması ile ilgili şematik görüntü..... | 12 |
| Resim 2.3. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) görüntüleri (A)PLDL70 nano-tanecikleri, ölçek bar = 500 nm (B) nanopartiküller, ölçek çubuğu = 250 nm..... | 13 |
| Resim 5.1. (PSA) polimerinin SEM (120 ve 500 büyültmeli) görüntüsü..... | 36 |
| Resim 5.2. (PSA-SalH) kodlu polimerin SEM görüntüsü..... | 38 |
| Resim 5.3. (PSA-SalCH ₃) kodlu polimerin SEM görüntüsü..... | 40 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklama

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

Kısaltmalar

Açıklama

| | |
|------------------------------|--|
| FT-IR | Infra Red (Kırmızı ötesi) |
| GPC | Jel Geçirgenlik Kromatografisi |
| NMR | Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi |
| PSA | polistiren-ANH ₂ |
| PSA-SalH | Salisilaldehit ile modifiye olan polistiren-ANH ₂ |
| PSA-SalCH₃ | 2-hidroksi-5-metilbenzaldehit ile modifiye olan polistiren-ANH ₂ |
| SEM-EDX/EDS | Taramalı Elektron Mikroskobu- Enerji Dağılımlı X-ışını Spektroskopisi / Enerji Dağılımlı Spektroskopisi |
| UV-GB | Ultra Viyole-Görünür Bölge |

1. GİRİŞ

Son yıllarda çeşitli nanoyapılı platformların sentezi ve uygulamaları üzerine çalışmalarla karşılaşmaktayız [1,2]. Özellikle nanoplatformların yüzey alanlarının büyük olması nedeniyle çalışmaların çeşitlendiği görülmektedir [3].

Isıtıldığında yumuşayan, soğutulduğunda tekrar sertleşen bir plastik olan polistiren küreler (PS) ile tek boyutlu nanoteller, nanoçubuklar ve nanotüpler oluşturulması sayesinde, ışık yayan diyotlar (LED'ler), fotonik kristaller, yüzey ısıtma ve fotokataliz gibi pek çok endüstriyel alanda aracı olarak kullanıldığı görülmektedir [4,5].

Schiff bazı içeren polimerlerin metal seçicilikte, nükleer tıp ve ilaç salınım gibi alanlarda kullanılması nedeniyle, bu tür polimerlerin sentezlerinin çeşitlendiği görülmektedir [6,7].

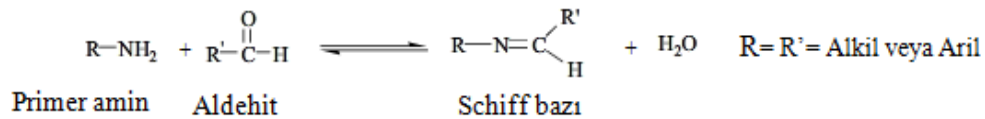
Bunun yanı sıra Glukoz oksidaz enziminin biyokatalizör olarak, kayda değer bir ölçüde araştırılmasının nedeni endüstriyel alanda önemli bir yer tutmasıdır. Çünkü, Glukoz oksidaz enzimi kan, gıda ve biyolojik sistemlerdeki glukozun analitik ölçülmesinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte kolay, ucuz ve hassas ölçüm tekniklerini geliştirmek için bilim insanlarının yoğun bir araştırma içinde olduğu görülmektedir.

Bu amaçla, sunulan tezde Polistiren A-NH₂ ile Salisilaldehit (SalH) ve 5-metil-2-hidroksi benzaldehit (Sal-CH₃)'in kondenzasyonu sonucunda yeni Schiff bazıtakılı nanoküreli polimerler sentezlendi, karakterizasyonları yapıldı.Yapıları aydınlatılan modifiye olmuş polimerlerin Glukoz oksidaz enzimi için immobilizasyon özellikleri araştırıldı.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Schiff Bazları

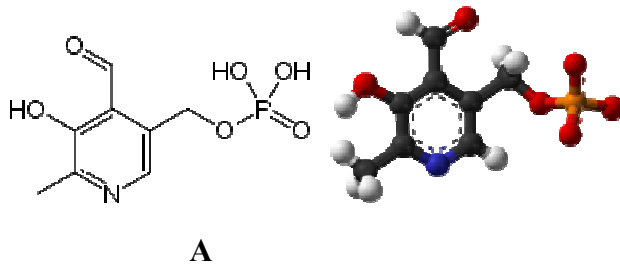
Karbon-azot arasında çift bağı (bir imin grubu) içeren bileşikler Schiff bazı olarak bilinir. Schiff bazı ilk kez 1869'da Alman kimyacı Hugo Schiff tarafından sentezlenmiştir [8]. Schiff bazı 1930'lu yıllar da Pfeiffer tarafından ligant olarak koordinasyon kimyasında kullanılmıştır [9]. Bu tarihlerden itibaren günümüze kadar yeni Schiff bazların sentezi, komplekslerinin hazırlanması ve özelliklerinin incelenmesi ile ilgili birçok araştırmalar yapılmıştır. Schiff bazları karbonil veya aldehit bileşikleri ile primer aminlerin kondenzasyonu ile oluşmaktadır (Şekil 2.1). Schiff bazı oluşumunda en çok kullanılan aldehit bileşenleri; salisilaldehit, 2-hidroksi-1-naftaldehit vepiridin-2-karboksaldehit olduğu görülmektedir [10].



Şekil 2.1. Schiff bazı oluşum reaksiyonu

Aldehit bileşenlerinden, salisilaldehitin yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir [8]. Çünkü salisilaldehitin kullanıldığı aminoasit-Schiff bazları P.L.P.-aminoasit Schiff bazlarına model bileşikler oluşturmaktadır. P.L.P. olarak kısaltılan piridoksal-5-fosfat bir aromatik aldehit olup (Şekil 2.2.); B₆ vitamininin aktif koenzim halidir. B₆ vitamini ise, insan ve hayvanların büyümesinde önemli bir yer tutan ve eksikliğinde protein metabolizmasında bozukluklara neden olan bir aromatik aldehittir.

P.L.P.'nin aldehit grubu ile enzimin aktif merkezinde bulunan aminoasit arasında Schiff bazı oluşmaktadır. Böylece enzimin aktif hale gelmesi ile canlı metabolizmasında önemli yer tutan transaminasyon, dekarboksilasyon, deaminasyon ve rasemleme olayları bu Schiff bazı üzerinden gerçekleşmektedir [8].



Şekil 2.2.Pridoksal-5 fosfat [(4-formil-5-hidroksi-6-metilpiridin-3-il) metoksi]-fosfonik asit)'in açık geometrik yapısı (A) ve top-sopa modeli(B)

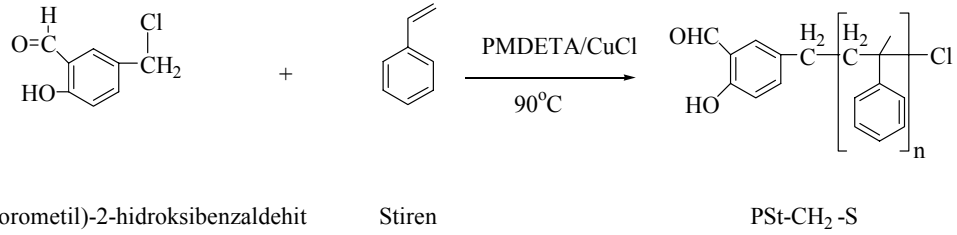
2.2. Schiff Bazı İçeren Koordinasyon Polimerleri

Çeşitli yöntemleri kullanarak Schiff bazı içeren polimerlerin sentezlendiği kaynak taramalarında görülmektedir. Schiff bazı içeren polimerler üzerine yapılan kaynak araştırması üzerine olan özet niteliğinde bilgi aşağıda verilmiştir.

Yang ve arkadaşları atom transfer radikal polimerizasyon (ATRP) yöntemini kullanarak, uç grubunda Salisil aldehit bulunduran polistirenin, *p*-metoksianilin ile katılma-ayrılma tepkimesi sonucunda N-Salisiliden-4-metoksi-anilin Schiff bazını içeren modifiye edilmiş polistireni sentezlemişlerdir [11].

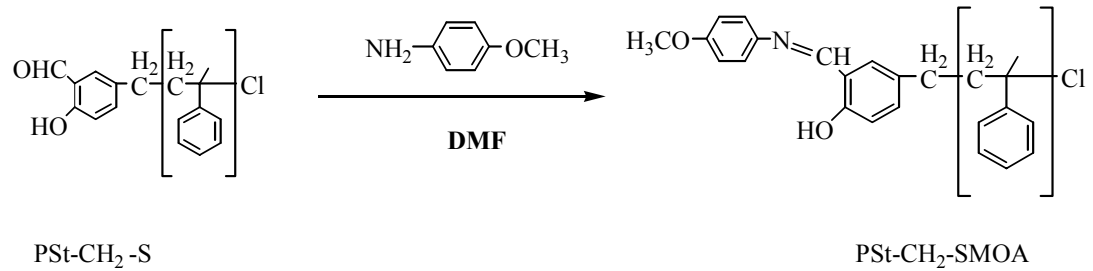
Polistiren destekli Schiff bazını ve o'nun Zn^{2+} kompleksini sentezleyen araştırmacılar, NMR, IR,UV-GB ve floresans spektrumları ile karakterize ettiklerini belirtmişlerdir. Polistiren destekli Schiff bazı- Zn^{2+} kompleksini, küçük moleküllü Schiff bazı- Zn^{2+} kompleksi ile karşılaştırmasını yapan araştırmacılar, polistiren destekli Schiff bazı- Zn^{2+} kompleksinin yaygın çözücülerde daha iyi çözüldüğünü ifade etmişlerdir. Ayrıca kolay film haline gelebilen polistiren destekli Schiff bazı- Zn^{2+} kompleksinin floresans özellik gösterdiğini belirtmişlerdir [11].

Bu araştırmacılar, Şekil 2.3'de verilen tepkimenin oluşması için, $CuCl$, stiren ve pentametildietiltriainin (PMDETA) ile reaksiyona başlıyarak, PSt- CH_2 -S kodlu bileşiğini sentezlemişlerdir.



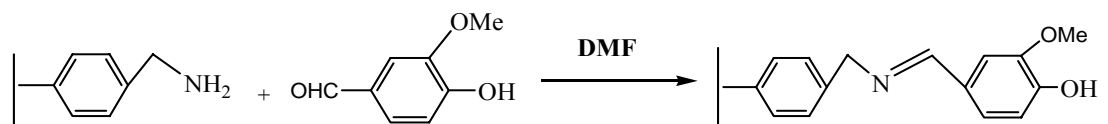
Şekil 2.3. PSt-CH₂-S kodlu bileşiğin sentezi

Daha sonra 4-metoksianilin'in THF çözücüsünde PSt-CH₂-S kodlu bileşik ile katılma ayrılma tepkimesi sonucunda, PSt-CH₂-SMOA kodlu bileşiği sentezleyerek Zn²⁺ kompleksini hazırlamışlardır (Şekil 2.4).



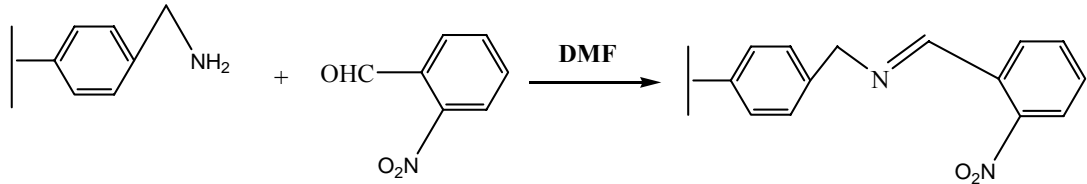
Şekil 2.4.PSt-CH₂-SMOA kodlu bileşiğin sentezi

Kumar ve arkadaşları (aminometil)polistiren ile 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehit'in (vanilin) kondenzasyonu sonucunda Schiff bazı sentezlemişler ve sentez sırasında çözücü olarak DMF kullanmışlardır. Bu Schiff bazının Mn²⁺, Co²⁺, Fe³⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, U⁶⁺, Ni²⁺, Na⁺, K⁺, NH₄⁺, Ca²⁺ kationları ile karşıt anyon olarak, Cl⁻, Br⁻, NO₃⁻, NO₂⁻ ve CH₃CO₂⁻'in bulunduğu iyonlarından oluşan 20 ppm lik çözeltisinde bulunan Ni²⁺ iyonunun ortamdaki uzaklaştırılmasında kullanılabileceğini belirtmişlerdir [12] (Şekil 2.5).



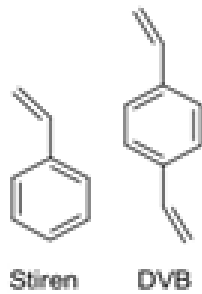
Şekil 2.5.(Aminometil)polistirenin ve vanilin tepkimesi sonucunda oluşan Schiff bazı

Kumar ve John'un yapmış oldukları benzer bir çalışmada 2-nitrobenzaldehit ve (aminometil)polistirenin kondenzasyonu ile yeni bir Schiff bazı sentezlemişler ve polimerdestekli Schiff bazı ligant aracılığı ile Cu^{2+} iyonlarını ortamdan uzaklaştırılabileceğini belirtmişlerdir [13] (Şekil 2.6).



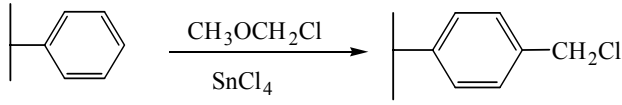
Şekil 2.6. (Aminometil)polistiren ve 2-nitrobenzaldehit'ten hazırlanan Schiff bazı

Kumar ve Mathew Şekil 2.7'de görülen stiren ve divinilbenzen çapraz bağlayıcılarla polistiren destekli Schiff bazlarını sentezlemişler ve metal komplekslerinin katalitik aktivitelerini araştırmışlardır [14].

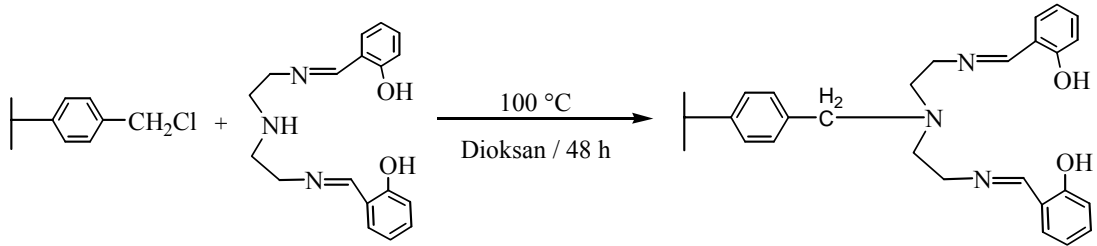


Şekil 2.7. Stiren ve divinilbenzen

Bu araştırmacılar öncelikle dietilentriamin ile salisilaldehitten bir Schiff bazı sentezlemiş, daha sonra bu Schiff bazı ile klorometillenmiş polistireninin (Şekil 2.8), dioksanda 48 saat reflaks ederek, polistiren destekli dietilentriamino-salisilaldehit Schiff bazı sentezlemişlerdir.



Şekil 2.8.Klorometillipolistiren

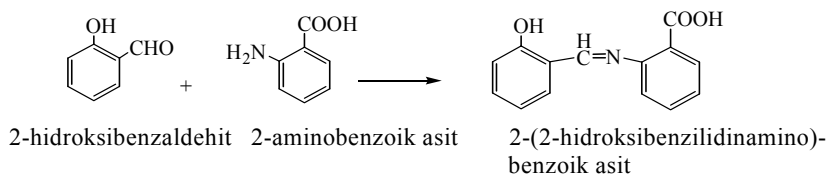


Şekil 2.9. Polistiren destekli dietilentriamino-salisilaldehit Schiff bazının hazırlanması

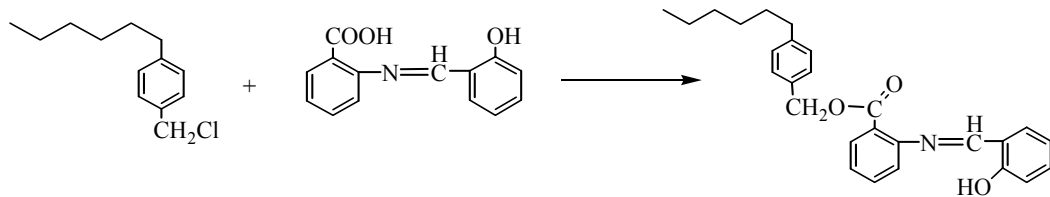
Ayrıca polistiren destekli Schiff bazının bazı metal iyonları ile kolaylıkla kompleksleştiğini söyleyen bu araştırmacılar, Divinilbenzen gibi çapraz bağlı reçinelerin polistiren destekli dietilentriamino-salisilaldehit Schiff bazı komplekslerinin değişik pH lardaki Fe(II), Fe(III), Co(II), Ni²⁺ ve Cu²⁺ iyonlarına karşı metal seçiciliğini araştırmışlardır. Araştırmalarının sonucunda, Cu²⁺ iyonunun en fazla tutunduğunu ifade etmişlerdir. Metal iyonları arasındaki seçicilik sırasının; Cu²⁺>Co²⁺>Ni²⁺>Fe³⁺>Fe²⁺ şeklinde azaldığını belirtmişlerdir.

Polimerik-Schiff bazlarının geçiş metal komplekslerinin indirgeyici olarak davranışını inceleyen Kim ve Choi isimli araştırmacılar poli(4-vinil piridin-co-stiren ile (1,3-bis salisiliden imino propan) katılımı sonucunda oluşan polimerin metal iyonları ile olan kompleksinin (PVPS)M(II)SALPR, ve poli(4-vinil piridin-co stiren) ile 1,4-bis(salisilideniminobütan) katılımı sonucunda oluşan polimerin metal kompleksinin (PVPS)M(II)SALBU [M: Cu], katalitik etkilerini karşılaştırmışlardır. Bu karşılaştırma sonucunda, (PVPS)Cu(II)SALPR'nin katalitik etkisinin daha fazla olduğunu ifade etmişlerdir [15].

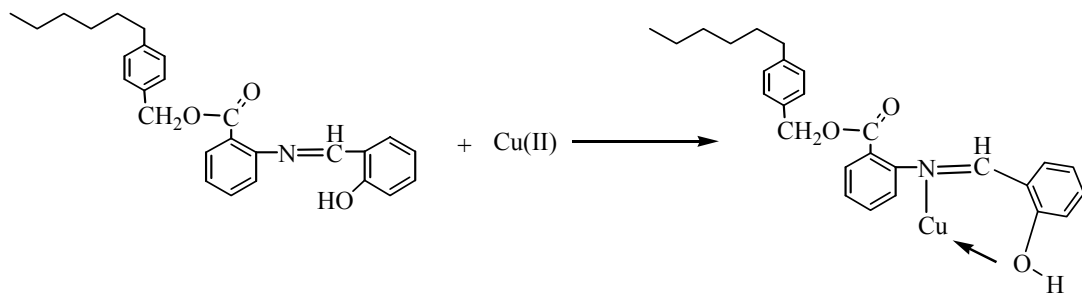
Chang ve arkadaşları klorometilli polistiren üzerine tutturulan Schiff bazını (şekil 2.10.a,b) sentezledikten sonra Cu^{2+} iyonu ile kompleksini oluşturmuşlar (şekil 2.10.c) ve katalitik etkisini araştırmışlardır. Araştırmalarında, O_2 ile yükseltgenme sonucunda benzaldehit, stiren ve epoksit ürünlerini elde ettiklerini ifade etmişlerdir [16]. Araştırma sonucunda yükseltgenme reaksiyonunu inceledikleri PS- H_2L -Cu (şekil 2.10.c) kodlu yapının katalitik etkisinin yüksek olduğunu, 363°K 'de kararlı olduğunu ve tekrarlanabilir özellik gösterdiğini ifade etmişleridir.



(a)



(b)

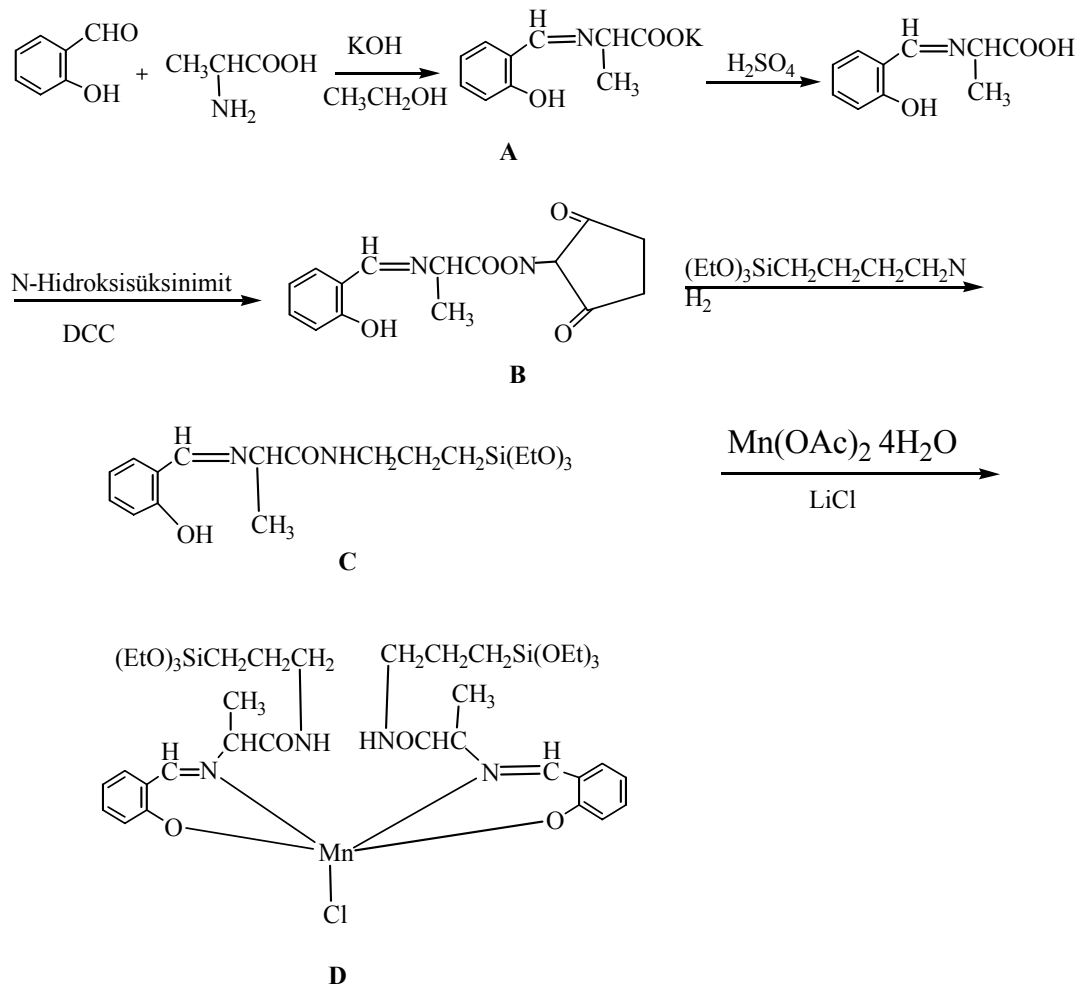


(c)

Şekil 2.10. PS- H_2L -Cu yapılı polimerin sentez yolu (a-c).

