

**UV TEKNİĞİ KULLANILARAK
AGAROSE BİJELLERİN FAZ
GEÇİŞLERİNİN İNCELENMESİ**

ÖMER BAHADIR MERGEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZİK ANABİLİM DALI

Danışman: Doç.Dr. ERTAN ARDA

EDİRNE - 2012

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

UV TEKNİĞİ KULLANILARAK AGAROSE BİOJELLERİN
FAZ GEÇİŞLERİNİN İNCELENMESİ

Ömer Bahadır MERGEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZİK ANABİLİM DALI

Danışman : Doç.Dr. Ertan ARDA

EDİRNE – 2012


T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

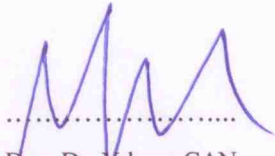
UV TEKNİĞİ KULLANILARAK AGAROSE BİOJELLERİN
FAZ GEÇİŞLERİNİN İNCELENMESİ

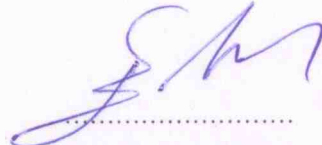
Ömer Bahadır MERGEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZİK ANABİLİM DALI

Bu tez 02/08/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından kabul edilmiştir.


.....
Prof. Dr. Hasan AKBAŞ
Üye


.....
Doç. Dr. Yılmaz ÇAN
Üye


.....
Doç. Dr. Ertan ARDA
Tez Yöneticisi

Yüksek Lisans Tezi
UV Tekniği Kullanılarak Agarose Biojellerin
Faz Geçişlerinin İncelenmesi
Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Fizik Anabilim Dalı

ÖZET

Bu çalışmada, fiziksel bağlı agarose biojellerin jelleşme süreci ve farklı konsantrasyonlarındaki faz geçişleri foton geçirme tekniği kullanılarak incelendi. Yapılan deneylerde üç farklı agarose malzemesi kullanıldı. Type 1-B (Sigma A0576) için sekiz (30, 50, 75, 100, 150, 200, 300 ve 400 mg), Type 2-A (Sigma A9918) için yedi (30, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 mg) ve Low Melting Point (Sigma A9414) içinde yedi (50, 75, 100, 150, 200, 250 ve 300 mg) farklı konsantrasyonda agarose jel örnekleri hazırlandı.

Her üç agarose malzemesi için yapılan deneylerde sol-jel ve jel-sol sıcaklıklarını (T_{sg} ve T_{gs}) ve aktivasyon enerjilerini (ΔE_{sg} ve ΔE_{gs}) belirlemek için sıcaklığa bağlı olarak örnek üzerinden geçen ışık şiddeti I_{tr} kullanılmıştır. Sol-jel ve jel-sol geçiş aktivasyon enerjileri Arrhenius tipi ifadelerden yararlanılarak hesaplanmıştır.

Yapılan deneylerin tümünde sol-jel ve jel-sol faz geçişleri arasında bir histeresis (gecikme) gözlenmiştir. Deney sonuçları karşılaştırmalı ve grafiksel olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçların diğer deneysel tekniklerle yapılan benzer çalışmalarla uyum içinde oldukları gözlemlenmiştir.

Yıl : 2012

Sayfa : 56

Anahtar kelimeler : Agarose jel, histeresis, faz geçişi, kritik geçiş sıcaklığı, aktivasyon enerjisi

Postgraduate Thesis
Investigation of Phase Transition of Agarose Biogels by Using UV Technique
Trakya University Institute of natural Sciences
Department of Physics

ABSTARCT

In this work, gelation processes of agarose biogels and their phase transitions are examined by using photon transmission technique. In experiment three different agarose materials are used. For Type 1-B (Sigma A0576) eight (30, 50, 75, 100, 150, 200, 300 and 400 mg), for Type 2-A (Sigma A9918) seven (30, 50, 75, 100, 150, 200 and 300 mg) and Low Melting Point (Sigma A9414) seven (50, 75, 100, 150, 200, 250 and 300 mg) different concentration agarose gel samples are prepared.

Temperature dependent transmitted light intensity, I_{tr} is used to determine the sol-gel and gel-sol temperature (T_{sg} and T_{gs}) and transition activation energies (ΔE_{sg} and ΔE_{gs}) for all samples. Gel-sol and sol-gel activation energies are calculated by using Arrhenius type equation.

In all experimental results, a hysteresis is observed between sol-gel and gel-sol transitions. Experiments results are given comparatively and graphically. It is observed that the our results are accordant with the other similar experimental techniques in similar studies.

Year : 2012

Page : 56

Key Words : Agarose gel, hysteresis, phase transmission, activation energies, critical transition temperature

ÖNSÖZ

Faz geçişleri ve yüksek miktarda çözücü absorplayabilme özelliği nedeniyle polimerik jeller başta tıp, ilaç, gıda, kimya ve tarım olmak üzere birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bilim ve teknolojinin gelişimiyle, polimerik jellerin yeni özelliklere sahip farklı çeşitleri üretilmektedir.

Polimerik jellerin pek çok uygulamada tercih edilmesi polimer bilimini oldukça önemli bir konuma getirmektedir. Bu çalışmada fiziksel bağlı 3 farklı agarose biopolimerinin farklı konsantrasyonlardaki jel oluşumları ve faz geçişleri incelenmiştir.

Yüksek lisans sürecindeki çalışmalarda bana yol gösteren, destek olan Yüksek Lisans Tez Yöneticisi Hocam Doç. Dr. Ertan Arda'ya teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarda bilgisini ve desteğini eksik etmeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Selim Kara ve Uzman Fahrettin Dolaştır'a, çalışma arkadaşım Cenk Çevikdizici'ye, bana her konuda destek veren aileme ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulan bu çalışma, T.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından TÜBAP-2011/52 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Ağustos 2012

Ömer Bahadır MERGEN

İÇİNDEKİLER

Özet	i
Abstarct	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	iv
Simgeler Dizini	vi
Tablo listesi	viii
Şekil listesi	ix

BÖLÜM 1. GİRİŞ 1

1.1.Polimerlerin Sınıflandırılması	2
1.1.1. Elde Edilişlerine Göre	2
1.1.2. Kimyasal Bileşimlerine Göre	3
1.1.3. Yapılarına Göre	3
1.1.4. Bağ Yapılarına Göre	4
1.1.5. Sentez Yöntemlerine Göre	5
1.1.6. İşleme Şekilleri veya Çözücülere Karşı Davranışlarına Göre	6
1.1.7. Fiziksel Durumuna Göre	6
1.2.Polimerlerde Isıl Geçişler	7
1.3.Polimerlerin Molekül Ağırlıkları	9
1.3.1. Sayıca Ortalama Molekül Ağırlığı	10
1.3.2. Ağırlıkça Ortalama Molekül Ağırlığı	10
1.3.3. Viskozite Ortalaması Molekül Ağırlığı	11

BÖLÜM 2. JELLERİN SINIFLANDIRILMASI VE GENEL ÖZELLİKLERİ 13

2.1. Jellerin Genel Özellikleri	13
2.2. Kimyasal Jeller (Kovalent Bağlı Jeller)	17
2.3. Fiziksel Bağlı Jeller	18

BÖLÜM 3. AGAROSE JELLERİN YAPISI VE ÖZELLİKLERİ	21
3.1. Agarose Jellerin Yapısı	21
3.2. Agarose'un Kullanım Alanları	23
3.3. Agarose Jellerin Oluşumu	25
BÖLÜM 4. KULLANILAN ALETLER MALZEME VE YÖNTEM	30
4.1. UV-Visible Spektrofotometre	30
4.2. Beer Lambert Yasası	33
4.3. Kullanılan Malzemeler	35
4.4. Agarose Jel Örneklerinin Hazırlanışı	35
BÖLÜM 5. DENEYLER SONUÇLARI VE TARTIŞMA	38
5.1. Agarose Biojellerin Faz Geçişleri	38
5.2. Kritik Geçiş Sıcaklıkları	44
5.3 Sol-Jel ve Jel-Sol Geçiş Aktivasyon enerjileri	49
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	56

SİMGELER DİZİNİ

SİMGELER

A	Moleküllerin birbirine çarpma hızı
E_a	Aktivasyon enerjisi (J/mol)
k	Reaksiyon hız değişmezi
k_B	Boltzman sabiti
I_o	Jel örneği üzerine gelen ışık şiddeti
I_{sc}	Saçılan ışık şiddeti
I_{tr}	Örnekten geçen ışık şiddeti
M_c	İki çapraz bağ noktası arasındaki zincirin molekül ağırlığı
\overline{M}_n	Sayıca ortalama molekül ağırlığı
\overline{M}_w	Ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı
\overline{M}_v	Viskozite ortalaması molekül ağırlığı
n	Bir polimer örneğindeki mol sayısı
R	Gaz sabiti (8.3145 J/mol K)
T	Mutlak sıcaklık (K)
T_g	Camsı geçiş sıcaklığı
T_{gs}	Jel-sol geçiş sıcaklığı
T_m	Erime sıcaklığı
T_{sg}	Sol-jel geçiş sıcaklığı
ΔE_{gs}	Jel-sol geçişi aktivasyon enerjisi
ΔE_{sg}	Sol-jel geçişi aktivasyon enerjisi

KISALTMALAR

DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre
LMP	Low melting point (Düşük Erime Noktası)
NMR	Nükleer magnetik rezonans
Sol	Solution (Çözelti)
TP	Termoplastikler
TS	Termoset plastikler

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1: Bazı polimerlerin T_g ve T_m değerleri	8
Tablo 1.2: Bazı moleküllerin molekül ağırlıkları	9
Tablo 3.1: Agarose'un bazı kullanım alanları	23
Tablo 4.1: Deneylerde kullanılan malzemelerin bazı özellikleri	35