Zhao ve arkadaşları sikloheksanın oksijen ile epoksidasyon reaksiyonunun oluşumunu araştırmak için, Alanin-Schiff bazlı Mn^{2+} kompleksini SiO_2 matrisine

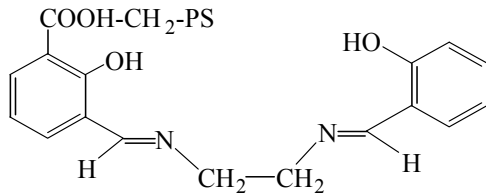
hapsederken sol-jel metodunu kullanmışlardır [17]. Bu amaçla önce tuz formunda Schiff bazını (Şekil 2.11 (A)) sentezleyen araştırmacılar H_2SO_4 ile tuz yapısını değiştirerek N-hidroksisüksinimit ile tepkimeye sokmuşlardır (Şekil 2.11 (B)). $Mn(OAc)_2 \cdot 4H_2O$ ve Tetraetoksisilan eklenip, $pH=3$ 'e kadar asidik ortamı oluşturan araştırmacılar, jel görünümü elde edilinceye kadar karıştırma işlemini yapmışlar ve böylece SiO_2 içine hapsedilmiş olan Alanin-Schiff bazlı Mn^{2+} kompleksini elde etmişlerdir (Şekil 2.11 (D)).



Şekil 2.11. Mn(II) koordinasyon polimerinin sentez yöntemi

Syamal ve arkadaşları, polistirenin 1 gramında 3,9 mmol klor içeren ve %2 çapraz bağlı divinilbenzen ile klorobenzenin etkileşimi sonucunda oluşan klorometilpolistirene destekli Schiff bazını hazırlarken, salisilaldehit ile etilendiamin

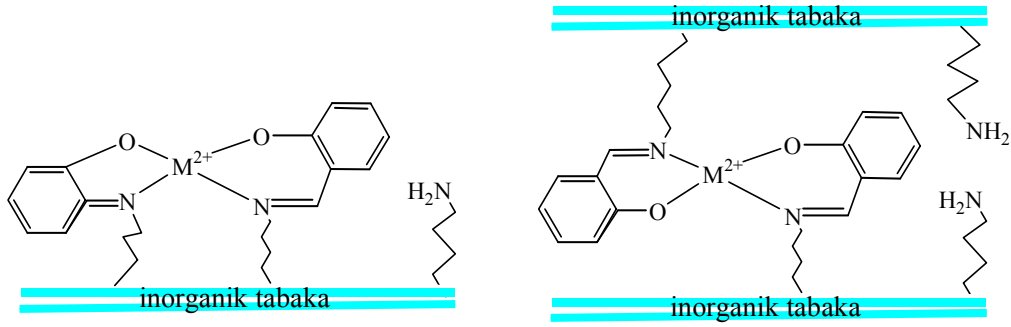
ve 3-formilsalilik asit ile etilendiaminin kondenzasyondan faydalanmışlardır (Şekil 2.12) [18].



Şekil 2.12. Polistiren (PS) destekli 4 verici atoma sahip Schiff bazı

Bu araştırmacılar yukarıda gösterilen polimere takılı ligantın Cu(II), Ni(II), Fe(II), Zn(II), Cd(II) ve Co(II) iyonları olan komplekslerini sentezlemişlerdir. PS-CH₂-LCu ve PS-CH₂-LCo komplekslerinin paramanyetik, PS-CH₂-LNi kompleksinin diyamanyetik olup her üçünün kare düzlem yapıda olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca PS-CH₂-LFeCl kompleksinin paramanyetik olup, oktahedral yapıda olduğunu, PS-CH₂-LZn ve PS-CH₂-LCd komplekslerinin diyamanyetik ve tetrahedral yapıda olduğunu spektral değerlendirmelerle öngörmüşlerdir [18].

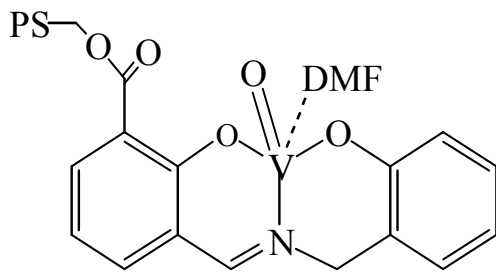
2006 yılında Lagadic'in yapmış olduğu amin fonksiyonel grubunu içeren ve Mg²⁺ iyon tabakasından oluşan silikatın, salisilaldehit, 5-klorosalisilaldehit, 2-piridin karboksaldehit ve asetil asetonun reaksiyonu sonucunda, N ve O gibi elektron çifti verici gruplara sahip Schiff bazlarını sentezlemiştir. Cu(II), Ni(II) ve Co(II) iyonları ile şelatlaşması sonucunda oluşan kompleksin (Şekil 2.13) X-ışınları difraksiyonu, IR, ¹³C NMR ile karakterize ederek aşağıdaki gibi bir yapının olabileceğini önermişlerdir.



Şekil 2.13. İnanorganik yüzeye bağlı şelat grupları için öngörülen yapılar

Karakterizasyon sonucunda, tabakada bulunan şelat gruplarının büyüklüğü ve bu grupların bağlanmadaki yönelmelerinin farklılığından dolayı, tabaka yüzeylerinin de farklı özellik gösterdiğini ifade etmiştir [19].

Maurya ve arkadaşları diklormetilli polistirene Schiff bazını takmak için 3-formil salisilikasit ile o-hidroksibenzilaminden faydalanmışlardır. Araştırmacılar, polistiren destekli Schiff bazının VO kompleksini (Şekil 2.14) sentezlemişler, bu kompleksin katalitik etkisini stiren, etilbenzen ve fenol bileşikleri üzerinde çalışmışlardır. Araştırmaların sonucunda, stiren için beş ürünün oluştuğunu, bunların; stiren oksit, benzaldehit, 1-feniletan-1,2-diol, benzoik asit ve fenilasetaldehit olduğunu etilbenzenden; benzaldehit, fenil asetik asit, stiren ve 1-feniletan-1,2-diol oluşurken, fenolün yükseltgenme ürünlerinin, katekol ve *p*-hidroksikinon olduğunu belirtmişlerdir [20].



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

2.3. Nano Küre Polimerler Üzerine Yapılan Uygulamalar

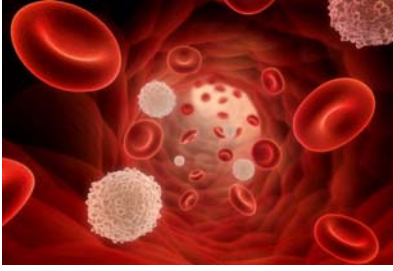
Nanoteknoloji teriminin ilk defa 1974 yılında Norio Taniguchi tarafından ifade edilmesinden sonra, nanokürelerin hastalık teşhis ve tedavisinde yan etkisi olmadan kullanılabilmesi düşüncesi yaygınlaşmaya başlamıştır [21,22].

Nanopartiküller 10 nm ile 1000 nm arasında bir büyüklüğe sahip olan koloidal partiküllerdir. Nanopartiküllerin hem küçük hem de makro moleküller için ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılması üzerine araştırmaların yaygın olduğu kaynaklarca görülmektedir. Bu amaçla nanoboyutlama adı verilen bir yöntem kullanılmaktadır. Nanoboyutlama, aktif farmasötik bileşen (API) içeren bir partikül boyutunun, alt mikron skalasına getirilerek küçültülmesidir. Partikül boyutunun küçülmesiyle, API'nin çözünme hızında önemli bir artış olduğu belirlenmiştir.

Mide-barsak sisteminde kullanılacak ilaçların polimer esaslı nano partikülleri kullanarak ilaç salınım özelliklerinin incelenmesi üzerine olan araştırmaların son yirmi yıl içinde arttığını vurgulayan Florence Delie, bu tür polimerik-partiküllerin ilaç salınımında, lektin ile kaplı olup olmamasının, boyutunun, direncinin, hatta zeta potansiyeli gibi özelliklerinin önemli rol oynadığını ifade etmiştir [23].

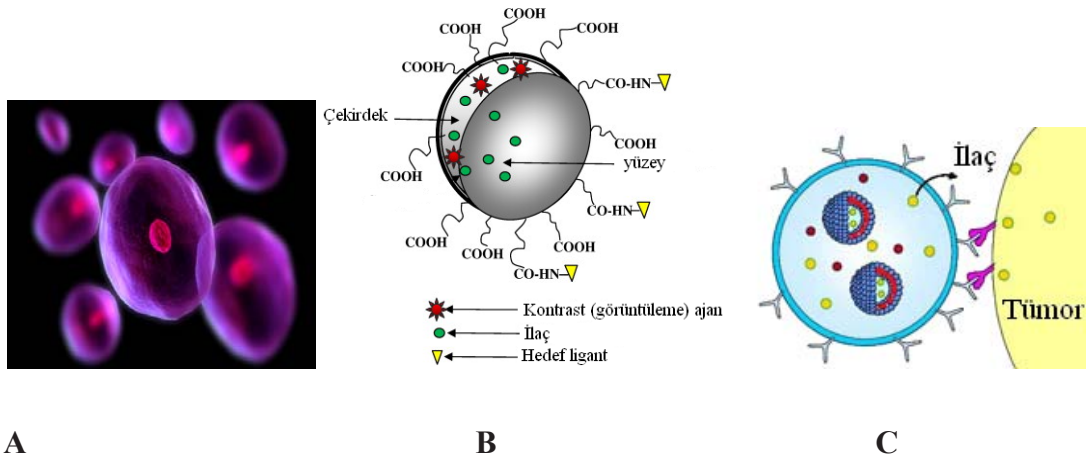
Hussain ve arkadaşları, Nanoküreler kullanılarak ilaç salınımı gerçekleştirildiğinde, bu kürelerin adeta süzgeç gibi çalışan lenfatik sisteme katılarak (Resim 2.1) metabolizmadan uzaklaşacağını, böylece önemli bir organ olan karaciğeri korunmanın da mümkün olabileceği ifade etmişlerdir [24].

İlaç salınımında, biyobozunur polimerik nanopartiküller üzerine çalışmaların son yıllarda yoğunlaştığı görülmektedir (Resim 2.1).



Resim 2.1. Nanopartikül içine hapsedilmiş bir ajanın kan hücreleri ile beraber olan bir animasyon görüntüsü.

Bu kürelerin biyouyumlu olmaları halinde ilaç salınımının arttığını söyleyen Kreuter'den sonra araştırmacılar, nanokürelerin hazırlanma yöntemine bağlı olarak yüzey ve salınım özelliklerinin değiştiğini ifade ederek, nanokürelere ilacın hapsedilmesi, takılması veya adsorbe edilmesi gibi yöntemlerin kullanılabileceği değerlendirmesini yapmışlardır [25].

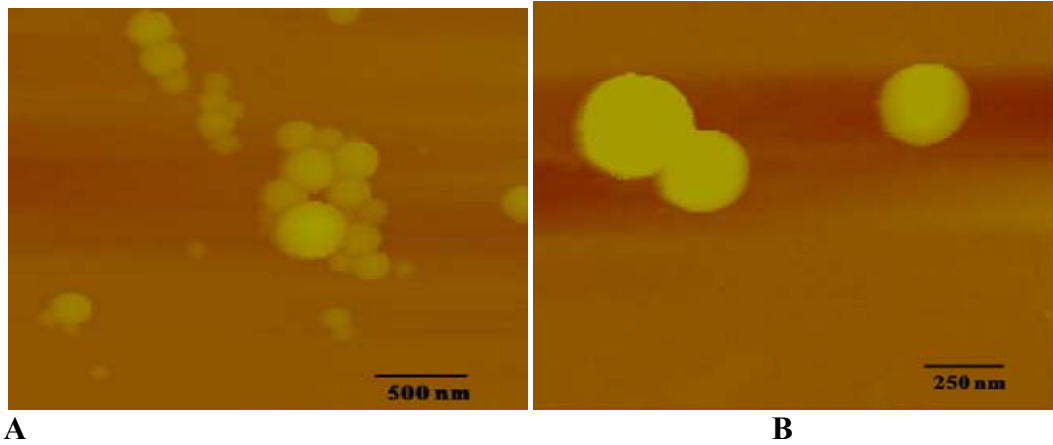


Resim 2.2. Nanopartiküllerin kullanılması; **A)** Hıv vürüsünden elde edilen proteinin gümüş nanokapsülde hapsedilmesi, **B)** İlaç yüklü nanokapsülün yapısını gösteren şematik görüntü, **C)** İlaç yüklü (koyu mavi) kapsülün tümöre takılması ile ilgili şematik görüntü (Y: antبادiler, kırmızı: magnetik nanopartiküller)

Sahni ve arkadaşları bellek bozukluğu, sözcük erişim kaybı, mekansal ve zamansal uyum bozukluğu gibi rahatsızlıklara sebeplere olan Alzheimer hastalığının Nörodejeneratif bir hastalık olarak yaygınlaşması üzerine, nanopartiküller içerisindeki ilaç salınımının etkileri üzerine birçok araştırmaların

yapıldığı kaynaklarda görülmektedir. Bu nedenle nanopartiküller üzerine olan çalışmaların giderek yaygınlaşacağı beklenmektedir[26].

Yarı kristalize poli (L-lactide/DL-lactide) (PLDL70) ve poli (L-laktid-ko-glikolid) (PLGA85)'den nanopartikülleri hazırlayan Wen ve arkadaşları otolog kök hücre tedavisinde kullanımı mümkün olabilecek alma-verme özelliğine sahip bir kompozit geliştirmişlerdir. Hazırlanan bu nanokompozitlerin 270-300 nm arasında değişen bir büyüklükte olduğunu ifade etmişlerdir. Bu araştırmacılar trombin reseptör aktivatörü peptid-6 (TRAP-6)'yı başarıyla PLDL70 ve PLGA85 nanopartiküllerin içerisine aldıklarını ifade etmişlerdir. 15 gün sonunda Peptid-6 (TRAP-6)'nın nanopartikül olan PLDL70 ve PLGA85 den salınımının sırasıyla %30 ve %80 olduğunu ifade etmişlerdir[27] (Resim 2.3).



Resim 2.3. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) görüntüleri (A) PLDL70 nanopartikülleri, ölçek çubuğu = 500 nm (B) nanopartiküller, ölçek çubuğu = 250 nm.

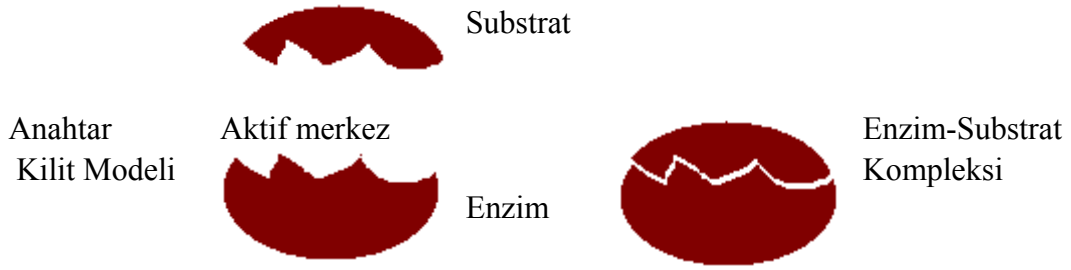
2.4. Enzim ve Enzim İmmobilizasyonu

2.4.1. Enzim

Enzimler, kataliz yapan (yani kimyasal tepkimelerin hızını arttıran) biyomoleküllerdir [28]. Enzim tepkimelerinde, katalize uğrayan moleküllere substrat denir ve enzim bunları farklı moleküllere, ürünlere dönüştürür. Bir canlı hücreesindeki tepkimelerin hemen hemen tamamının yeterince hızlı olabilmesi için enzimlere gerek duyulur. Enzimler substratları için son derece seçicidirler [28].

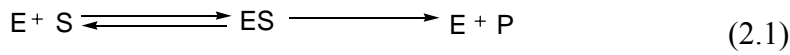
Her katalizör gibi enzimler de bir tepkimenin aktivasyon enerjisini (E_a veya ΔG) azaltır ve böylece tepkime hızını artırır. Enzimlerin etkinliği kimyasal katalizörlerden 10^6 - 10^{16} kat daha fazladır [29]. Diğer katalizörler gibi enzimler de katalizledikleri tepkime sonucunda tükenmez. Ancak, diğer çoğu katalizörden farklı olarak enzimler çok daha spesifiktir. Enzimlerin 4000'den fazla biyokimyasal tepkimeyi katalizlediği bilinmektedir [30].

Enzimin hangi substratla çalışılacağını saptayan apoenzim kısmıdır. Yani apoenzim kısmıyla substrat arasında bir ilişki vardır. Koenzim kısmı daha çok kimyasal bağa yakın olarak işlev gösterir, ester bağlarının parçalaması örnek verilebilir. Yani, enzimin apoenzim kısmı bir ya da birkaç yerinden (aktif bölgelerden) substrat molekülüne temas eder ya da bağlanır (yani bir enzim-substrat kompleksi oluşturur). Bu arada koenzim kısmı substrat üzerindeki bağlarla gerçek anlamda birleşmeye veya bağlanmaya giderek onu parçalar [31].



Şekil 2.15.Enzim çalışma mekanizması

Genel enzim reaksiyonu Eş. (2.1) ile özetlenebilir[31].



E= Enzim; S= Substrat; ES= Enzim-Substrat Kompleksi; P= Ürün'dür.

2.4.2.Enzim immobilizasyonu

İmmobilizasyon kelime anlamı olarak, “tutuklanmış, hareketi sınırlandırılmış, çözünmez hale getirilmiş” demektir. Enzimlerin ya da mikroorganizmaların fiziksel ve/veya kimyasal yöntemlerle katalitik aktifliğini koruyarak, tekrar ve sürekli kullanımını sağlamak amacıyla organik veya inorganik taşıyıcılara tutulmasıdır [29].

Tarihte ilk enzim immobilizasyonu 1916'da Nelson ve Grifin tarafından adsorpsiyonyöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Modern anlamda ise ilk olarak 1954'te Grubhofer ve Schleith tarafından bazı immobilize enzim türevleri hazırlanarak kinetik parametreleriincelenmiştir. Daha sonra bu alandaki çalışmalar dünyanın her tarafında popüleritekazanmış olup enzimler değişik amaçlar ile immobilize edilmiştir [32].

İmmobilizasyon sonucunda enzim molekülünün fiziksel ve kimyasal özelliklerideğişebilmektedir. Enzim molekülünün hareket yeteneği sınırlanır [33].

Enzimin bir yüzeye immobilize edilmesinde seçilen yöntem çok önemlidir. Çünkü uygulanan yöntemle enzimin aktif merkezindeki kimyasal yapının ya da reaktif grupların değiştirilerek enzim aktivitesinde bir kayba sebep olmamasına dikkat edilmelidir. Bir başkadeyişle enzim immobilizasyonu enzime olabildiğince az hasar vererek yapılmalıdır. Enzimin aktif merkezi hakkındaki bilgilerin fazla olmasıyla bu hasar minimuma indirilmesi mümkündür[34].

2.4.3. Enzim immobilizasyonu yöntemleri

Enzim immobilizasyon yöntemlerinin sınıflandırılması şöyledir:

- 1) Taşıyıcıya bağlanma
 - a) Fiziksel Adsorpsiyon
 - b) İyonik bağlanma
 - c) Kovalent bağlanma
- 2) Çarpaz bağlanma
- 3) Hapsetme
 - a) Matriks (kafes) içine hapsetme
 - b) Mikrokapsül içine hapsetme

Taşıyıcıya Bağlanma

Bilinen en eski enzim immobilizasyon yöntemi taşıyıcı bir yüzey üzerine bağlamadır. Bu yöntemde bağlanan enzimin miktarı ve immobilize edilmiş enzimin aktivitesi taşıyıcı yüzeyin özelliklerine bağlıdır. Bağlanma şekline göre, taşıyıcı yüzey üzerine bağlama yöntemleri çeşitlilik göstermektedir.