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1: Polimerlerde gözlenen yapısal zincir biçimleri	5
Şekil 1.2: Heterojen bir molekül ağırlık dağılımına sahip polimer	12
Şekil 2.1: Çapraz bağlı hidrojelin yapısı	15
Şekil 2.2: İdeal jelin (A) ve heterojen jelin (B) şematik gösterimi	16
Şekil 2.3: İyonik, hidrojen ve koordinasyon bağlı fiziksel jel örnekleri	18
Şekil 2.4: Domain model	19
Şekil 2.5: Egg-Box (yumurta kutusu) modeli	20
Şekil 3.1: İdealleştirilmiş AB şeklinde tekrar eden agarose zinciri	22
Şekil 3.2: Agarose'un temsili sol-jel ve jel-sol geçiş mekanizması	26
Şekil 3.3: Agarose'un jelleşme mekanizmasının şematik temsili	27
Şekil 3.4: Agarose çözeltisindeki molekül içi hidrojen bağları	28
Şekil 3.5: Agarose çözeltisindeki moleküller arası hidrojen bağları	28
Şekil 3.6: Domain modelin şematik temsili	29
Şekil 4.1: Varian Cary 100 Bio UV-Visible Spektrofotometre	30
Şekil 4.2: UV-Visible spektrofotometrenin optik düzeneği	31
Şekil 4.3: Spektrofotometrenin ölçüm hücresinin üstten görünüşü	32
Şekil 4.4: Varian Cary 100 Bio UV-visible spektrofotometrenin ölçüm bölmesi	33
Şekil 4.5: Küvet içindeki örneğe gelen ve geçen ışık	34
Şekil 4.6: Dijital terazi ve ısıtıcılı manyetik karıştırıcı	36
Şekil 4.7: Agarose jel örneklerinin hazırlanması-1	36
Şekil 4.8: Agarose jel örneklerinin hazırlanması-2	37
Şekil 5.1: Agarose Type 1-B örneklerinin UV-vis spektrofotometrede 400 nm dalgaboyu için alınan sıcaklığa bağlı ışık şiddeti geçiş eğrileri	39
Şekil 5.2: Agarose Type 2-A örneklerinin UV-vis spektrofotometrede 400 nm dalgaboyu için alınan sıcaklığa bağlı ışık şiddeti geçiş eğrileri	40

Şekil 5.3: Agarose LMP örneklerinin UV-vis spektrofotometrede 400 nm dalgaboyu için alınan sıcaklığa bağlı ışık şiddeti geçiş eğrileri	41
Şekil 5.4: 100 mg'lık üç farklı örneğin karşılaştırılması	42
Şekil 5.5: Üç malzemeye ait geçirgenlik değişimine bağlı jel şiddetleri	43
Şekil 5.6: Agarose Type 1-B A0576 için (a) ısıtma (b) soğutma süreçlerinde ışık geçirgenliğinin sıcaklığa göre türevleri	44
Şekil 5.7: Agarose Type 2-A A9918 için (a) ısıtma (b) soğutma süreçlerinde ışık geçirgenliğinin sıcaklığa göre türevleri	45
Şekil 5.8: Agarose LMP A9414 için (a) ısıtma (b) soğutma süreçlerinde ışık geçirgenliğinin sıcaklığa göre türevleri	46
Şekil 5.9: 3 örnek için (a) jel-sol (b) sol-jel geçiş sıcaklıklarının konsantrasyon bağımlılıkları	47
Şekil 5.10: (a) Type 1-B A0576 (b) Type 2-A A9918 (c) LMP A9414 için 100 mg agarose örneğinin denklem 1'e göre çizilen grafikleri	50
Şekil 5.11: (a) Jel-sol (ısıtma) (b) sol-jel (soğutma) süreçleri için hesaplanan geçiş aktivasyon enerjilerinin agarose konsantrasyonuna bağlı değişimi	51

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Monomerler, birbirine kovalent bağlarla bağlanarak büyük moleküller oluşturabilen küçük mol kütleli kimyasal maddelerdir. Polimer ise monomerlerin birbirine bağlanarak oluşturdukları büyük molekülün adıdır. Polimer kelime olarak, tekrarlanan yapısal kümelerin oluşturduğu yüksek molekül ağırlıklı bileşikler şeklinde tanımlanır. Polimer kelimesi, çok anlamına gelen poly- ve tanecik, küçük parça anlamına gelen –meros kelimelerinden türemiştir.

Monomerlerden oluşan uzun polimer molekülü bir zincire, monomer molekülleri ise zinciri oluşturan halkalara benzetilebilir. Bu nedenle, polimer molekülü yerine çoğu kez polimer zinciri kavramı kullanılır. Polimer molekülleri için büyüklüklerinden dolayı makromolekül adlandırılması da sıkça yapılır.

Sentetik olarak elde edilebildiği gibi doğal olarak bulunan polimerlerde vardır. Doğal polimerlere örnek olarak tahta, kösele, yün, pamuk, ipek, kauçuk, protein, karbonhidrat, DNA, hayvansal dokulardan elde edilen jelatin, deniz yosunu ve alglerden elde edilen agar ve carrageenan, sentetik makromoleküllere örnek olarak ise fiber, lastik, kağıt, plastik, boya ve kaplamalar, gösterilebilir.

Günümüzde, polimerler insan yaşamının hemen her aşamasında kullanılmaktadır. Polimerler; hafif, ucuz, mekanik özellikleri çoğu kez yeterli, kolay şekillendirilebilen, değişik amaçlarla kullanıma uygun, dekoratif, kimyasal açıdan inert ve korozyona uğramayan maddelerdir. Önceleri gündelik eşya yapımı ve endüstride temel uygulamalarda kullanılan polimerik ürünler bugün tıp, ilaç, gıda, kimya, tarım, uzay endüstrisinin ve çok sayıda bio teknolojik uygulama alanının vazgeçilmez temel materyallerinden birisi haline gelmiştir.

Günümüzde polimer konusunda yapılan çalışmalar, yeni polimer sentezinden ziyade, polimerin mekanik, termal dayanıklılığı ve çözücülere karşı direncinin artırılması, endüstride işlenebilme kolaylığının sağlanması gibi bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin geliştirilmesi ve yeni kombinasyonlarının oluşturulması yönündedir.

1.1. Polimerlerin Sınıflandırılması

Günelik hayatımızın her aşamasında yoğun bir şekilde kullandığımız polimerlerin sınıflandırılması çeşitli şekillerde yapılabilir. Bu sınıflandırmaların en önemlileri şunlardır;

1.1.1. Elde Edilişlerine Göre

Polimerler elde edilişlerine göre doğal, sentetik ve yarı sentetik olmak üzere üçe ayrılır.

Doğal polimerler (Bio-polimerler): Üzerimize giydiğimiz eşyalardan çoğu doğal polimerik maddelerden yapılmıştır. Örneğin ağaçtan elde edilen ve kâğıt hammaddesi olan selüloz, örümceğin ürettiği ağ, deri, deniz yosunu ve alglerden elde edilen agar, carrageenan doğal polimerlerdir. Doğal polimerlerin bazıları farklı yapıda değişik birimlerin bir araya gelmesiyle oluşmuştur. Bio-polimer olarak isimlendirilen ve yaşamla ilgili birçok önemli faaliyetin yürütülmesinde rol alan proteinler, nükleik asitler (DNA, RNA) ve enzimler doğal polimerlere örnek olarak verilebilir.

Sentetik polimerler: Başlıca sentetik polimerik maddeler; plastikler, fiberler, elastomerler, reçineler, yapıştırıcılardır.

Yarı sentetik polimerler: Doğal polimerlerin modifikasyonu ile elde edilirler. Doğal selülozdan elde edilen rejenere selüloz ve diğer selüloz türevleri (selüloz asetat gibi) bu guruba örnek olarak verilebilir.

1.1.2. Kimyasal Bileşimlerine Göre

Polimerler kimyasal bileşimlerine göre organik ve inorganik polimerler olmak üzere ikiye ayrılır.

Organik polimerler: Yapılarında başta karbon atomu olmak üzere hidrojen, oksijen, azot ve halojen (F, Cl, Br, I gibi) atomları içerirler. Bir atomun polimer ana zinciri üzerinde yer alabilmesi için en az iki değerlikli olması gerekir. Bu nedenle, örneğin hidrojen ve halojenler ana zincir üzerinde yer alamazlar. Organik polimerler, diğer organik maddelerin aldıkları isimlere göre sınıflandırılabilirler, alifatik, aromatik gibi.

İnorganik polimerler: Organik polimerler kadar yaygın kullanılmazlar. Polimer ana zincirinde karbon atomu yerine periyodik cetvelde yer alan 4. ve 6. grup elementleri (Si, B, Ge vb) bulunur.

1.1.3. Yapılarına Göre

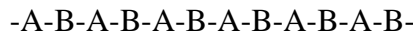
A ve B monomerleri göstermek üzere, polimerleri yapılarına göre aşağıdaki gibi sınıflandırmak mümkündür:

- **Homopolimerler :** Tek tip monomerden oluşur.



- **Kopolimerler:** İki tip monomerden oluşur.

a) Ardışık kopolimer: A ve B monomer birimleri polimer zinciri boyunca bir A, bir B olacak şekilde sıralanmışlardır.



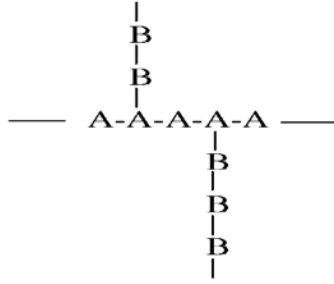
b) Blok kopolimer: Kimyasal yapısı farklı iki homopolimer zincirinin uçlarından birbirine bağlanması ile oluşur.



c) Rasgele kopolimer : A ve B monomer birimlerinin zincir boyunca sıralanmalarında belirli bir düzen yoktur.



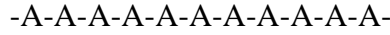
d) Aşılı polimer: Kimyasal yapıları farklı iki polimer zinciri, zincir sonları dışında bir yerden bağlanmıştır.



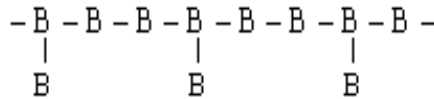
1.1.4. Bağ Yapılarına Göre

Polimerler, ister homopolimer, isterse kopolimer olsun bağ yapılarına göre 3 grupta toplanır.