Fiziksel Adsorpsiyon

Bu yöntemin temeli enzim proteininin suda çözünmeyen bir taşıyıcı üzerine fiziksel adsorpsiyonudur. Enzim molekülünde ve aktif bölgede hemen hemen hiçbir hasara ve konformasyon değişimine yol açmayan bir immobilizasyon yöntemidir. Bunu

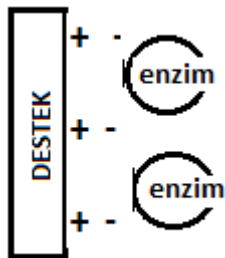
yanında enzim ve taşıyıcı arasında oluşan kuvvetlerin zayıflığındandolayı kullanım sırasında, adsorbe olmuş enzim taşıyıcı yüzey üzerinden ayrılabilir[35].



Şekil 2.16. Adsorpsiyon yöntemiyle enzim immobilizasyonunun şematik gösterimi

İyonik Bağlanma

Bu yöntemde enzim proteininin suda çözünmeyen iyon değişiminisağlayan maddeler içeren bir taşıyıcı yüzey üzerine iyonik olarak bağlanmasına yapılmaktadır. Bu yöntem konformasyonda ve enziminaktif bölgesinde çok az değişime sebep olmaktadır. Bu sebeple yüksek aktivite göstermektedir [35].



Şekil 2.17. İyonik bağlanma yöntemiyle enzim immobilizasyonunun şematik gösterimi

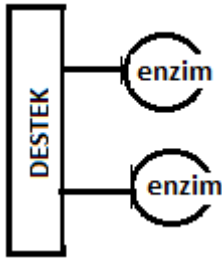
Kovalent Bağlanma

En sık kullanılan immobilizasyon yöntemi olmakla beraber, enzim ve taşıyıcı matriks arasında kovalent bağların oluştuğu immobilizasyon yöntemidir.

Kovalent bağlama yöntemi enzim ve suda çözünmeyen bir taşıyıcı yüzeyin kovalent bağlanması temeline dayanmaktadır. Bu bağlama yönteminde oluşabilecek bazı fonksiyonel gruplar karboksil, amino, hidroksil ve sülfidril gruplarıdır.

Kovalent bağlama ile immobilizasyon için gerekli şartlar fazladır, enzimin konformasyonunu değiştirebileceği gibi enzimin aktif bölgesini de etkileyerek aktivite kaybına sebep olabilir.

Kovalent bağlanma yönteminde enzim ile taşıyıcı arasında kovalent bağ olduğu için etkileşim kuvvetlidir. Bu da yöntemin en önemli avantajıdır [36].



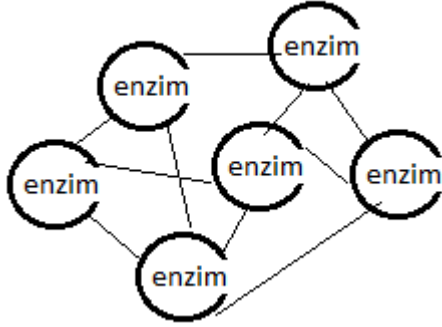
Şekil 2.18. Kovalent bağlanma yöntemiyle enzim immobilizasyonunun şemataik gösterimi

Çapraz Bağlanma

Bu yöntemde enzim immobilizasyonu, enzim proteinlerinin diğer protein moleküllerine ya da fonksiyonel gruplara moleküller arası çapraz bağlanmasıyla gerçekleşir. Enzim moleküllerinin birbirlerine çapraz bağlanması hem pahalı hem yetersiz bir yöntemdir çünkü protein molekülleri ana destek maddesi yerine geçeceklerdir. Bu da düşük enzim aktivitesine neden olacaktır.

Çapraz bağlamada en sık kullanılan bağlayıcı ajan gluteraldehittir. Bağlanma reaksiyonları ağır koşullarda gerçekleşir. Bu koşullar enzimin aktif

bölgesindekonformasyon değişikliklerine yol açabileceğinden enzim aktivitesinde de değişikliğe neden olmaktadır [35].



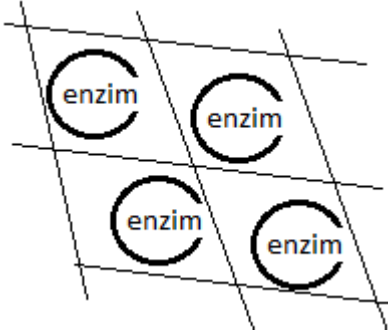
Şekil 2.19. Çapraz bağlanma yöntemiyle enzim immobilizasyonunun şematik gösterimi

Hapsetme

Bu yöntem polimerik matriks yapısında veya yarı geçirgen membranlarda enzimin hapsedilmesine dayanır [36]. Bu tutulmada substratın içeri girmesine izin verilirken, protein içeride muhafaza edilmektedir. Yöntemin dezavantajı ise, yüksek molekül ağırlıklı substratların enzime zor tutunmaları ve taşıyıcıların yeniden elde edilememesidir[36].

Matriks (Kafes) İçine Hapsetme

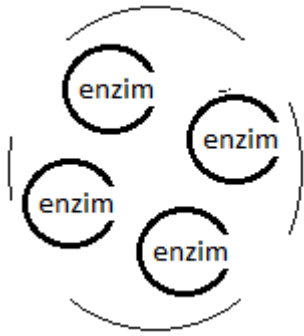
Çapraz olarak bağlanmış, suda çözünür polimer molekülleri arasındaki boşluklara enzimin hapsedildiği yöntemdir. Enzim molekülleri fiziksel olarak polimer kafes içerisinde tutturulur ve jel matriksin dışına çıkmaz, fakat substrat ve ürün sürekli kafes içine giriş-çıkış yapabilir. Enzim kimyasal değişime uğramaz. Ayrıca bu yöntemle farklı fiziksel formlarda suda çözünmeyen enzim türevleri hazırlanabilir. Jelatinimsi bir yapıya sahip enzim türevleri, immobilize bir enzimin hem düzenli hem de düzensiz yüzeyler üzerinde kolayca depolanmasını sağlar [37].



Şekil 2.20. Polimer matriks (kafes) içine hapsetme yöntemiyle enzim immobilizasyonunun şematik gösterimi

Mikrokapsül İçine Hapsetme

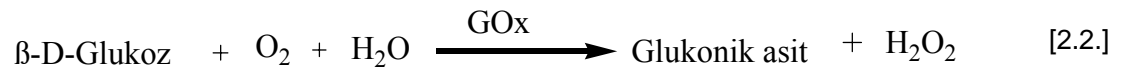
Enzim molekülünün yarı geçirgen polimer membranları ile kaplanması yöntemidir. Bu immobilizasyon metodunun avantajları enzim ve substrata geniş yüzey alanı sağlamasıdır. Metodun dezavantajları ise yüksek molekül ağırlıklı substratlara uygulanamaması, enzimin bazı durumlarda inaktive olması, enzimin membran duvarına yapışması ve mikrokapsüllerden enzimin damlaması sayılmaktadır [38].



Şekil 2.21. Mikrokapsül içine hapsetme yöntemiyle enzim immobilizasyonunun şematik gösterimi

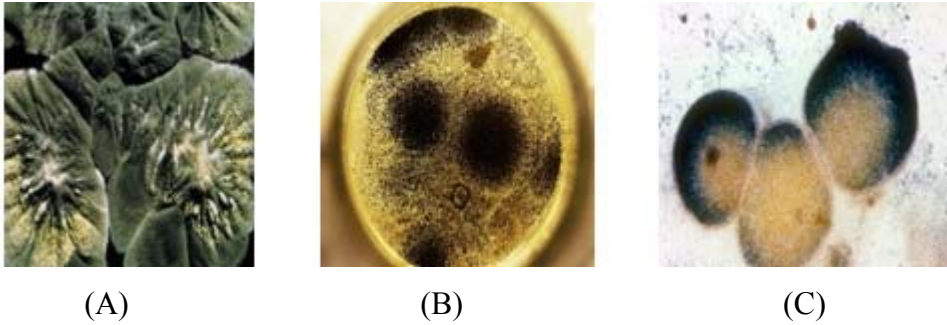
2.4.4. Glukoz oksidaz enzimi ve özellikleri

Glukoz oksidaz enzimi (GO_x) (EC. 1.1.3.4, β-D-glukoz:oksijen oksidoredüktaz), Glukoz molekülünün moleküler oksijen ile yükseltgenip glukono-δ-lakton (glukono-1,5 lakton) ve hidrojen peroksidin (H₂O₂) olduğu reaksiyonu katalizler. Lakton sulu ortamda herhangi bir enzime ihtiyaç duymadan hidroliz olarak glukonik aside dönüşür [39].



GO_x aktivitesi ilk kez 1904' te Maksimow tarafından *Aspergillus Niger* (A.Niger) de saptanmıştır. 1928'de Müller enzimin yükseltgeyici etkisi olduğunu belirlemiştir.

Glukoz oksidaz enzimlerinin molekül ağırlıkları yaklaşık 160-180 kDa arasındadır. Bir mol enzim 2 mol Flavin Adenin Dinükleotid (FAD) içerir ve izoelektrik noktaları yaklaşık pH 4.2'dir. Çalışmalarda en yaygın kullanılan Glukoz oksidaz, *A. Niger*'den elde edilen molekül ağırlığı 186,000 Da olan dimerlerdir [40].

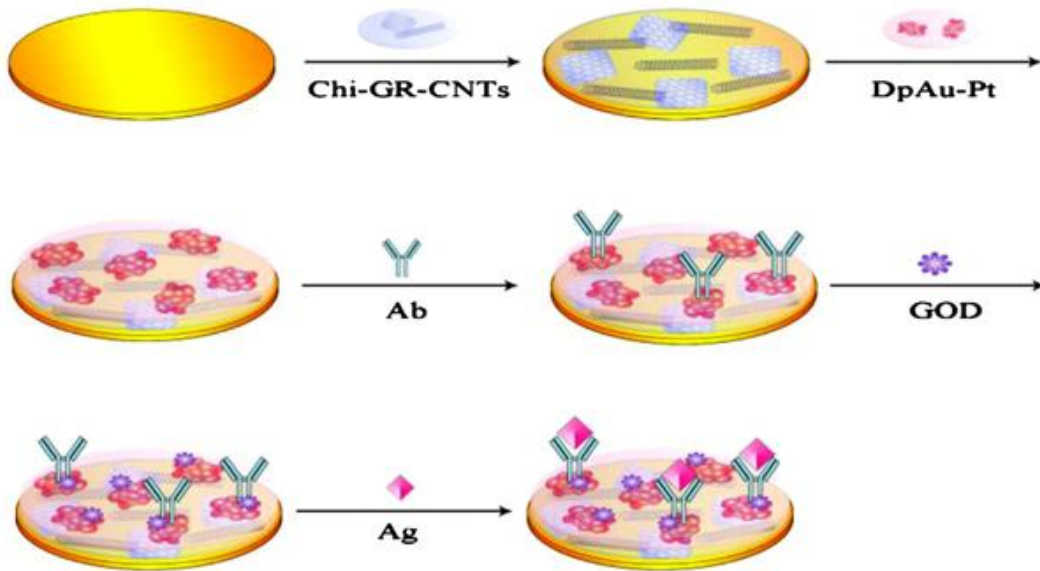


Şekil 2.22. *Aspergillus* (A), *Penicillium* (B) ve *Talaromyces flavus* (C) küfleri

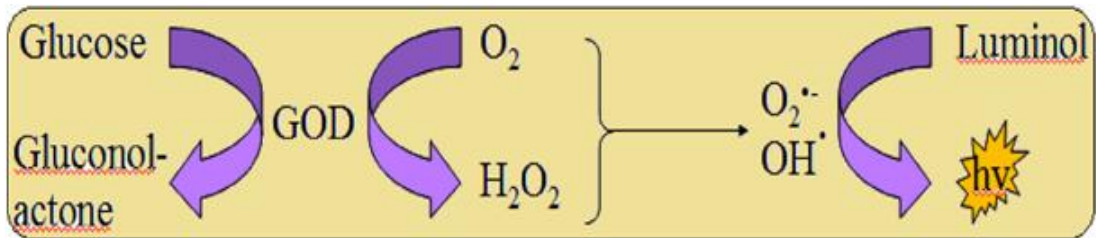
2.4.5. Glukoz oksidaz enziminin üzerine yapılan çalışmalar

Jiang ve arkadaşları lüminol tayininde kullanmak üzere, birelektrokemilüminesans (ECL) biyosensörünü elde etmek için GO_x enziminden faydalanmışlardır. Bilindiği gibi lüminol kan ile tepkimeye girdiğinde mavi-yeşil renk veren amin türevi bir kimyasal maddedir. Bu nedenle hızlı ve etkili bir kan analizinin yapılabilmesi için

bilim insanlarının yapmış olduğu araştırmalardan biri de lüminol içerikli yeni sensörlerin hazırlanması üzerinedir. Bu amaçla, Jiang ve arkadaşları altından hazırlanan elektrot tabakayüzeyini kitosan, grafit ve karbon nanotüplerden oluşan kompozit ile modifiye etmişlerdir. Bunu takiben hazırlanan kompozit, nanoyapılı Au ve Pt kaplayarak, karsinoembriyonik antijen (CEA) muamelesinden sonra (Ab) GO_x enzimi immobilize etmişlerdir. Ab yüzeyini Ag nanopartikülleri ile kapladıktan sonra (Şekil 2.23.), Şekil 2.24'teki mekanizmanın oluşumuyla lüminolün aktif olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir [41].



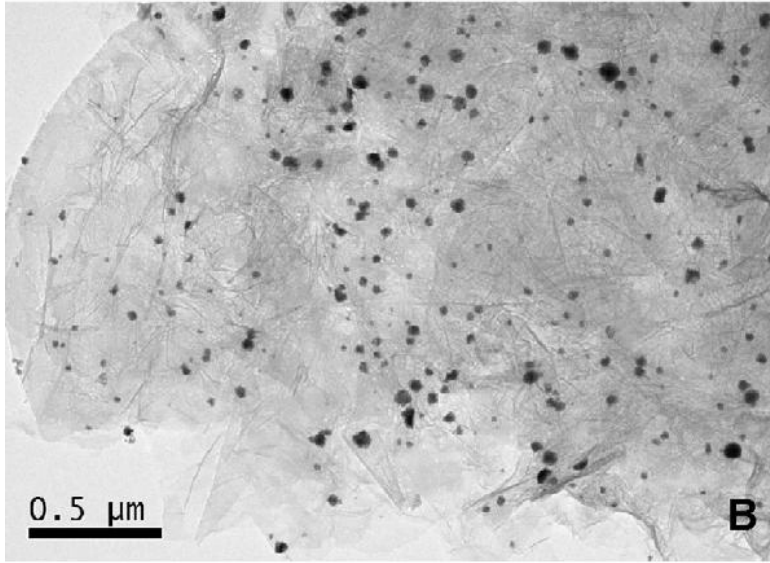
Şekil 2.23. KITOSAN-GRAFİT-KARBON NANOTÜPLERDEN OLUŞAN KOMPOZİT İLE MODİFİYE OLMUŞ YÜZEYİN GO_x İMMOBİLİZASYONUNUN ŞEMATİK GÖSTERİMİ



Şekil 2.24. LÜMINOL TEŞHİSİ İÇİN GERÇEKLEŞEN MEKANİZMA

Li ve arkadaşları Glukoz biyosensörü hazırlarken, SnO₂-Au içerikli karbon nanotüplerden faydalanmışlardır (MWCNTs @ SnO₂-Au). Bu kompozitin yapısı TEM, X ışın spektroskopisi ve Raman spektroskopisi ile belirlenmiştir. Bu kompozitin GO_x enzimi ile immobilize edilmesiyle hazırlanan glukoz biyosensörü ile 4,0-24,0 mM arasında bir ölçümün yapılabileceğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar hazırlanan kompozitin klinik laboratuvarlarda kan şekerinin belirlenmesinde kullanılabileceğini ifade etmişlerdir [42].

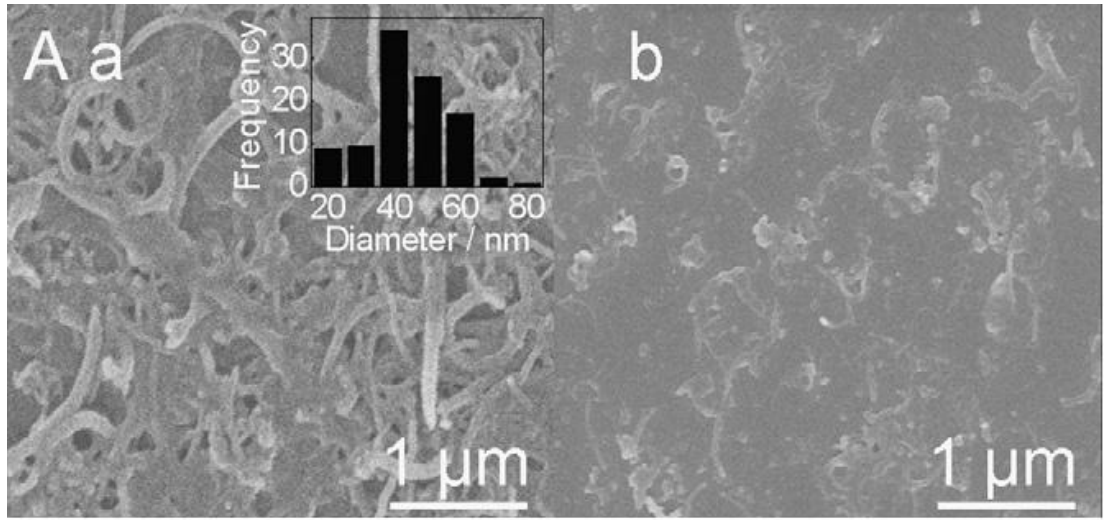
Wu ve arkadaşlarının, Platin nanopartiküllerini içeren grafit ve çitosandan hazırlanmış kompozit film üzerine, GO_x enziminin immobilize edilmesindeki amacın, geniş yüzey alanı ve elektriksel iletkenliği mükemmel olan bir biyosensör hazırlamaktır. Bu araştırmacılar Şekil 2.25' da görüldüğü gibi grafit tabaka üzerine nanopartikül yapılı platinlerin yüklendiğini TEM fotoğrafları ile ortaya koymuşlardır.



Şekil 2.25. Grafit tabaka üzerine platin nanopartiküllerin yüklendiğine dair TEM fotoğrafı

Hazırlanan Glukoz sensörün klinik tanılamada ve uygulama için önemli bir materyal olduğunu ifade etmişlerdir [43].

Deng ve arkadaşları Glukoz tayini için, azot yüklü karbon nanotüp (CN_x-MWNTs) üzerine GO_x enzimini immobilize etmişlerdir (GO_x/CN_x-MWNTs). Hazırlanan sensör membran yapıda olup yüzeye enzim tutulmasından önce ve sonrasındaki değişiklikleri SEM fotoğraflarıyla göstermişlerdir. Şekil 2.26'de görüldüğü gibi enzimin immobilize edilmesi ile lif halindeki görüntü kaybolmuştur. Bu araştırmacılar azotun yüklenmesi ile hazırlanan nanotüpe yüklü enzimin elektron transferini hızlandırdığını ifade etmişlerdir [44].



Şekil 2.26. (a) CN_x-MWNTs ile modifiye olmuş yüzey (b) modifiye yüzeye GO_x immobilizasyonundan sonraki SEM görüntüleri

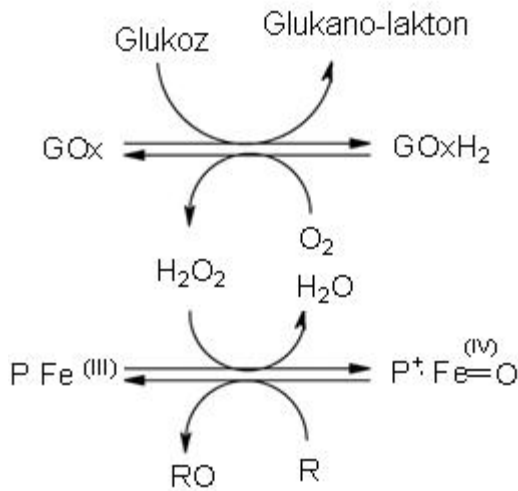
Yeni elektrokimyasal biyosensörlerin hazırlanması ve dizaynı önemli olduğu için, Tasviri ve arkadaşları amin ile aktifleştirilmiş TiO₂ (NH₂-TiO₂-CNT) üzerine yapmış oldukları araştırma sonucunda enzimin Schiff bazı oluşumuyla tutulduğunu ifade etmişlerdir. Bu araştırmacılar NH₂-TiO₂-CNT matrisi üzerinde immobilize edilmiş GO_x enziminin Michaelis-Menten sabitini 8,59 mM olarak belirlemişlerdir [45].

İletken polimerler üzerine GO_x enziminin immobilizasyonunu yüksek basınç uygulayarak yapan araştırmacılar ise Talay ve arkadaşları olmuştur. Farklı basınçların (75-150 bar) uygulanması ile yapılan immobilizasyonun sonucunda

enzimin aktifliğinin arttığını, ancak 150 bar'ın üzerine çıktığında enzimin aktifliğinde azalma olduğunu ifade etmişlerdir [46].

Gözenekli ve toz halinde bulunan SiO_2 yüzeyine GO_x enziminin immobilize edilmesi sonucunda aktifliğini inceleyen araştırmacılar Libertino ve arkadaşlarıdır. Yaptıkları incelemeler sonucunda gözenekli SiO_2 üzerine yapılan immobilizasyonun daha iyi sonuçlar verdiğini ifade etmişlerdir [47].

Jung ve Hartmann isimli araştırmacılar GO_x enzimini kullanarak indolün yükseltgenme sonucunda 2-indolinon elde edildiği Şekil 2.27 'deki gibi olabileceğini ifade etmişlerdir.



Şekil 2.27. İndolün yükseltgenme mekanizması

Şekilde β -D-Glukoz, Glukano- δ -Lakton'a dönüşürken oluşan H_2O_2 'in indol'ü yükseltgeyerek 2-indolinon'un elde edildiği görülmektedir [48].