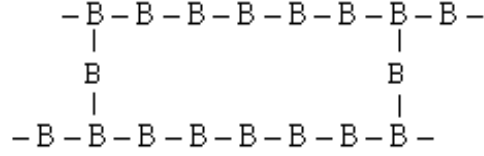
- **Doğrusal polimerler:** Ana zincirleri üzerindeki atomlarda yalnız yan grupların bulunduğu polimerlerdir. Bu polimerlerin ana zincirleri kovalent bağlarla başka zincirlere bağlı değildir. Doğrusal polimerler uygun çözücülerde çözünürler, defalarca eritilip yeniden şekillendirilebilirler.



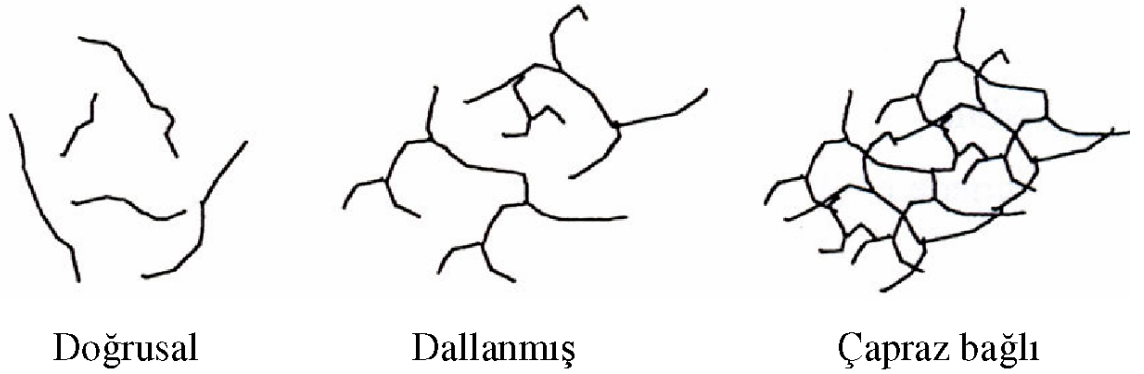
- **Dallanmış polimerler:** Polimer ana zincirlerine kendi kimyasal yapılarına özdeş dal görüntüsünde başka zincirlerin kovalent bağlarla bağlanması ile oluşmuş polimerlerdir. Yan dalların boyları birbirinden farklı olabileceği gibi, üzerlerinde başka dallarda bulunabilir. Doğrusal polimerler gibi uygun çözücülerde çözünürler.



• **Çapraz bağlı polimerler:** Farklı polimer zincirlerinin değişik uzunluktaki zincir parçaları ile birbirlerine kovalent bağlarla bağlanması ile oluşan polimerlerdir. Bu tip polimerlerde çapraz bağ sayısının fazla olması ağ yapılı polimer yapısına yol açar. Çapraz bağlı polimerler çözünmezler, ancak uygun çözücülerde şişebilirler. Çapraz bağ yoğunluğu arttıkça polimerin çözücüdeki şişme derecesi azalır.



Polimerlerin doğrusal, dallanmış ve çapraz bağlı yapıları Şekil 1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1: Polimerlerde gözlenen yapısal zincir biçimleri

1.1.5. Sentez Yöntemlerine Göre

Kondenzasyon polimerleri: İki tane monomerin reaksiyona girerek su açığa çıkması ile oluşan polimer.

Zincir (katılma) polimerleri: Sentez reaksiyonu bir çift bağın açılması ve monomerlerin birbirine zincirin halkaları gibi katılması ile oluşan polimerlerdir.

1.1.6. İşleme Şekilleri veya Çözücülere Karşı Davranışlarına Göre

Yapılarındaki kimyasal bağa bağlı olarak plastikler, termoplastik ve termoset olmak üzere ikiye ayrılır.

Termoplastikler (Isıl plastikler–TP): Bu plastikler özelliklerinde önemli değişiklikler olmadan defalarca ısıtılarak yeniden şekillendirilebilirler. Bunların çoğu birbirine kovalent bağlı çok uzun karbon atomları zincirlerine sahiptir. Bazen azot, oksijen ya da kükürt atomları da ana molekül zincirlerine kovalent bağ ile bağlanırlar. Isı ve basınç altında yumuşayarak akarlar ve böylece çeşitli formlarda şekillenebilirler. Doğrusal yapıdadırlar. Ayrıca uygun çözücülerde çözünebilir ve “çözücü döküm” adı verilen yöntemlerle çeşitli şekillere dönüştürülebilirler. Örnek olarak PE, Nylon, PVC verilebilir.

Termoset plastikler (Isıl sertleşen plastikler-TS): Bu plastikler kalıcı bir biçimde şekillendirilip kimyasal bir tepkimeyle olgunlaştıktan veya sertleştikten sonra ısıtılarak yeniden yumuşatılamaz veya diğer başka bir şekle sokulamazlar. Ancak çok yüksek sıcaklıklara ısıtılınca bozunurlar. Dolayısıyla termoset plastikler yeniden üretim çevrimine girmezler yani diğer bir deyişle geri dönüşümleri yoktur. Isıl sertleşmesinin nedeni, plastiğin kalıcı olarak şekillendirilebilmesi için ısıya ihtiyaç olması ve sertleştikten sonra ısı ile sertliğini kaybetmemesidir.

1.1.7. Fiziksel Durumlarına Göre

Molekül zincirlerinin birbirlerine göre dizilme şekilleri plastiklerin fiziksel yapısını meydana getirir. Bu bakımdan amorf ve kristalin olmak üzere iki esas yapı vardır.

Amorf polimerler: Molekül zincirleri birbirlerine göre gelişigüzel şekilde birbiri içine girmiş yün yumakları şeklindedir. Moleküller kendi aralarında rastgele bağlanmış olup, kristalleşme ya da çapraz bağlar yoktur. Bu tip polimerler cama benzer ve saydamdırlar (örn. Methylmethacrylate). Amorf yapıya sahip plastiklerin çoğunda çekme-zorlamaları etkisi altında, molekül zincirleri çekme yönünde bir yönlenme göstermektedir. Bu nedenle çekme mukavemetleri yüksektir.

Kristalin polimerler: Polimer zincirlerinin tamamı belli bir düzene girmiş veya kristalleşmiştir. Diğer bir deyişle, molekül zincirleri birbirlerine göre üç boyutlu bir düzeni andıran düzenli bir yapıdadır. Kristalin yapı, genellikle polimer eriyiğın veya çözeltilisinin soğutulmasıyla elde edilir. Kristalin yapının oluşması, molekül zincirlerinin şekline (lineer, dallanmış ve çapraz bağı) ve moleküller arasındaki kuvvetlere bağıdır. Soğutma yoluyla eriyik durumundan katı duruma geçildiğinde lineer zincirler birbirlerine daha çok yaklaşabilirler ve dolayısıyla kristalin bir düzen oluşturabilirler. Bu nedenle lineer molekül zincirlerine sahip plastikler oldukça büyük kristalleşme kabiliyeti gösterirler. Dallanmış zincirler birbirine çok yaklaşamadığından kolay bir şekilde kristalleşme gösteremezler. Bunlar genelde amorf yapı oluştururlar. Aynı şekilde çapraz bağı molekül zincirleri amorf yapı meydana getirirler. Bazı plastiklerde ise çekme etkisi altında kristalin yapı oluşabilir.

1.2. Polimerlerde Isıl Geçişler

Polimer bir malzemenin sıcaklığı arttıkça yoğunluğu azalır, hacmi büyür, molekül segmentleri birbirinden uzaklaşmaya başlar. Belli bir sıcaklığa ulaşıldığında molekül segmentleri hareket etmeye başlar. Yani sistem alınan ısı enerjisini küçük titreşimlerle kinetik enerji olarak yok eder ve elastik bir hal alır. İşte bu sıcaklığa camsı geçiş sıcaklığı (T_g) denir.

Camsı geçiş sıcaklığı bir polimer malzemenin karakteristik özelliğidir. Bu nedenle polimerleri daha çok T_g ' leri ile tanımlarız. T_g , camsı halden kauçuk hale geçiş sıcaklığı olduğuna göre bu sıcaklığın üzerindeki sıcaklıklarda iç hareketlilik artar, malzeme yumuşar, bunun sonucu olarak da çok önemli olan fiziksel ve mekanik özellikler değişir. Tüm bu sayılan nedenlerle T_g , polimer malzemeler için çalışma sıcaklığını ve şartlarını kısıtlayan en önemli faktördür.

Camsı geçiş sıcaklığı üzerinde malzemelerin moleküllerini canlı moleküller olarak ta nitelendirebiliriz. Bu sıcaklığın üzerindeki malzemeyi kırmadan bükme ve malzeme üzerine tork uygulamak mümkündür.

Camsı geçiş sıcaklığına ulaşıldığında, sistemin sıcaklığı daha da arttırılırsa malzeme iyice yumuşar ve viskoz sıvı gibi akmaya başlar. Malzemenin viskoz sıvı gibi davranması için gerekli sıcaklığa da erime sıcaklığı (T_m) denir.

Bir polimer örneğinin her iki termal geçişi (T_m ve T_g) ya da bunlardan sadece birini, göstermesi bu polimerin morfolojisine bağlıdır. Tümü ile amorf polimerler sadece T_g , tümü ile kristal polimerler ise sadece T_m geçişi gösterir. Yapı birimleri basit ve düzgün polimerlerde, T_m değerleri düşük ise, T_g değerlerinin de genellikle düşük olduğu; T_m yükseldikçe T_g ' nin de yükseldiği görülür.

Camsı geçiş sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda polimer sert yani camsı yapıdadır, üzerindeki sıcaklıklarda ise polimer yumuşaktır. T_g (camsı geçiş sıcaklığı) ve T_m (erime sıcaklığı) polimerlere özgüdür, polimerlerin çoğu için belirli ve farklıdır. Bazı polimerlerin camsı geçiş ve erime sıcaklıkları tablo 1.1' de verilmiştir.

Polimer	T_g (°C)	T_m (°C)
Selüloztribütiral	120	183
Polimetilmetakrilat	105	-
Polistiren (izotaktik)	105	240
Politetrafloroetilen	127	327
Polikarbonat	149	225
Poliakrilonitril	130	-
Polivinilformal	105	-
Poli n-vinilpirolidon	175	-
Polivinilklorür	87	212
Nylon 6	50	215
Nylon 66	60	260
Polivinilasetat	29	-
Polietilentereftalat	69	267
Etilselüloz	43	-
Polivinilalkol	85	258
Polivinilbutiral	49	-
Polioksimetilen	-13	160
Polipropilen	-20	150
Doğal Kauçuk	-75	-
Polidimetilsiloksan	-123	-54
Poliizobutilen	-70	-
Cis-poliizopren	-70	28
Polikloropren	-50	80
Polivinilmetileter	-20	144
Poliviniletileter	-25	86
Poli (vinil-n-butileter)	-52	64
Polivinilizobutileter	-18	115
Polivinilidenklorür	-17	186
Polivinil terbutileter	-8	260
Polietilen	-105	137

Tablo 1.1: Bazı polimerlerin T_g ve T_m değerleri

1.3. Polimerlerin Molekül Ağırlıkları

Polimerlerin fiziksel özellikleri molekül ağırlığı ile ilişkilidir. Bu nedenle polimerlerden beklenen fiziksel özellikleri gösterebilmeleri için belirli bir molekül ağırlığına sahip olmaları gerekir. Genellikle molekül ağırlığının artması ile yapıda moleküller arası çekim artmakta ve buda polimerin mekanik ve ısı özelliklerini etkilemektedir.

Polimerlerin molekül ağırlıkları, küçük moleküllere göre çok büyüktür. Molekül ağırlığı 18 olan su ile 180 olan glikoz şekerine karşılık naylon ve polietilen gibi polimerlerin molekül ağırlıkları 10000'lerden başlayarak milyona ulaşır. Bazı moleküllerin molekül ağırlıkları tablo 1.2'de verilmiştir.

Çeşitli moleküller	Molekül ağırlıkları
Su	18
Alkol	46
Stearik asit	384
Polistiren	60 000 - 10 0000
Düşük yoğunluklu polietilen	30 000 - 50 000
Yüksek yoğunluklu polietilen	30 000 – 150 000

Tablo 1.2: Bazı moleküllerin molekül ağırlıkları

Bir polimer içinde değişik büyüklükte ve uzunlukta birçok zincir bulunur. İçinde bulunan moleküllerin, molekül ağırlıkları da birbirinden farklıdır, kesin bir molekül ağırlığı yoktur. Bu yüzden polimerler için bir moleküler ağırlık dağılımından ve ortalama bir molekül ağırlığından söz etmek gerekir. Polimerlerin molekül ağırlık ortalamaları moleküler ağırlığın elde edilmesine göre üç grupta toplanabilir.

1.3.1. Sayıca Ortalama Molekül Ağırlığı (\overline{Mn})

Sistemin tanecik sayısına göre değişen bir özelliği incelenerek bulunur. Donma noktası alçalması, kaynama noktası yükselmesi, osmotik basınç, buhar basıncı düşmesi gibi kolligatif özelliklerin ölçülmesine dayanan yöntemlerle elde edilir.

Sayıca ortalama molekül ağırlığı (\overline{Mn}), polimer örneğindeki moleküllerinin toplam ağırlığının (W), örnekteki mol sayısına (n), bölünmesi sonucu hesaplanır.

$$\overline{M}_n = \frac{\sum_i n_i M_i}{\sum_i n_i} = \frac{\sum_i n_i M_i}{\sum_i n_i} = \sum_i X_i M_i$$

1.3.2. Ağırlıkça Ortalama Molekül Ağırlığı (\overline{Mw})

Polimer örneğinin içinden geçen ışığın ne kadar saptığı ölçülerek aşağıdaki gibi hesaplanır.

$$\overline{M}_w = \frac{\sum_i c_i M_i}{\sum_i c_i} = \frac{\sum_i c_i M_i}{c} = \frac{\sum_i N_i M_i^2}{\sum_i N_i M_i} = \sum_i w_i M_i$$

Burada c_i ve w_i sırası ile M_i ağırlıklı moleküllerin ağırlık konsantrasyonu ve ağırlık kesridir, c ise birim hacimde gram olarak bütün polimer moleküllerinin ağırlık konsantrasyonudur.

1.3.3. Viskozite Ortalaması Molekül Ağırlığı (\overline{M}_v)

Polimer çözeltisinin viskozitesi kullanılarak elde edilir. Bu amaçla polimerin çeşitli konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanır. Her bir konsantrasyonda çözünen moleküllerin etkisi viskoziteye etkileri,

$$\frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \frac{\eta}{\eta_0} - 1$$

eşitliği ile belirlenir. Burada η_0 ve η sırasıyla çözücü ve çözeltinin viskoziteleridir. Polimer çözeltisinin özellikleri büyük çözünmüş polimer moleküllerinin etkileşmeleri nedeni ile değişir. Fakat sonsuz seyreltik çözeltileri için elde edilen sonuçlar onların birbirleriyle etkileşmelerinden ziyade polimer moleküllerin kendi özelliklerini yansıtır. Çözünenin birim konsantrasyon başına viskoziteye etkisi $((\eta / \eta_0) - 1) / c$ eşitliği ile verilebilir. Sonsuz seyreltik çözelti durumunda moleküllerin viskoziteye etkisi,

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \left[\frac{\frac{\eta}{\eta_0} - 1}{c} \right]$$

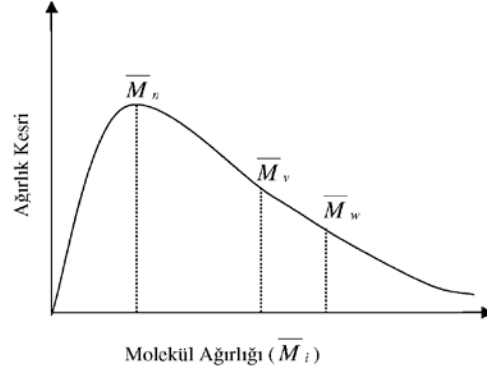
şeklindedir. Burada, $[\eta]$ gerçek (intrinsic) viskozite değeridir. Bu arada $[\eta]$ gerçekte bir viskozite değildir. η/η_0 bağımlı olduğundan viskozite birimi içermez. Herhangi bir molekülün çözeltisinin gerçek viskozitesi molekülün şekli ve moleküler kütesini belirlemede kullanılır.

Herhangi bir çözücüde sentetik bir polimerin gerçek viskozitesinin mol tartısına bağımlılığı, $[\eta] = K M^a$ eşitliği ile verilir.

Burada M, polimerin moleküler kütesi, K ve a deneysel sabitlerdir. Bu parametreler bilinen moleküler ağırlıktaki polimer fraksiyonlarının ölçülmesi ile elde edilir. Viskozite ortalaması molekül ağırlığı için,

$$\overline{M}_v = \left(w_i M_i^a \right)^{1/a} \quad \text{eşitliği yazılır.}$$

Ağırlıkça ortalama molekül ağırlığı ile viskozite ortalaması molekül ağırlığı $a=1$ için birbirine eşittir. Teorik olarak monodispers bir polimerde sayıca ortalama molekül ağırlığı, ağırlıkça ortalama molekül ağırlığına eşittir. Fakat polimer monodisperslikten uzaklaştıkça moleküler ağırlıkça ortalamaları da birbirinden uzaklaşmaya başlar.



Şekil 1.2: Heterojen bir molekül ağırlık dağılımına sahip polimer için $M_w > M_v > M_n$ şeklindedir.

BÖLÜM 2

JELLERİN SINIFLANDIRILMASI VE GENEL ÖZELLİKLERİ

Jeller, gerek termal gerekse hacimsel faz geçişi ve yüksek miktarda çözücü absorplayabilme özelliği nedeniyle başta tıp, ilaç, gıda, kimya, tarım ve çok sayıda bioteknolojik uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu bölümde, daha sonraki deneysel çalışmaların anlatıldığı bölümlerle bütünlük oluşturacak şekilde, jellerin özellikleri hakkında bilgiler verilecek ve genel olarak fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılması yapılacaktır.

2.1. Jellerin Genel Özellikleri

1940'ların başından beri yapılan çalışmalarla jellerin makroskopik özelliklerinin aydınlatılmasına rağmen, günümüzde mikroskopik özellikleri tam olarak aydınlatılamamıştır (Soni ve Stein,1990). Jellerin tam olarak net ve açık bir tanımı olmamakla birlikte pek çok tanımı vardır. İlk olarak jel, çözeltinin çökmesi ya da kristalleşmesinin özel bir durumu olarak düşünülebilir. En basit şekliyle jeller, katı ve sıvı olmak üzere iki bileşenden meydana gelen ve katı-sıvı arası özellik gösteren maddeler olarak tanımlanabilirler. Yapısının büyük bir kısmını oluşturan sıvı, jelin yumuşak olmasını sağlarken, katı kısım da sıvının akıp gitmesini önler, jelin bir şekle ve biçime sahip olmasını sağlar (Tanaka, 1981). Çözünen lineer bir solvophilic (çözücü seven) makromolekül, genişletilmiş bir ağ olarak çözültide yayılır ve bu sayede jelin