Benzer bir çalışmaya yine Jung ve arkadaşları tarafından devam edildiği görülmektedir. Bu araştırmadaki farklılığın ise SBA-15 kodlu silika'yı kullanmalarından kaynaklanmaktadır. SBA-15 kodlu silika yüzeyine immobilize

edilen GO_x enzimi ile oluşan kloroperoksidazsavesinde indolü yükseltgemişlerdir [49].

GO_x 'ın enzimatik inhibisyonu ile ağır metal katyonlarının tayininde kullanılabileceğine dair bir araştırma Ghica ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bunun için mediatör olarak kullanılan Poli(nötral red) filmin yüzeyi glutaraldehit ile çapraz bağlanarak elektropolimerizasyon yöntemiyle karbon elektrot yüzeyinde biyosensör hazırlanmıştır. Süt örneğinde bulunan ağır katyonlardan kadmiyum, bakır, kurşun ve çinko metalleri üzerinde araştırma yapmışlardır. Hazırlanan biyosensör ile Cd için 1 $\mu\text{g/L}$, Pb için 3 $\mu\text{g/L}$, Cu için 6 $\mu\text{g/L}$ ve Zn için 9 $\mu\text{g/L}$ ye kadar tayin yapabildiklerini belirtmişlerdir [50].

Yeni bir Glukoz sensörünü hazırlayan Ohnuki ve arkadaşları, oktadesiltrimetilamonyum ve nanoyapıya sahip Prusya mavisi (PB) ni içeren film üzerine GO_x enzimini immobilize etmişlerdir. Enzimin immobilize edildiği bilgisini IR spektrumu ve X-ışınları dağılım spektrumlarıyla açıklamışlar, H_2O_2 nin üretilmesinde kataliz olarak nano boyutlu PB klastırların etkili olduğunu belirtmişlerdir [51].

3. MATERYAL VE METOD

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

3.1.1. Kimyasal maddeler

| <u>Kimyasal Madde</u> | <u>Temin Edilen Üretici Firma</u> |
|--|-----------------------------------|
| DMF | Sigma Aldrich |
| Polistiren-NH ₂ | Sigma Aldrich |
| Salisilaldehit | Sigma Aldrich |
| 5-Metilsalisilaldehit | Sigma Aldrich |
| Glukoz Oksidaz (192 U/mg) | Sigma Aldrich |
| Sodyum Dihidrojen fosfat (NaH ₂ PO ₄ , 120 g/mol) | Sigma Aldrich |
| Fosforik Asit (H ₃ PO ₄ 106.09 g/mol) | Sigma Aldrich |
| Sodyum Asetat (C ₂ H ₃ OONa, 82.02 g/mol) | Sigma Aldrich |
| Disodyum hidrojenfosfat (Na ₂ HPO ₄ ,142 g/mol) | Sigma Aldrich |
| Boraks/ (Na ₂ B ₄ O ₇ , 201.24 g/mol) | Sigma Aldrich |
| Sodyum hidroksit (NaOH,40 g/mol) | Sigma Aldrich |
| 4-Aminoantipirin (4-AAP) (203,24 g/mol) | Sigma Aldrich |
| Glukoz (180,16 g/mol) | Sigma Aldrich |
| Fenol (94,11 g/mol) | Sigma Aldrich |
| Peroksidaz enzimi (192 U/mg) | Sigma Aldrich |

3.1.2. pH metre

Orion pH metre 420 A model pH metre, tampon çözeltileri ayarlamak için kullanıldı.

3.1.3. Çalkalamalı su banyosu

ST 402 NÜVE marka sıcaklık kontrollü su banyosu kullanıldı.

3.1.4. SEM/EDX (taramalı elektron mikroskobu/enerji dağılımı X-ışını kırınımı)

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

3.1.5. Ultraviyole-görünür bölge spektrofotometresi

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

3.1.6. GPC (jel geçirgenlik kromatografisi)

Polimerlerin M_w ve M_n değerleri için GPC, Waters 1500 Series model kromatografisi ile Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Merkez Laboratuvarında yapıldı.

3.1.7. Element analizi

Element analizleri LECO-CHNS-9320 model element analizi cihazı ile Bozok Üniversitesi Kimya Bölümünde yapıldı.

4. DENEYSEL BÖLÜM

4.1. Schiff Bazı İçeren Polimerlerin Hazırlanması (Genel Yöntem)

Schiff bazı içeren polimerler geri soğutucu altında 70°C de sentezlendi. Geri soğutucuya bağlı cam balona polistiren-NH₂ DMF de çözülerek konuldu. Geri soğutucu altında kaynatma ve karıştırma işlemleri yapılırken damlatıcı musluğu açılarak DMF de çözülmüş aldehit çözeltisi balondaki polimer çözeltisi üzerine yaklaşık 10 dakikalık bir süre içinde damlatıldı. Aldehit çözeltisinin ilavesinden sonra yaklaşık bir saat geri soğutucu altında kaynatma ve karıştırma işlemlerine devam edildi. Bir saatin sonunda temiz bir behere alınan karışım asetonla yıkanarak reaksiyona girmemiş olan reaktifler ortamdaki uzaklaştırıldı ve etüvde kurutuldu.

4.1.1. (PSA-SalH) polimerinin sentezi

1 g polistiren-NH₂ (0,5-1,0 mmol/g -NH₂ yüklü) 2 boyunlu cam balona alınarak 15 ml DMF de çözüldü. 0,11 mL (1 mmol) 2-hidroksibenzaldehit'ten 10 ml DMF içinde oda sıcaklığında çözülerek hazırlanan çözeltisi, damlatma hunisine konularak bölüm 4.1'de açıklanan yöntemle göre sentezi yapıldı. Sentezlenen (PSA-SalH) polimerleri 24 saat etüvde kurutuldu.

4.1.2. (PSA-SalCH₃) polimerinin sentezi

1 g polistiren-NH₂ (0,5-1,0 mmol/g -NH₂ yüklü) 2 boyunlu cam balona alınarak 15 ml DMF de çözüldü. 0,11 mL (1 mmol) 2-hidroksi-5-metil benzaldehit'ten 10 ml DMF içinde oda sıcaklığında çözülerek hazırlanan çözeltisi, damlatma hunisine konularak bölüm 4.1'de açıklanan yöntemle göre sentezi yapıldı. Sentezlenen (PSA-SalCH₃) polimerleri 24 saat etüvde kurutuldu.

4.2. (PSA), (PSA-SalH) ve (PSA-SalCH₃) Polimerlerinin İmmobilizasyon İşlemleri

4.2.1. Enzimin immobilizasyonu

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

4.2.2. Serbest β -glukoz oksidazın aktifliğine pH etkisi

Serbest β -glukoz oksidaz enziminin aktifliğine pH etkisini incelemek için, tüp içerisine çalışılan pH değerlerinde (3,0-9,0) hazırlanan tamponda çözünen enzim ve glukoz çözeltileri ilave edilip oda sıcaklığında karıştırıldı. 4-Aminoantipirin (10 mg), fenol (20 mg) ve peroksidaz enzimi (0,5 mg) eklendikten sonra UV-GB spektrofotometresi yardımıyla 498 nm absorbans değerlerinde okundu.

4.2.3. İmmobilize edilen β - glukoz oksidazın aktifliğine pH etkisi

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

4.2.4. Serbest β -glukoz oksidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi

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

4.2.5. İmmobilize edilen β - glukoz oksidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi

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

4.2.6. Serbest β -glukoz oksidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisi

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

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

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

4.2.8.İmmobilize edilen β -glukoz oksidazın tekrar kullanılabilirliği

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

4.2.9. İmmobilizasyon işlemlerinde kullanılan çözeltilerin hazırlanışı

pH: 3 (NaH_2PO_4/H_3PO_4) tamponu:

6.24 g (40 mmol) $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ (sodyum dihidrojenfosfat) 250 mL su içerisinde çözülür. Üzerine derişik % 85'lik H_3PO_4 ' den pH: 3 oluncaya kadar damla damla eklenir.

pH: 4 (NaH_2PO_4/H_3PO_4) tamponu:

6.24 g (40 mmol) $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ (sodyum dihidrojenfosfat) 250 mL su içerisinde çözülür. Üzerine derişik % 85'lik H_3PO_4 ' den pH: 4 oluncaya kadar damla damla eklenir.

pH: 5 (sodyum asetat/asetik asit) tamponu:

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

pH: 6-9 (Na_2HPO_4/NaH_2PO_4) tamponu:

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

pH: 10 ($Na_2B_4O_7/NaOH$) tamponu:

100 mL 0,25 M $Na_2B_4O_7$ üzerine 0,25 M sodyum hidroksitten pH: 10 oluncaya kadar damla damla eklenir.

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

40 mM stok glukoz çözeltilisi hazırlamak için; 0,37 gr glukoz tartılıp çalışılan pH tampon ile 50 mL ye tamamlanır. 20 mM, 18 mM, 16 mM, 14 mM, 12 mM, 10 mM, 8 mM, 6 mM, 4 mM, 2 mM, 1 mM ve 0,5 mM glukoz çözeltileri hazırlanırken 40 mM stok glukoz çözeltilisinden seyreltilerek hazırlandı.

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

5.1. Schiff Bazı Takılı Polimerin Karakterizasyonu

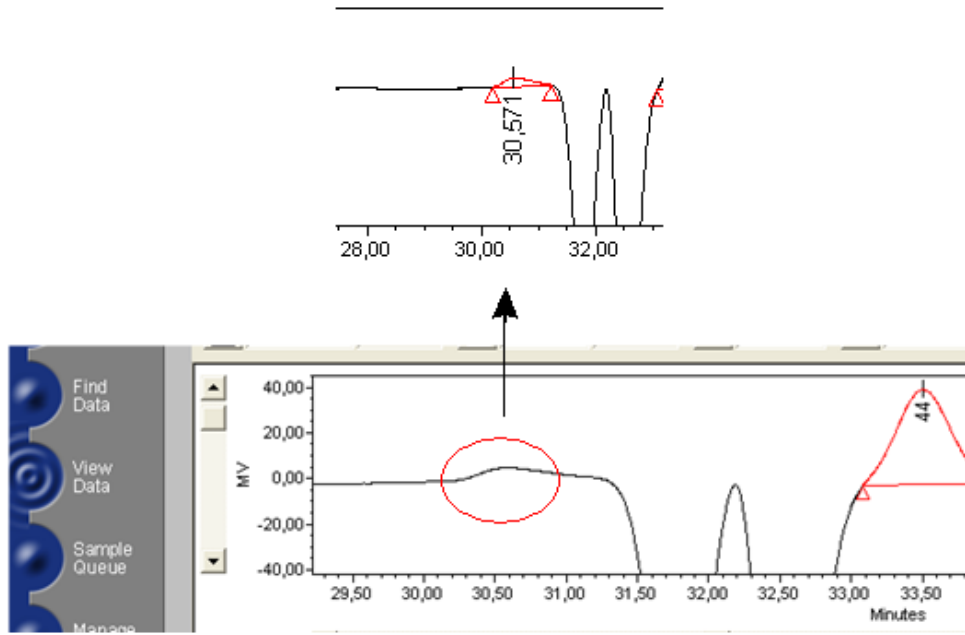
Aşağıda (PSA) ve modifiye edilmiş (PSA-SalH) ve (PSA-SalCH₃) polimerine ait görüntüler verilmiştir. Görüntülerden anlaşıldığı gibi renk beyazdan sarıya doğru değişiklik göstermektedir.



Şekil 5.1. Sentezlenen (PSA-SalH, PSA-SalCH₃) polimerlerin katı haldeki fotoğrafları

(PSA), (PSA-SalH) ve (PSA-SalCH₃) kodlu polimerlerin katılma-ayırılma tepkimesi sonucunda Schiff bazlarının oluştuğu FT-IR spektrumu ile değerlendirildi.

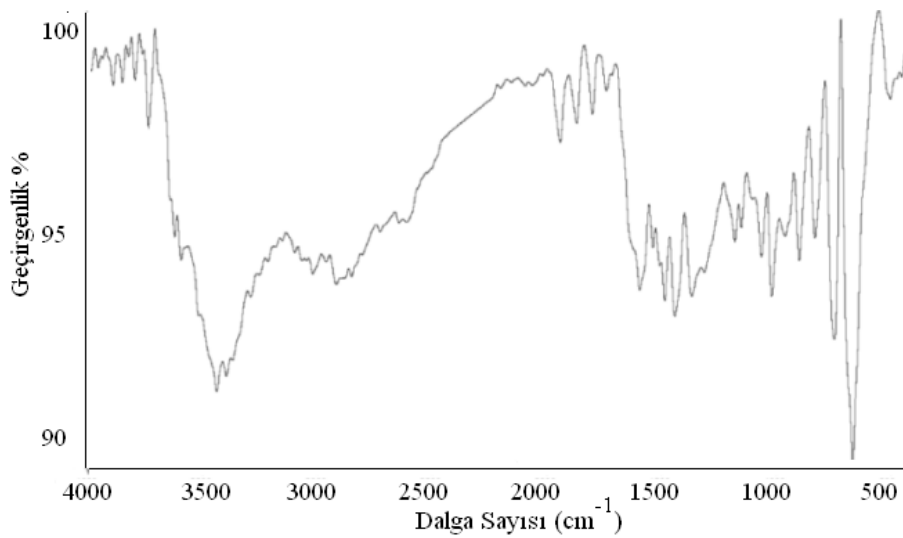
(PSA), (PSA-SalH) ve (PSA-SalCH₃) polimerlerinin kapalı bir tüp içinde DMF çözücüsünde üç gün boyunca karıştırıldıktan sonra alınan büyüklükçe ayırma (GPC) spektrumu sonunda Mw ve Mn değerleri sırası ile, (PSA) için 878 ve 860; (PSA-SalH) için 874ve 862 ve (PSA-SalCH₃) için 881 ve 867 olarak belirlenmiştir (Mw: ağırlıkça ortalama mol kütle; Mn: sayıca ortalama mol kütle).



Şekil 5.2. (PSA) için alınan büyüklükçe ayırma (GPC) spektrumunun bilgisayar ekranındaki görüntüsü

5.1.1. (PSA) polimeri

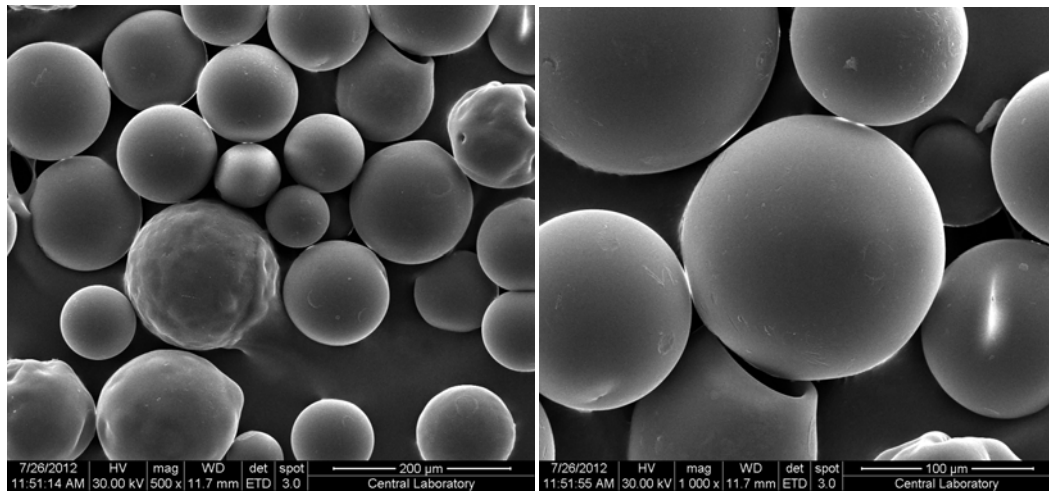
(PSA) polimerinde 1543 cm^{-1} 'de ortaya çıkan pikin δ_{NH_2} titreşim frekansına, $3460\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen geniş pikin ise $\text{NH}_2(\text{asim, sim})$ titreşim frekansına karşılık geldiği ön görüldü (Şekil 5.3).



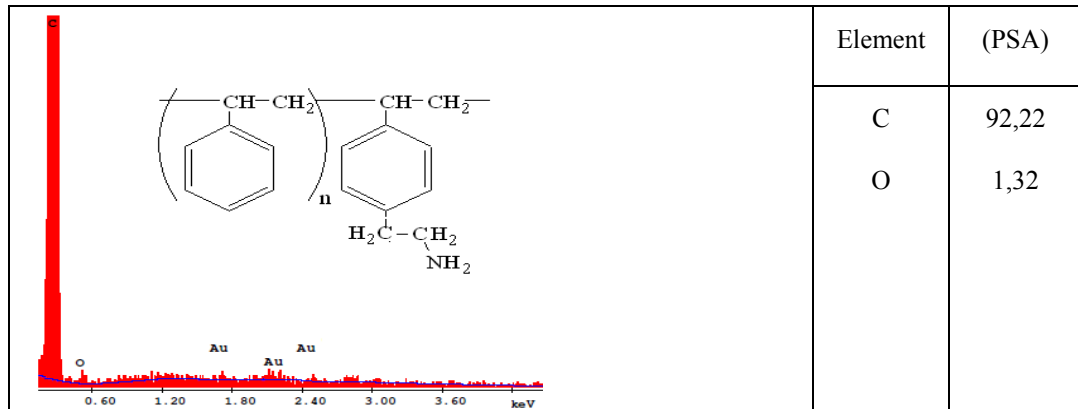
Şekil 5.3. (PSA) polimerinin FT-IR spektrumu

2920 cm^{-1} ve 2850 cm^{-1} de görülen piklerin ise, $\nu_{\text{C-H(alfatik)}}$ titreşim frekansına, 3013, cm^{-1} ve 2920 cm^{-1} de ortaya çıkan zayıf piklerin $\nu_{\text{CH(aromatik)}}$ titreşim frekansına karşılık geldiği düşünülmektedir. 1940 cm^{-1} , 1870 cm^{-1} , 1800 cm^{-1} de görülen piklerin $\nu_{\text{C-H(overtonlar)}}$ titreşimine karşılık geldiği ön görüldü [52].

Salisilaldehit ve türevlerinin katılma-ayrılma tepkimesi veren (PSA)'nın SEM-EDS/EDX fotoğrafve spektrumu alınarak (Resim 5.3.) modifiye olan polimerlerin yüzey morfolojisi ve EDX/EDS spektrumu ile karşılaştırıldı. Resim 5.1'deki SEM fotoğraflarında (PSA) kodlu polimerin nanoküre yapısında olduğu görülmektedir.



Resim 5.1. (PSA) polimerinin SEM (500 ve 1000 büyültmeli) görüntüsü



Şekil 5.4. (PSA) polimerinin EDX spektrumu

EDX/EDS' ye göre belirlenen,PSA polimerin yapısındaki elementlerin yüzdesi Çizelge 5.1'de verilen element analizleri ile uyumludur.

Çizelge 5.1. Modifiye edilen polimerlerin M_w , M_n ve element analiz yüzdeleri

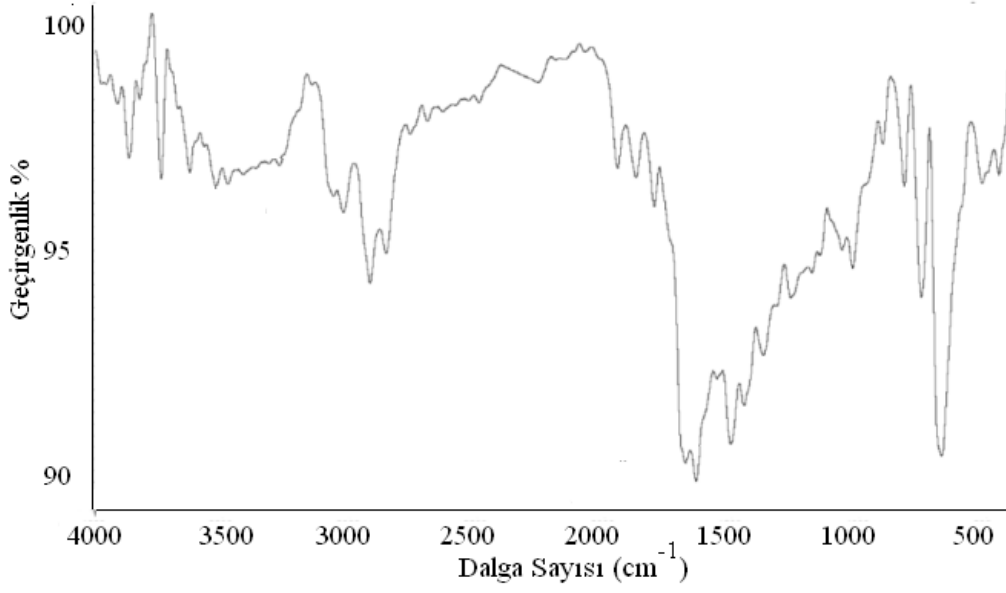
| Bileşik | Kimyasal Formülü |
|---------------------------|--|
| Renk, * M_w | (M_w , M_n), PDI |
| | C, H, N; (% bulunan/hesaplanan) |
| (PSA) | $[(C_8H_8)_7(C_6H_4(CH_2)_2NH_2)]$ |
| Crem, 848 | (892, 586), 1.52 |
| | 90,32/90,56; 7,79/7,78; 1,88/1,65 |
| (PSA-SalH) | $[(C_8H_8)_6(C_{12}H_{10}(CH_2)_2NO)]$ |
| Yellow, 836 | (880, 807), 1.09 |
| | 89,00/89,34; 7,18/7,01; 1,67/1,56 |
| (PSA-SalCH ₃) | $[(C_8H_8)_6(C_{13}H_{12}(CH_2)_2NO)]$ |
| Yellow, 848 | (898, 831), 1.08 |
| | 89.15/88.56,7.55/7.23,1.65/1.34 |

*Element analizine göre ön görülen yapı

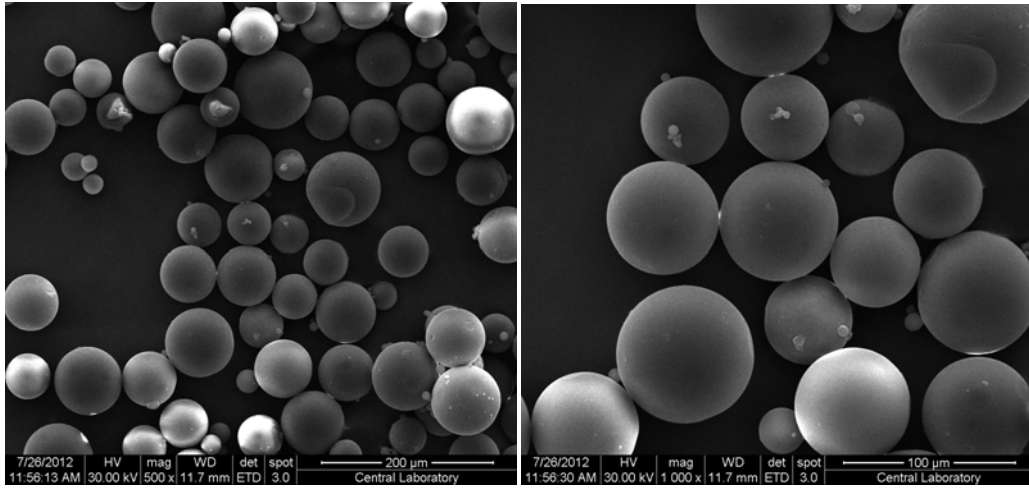
Düşük yüzdede oksijen(O) elementinin görülmesi polimerin nem (H_2O) absorblamasındankaynaklandığı söylenebilir. Çalışılan tüm polimerler için SEM görüntülerinin net alınabilmesi için ön işlem olan Au ile örneklerin kaplanması nedeniyle EDX spektrumlarında Au'nın görülmesi beklenen bir sonuçtur.