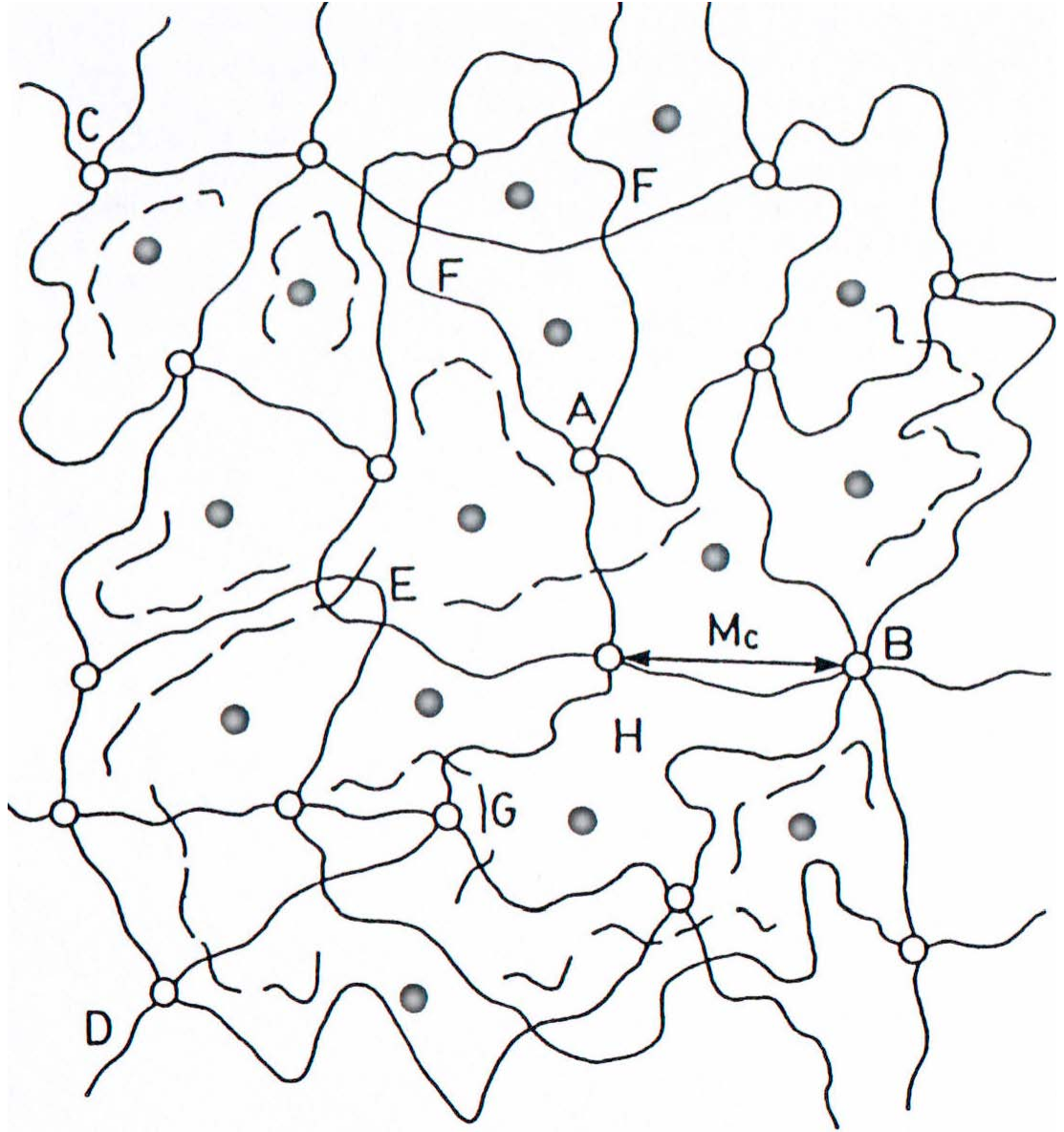
homojen gövdesi oluşur. Başka bir tanıma göre ise jel, bileşenlerinden birinin sıvı olduğu ve fazla miktarda bulunduğu, iki veya daha fazla bileşenden oluşan, yumuşak, katı veya katımsı bir maddedir (Almdal vd., 1993).

Jelatin jeli (% 95-99) su ve yalnız (%5-1) jelatin içerdiği halde bulunduğu şekli korumaktadır. Agar - agar jeline gelince % 99.8 su ve yalnız % 0.2 solidi olan bir polisakkarittir (Tüzün, 1992).

Jelleşmenin polimer moleküllerinin üç-boyutlu ve sıradan moleküllere göre sonsuz sayılabilecek büyük boyutlarda bir ağ yapısı oluşturacak şekilde birbirlerine bağlanması işleminin bir sonucu olduğunu ilk defa W.H. Carothers 1929 yılında ortaya çıkarmıştır. Jellerin çok önemli olan diğer bir özelliği ise, bütün monomer ünitelerinin hepsi birbirine çapraz bağlayıcılar ile bağlı olduklarından, sonsuz molekül ağırlığına sahip tek bir molekül olmalarıdır. Bu özelliklerinden dolayı çıplak gözle takip edilemeyen molekül boyutlarındaki değişimlerin jellerin makroskopik hacim değişimlerinde gözlenmesi temel bilimcilerin de konuya ilgisini çekmektedir (Hirokawa, 1984; Shibayama,1993).

Polimer jelin özellikleri geniş ölçüde jeli oluşturan polimer ağ örgüsünün yapısına ve bununla çözücü arasındaki etkileşmeye bağlıdır. Jeller uygun bir çözücü sıvı içine konulduğunda şişer. Bir jel şişme sonucu yaklaşık olarak hacminin %90'ına kadar çözücüyü hapsedebilir. Jel su ortamında oluşturulmuşsa hidrojel adını alır. Bir hidrojinin çapraz bağlı yapısı şekil 2.1'de gösterilmiştir. Bir polimerin hidrojel özelliği gösterebilmesi için ana zincir ya da yan dallarında hidroksil, karboksil, karbonil, amin ve amid gibi hidrojen bağı oluşturabilme yeteneğine sahip su seven grupların bulunması gerekir. Bu gruplarla bağı yapan su molekülleri nedeniyle çapraz bağı polimer hacim ve kütle artışıyla şişmeye başlar. Çapraz bağı polimerdeki su seven grupların fazla sayıda olması daha fazla şişmeye sebep olur.

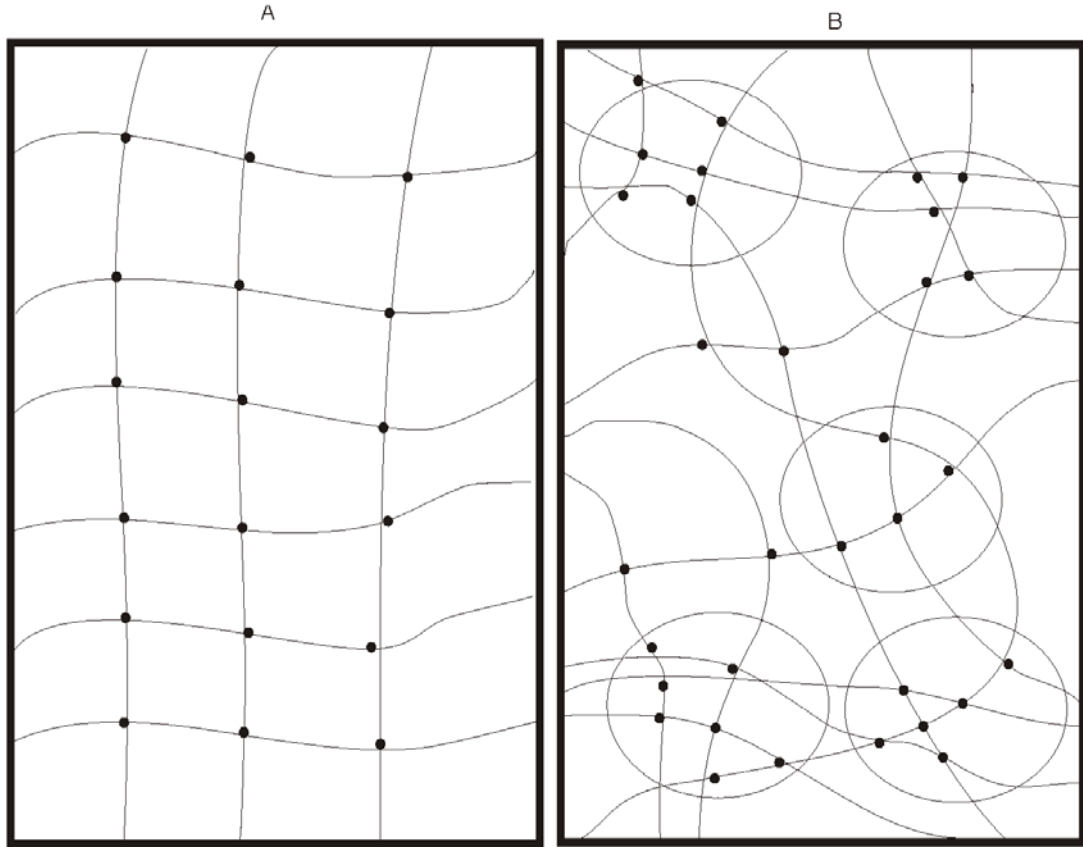
Suda çözünmeyip şişebilen yani suyun büyük kısmını yapıları içerisine de alabilen, üç boyutlu polimerik şebekeler olup jelatin, agar ve alginatlar gibi hem doğal hem de sentetik polimerleri kapsamaktadır. Suda bir denge hacmine kadar şişerler fakat şekillerini korurlar. Çapraz bağlar, van der Waals ve hidrojen bağları gibi zayıf kuvvetlerle oluşabileceği gibi güçlü kovalent ve iyonik bağlarla da sağlanabilir.



Şekil 2.1: Çapraz bağlı hidrojinin yapısı. A; Dört fonksiyonlu, B; Çok fonksiyonlu çapraz bağları göstermektedir. C ve D; Zincir uçlarıdır. E; Dolaşmış ve birbirine karışmış zincirleri göstermektedir. G; Çapraz bağlanmamış küçük zincirleri gösterir. M_c ; iki çapraz bağ merkezi arasındaki zincirin molekül kütlesidir. H; difüzyon için uygun olan çapraz bağlar arasındaki boşluk. •; Çapraz bağlar arasındaki boşluklara difüzyon yapan çözücü.

Çapraz bağlanmalar sonucu oluşan jel örgüsünün yapısı sürekli ya da düzenli (homogen) olabileceği gibi, düzensiz (heterogen) bir şekil de alabilmektedir. İdeal bir jeldeki çapraz bağ noktaları arasındaki uzaklık sabit olarak düşünülür. Oysa gerçek jellerde çapraz bağ noktaları arasındaki uzaklık sabit olmayıp dağılım gösterir. Jel içindeki çapraz bağlar bazı bölgelerde yoğun, bazı bölgelerde ise daha az yoğundur, daha başka bir deyişle jel amorf yapıdadır.