5.1.2. (PSA-SalH) polimeri

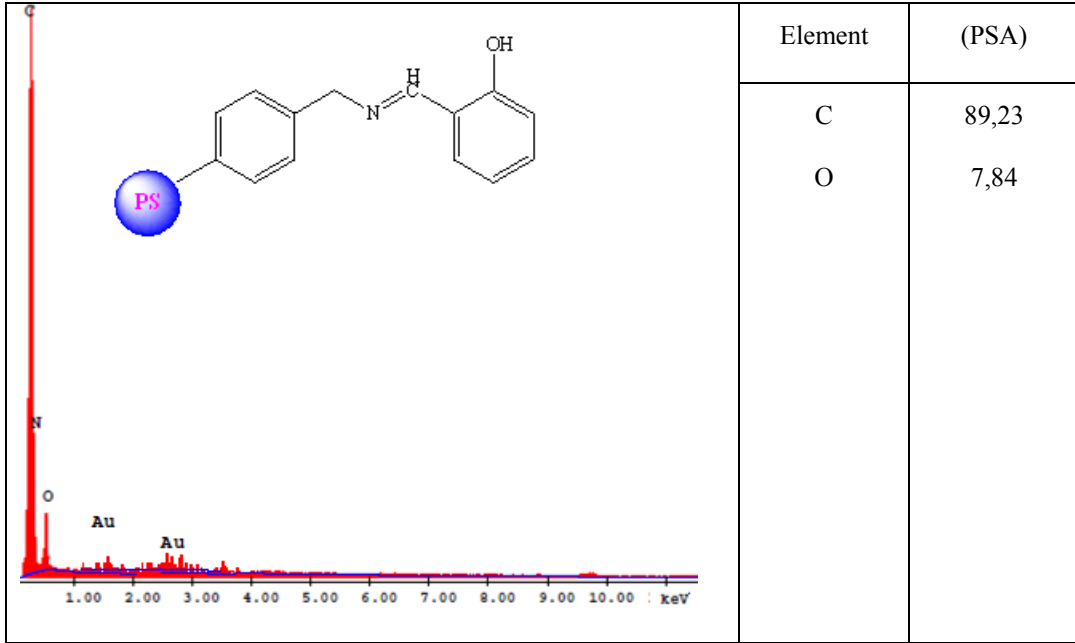
(PSA-SalH) polimerine ait FT-IR spektrumu aşağıda verilmiştir. (PSA-SalH) kodlu polimerine ait alifatik ν_{C-H} titreşimi 2923 cm^{-1} ve 2856 cm^{-1} de, aromatik ν_{C-H} titreşimi ise 3063 cm^{-1} ve 3025 cm^{-1} de gözlenmiştir.Ayrıca ν_{C-H} (overtonlar) titreşimleri ise 1947 cm^{-1} , 1878 cm^{-1} ve 1808 cm^{-1} de gözlenmiştir. Bu piklerin APS polimerindeki pikler ile aynı titreşim frekansında görülmesi polimerik yapının korunduğunu göstermektedir. $-CH=N-$ grubunun,PSA daki $-NH_2$ ile aldehit arasındaki katılma-ayırılma reaksiyonu sonucunda meydana geldiği 1618 cm^{-1} 'de görülen pikin ortaya çıkışıyla ön görüldü[53].



Şekil 5.5. (PSA-SalH) kodlu polimer için FT-IR spektrumu



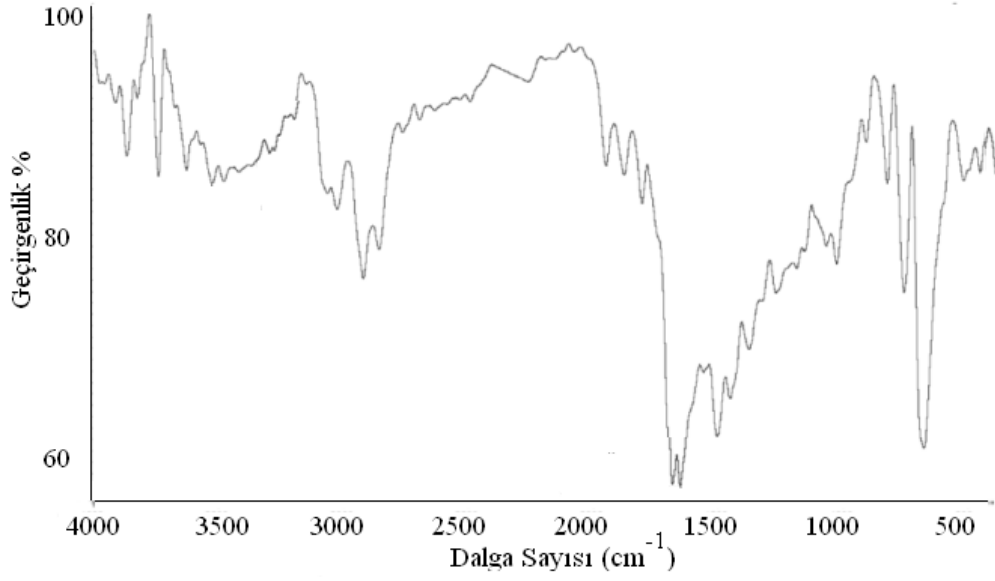
Resim 5.2. (PSA-SalH) kodlu polimerin SEM (500 ve 1000 büyültmeli) görüntüsü



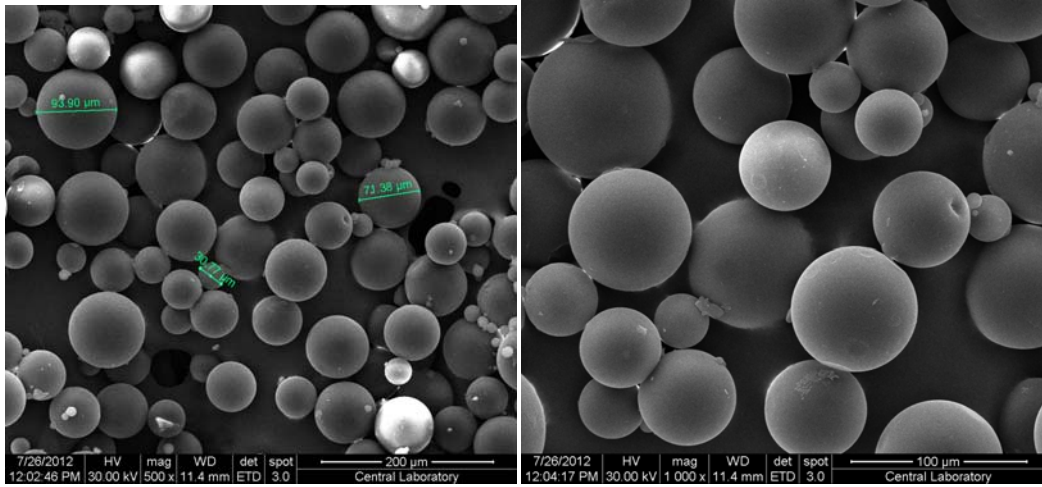
Şekil 5.6. (PSA-SalH) kodlu polimerin EDX spektrumu

5.1.3. (PSA-SalCH₃) polimeri

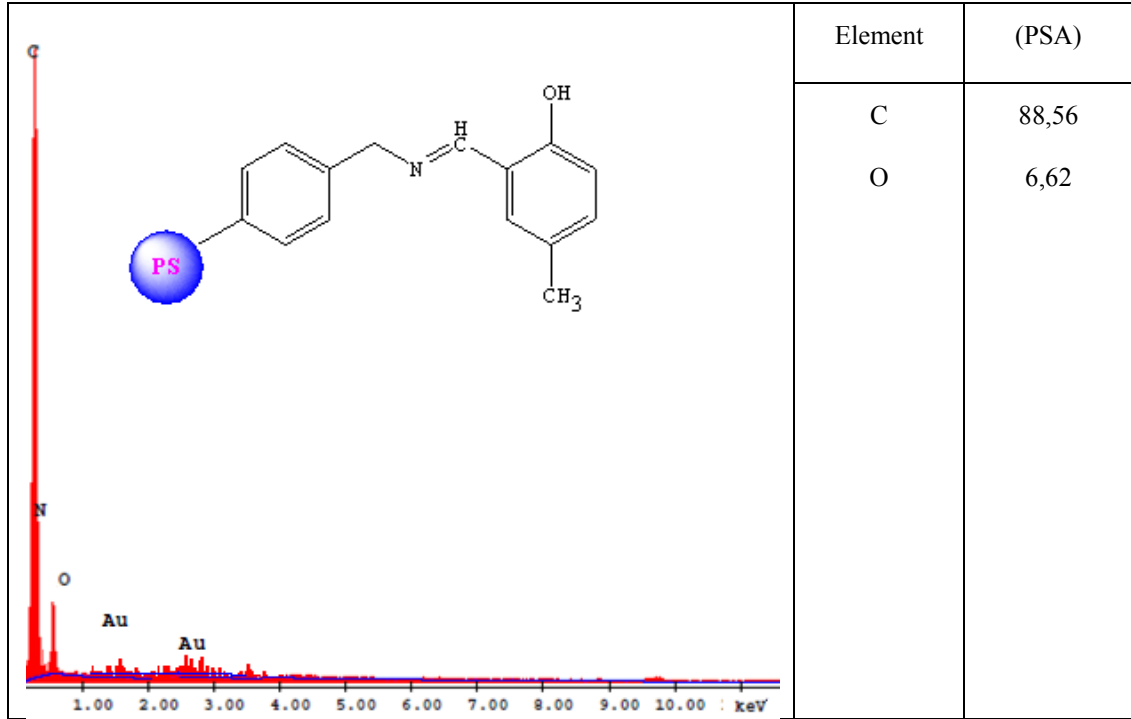
(PSA-SalCH₃) polimerine ait FT-IR spektrumu aşağıda verilmiştir. (PSA-SalCH₃) kodlu polimerine ait alifatik ν_{C-H} titreşimi 2923 cm^{-1} ve 2856 cm^{-1} de, aromatik ν_{C-H} titreşimi ise 3063 cm^{-1} ve 3025 cm^{-1} de gözlenmiştir. Ayrıca ν_{C-H} (overtone) titreşimleri ise 1947 cm^{-1} , 1878 cm^{-1} ve 1808 cm^{-1} de gözlenmiştir. Bu piklerin APS polimerindeki pikler ile aynı titreşim frekansında görülmesi polimerik yapının korunduğunu göstermektedir. $-CH=N-$ grubunun, PSA daki $-NH_2$ ile aldehit arasındaki katılma-ayırılma reaksiyonu sonucunda meydana geldiği 1622 cm^{-1} 'de görülen pikin ortaya çıkışıyla ön görüldü [53].



Şekil 5.7. (PSA-SalCH₃) kodlu polimere ait FT-IR spektrumu



Resim 5.3. (PSA-SalCH₃) kodlu polimerin (500 ve 1000 büyültmeli) görüntüsü

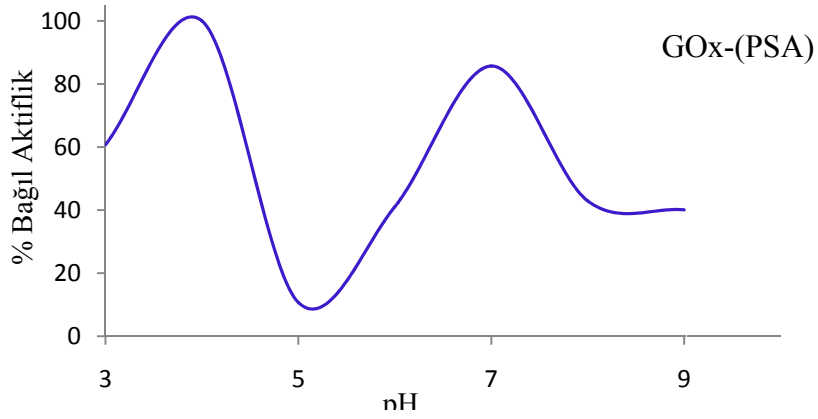


Şekil 5.8. (PSA-SalCH₃) kodlu polimerin EDX spektrumu

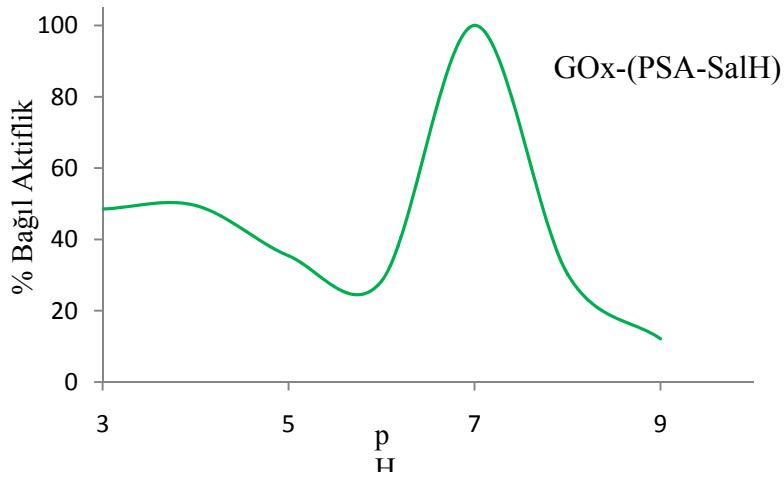
5.2. İmmobilizasyon Üzerine Çalışmalar

5.2.1. İmmobilize edilen β -glukoz oksidazın aktifliğine pH etkisi

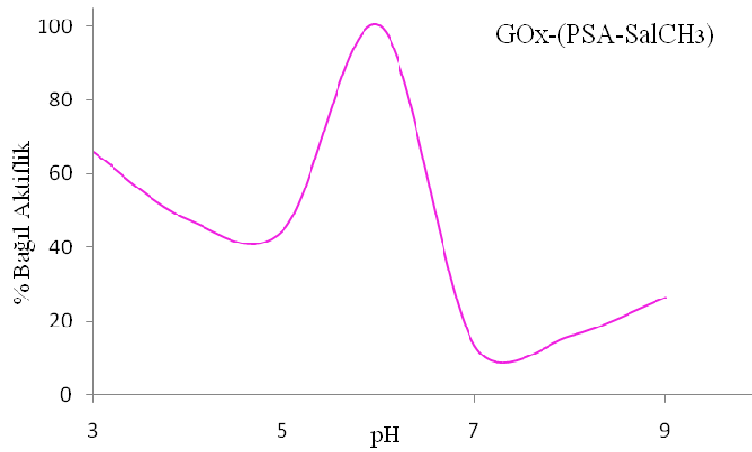
Modifiye olmuş polimerlere hidrojen bağları ile kuvvetlendirilmiş adsorpsiyon yöntemi ile immobilize edilen β -glukoz oksidazın aktifliğine pH etkisini incelemek için Bölüm 4.2.2' de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen reaksiyonlara ait maksimum aktiflik değerlerinin pH ile değişimi şekil 5.10.-5.12deki gibidir. (PSA) kodlu polimere immobilize enzim için optimum pH lar 4,0 ve 7,0 iken (PSA-SalH) kodlu polimere immobilize enzim için optimum pH 7,0, (PSA-SalCH₃) kodlu polimere immobilize enzim için optimum pH 6,0 olarak bulunmuştur.



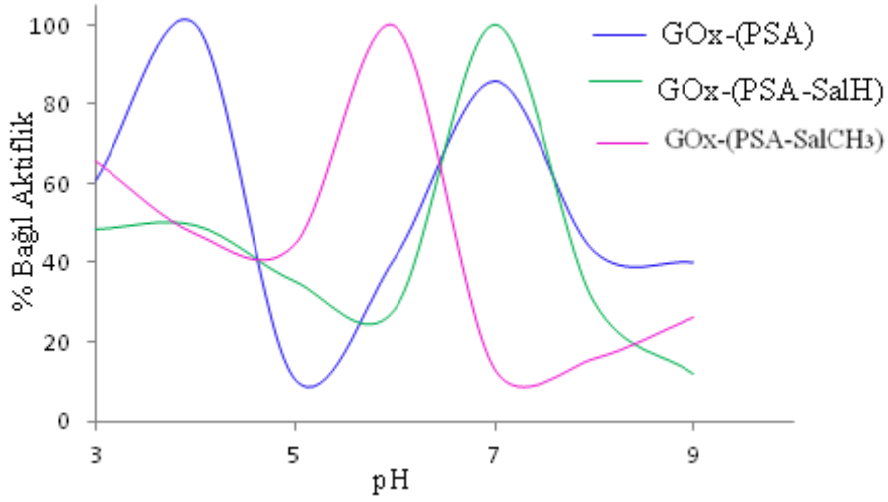
Şekil 5.9. (PSA) kodlu polimere immobilize enzimin pH grafiği



Şekil 5.10. (PSA-SalH) kodlu polimere immobilize enzimin pH grafiği



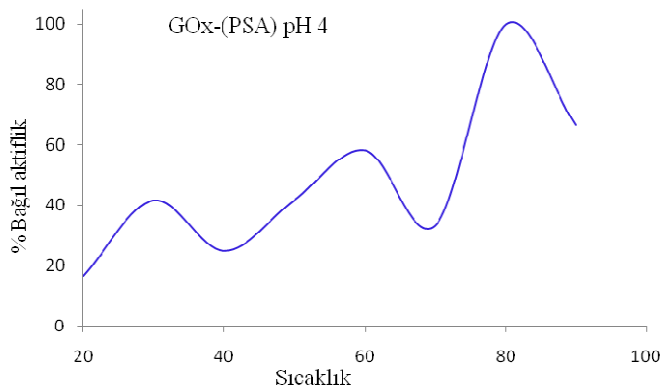
Şekil 5.11. (PSA-SalCH₃) kodlu polimere immobilize enzimin pH grafiği



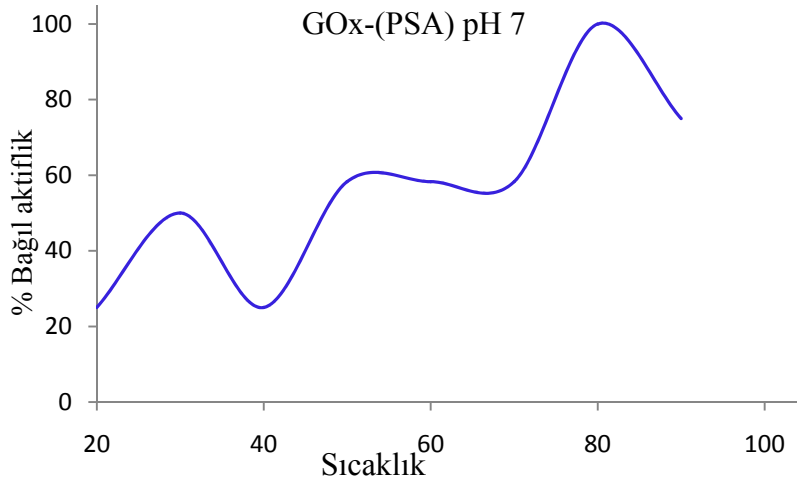
Şekil 5.12. (PSA), (PSA-SalH) ve (PSA-SalCH₃) kodlu polimerlere immobilize enzime ait karşılaştırmalı olarak çizilen pH grafiği.

5.2.2. İmmobilize edilen β -Glukoz oksidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi

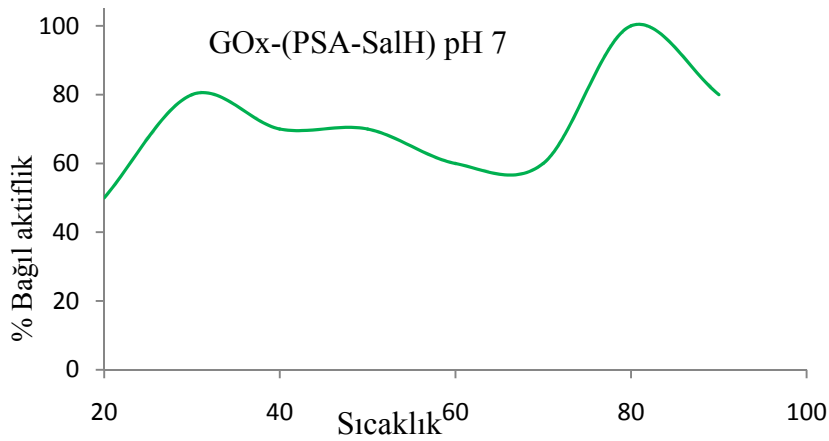
Hidrojen bağları ile kuvvetlendirilmiş adsorbsiyon yöntemiyle polimerlere immobilize edilen β -glukoz oksidazın aktifliğine sıcaklığın etkisi Bölüm 4.2.4. de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen reaksiyonlara ait maksimum aktiflik değerlerinin sıcaklık ile değişimi Şekil 5.14-5.17 arasında verilmiştir.



Şekil 5.13. (PSA) kodlu polimere immobilize enzimin pH 4,0'deki sıcaklık grafiği

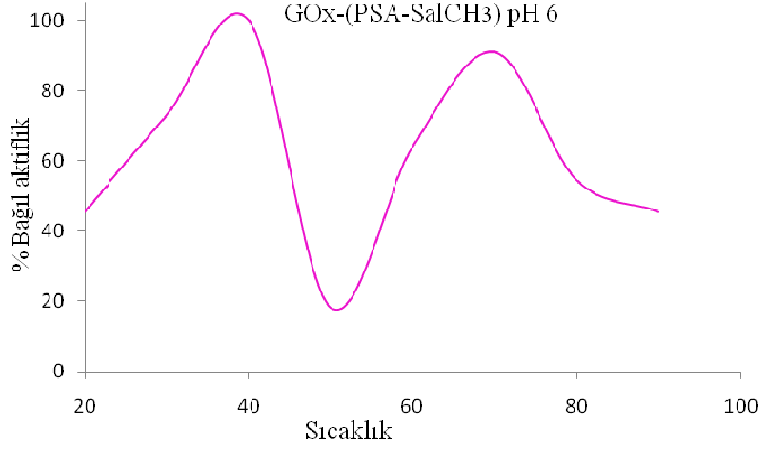


Şekil 5.14. (PSA) kodlu polimere immobilize enzimin pH 7,0 deki sıcaklık grafiği



Şekil 5.15. (PSA-SalH) kodlu polimere immobilize enzimin pH 7,0 deki sıcaklık grafiği

(PSA) kodlu polimere immobilize enzim için pH 4,0 de optimum sıcaklık 80 °C, pH 7,0 için optimum sıcaklık 80 °C iken (PSA-SalH) kodlu polimere immobilize enzim için pH 7,0 de optimum sıcaklık 80 °C ve (PSA-SalCH₃) kodlu polimere immobilize enzim için pH 6,0 da optimum sıcaklıklar 40 °C ve 70 °C olarak bulunmuştur.



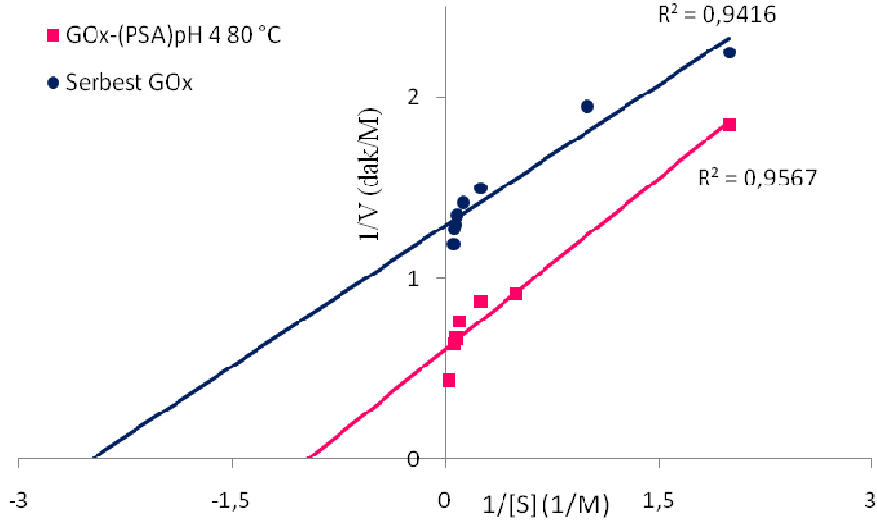
Şekil 5.16. (PSA-SalCH₃) kodlu polimere immobilize enzimin pH 6,0 daki sıcaklık grafiği

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

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

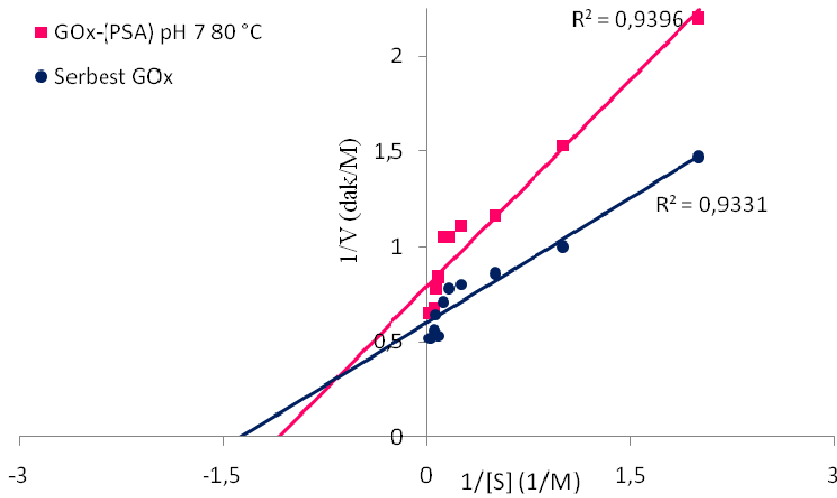
Kalibrasyon grafiğinden elde edilen sonuçlar yardımı ile hesaplanan V_{mak} ve K_m değerleri çizilen Lineaweaver-Burk grafiğinden elde edildi (Şekil 5.17-5.20).

Şekil 5.18' de (PSA) kodlu polimere immobilize enzim için pH 4,0 de 80 °C sıcaklık değeri için Lineaweaver-Burk grafiği çizilmiştir. Grafikte de görüldüğü gibi serbest haldeki β -Glukoz oksidaz ile immobilize olmuş enzimin R^2 değerleri sırası ile 0,9416 ve 0,9567 olarak ortaya çıkmıştır. Regrasyon değerinin 1'e yakın olması deneysel değerlerin birbiri ile uyumlu olduğunu göstermektedir.



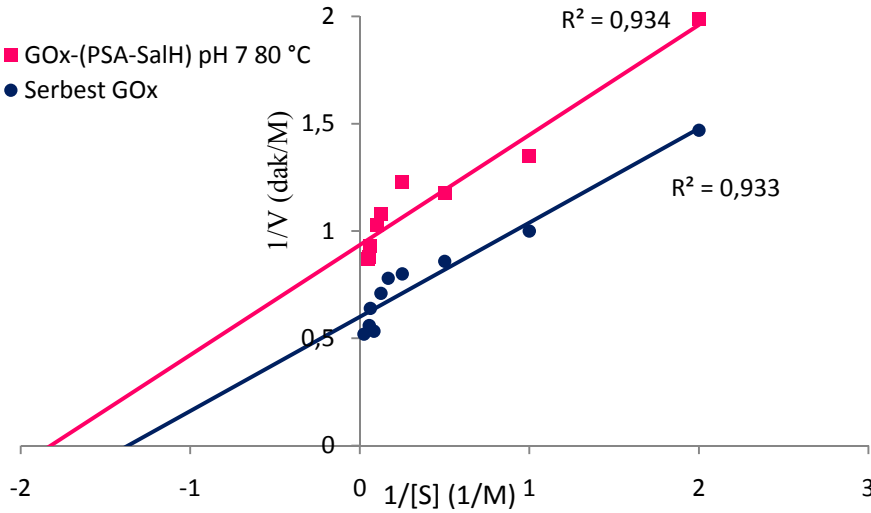
Şekil 5.17. (PSA) kodlu polimerine immobilize enzim için pH 4,0 de 80 °C sıcaklık değerinde Lineaweaver-Burk grafiği

Şekil 5.19' da (PSA) kodlu polimere immobilize enzim için pH 7,0 de 80 °C sıcaklık değeri için Lineaweaver-Burk grafiği çizilmiştir. Grafikte de görüldüğü gibi serbest haldeki β -Glukoz oksidaz ile immobilize olmuş enzimin R^2 değerleri sırası ile 0,9331 ve 0,9396 olarak ortaya çıkmıştır. Regrasyon değerinin 1'e yakın olması deneysel değerlerin birbiri ile uyumlu olduğunu göstermektedir.



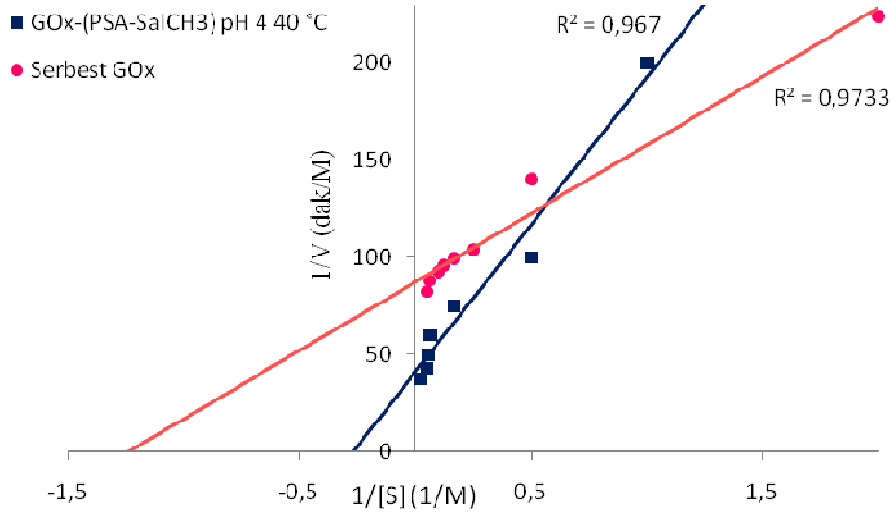
Şekil 5.18. (PSA) kodlu polimere immobilize edilen enzimin pH 7,0 de 80 °C sıcaklık değeri için Lineaweaver-Burk grafiği

Şekil 5.20' de (PSA-SalH) kodlu polimere immobilize enzimin pH 7,0 de 80 °C sıcaklık değeri için Lineaweaver-Burk grafiği çizilmiştir. Grafikte de görüldüğü gibi serbest haldeki β -Glukoz oksidaz ile immobilize olmuş enzimin R^2 değerleri sırası ile 0,9331 ve 0,9396 olarak ortaya çıkmıştır. Regrasyon değerinin 1'e yakın olması deneysel değerlerin birbiri ile uyumlu olduğunu göstermektedir.

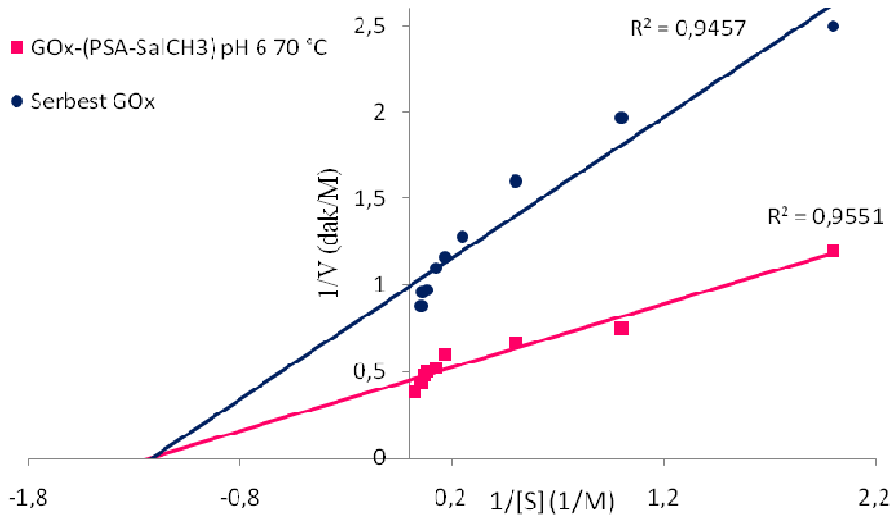


Şekil 5.19. (PSA-SalH) kodlu polimere immobilize edilen enzim için pH 7,0 de 80°C sıcaklık değeri için Lineaweaver-Burk grafiği

Şekil 5.21' de (PSA-SalCH₃) kodlu polimer için pH 6,0 da 40 °C ve 70 °C sıcaklık değerleri için Lineaweaver-Burk grafikleri çizilmiştir. Grafikte de görüldüğü gibi serbest haldeki β -Glukoz oksidaz ile immobilize olmuş enzimin R^2 değerleri sırası ile 0,9733, 0,9670 ve 0,9457, 0,9551 olarak ortaya çıkmıştır. Regrasyon değerinin 1'e yakın olması deneysel değerlerin birbiri ile uyumlu olduğunu göstermektedir.



(A)



(B)

Şekil 5.20. (PSA-SalCH₃) kodlu polimere immobilize edilen enzimin pH 6,0 da 40 °C (A) ve 70 °C (B) sıcaklık değerleri için Lineaweaver-Burk grafikleri

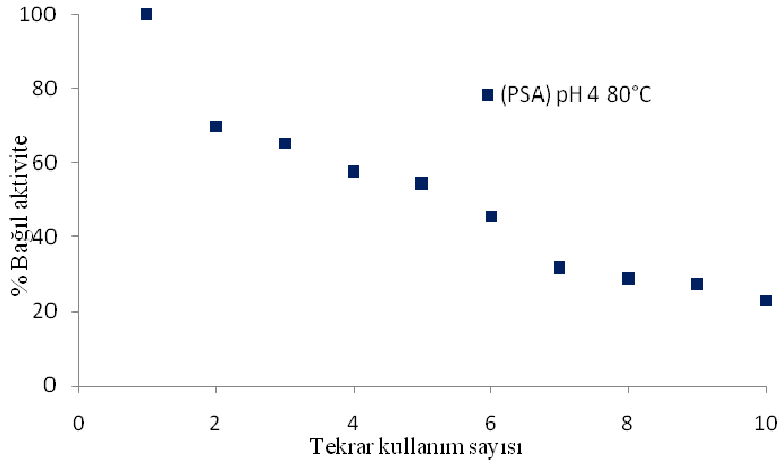
Grafiklerden elde edilen sonuçlar aşağıdaki çizelgede toplu olarak verilmiştir.

Çizelge 5.2. İmmobilize enzim ve serbest enzim için kinetik parametreler

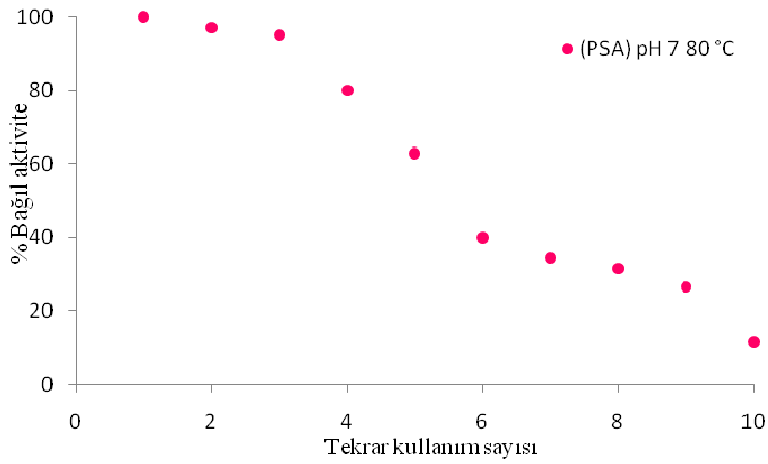
| | Vmax | Vmax | Km | Km |
|------------------|--------|------------------------------------|--------|------------------------------------|
| Çalışma Şartları | Enzim | Schiff bazı içeren polimer | Enzim | Schiff bazı içeren polimer |
| pH 4 80 °C | 0,7735 | 1,641 (PSA) | 0,400 | 0,972 (PSA) |
| pH 6 40 °C | 0,0115 | 2,406 (PSA-SalCH ₃) | 0,808 | 3,652 (PSA-SalCH ₃) |
| pH 6 70 °C | 1,0055 | 2,216 (PSA-SalCH ₃) | 0,8221 | 0,811 (PSA-SalCH ₃) |
| pH 7 80 °C | 1,67 | 1,2661 (PSA) | 0,732 | 1,09 (PSA) |
| | | 1,070 (PSA-SalH) | | 0,549 (PSA-SalH) |

5.2.4. İmmobilize β -Glukoz oksidazın tekrar kullanılabilirliği

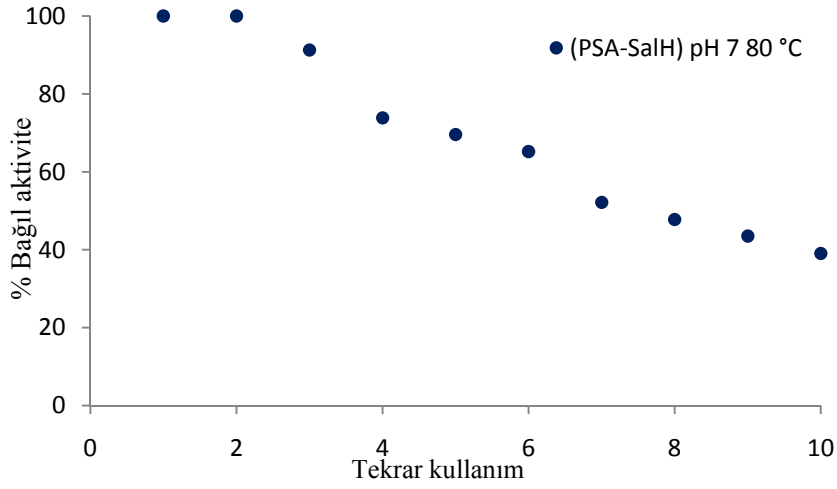
Hidrojen bağları ile kuvvetlendirilmiş adsorbsiyon yöntemiyle polimerlere immobilize edilen β -glukoz oksidazın aktifliğine substrat derişiminin etkisini incelemek için Bölüm 4.2.8' de anlatıldığı şekilde gerçekleştirilen reaksiyonlara ait göreceli aktiflik değerlerinin tekrar kullanım sayısı ile değişimi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



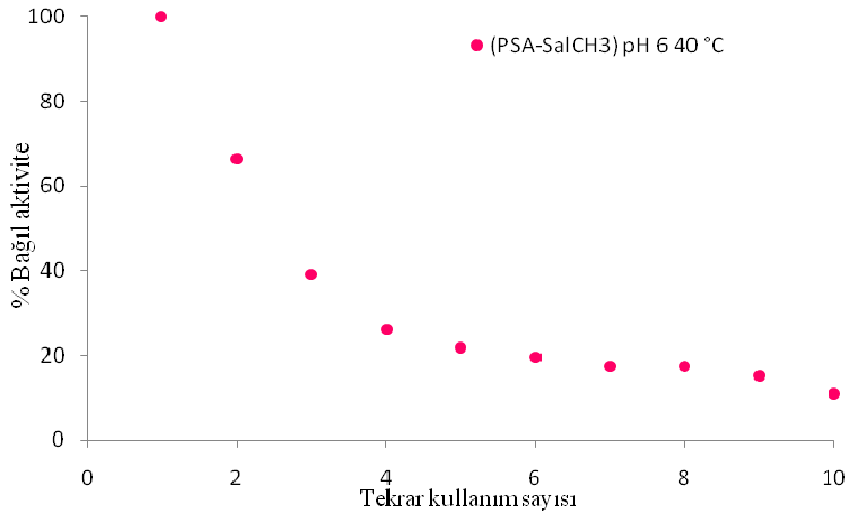
Şekil 5.21. (PSA) kodlu polimere immobilize edilen enzim için pH 4,0 de 80 °C sıcaklık değeri için tekrar kullanılabilirlik grafiği



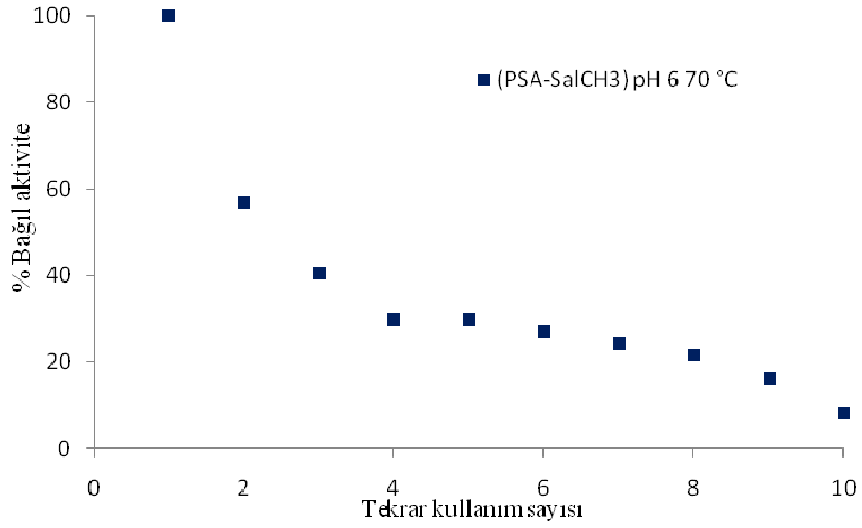
Şekil 5.22. (PSA) kodlu polimere immobilize edilen enzimin pH 7,0 de 80 °C sıcaklık değeri için tekrar kullanılabilirlik grafiği



Şekil 5.23. (PSA-SalH) kodlu polimere immobilize edilen enzimin pH 7,0 de 80 °C sıcaklık değeri için tekrar kullanım grafiği