Şekil 2.2’de düzenli ve düzensiz çapraz bağlı jel şematik olarak gösterilmiştir. Jel oluşumu sırasındaki polimerleşmenin farklı aşamalarında meydana gelen çapraz bağlanmaların sayısı, düzensiz bir dağılım gösterebilmekte ve faz ayrımı sonucu düşük ve yüksek çapraz bağlı olarak isimlendirilen bölgeler oluşmaktadır (Funke vd., 1998). Düzensiz yapıdaki jeller farklı kırılma indislerine sahip ara yüzeylerde ışığın saçılması sonucunda opaksı ya da bulanık görünürler. Bunun sonucunda geçirgenlik, elastisite ve faz geçişi gibi fiziksel özellikler etkilenir.



Şekil 2.2 : İdeal jelin (A) ve heterojen jelin (B) şematik gösterilişi

Sonuç olarak jellerin mekanik özellikleri büyük oranda çapraz bağ yoğunluğuna bağlıdır. Polimer konsantrasyonu, çapraz bağlayıcıların polimer miktarına oranı ve sıcaklık gibi polimerizasyon hızını etkileyen faktörler aynı zamanda jel örgüsünün yapısını ve düzensizliklerini de değiştirir.

Jelin düzensiz halini meydana getiren bir diğer yapı da mikrojellerdir. Mikrojeller, normal ya da parçacıklı (colloidal) çözeltiler içinde dağılmış, çapraz bağlı moleküllerin oluşturduğu makromoleküllerdir. Gerçekte nanometrik boyutlarda olan mikrojeller, normal moleküller ile parçacıklar arasında bir yerde sınıflandırılacak moleküler maddelerdir.

Jellerin yapısal özelliklerinden kaynaklanan mekaniksel ve termal davranışları çok farklılıklar gösterir. Aralarındaki sıvı bileşenin nanoskopik kuvvetlerle hapsedildiği, birbirine bağlı ağ şeklindeki moleküllerden oluşan ve belirli bir elastisite gösteren jelin, bu ağı yapısının birbirini tutma (cohesion) enerjilerine bağlı olarak belirli bir sıcaklıktaki ömürleri açısından bakıldığında iki gruba ayırmak mümkündür. Dönüşümsel sol-jel faz geçişi yapanlar (kimyasal jeller) ve sol-jel faz geçişi tersinir olanlar (fiziksel jeller).

2.2. Kimyasal Jeller (Kovalent Bağlı Jeller)

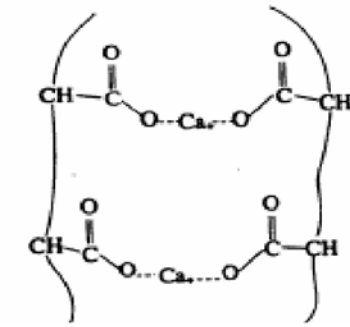
Monomerlerin uygun çözücü içerisinde çapraz bağ yaparak çözücüyü hapsedmesiyle jel yapısı oluşur. Bu süreç sol-jel geçişi olarak isimlendirilir. Kimyasal jeller keskin bir sol-jel geçişi gösteren kovalent bağlı yapılardır. Kovalent çapraz bağlı ağı yapısından dolayı kuvvetli jeller olarakta bilinirler. Sıcaklık, pH ya da çözücü sıvının değişmesi ile tekrar çözünmedikleri için tersinmez sistemler olarak isimlendirilirler. Sentetik su seven moleküllerden üretilirler. Üretim yöntemlerini genel olarak iki grupta toplayabiliriz.

1) Basamaklı ya da kondensasyon polimerizasyonu ile üretilebilir. Bu yöntemde jel örgüsünün bir tanesi en azından üç fonksiyonelli olan iki veya daha fazla monomerin lineer olmayan birleşimi sonucu meydana gelir. Reaksiyon sırasında büyümekte olan her bir polimer zincirinin yönelimi ve konumu rastgele gelişir ve sonuçta düzensiz bir mikro yapı ortaya çıkar.

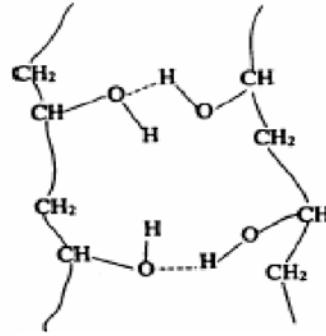
2) Katılma polimerizasyonu ile üretilebilirler. Bu yöntemde düşük oranda çapraz bağlayıcılar kullanılır. Bunun sayesinde pek çok monomer büyümekte olan zincire katılır. Zincir büyümesi monomer birimlerinin katılmasıyla gelişir.

2.3. Fiziksel Bağlı Jeller

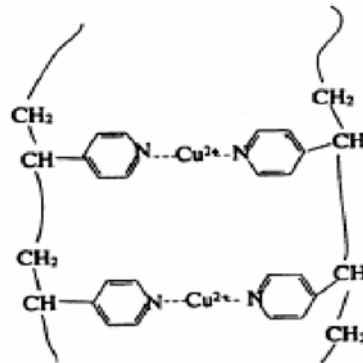
Fiziksel bağlı jeller, zincirler arası hidrojen bağları, van der waals kuvvetleri, iyonik bağlar, koordinasyon bağları gibi zayıf kuvvetlerle çapraz bağlanma sonucu oluşur. Bağların zayıf olması nedeniyle zayıf jeller olarak da bilinirler. Sıcaklık, iyon katkısı, pH ya da çözücü sıvının değişmesi ile homojen bir çözelti oluştururlar ve başlangıç koşullarına dönebilirler. Bu özelliğinden dolayı fiziksel bağlı jeller dönüşebilen (reversible) sistemlerdir.



İyonik bağlı
Örnek : polyacrylic acid



Hidrojen bağlı
Örnek : poly(vinyl alcohol)

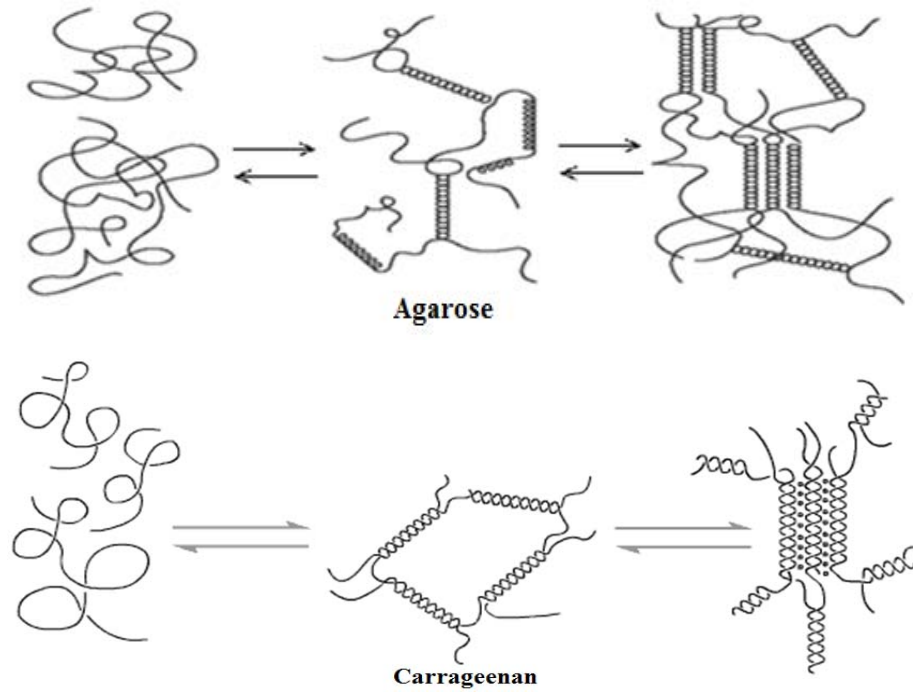


Koordinasyon (coordination) bağlı
Örnek : poly(4-vinyl pyridine)

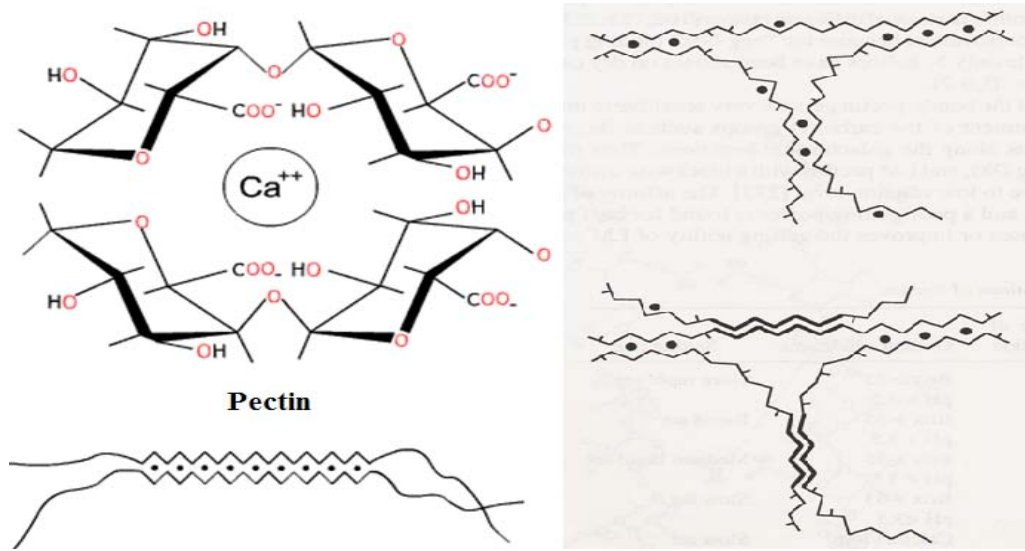
Şekil 2.3 : İyonik, hidrojen ve koordinasyon bağlı fiziksel jel örnekleri

Bu jeller temel olarak bazı doğal organik moleküllerden (proteinler ve polisakkaridler) ve yarı-sentetik selüloz türevlerinden oluşur. Bazı sentetik su-seven polimerler de bu sınıfa dahil edilmektedir. Fiziksel jellere örnek olarak hayvansal dokulardan elde edilen gelatin, bitkisel polisakkarit olan pektin, nişasta, deniz yosunu ve alglerden elde edilen agarose, carrageenan ve alginat gösterilebilir. Alginat ve carrageenan jeller yapılarında bulunan tek ve çift değerlikli katyonlara ve sülfat gruplarının yapısına bağlı olarak değişik fiziksel özellikler gösterirler. Agarose ve bazı carrageenan çeşitleri, sıcaklıkla dönüşebilen (thermoreversible) jel oluşturabilmektedir. Alginat, sıcaklık dönüşümlü değildir ve jel oluşumları sadece iki değerlikli katyonların varlığı ile mümkün olmaktadır.