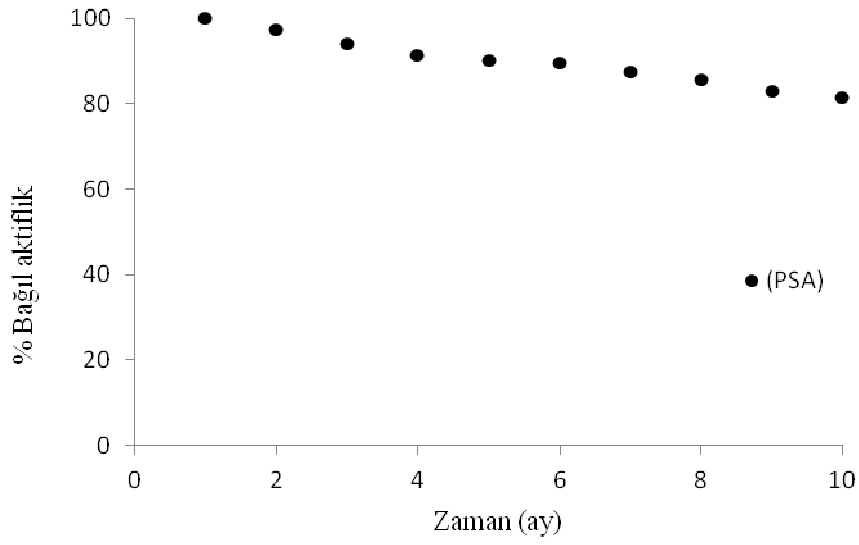
Şekil 5.24. (PSA-SalCH₃) kodlu polimere immobilize edilen enzim için pH 6,0 da 40°C sıcaklık değeri için tekrar kullanım grafiği



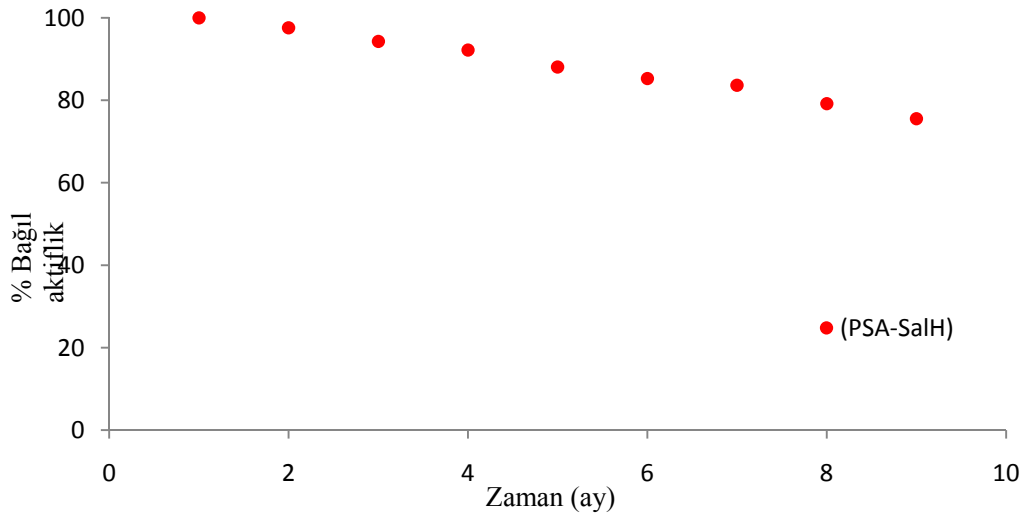
Şekil 5.25. (PSA-SalCH₃) kodlu polimere immobilize edilen enzimin pH 6,0 da 70 °C sıcaklık değeri için tekrar kullanım grafiği

5.2.5. İmobilize β -Glukoz oksidazın depo kararlılığı

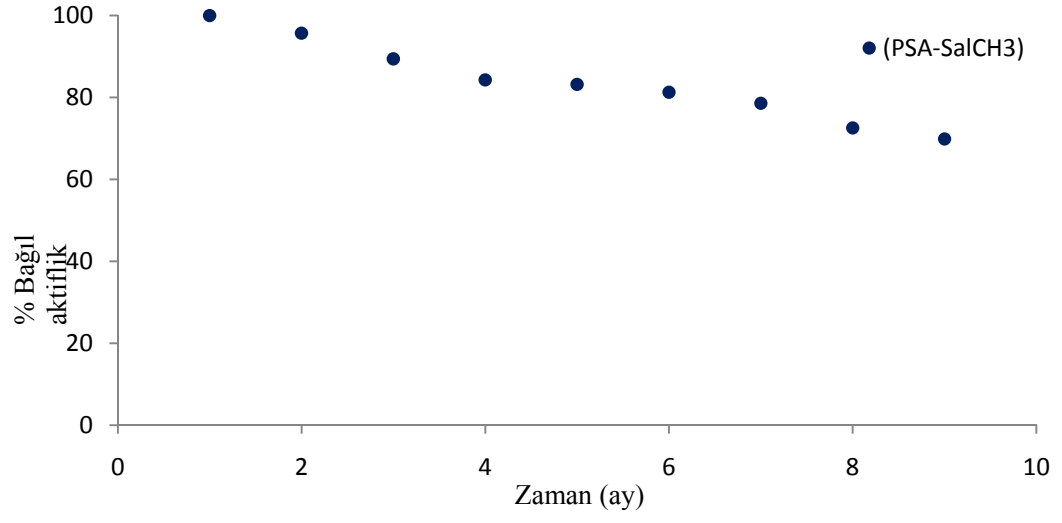
Hidrojen bağları ile kuvvetlendirilmiş adsorbsiyon yöntemiyle polimere immobilize edilen β -glukoz oksidazın depolama kararlılığı için her bir (1) ayda bir UV-GB spektrofotometresi yardımıyla 498 nm de absorbans değeri okundu.



Şekil 5.26. (PSA) kodlu polimere immobilize edilen enzim için depolama kararlılığı grafiği



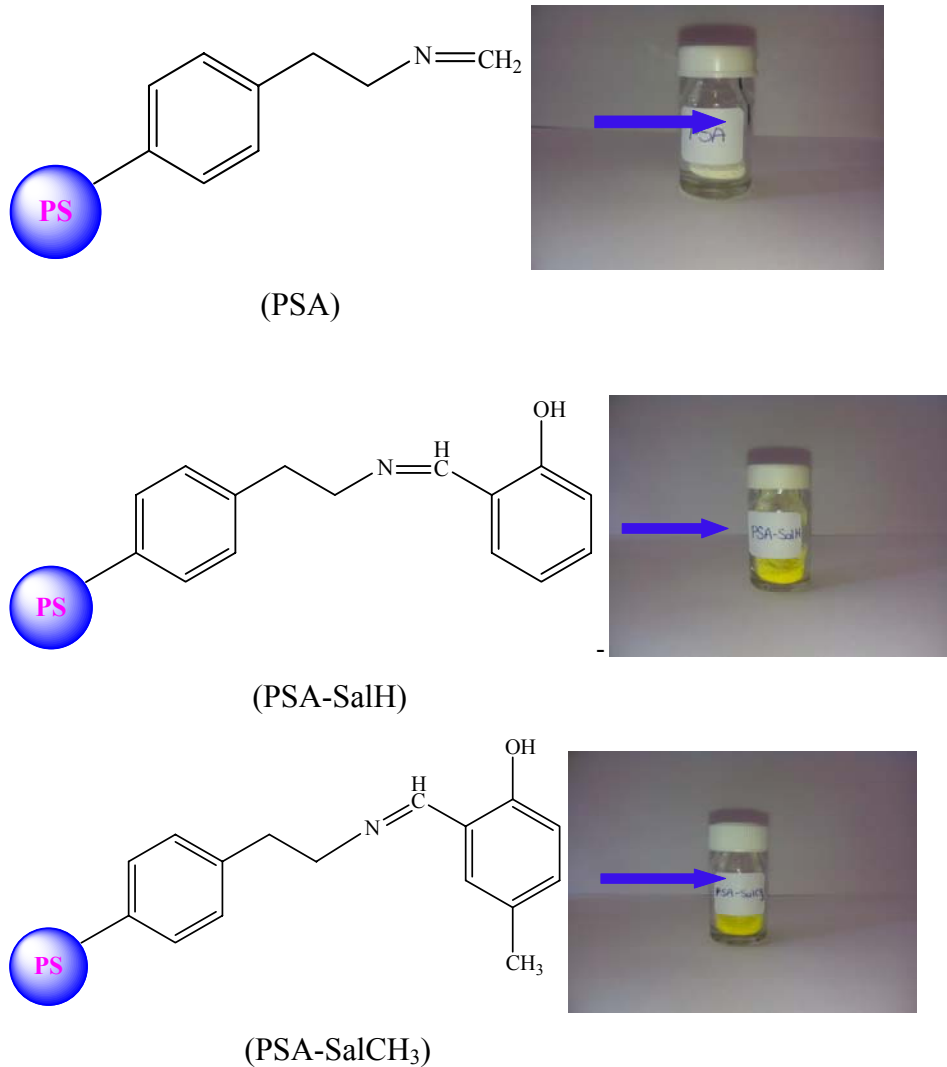
Şekil 5.27. (PSA-SalH) kodlu polimere immobilize edilen enzim için depolama kararlılığı grafiği



Şekil 5.28. (PSA-SalCH₃) kodlu polimere immobilize edilen enzim için depolama kararlılığı grafiği

6. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışma iki bölümden oluşmaktadır. Birincisi Polistiren destekli yeni iki adet polimer sentezlenmiştir. Spektral olarak karakterize edilen polimerlerde Schiff bazının oluştuğu FT-IR spektrumu ile incelenmiştir. Ayrıca (PSA) polimerinin modifikasyonu sonucunda mevcut yapının bozunmadığı polimerik yapının korunduğu SEM fotoğraflarından görülebilir. Karakterizasyon sonucunda modifiye olan polimerler için önerilen yapılar aşağıda verilmiştir (Şekil 6.1.)



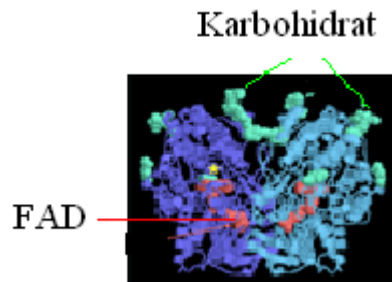
Şekil 6.1. Modifiye edilmiş polimerler için ön görülen yapılar

Tez çalışmasının ikinci bölümü enzim çalışması üzerine olmaktadır. Bu çalışmada kullanılan enzim β -Glukoz oksidaz enzimidir. B-Glukoz oksidaz enziminin serbest haldeki aktivitesine ve Polistiren destekli salisilaldehit ve salisilaldehitin $-\text{CH}_3$ türevinin takılması sonucunda oluşan polimerlere β -Glukoz oksidaz enziminin immobilize edilmesi ile enzimin aktivitesine etki eden çeşitli parametreler incelenmiştir. İncelemeler sonucunda aşağıdaki bulgular elde edilmiştir.

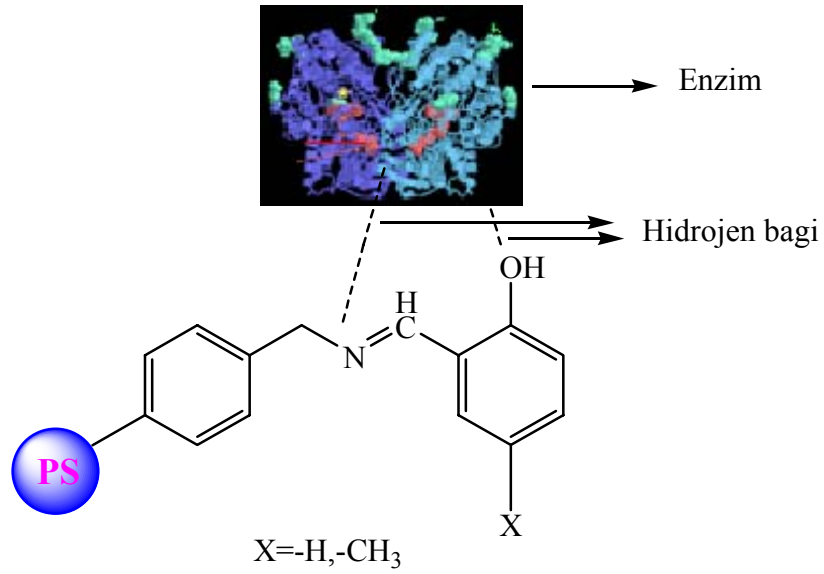
1. Serbest β -Glukoz oksidaz enziminin optimum pH'ı 5 bulunmuştur [53]. (PSA), (PSA-SalH) ve (PSA-SalCH₃) kodlu polimerler üzerine immobilize edilen β -Glukoz oksidaz enzimleri için optimum pH değerleri (PSA) kodlu polimer için pH 4,0 ve 7,0; (PSA-SalH) kodlu polimer için pH 6,0 ve (PSA-SalCH₃) kodlu polimer için pH 6,0 olarak bulunmuştur.
2. Serbest β -Glukoz oksidaz enziminin optimum sıcaklığı 60 °C olarak bulunmuştur [53]. Immobilize edilen β -Glukoz oksidaz enzimi için optimum sıcaklık değerleri (PSA) kodlu polimer için pH 4,0 de 80 °C, pH 7,0 de 80 °C olarak bulunurken, (PSA-SalH) kodlu polimer için pH 7,0 de 80 °C, (PSA-SalCH₃) kodlu polimer için pH 6,0 da 40 °C ve 70 °C olarak bulunmuştur.
3. Serbest β -Glukoz oksidaz enzimi için Km değerleri, immobilize enzimin optimum sıcaklık ve pH değerlerine göre ayrı ayrı hesaplanmıştır. pH 4,0 de 80 °C için Km değeri 0,400 mM, pH 6,0 da 40 °C için Km değeri 0,808 mM, pH 6,0 da 70 °C için Km değeri 0,8221 M ve pH 7,0 de 80 °C için Km değeri 0,732 mM olarak bulunmuştur. Immobilize edilen β -Glukoz oksidaz enzimi için Km değerleri (PSA), (PSA-SalH) ve (PSA-SalCH₃) kodlu polimerler için ayrı ayrı hesaplanmıştır. (PSA) kodlu polimer için pH 4,0 de 80 °C için Km değeri 0,972 mM, pH 7,0 de 80 °C için Km değeri 1,09 mM, (PSA-SalH) kodlu polimer için pH 7,0 de 80 °C için Km değeri 0,549 mM, (PSA-SalCH₃) kodlu polimer için pH 6 da 40°C için Km değeri 3,652 mM ve pH 6,0 da 70 °C için Km değeri 0,811 mM olarak bulunmuştur.

4. Serbest β -Glukoz oksidaz için V_{mak} değerleri pH 4,0 de 80 °C için V_{mak} değeri 0,7735 mM.dak⁻¹, pH 7,0 de 80 °C için V_{mak} değeri 1,67 mM.dak⁻¹, pH 6,0 da 40 °C için V_{mak} değeri 0,0115 mM.dak⁻¹, pH 6,0 da 70 °C için V_{mak} değeri 1,0055 mM.dak⁻¹ olarak bulunmuştur. İmmobilize edilen β -Glukoz oksidaz enzimleri için V_{mak} değerleri, (PSA) kodlu polimer için pH 4,0 de 80 °C için 1,641 mM.dak⁻¹, pH 7,0 de 80 °C için 1,2661 mM.dak⁻¹, (PSA-SalH) kodlu polimer için pH 7,0 de 70 °C için 1,070 mM.dak⁻¹ ve (PSA-SalCH₃) kodlu polimer için pH 6,0 da 40 °C için 2,406 mM.dak⁻¹, pH 6,0 da 70 °C sıcaklık değeri için 2,216 mM.dak⁻¹ olarak bulunmuştur.
5. Bu çalışmada farklı optimum pH'lar gözlenmiştir. Bu durum enzimin aktif bölgelerinin farklı pH'larda farklı amino asit kısımlarının etkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır.
6. Bu çalışmada enzimin hidrojen bağları oluşturarak immobilize edildiği söylenebilir. Bilindiği gibi glukoz oksidazın dış kabuğunda karbohidrat bulunmaktadır (Şekil 6.2.).

Karbohidratın –OH grubu, yapıdaki –NH₂ veya –COOH grupları ile, polimerin yapısındaki –CH=N- azot atomu arasında hidrojen bağları oluşabilir.



Şekil 6.2. Glukoz oksidazın iki boyutlu görünümü



Şekil6.3. Glukoz oksidaz ve polimer arasında öngörülen hidrojen bağıının oluşumu

7. Sıcaklık arttıkça Km değerlerinin genellikle arttığı Çizelge 5.1. de görülmektedir. Sübstitüe grup değıştikçe 80 °C sıcaklık çalışmalarında enzimin aktif olduğu pH nın değıştiği çizelgede görülmektedir. (PSA) için enzimin aktiflik gösterdiği pH 4,0 ve 7,0 iken (PSA-SalCH₃) için 6,0 olarak bulunmuştur. Kaynak araştırmasına göre, kataliz olayı asidik ortamda meydana geliyorsa enzimin Glu412 olarak kodlanan bölgesi, nötral ortamda reaksiyon oluşuyorsa enzimin His516 kısmı, bazik ortamda reaksiyon oluşuyorsa enzimin His559 kısmı etkili olur [54]. Bu bilgiler dikkate alındığında immobilize olan enzimin Glukoz oksidaz enziminin kataliz reaksiyonlarında rol oynayan üç önemli amino asit yan zinciri vardır. Bunlar His516, Glu412 ve His559 dur. (PSA) kodlu polimere takılan enzimin pH 4,0 de aktif olmasının nedeni enzimin Glu412 kodlu kısmının aktif rol oynadığı, pH 7,0 de aktif olmasının nedeni enzimin His516 kısmı, (PSA-SalH) kodlu polimere takılan enzimin pH 7,0 de aktif olmasının nedeni enzimin His516 kodlu kısmının aktif rol oynadığını göstermektedir. (PSA-SalCH₃) kodlu polimere takılan enzimin pH 6,0 da aktif olmasının nedeni ise enzimin His516 kısmı etkili olmaktadır [54].

Öneriler

- Hazırlanan destek polimerlerle farklı enzimlerin immobilizasyon çalışmaları yapılabilir.
- Çalışılan enzimin, depolama kararlılığı ve tekrarlanabilirliğinin daha iyi olması için yeni destekler hazırlanmalıdır.
- Hazırlanan nanoküre yapıları destek polimerlerinin hastalık teşhis ve tedavisinde kullanılabilecek örnek nanoküreler olarak değerlendirilebilir.
- Hazırlanan destek polimerindeki hidroksil ve imin gruplarıyla iki dişli ligand özelliğinden dolayı metal seçicilik araştırmasında kullanılabileceği önerilebilir.
- İmmobilize GO_x enzimi için bulunan optimum şartlar, serbest enzime göre daha sert şartlarda çalışılabildiği için önemli bir avantaj olarak değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

1. Luhana, C., Bo, X-J., Ju, J., Guo, Li-P., “A novel enzymatic glucose sensor based on Pt nanoparticles-decorated hollow carbon spheres-modified glassy carbon electrode”, *Journal of Nanoparticle Research*, 14: 1158(2012).
2. Bozkır, E., Sarı, N., Öğütçü, H., “Polystyrene Containing Carbinolamine/Azomethine Potentially Useful as Antimicrobial Agent: Synthesis and Biological Evaluation”, *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 22: 1146–1155 (2012).
3. Ge, J., Lu, D., Liu, Z., “Recent advances in nanostructured biocatalysts.”, *Biochemical Engineering Journal*, 44: 53-59 (2009).
4. Andersson, M.R., Thomas, O., Mammo, W., Svensson, M., Theander, M., Inganas, O., “Substituted polythiophenes designed for optoelectronic devices and Conductors”, *Journal Of Materials Chemistry*, 9 (9): 1933-1940 (1999).
5. Rahmanifar, M. S., Mousavi, M. S., Shamsipur, M., Heli, H., “A study on open circuit voltage reduction as a main drawback of Zn-polyaniline rechargeable batteries”, *Journal of Power Sources*, 132: 296-301 (2005).
6. Reitzle, H., Sawodny, W., “The Synthesis of polymeric Schiff base metal complexes with 4N ligands “, *Inorganica Chimica Acta*, 103: 53-55 (1985).
7. Sawodny, W., Riederer, M., “Reversible O₂-Addition to Polymeric Schiff Base Complexes of V^{II} and Mn^{II} and Their Use as Oxidation Catalysis“, *Angewandte Chemie International Edition*, 89: 897 (1977).
8. Schiff, H., “Untersuchungen über Salicinderivate”, *Liebigs Annalen der Chemie*, 150 (2): 197 (1869).
9. Pfeiffer, P., Hesse, T., Pfitzner, H., Scholl, W., Thielent, H., “Innere Komplexsalze der Aldimin- und Azoreihe” *Journal für Praktische Chemie*, 149: 217 (1937).
10. Simek, J.W., “Organic Chemistry 4th ed.”, Wade, L. G., *Prentice Hall PTR*, Upper Saddle River, New Jersey, 818-819 (1998).
11. Yang, Z., Lu, J., Wang, L., “Synthesis and Fluorescent Properties of Zn(II) Complex with Functionalized Polystyrene Containing Salicylaldehyde End Group”, *Polymer Bulletin*, 53, 249–257 (2005).
12. Kumar, K.G., John, K.S., Poduval, R., “Polystyrene Anchored Vanillin Schiff Base-Complexation and Ion Removal Studies”, *Journal of Applied Polymer Science*, 98: 1536–1539 (2005).