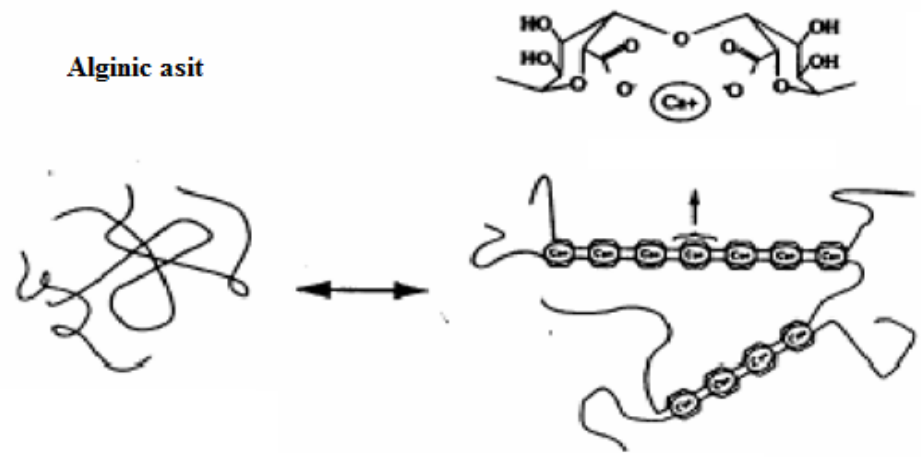
Biopolimerlerin oluşturduğu biojeller son yıllarda yoğun olarak çalışılmasına rağmen jel oluşumu sırasında meydana gelen değişimler, zincir yapıları, bu zincirlerin katyonlarla bir araya gelerek jel örgüsünü oluşturmaları ve bunların tersinebilir termodinamik özellikleri (jel-sol ve sol-jel dönüşümleri süreci) hala tam olarak açıklanamamıştır. Şekil 2.4'te agarose ve carrageenan için kabul gören domain model, şekil 2.5'te ise pektin ve alginic asit için egg box (yumurta kutusu) modelleri temsili olarak verilmiştir.



Şekil 2.4 : Domain model



Alginic asit

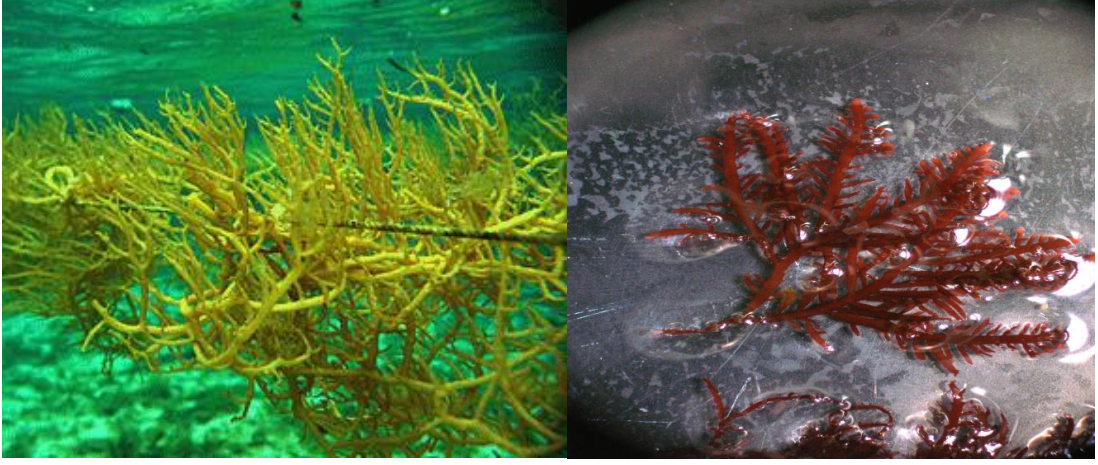


Şekil 2.5 : Egg-Box (yumurta kutusu) modeli

BÖLÜM 3

AGAROSE JELLERİN YAPISI VE ÖZELLİKLERİ

3.1 Agarose Jellerin Yapısı



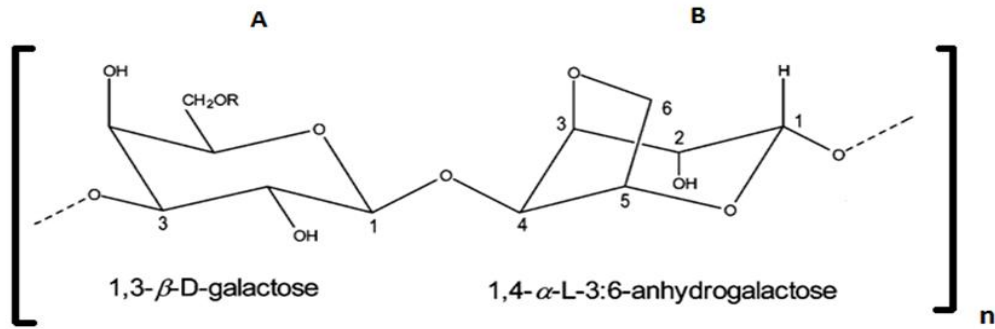
Agar (agar-agar olarak da bilinir) bazı kırmızı deniz yosunlarından ve alglerinden elde edilen özütür. Dünyada üretilen agarın %53'ü *Gracilaria*, %44'ü *Gelidium* ve %3'ü *Gelidiella*, *Pterocladia* tipi kırmızı deniz yosunlarından üretilir (McHugh, 1991).

Agar tek bir maddeden oluşmamıştır. Agarose ve agaropektin, agarı oluşturan en önemli iki polisakkarittir (Araki, 1958). Agarose, agarın yüksek jelleştirme özelliğinden sorumludur, agaropektin ise viskoz özellik verir. Agardaki agarose/agaropektin oranı ham maddeye göre değişir. Agardaki agarose oranı en çok %75'e kadar çıkabilir. Agar çözeltisi donuk ve sarımsı, agarose çözeltisi renksiz ve berraktır. Agarose iyonik olmaması ve düşük konsantrasyonlarda jel yapması nedeniyle agarın kullanıldığı yerlerde kullanılmamaktadır (Renn, 1984).

Agarose ve diğer biojellerin jel ağları, genel olarak dönüşebilen (reversible) “fiziksel bağlı” sistemlerdir. Sıcaklık ve iyon katkısı gibi faktörler, sol ve jel fazları arasında tersinir bir dönüşüm meydana getirebilir.

Agarose, agarobiose monomerlerinden meydana gelir. Polimer zincir başına yaklaşık 400 tane yenilenen agarose ünitesi bulunur. Agarose’da carrageenan’ın aksine zincir yapı üzerinde sülfat gruplarına çok az oranda rastlanır. Jel özellikleri anhydrogalactose’un yanı sıra sülfat gruplarının miktarına ve pozisyonuna bağlı olarak değişir (Duckworth ve Yaphe, 1971).

Agarose kırmızı deniz yosunları ve alglerinden elde edilen β -1,3 bağlı D-galactose [(A) kısmı] ve α -1,4 bağlı 3,6-anhydro α -L-galactose [(B) kısmı] dan oluşan (AB)_n türünden lineer bir polisakkariddir. Agarose’ un zincir yapısını oluşturan ünite şekil 3.1’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1: İdealleştirilmiş AB şeklinde tekrar eden Agarose zinciri

R=H ise doğal Agarose

R=SO₃⁻ ise Agarose sülfat

Agarose moleküler biyoloji ve bio-teknolojik uygulamalarda en çok kullanılan polisakkaritlerden biridir (Meer, 1980; Renn, 1984). Agarose’un düşük konsantrasyonlarda dahi su ile kuvvetli jeller oluşturabilme yeteneğinden dolayı ilaç, kozmetik ve gıda sektöründe yaygın olarak kullanılır.

3.2 Agarose'un Kullanım Alanları

Agarose, gıda sektöründe jelatinin tamamen bitkisel ve vejeteryan bir alternatifi olarak kullanılmaktadır. Gıda sektöründe jelatinin kullanıldığı her üründe kullanılabilen agarose, bitkisel ve daha sağlıklı bir alternatiftir.

Fonksiyon	Kullanım
Stabilizatör	Turta dolguları, süsleme jelleri, bezeler, pasta kaplama şekerleri, lokumlar, karameller, marşmalovlar, jelibonlar, kurabiyeler
	Şerbetler, buzlar
	Krem peynirler, dondurmalar, mayalanmış süt ürünleri, yoğurt, çikolatalı süt. (Maliyet düşürücü bir stabilizatördür.)
Yoğunlaştırıcı, jelleştirici	Konserve etler, diyet reçeller, diyet marmelatlar, enerji gıdaları, ileri işlem et ürünleri, hazır çorbalar
Durultma ajanı	Agarose, pekmez, şarap ve bira üretiminde durultmayı hızlandıran ve kalitesini arttıran bir durultma ajanı olarak kullanılır
Pektin muadili (Şeker seviyesini düşürmek için)	Fıstık ezme, reçeller, tereyağı, bal
Şeffaflığı arttırıcı	Yumuşak şekerler
Raf ömrünü uzatır	Yüksek su tutma kapasitesi ile unlu mamullerde (ekmeklerde ve keklerde) rengi ve tadı düzeltirken, raf ömrünü de uzatır
Ürünleri birleştirir, yapıştırır	İleri işlem et ürünleri, jambonlar
Diğer	Etli börekler, sosis kaplamaları, pişmiş et ürünleri için koruyucu kolloid

Tablo 3.1: Agarose'un Bazı Kullanım Alanları

Agarose'un en değerli kullanım alanı, hemen hemen bütün patojenik ve patojenik olmayan bakteriler için uygun olması nedeniyle mikrobiyolojidir.