13. Kumar, K. G., John, K. S., “Complexation and ion removal studies of a polystyrene anchored Schiff base”, *Reactive & Functional Polymers*, 66: 1427–1433 (2006).
14. Kumar, G. S. V., Mathew, B., “Influence of the Nature of Crosslinking Agents on the Catalase-like Activity of Polystyrene-Supported Schiff Base Metal Complexes”, *Journal of Macromolecular Science*, A41 (9): 1037-1050 (2004).
15. Kim, W. S., Choi, Y. K., “Electrocatalytic effects of thionyl chloride reduction by polymeric schiff base transition metal(II) complexes” *Applied Catalysis A*, 252 (1): 163-172 (2003).
16. Chang, Y., Zha, F., Su, B., Wang, Y., “Oxidation of Styrene with Molecular Oxygen Catalyzed by Polymer-Supported O-Aminobenzoic Acid Salicylaldehyde Schiff-Base Copper(II) Complex”, *Journal of Macromolecular Science*, 43:923–931, 2006.
17. Zhao, J., Han, J., Zhang, Y., “Preparation of encapsulated and anchored alanine–salicylaldehyde Schiff base Mn(III) (Sal–Ala–Mn) complexes by sol–gel method and their performance in aerobic epoxidation of cyclohexene”, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 231:29–135 (2005).
18. Syamal, A., Singh, M. M., Kumar, D., “Syntheses And characterization of a chelating resin containing ONNO donor quadridentate Schiff base and its coordination complexes with copper(II), nickel(II), cobalt(II), iron(III), zinc(II), cadmium(II), molybdenum(VI) and uranium(VI)”, *Reactive & Functional Polymers*, 39: 27–35 (1999).
19. Lagadic, I. L., “Schiff base chelate-functionalized organoclays”, *Microporous and Mesoporous Materials*, 95:226–233 (2006).
20. Maurya, M.R., Kumar, A., Manikandan, P., Chand, S., “Synthesis, characterization and catalytic potential of oxovanadium(IV) based coordination polymers having a bridging methylene group”, *Applied Catalysis. A: General*, 277:45 (2004).
21. Behera, A.L, Patil, S.V, Sahoo, S. K., “Nanosizing of drugs: A promising approach for drug Delivery”, *Der Pharmacia Sinica*, 1 (1): 20-28 (2010).
22. Ha, T.K.K., Lean, M.E.J., “Technical Review Recommendations for the nutritional management of patients with diabetes mellitus”, *European Journal Clinical Nutrition*, 52: 467-481 (1998).
23. Delie, F., “Evaluation of nano- and microparticle uptake by the gastrointestinal tract”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 34:221–233(1998).
24. Hussain, N., Jaitley, V., Florence, A. T., “Recent advances in the understanding of

- uptake of microparticulates across the gastrointestinal lymphatics”, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 50:107–142 (2001).
25. Kreuter, J., Nanoparticles, in: J. Swarbrick, J.C. Boylan (Eds.), “Encyclopedia of pharmaceutical technology”, *Marcel Dekker*, New York, 165–190 (1994).
 26. Sahni, J.K., Doggui, S., Ali, J., Baboota, S., Dao, L., Ramassamy, C., “Neurotherapeutic applications of nanoparticles in Alzheimer's disease” , *Journal of Controlled Release*, 152:208–231 (2011).
 27. Wen, Y., Gallego, M. R., Nielsen, L. F., Jorgensen, L., Everland, H., Moller, E. H., Nielsen, H. M., “Biodegradable nanocomposite microparticles as drug delivering injectable cell scaffolds” , *Journal of Controlled Release*, 156:11–20 (2011).
 28. Şahin, E., “Poli(metil metakrilat-2-hidroksietil metakrilat) mikroboncuklarına kovalent bağlanma ile glukoz izomerazın immobilizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 3 (2007).
 29. Öcal, B. L., “Poli(vinil alkol) - kalsiyum aljinat, poli(n-izopropilakrilamid)-kalsiyum aljinat kürelerine β -galaktosidaz immobilizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 2,3,10-11 (2007).
 30. Bairoch, A., “The Enzyme Database in 2000”, *Nucleic Acid Research*, 28(1): 304-305 (2000).
 31. Chaplin, M. F., Bucke, C., “Enzyme Technology”, *Cambridge University Press*, Cambridge, (1990).
 32. Zaborsky, O., “Immobilized enzymes”, *I-3 CRC Pres*, Ohio, 58:287-292 (1974).
 33. Aksoy, C. Yanardağ, R., “Lipaz ve üreaz enzimlerinin çeşitli taşıyıcılara immobilizasyonu” Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, 1-10 (2003).
 34. Malkoç, A.,”Polimer Modifiyeli Silika Nanopartiküllerin Enzim Immobilizasyonunda Kullanımı”, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 20 (2011).
 35. Merritt, E. A., Bacon, D. J., “Raster3D: photorealistic molecular graphics”, *Methods Enzymoloji*, 277: 505–524 (1997).
 36. Rao, M.B., Tanksale, A.M., Ghatge, M.S., and Deshpande, V.V., “Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases”, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 62[3]:597-635, (1998).
 37. Arıca, Y. M., Hasırcı, V. N., “Immobilization for the production of membranes”,

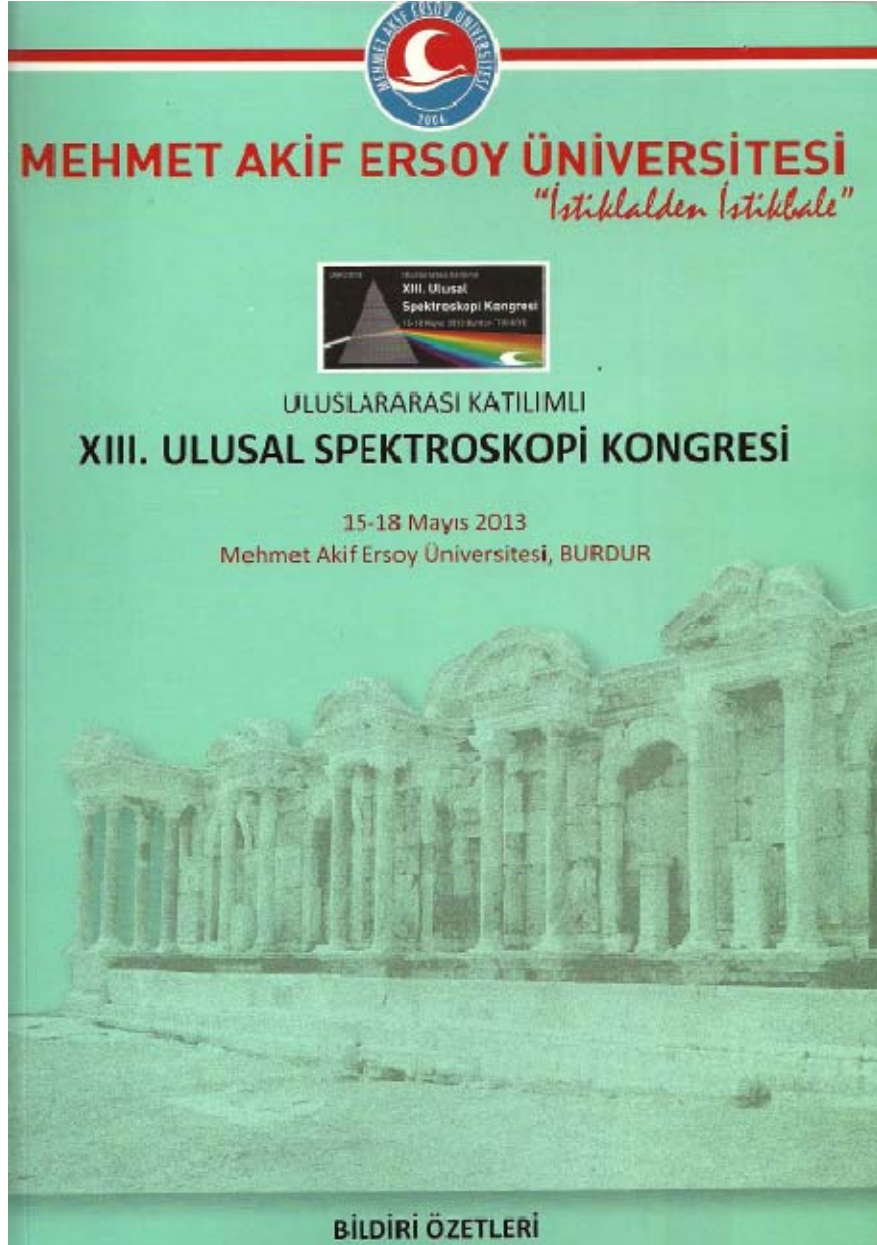
- Biomaterials*, 8: 489-495 (1987).
38. Aehle, W., "Enzymes in Industry Production and Applications", *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, USA (2004).
 39. Bankar, S. B., Bule, M. V., Singhal, R. S., Ananthanarayan, L., "Glucose oxidase- An overview", *Biotechnology Advances*, 27, 489-501 (2009).
 40. Bickerstaff, G. F., "Methods in Biotechnology: Immobilization of Enzymes and Cells, 1st ed.", Guisan, J. M. (ed.), *Humana Press*, Totowa (New jersey), 1-11 (1997).
 41. Jiang, X., Chai, Y., Yuan, R., Cao, Y., Chen, Y., Wang, H., Gan, X., "An ultrasensitive luminol cathodic electrochemiluminescence immunosensor based on glucose oxidase and nanocomposites: Graphene-carbon nanotubes and gold-platinum alloy", *Analytica Chimica Acta*, 783: 49-55 (2013).
 42. Li, F., Song, J., Li, F., Wang, X., Zhang, Q., Han, D., Ivaska, A., Niu, L., "Direct electrochemistry of glucose oxidase and biosensing for glucose based on carbon nanotubes@SnO₂-Au composite", *Biosensors and Bioelectronics*, 25: 883-888 (2009).
 43. Wu, H., Wang, J., Kang, X., Wang, C., Wang, D., Liu, J., Aksay, I. A., Lin, Y., "Glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in platinum nanoparticles/ graphene/ chitosan nanocomposite film", *Talanta*, 80: 403-406 (2009).
 44. Deng, S., Jian, G., Lei, J., Hu, Z., Ju, H., "A glucose biosensor based on direct electrochemistry of glucose oxidase immobilized on nitrogen-doped carbon nanotubes", *Biosensors and Bioelectronics*, 25: 373-377 (2009).
 45. Tasviri, M., Pour, H. A. R., Ghourchian, H., Gholami, M., "Amine functionalized TiO₂ coated on carbon nanotubes as a nanomaterial for direct electrochemistry of glucose oxidase and glucose biosensing", *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 68: 206-210 (2011).
 46. Talay, D. K., Akman, U., Hortaçsu, Ö., "Glucose oxidase immobilization on conducting polymers in supercritical CO₂ environment: An exploratory study", *Journal of Supercritical Fluids*, 42: 273-281 (2007).
 47. Libertino, S., Aiello, V., Scandurra, A., Renis, M., Sinatra, F., "Immobilization of the Enzyme Glucose Oxidase on Both Bulk and Porous SiO₂ Surfaces", *Sensors*, 8: 5637-5648 (2008).
 48. Jung, D., Hartmann, M., "Oxidation of indole with CPO and GO_x immobilized on

mesoporous molecular sieves”, *Catalysis Today*, 157: 378-383 (2010).

49. Jung, D., Streb, C., Hartmann, M., “Oxidation of indole using chloroperoxidase and glucose oxidase immobilized on SBA-15 as tandem biocatalyst”, *Microporous and Mesoporous Materials*, 113: 523-529 (2008).
50. Ghica, M. E., Brett, C. M. A., “Glucose oxidase inhibition in poly(neutral red) mediated enzyme biosensors for heavy metal determination”, *Microchim Acta*, 163: 185-193 (2008).
51. Ohnuki, H., Saiki, T., Kusakari, A., Ichihara, M., Izumi, M., “Immobilization of glucose oxidase in Langmuir-Blodgett films containing Prussian blue nano-clusters”, *Thin Solid Films*, 516: 8860-8864 (2008).
52. Bozkır, E., “(Aminometil)Polistirenin Modifiye Edilerek Karbinolamin, Schiff Bazı ve Onların Ni(II) ve Cr(III) Koordinasyon Polimerlerinin Sentezi ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Değerlendirilmesi” Yüksek lisans tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 23-84 (2011).
53. Antepli, E., Nartop, D., Sarı, N., Yetim, N. K., “Polystyrene Attached Pt(IV)-Azomethine, Synthesis and Immobilization of Glucose Oxidase Enzyme”, *International Journal of Molecular Sciences* (2012).
54. Leskovaca, V., Trivic, S., Wohlgahrt, G., Kandrak, J., Pericin, D., *Tje International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37:731-750 (2005).

EKLER

Ek-1.XIII. Ulusal Spektroskopi Kongresi Kitapçığının Kapak Sayfası Görüntüsü



Ek-2.XIII. Ulusal Spektroskopi Kongresine 'Glukoz oksidaz enziminin aktif bölgelerinin spektrofotometrik olarak incelenmesi' isimli sözel sunum özeti

Uluslararası Katılımı
XIII. Ulusal Spektroskopi Kongresi
15-18 Mayıs 2013, BURDUR-TÜRKİYE



S-17
**AMİN VE SCHIFF BAZI İÇEREN NANOKÜRELERLE ETKİLEŞMİŞ,
GLUKOZ OKSİDAZ ENZİMİNİN AKTİF BÖLGELERİNİN
SPEKTROFOTOMETRİK OLARAK İNCELENMESİ**

Nursen SARI¹, Seda KAYHAN¹, Dilek NARTOP²

¹Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, 06100 Beşevler, Ankara
²Neveşehir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 50300 Neveşehir
nursens@gazi.edu.tr

Bir reaksiyonun ilerlemesine yardımcı olan enzimin tekrar kullanımı sağlamak, istenilen anda ortamdaki uzaklaştırmak ve enzimin çalışma ortamında kontrolünü sağlamak için bir taşıyıcıya bağlamak son yıllarda endüstriyel ve teknolojik uygulamalarında önem arz etmektedir [1,2].

Sunulan çalışmada Glukoz oksidaz enzimi (GOx), Schiff bazı ve -NH₂ içeren nanoküreli destek polimerlerine ([PSA-NH₂], [PSA-SalH] ve [PSA-SalCH₃]), aktif merkezi korunarak bağlanması sağlanmıştır. Schiff bazı takılması, polistiren-NH₂ ile Salisilaldehit (SalH) ve 2-hidroksi-5-metilbenzaldehit (Sal-CH₃)'in katılma-ayırma reaksiyonları sonucunda oluşan ürünler olup, yapısı FT-IR, Element analizi ve GPC spektral analizlerle yorumlanmış, nanokürelerin yüzey morfolojisi SEM-EDX analizi ile incelenmiştir. Schiff bazı takılı nanoküreli polimere enzim (GOx) immobilize edildikten sonra, enzimin hangi bölgesinin aktif olduğuna karar vermek için optimum pH parametreleri incelenmiştir. Bunun yanı sıra, immobilize enzimin (GOx) sıcaklık, tekrar kullanım, depolama kararlılığı gibi, biokataliz olarak incelenebileceği parametrelerin etkisinde araştırılmıştır.

(PSA-NH₂) desteğine immobilize edilen enzim için Glu412 ve His516, (PSA-SalH) desteğine immobilize edilen enzim için His 516 ve (PSA-SalCH₃) desteğine immobilize edilen enzim için de His516 kısmın aktif olabileceğine karar verildi.

Kaynaklar:

- [1] E. Aynacı, N. Sarı, H. Turturk, *Artif. Cell. Blood. Sup.* (2011) 39, 259-266.
[2] N.Sarı, E. Antepli, D. Nartop, N. K. Yetim, *Int. J. Mol. Sci.* (2012) 13, 11870-11880.

Ek-3.XXV. Ulusal Biyokimya Kongresi Kitapçığının Kapak Sayfası Görüntüsü



Ek-4.XXV. Ulusal Biyokimya Kongresine 'Nanokürel Polimerik Destek Üzerine Biyokataliz Olarak Glukoz Oksidaz Enziminin Kullanımı' isimli sözel sunum özeti

XXV. ULUSAL BİYOKİMYA KONGRESİ

25. Ulusal Biyokimya Kongresi, İzmir (25th National Biochemistry Congress, İzmir / TURKEY)



3 - 6 Eylül 2013
Kaya Otel & Convention Center, İzmir

S-017 - NANOKÜRELİ POLİMERİK DESTEK ÜZERİNE
BİYOKATALİZ OLARAK GLUKOZ OKSİDAZ ENZİMİNİN
KULLANIMI

¹ Nurşen Sarı, ¹ Nurbanu Özdem, ¹ Seda Kayhan, ¹ Fatma Arslan

¹ Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya, Ankara

Amaç: Polimer tabanlı makromoleküllerin yapısında oksijen, azot ve kükürt gibi elektronegatif gruplar bulunduğu, immobilize edilen enzim ile hidrojen bağı yapabilir, böylece birezim desteğe aktif merkezinin yapısını bozmadan bağlanabilir. Hidrojen bağının immobilizasyon üzerine etkisini araştırmak için, kükürt içeren beş karbonlu aromatik halkaya sahip polimer desteğin hazırlanması hedeflendi. **Gereç ve Yöntem:** Enzimi immobilize etmek için polimerik destek hazırlarken (aminometil)polistiren (APS) ve tiyofen aldehit (tio) ile reaksiyona sokuldu. **Bulgular:** Yapılan biyokataliz çalışmalarında, yeni desteğe (APS-tio) glukoz oksidaz (GOx) enziminin immobilizasyonu sonucunda pH 4 ve 7'de iki optimum gözlemlendi. Ayrıca her bir optimum pH'da ki optimum sıcaklıklar pH= 4 için 30 °C ve 50 °C ; pH= 7 için 30 °C ve 70 °C olarak bulundu. Serbest GOx ve immobilize GOx enzimlerinin 10 ay boyunca depolama kararlılığı araştırıldı. Buna göre başlangıç aktivitelerinin sırasıyla %92,30 ve %82,61 olarak korunduğu belirlendi. Yeni destek polimerine immobilize olan enzimin depolama kararlılığı ve tekrarlanabilirliğinin yanı sıra Km ve Vmax değerleri belirlendi. Km değerine göre immobilize enzimin serbest enzimden daha aktif olduğu belirlendi. **Sonuç:** Hazırlanan (APS-tio) desteğinin GOx'in biyokataliz olarak kullanımının uygun olduğu kararı verildi. Sunulan bu çalışma Gazi Üniversitesi BAP tarafından 05/2010-75 ve 05/2012-68 nolu projelerince desteklenmiştir.

S-017 - USE OF GLUCOSE OXIDASE ENZYME AS BIOCATALYSIS
ON NANOPLATFORMS

¹ Nurşen Sarı, ¹ Nurbanu Özdem, ¹ Seda Kayhan, ¹ Fatma Arslan

¹ Chemistry, Gazi University Science Faculty, Ankara

Objective: If a polymer-based macromolecule supports have electronegative groups like oxygen, nitrogen and sulfur may be useful for increasing the enzyme stability via hydrogen bonding attachment. So, the surface on which the enzyme is immobilized has several vital roles to play such as retaining of tertiary structure in the enzyme through hydrogen bonding. To investigate the effect of hydrogen bond on enzyme immobilization prepared new polymeric support attached aromatic ring with five carbon including S. **Material and Methods:** To prepare such a polymeric support, the polystyrene-ANH2 (PSA) reacted with thiophenealdehyde by means of condensation method. **Results:** New support (PSA-tio) two optimum pH were observed at 4 and 7. The optimum temperature for immobilized glucose oxidase was found to be 30 °C and 50 °C at pH= 4; 30 °C and 70 °C at pH= 7 for support (PSA-tio) polymer. After 10 months, the free GOx and immobilized enzyme retained 92.30 % and 82.61 % of their original activity, respectively. Kinetic parameters were studied for free GOx and immobilized glucose oxidase optimum at pH and temperature. In our study the immobilized form of the enzyme was much more stable than the free enzyme. Furthermore, operational and storage stabilities of GOx were dramatically improved following immobilization. **Conclusion:** These kinds of superior properties of our developed immobilization strategy would be great advantages for various industrial applications, not only for GOx but also for other enzymes. This work was supported by Gazi University Research Fund (Project number: 05/2010-75 and 05/2012-68).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı,adı : KAYHAN, Seda
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 08.10.1987 Ankara
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (506) 482 12 74
e-mail : seddakayhan@gmail.com

Eğitim

| Derece | Eğitim Birimi | Mezuniyet Tarihi |
|--------|--|------------------|
| Lisans | Gazi Üniversitesi / Kimya Bölümü | 2010 |
| Lise | Seyranbağları Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi | 2005 |

İş Deneyimi

| Yıl | Yer | Görev |
|-----------|-------------------|------------------|
| 2010-2013 | Gazi Üniversitesi | Öğrenci Asistanı |

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Kitap okumak, Müzik dinlemek, Yüzmek

Akademik Aktiviteler

-Nurşen Sarı, Nurbanu Özdem, Seda Kayhan, Fatma Arslan, 2013. Nanokürelî Polimerik Destek Üzerine Biyokataliz Olarak Glukoz Oksidaz Enziminin Kullanımı, XXV. Ulusal Biyokimya Kongresi İZMİR (sözel sunum).

-Nurşen Sarı, Seda Kayhan, Dilek Nartop, 2013. Amin ve Schiff bazı içeren nanokürelîlerle etkileşmiş, Glukoz oksidaz enziminin aktif bölgelerinin

spektrofotometrik olarak incelenmesi, Uluslararası Katılımlı XIII. Ulusal Spektroskopi Kongresi BURDUR (sözel sunum).

- Nihat Pişkin, Nurşen Sarı, Seda Kayhan, Esin Antepi, Murat Gümüş, 2011. Synthesis and biological evaluation of amino acid-Schiff bases as antimicrobial agents, 1st International Symposium of Secondary Metabolites: Chemical, Biological and Biotechnological Properties (ISSMET2011), Denizli, Türkiye, Denizli, Türkiye