Diş ölçü malzemeleri yapımında da agarose kullanılır. Agarose diğer bazı maddelerle karıştırıldığında, daha iyi ve hatasız reproduksiyonlar yapılmasına olanak vermesi sebebiyle, ideal ölçü malzemesi olmaktadır.

Kullanım alanlarından biride müşhil yapımıdır. Agarose nem tutucu özelliğe sahiptir, suyu emmesi ve epeyce şişebilmesi sayesinde kütlesini arttırır ve bağırsakları hareket ettirir, dışkının atılmasına yardımcı olur.

Besin kaynağı olarak birçok hayvan yemi üretiminde de kullanılır. Bunun yanı sıra balıklar ve diğer sucul canlıların en büyük besin kaynağıdır.

Alkol üretimi yapan yerlerde bira ve şarap berraklaştırıcısı olarak kullanılır, ayrıca kokteyl karışımların çökmesini engellemek için stabilizatör olarak kullanılır.

İlaç üretiminde tabletlerin üzerine kaplama olarak kullanılır ve antibiyotik hormon vitamin gibi maddeler içilebilir hale getirilir. Düşük kalorili ve tok tutucu yiyeceklerin imalinde de kullanılmaktadır.

Kağıtların yüzeylerini cilalamakta, su sızdırma ve mürekkep dağılımını önlemekte dolgu materyali olarak (özellikle parşömen kağıdı üretiminde) kullanılır.

Boya üretiminde emülsiyonu sabitleştirmek, fazla akıcılığı durdurmak, pigmentlerin fazla zarar görmesini önlemek, boya zenginleştirici ve çözücü olarak kullanılır.

Cilt temizleme maddelerinde, saç spreyi ve boyalarında, cilt kremlerinde agarose ana madde olarak kullanılır. Sabunlarda köpük artırıcı olarak, diş macunundaki tebeşirin giderilmesi için macuna ilave edilir şampuanların içinde de temizleyici olarak kullanılır.

Tarımda gübre ve su tutucu olarak (suyu yavaş yavaş vererek toprağın daha uzun süre ıslak kalması sağlanıyor) kullanılmaktadır.

3.3 Agarose Jellerin Oluşumu

Agarose, carrageenan ve gelatin gibi birçok biopolimerin ortak özelliği, sulu çözeltilerinin jel oluşturma özelliğine sahip olmasıdır. Biopolimerlerin oluşturduğu hidrojeller hacimsel faz geçişi ve yüksek miktarda çözücü absorplayabilme özelliği nedeniyle teorik ve pratik yönden hala ilgi görmektedir. Agarose jellerde sol-jel ve jel-sol geçişlerini, kuruma ve şişme kinetiğini açıklamak için birçok deneysel teknik kullanılmıştır. Bunlar arasında X-ray difraksiyonu ve saçılması (Matsuo vd., 2002), viscosity (Viebke vd., 1994), NMR (Aymard vd., 2001; Dai ve Matsukawa, 2012), turbidity (Aymard vd., 2001), DSC (Lopez vd., 2007 ; Moritaka vd., 2007), nötron saçılma deneyleri, foton geçirme tekniği, elastisite ve reolojik ölçümler (Xiong vd., 2005), optik dönme ve makroskopik deneyler gösterilebilir. Agarose jeller son 30 yıldır yoğun olarak çalışılmasına rağmen, jelleşme mekanizması hala tam olarak açıklanamamıştır (Xiong vd., 2005).

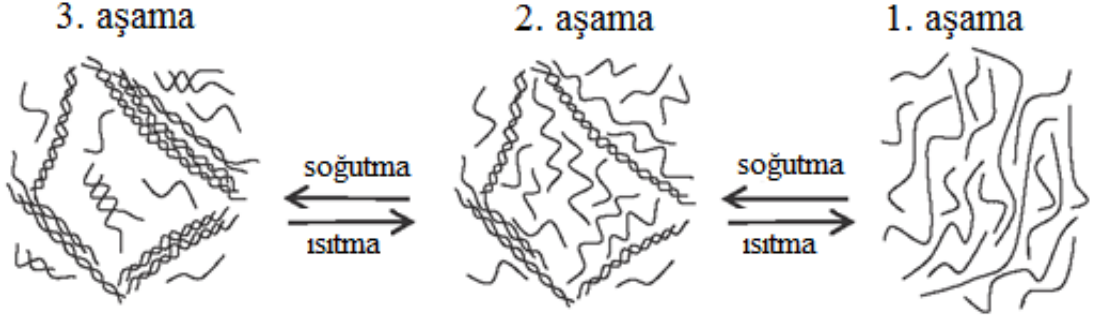
Agarose normalde organik çözücülerde çözünmez ve jel oluşturmaz. Agarose yalnızca suda çözüldüğünde sıcaklıkla tersinir (thermoreversible) jeller oluşturabilir. Bu agarose'un su seven yapısının bir sonucudur. (Lopez vd., 2007). Sol-jel geçişi ve biomakromoleküllerin jelleşme süreci, molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağları gibi birçok karmaşık etkileşimleri içerir (Meena,2009)

Şekil 3.2'de temsili olarak gösterilen çözücü (su) içindeki agarose, yüksek sıcaklıklarda sol durumda iken, agarose zincirleri rasgele yumaklar halinde bulunur (1. Aşama). Sistemin soğutulmaya başlamasıyla agarose zincirleri kendi üzerlerine veya birbirleriyle katlanarak tek yada çift sarmallar oluşur (2.aşama). Sıcaklık daha da düşürülürse tek ve çift sarmalların bir araya gelerek gruplanmasıyla jel ağı oluşur (3. Aşama).

Agarose biojelin oluşum aşamaları aşağıdaki gibi sıralanabilir.

Yumak (sol) → Sarmal → Küme (jel)

Aynı zamanda agarose sıcaklıkla dönüşebilen (thermoreversible) jeller oluşturduğu için, ısıtılma ile tam ters yönde geçişlerde mümkündür. 3. aşamadaki jel ısıtılırsa yaklaşık olarak 95 °C civarında başlangıç koşullarına dönülür (Singh Meena,2009).



Şekil 3.2: Agarose'un temsili sol-jel ve jel-sol geçiş mekanizması

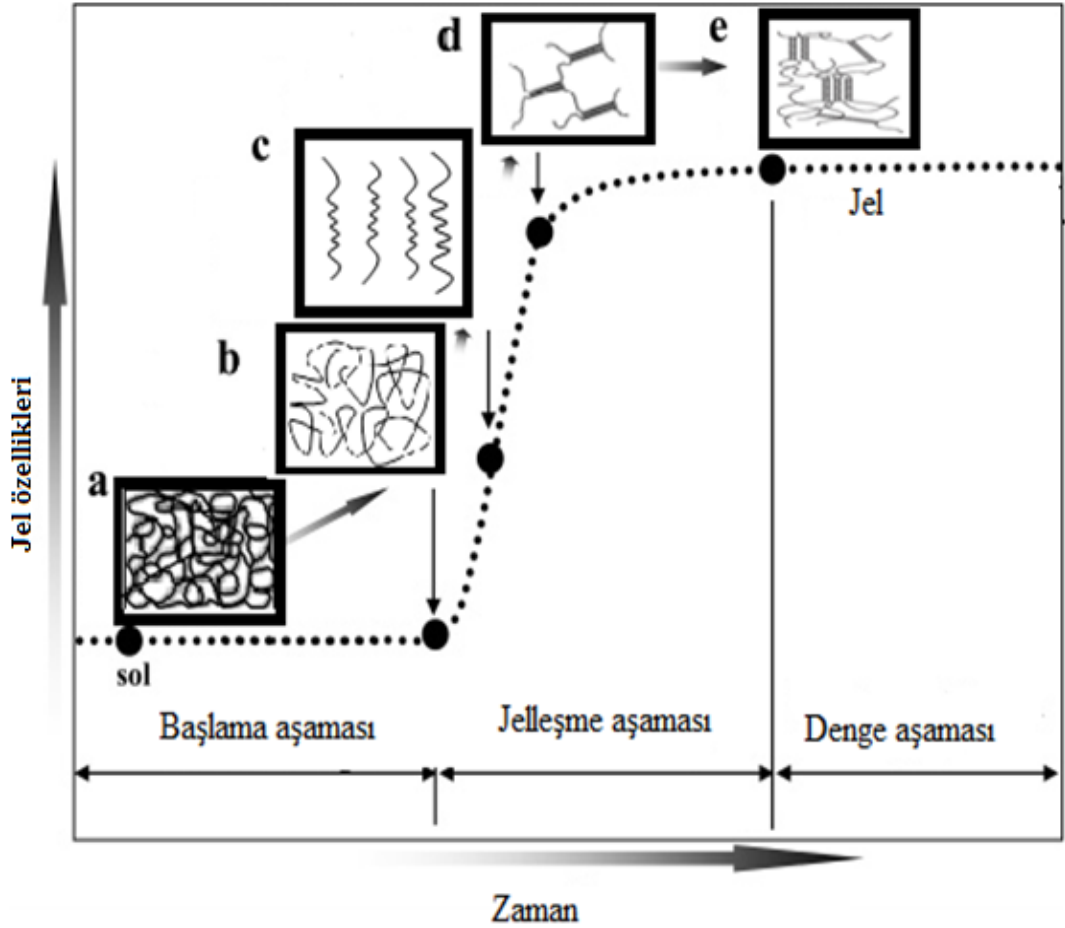
κ -carrageenan ve agarose'da gözlenen sol-jel ve jel-sol geçişleri arasında termodinamik bir histeresis (gecikme) mevcuttur ve bu jel oluşturabilen polisakkaridlerin ortak özelliğidir. Buna neden olan başlıca etken ise küme oluşumu ya da dağılması süreci arasındaki farklılıktır (Nilsson ve Piculell, 1991; Ikeda vd., 2001).

Agarose'un jelleşme mekanizması açıkça üç aşamaya ayrılabilir. Bunlar;

- 1) Başlama aşaması
- 2) Jelleşme aşaması
- 3) Denge aşaması şeklindedir (Xiong, 2005).

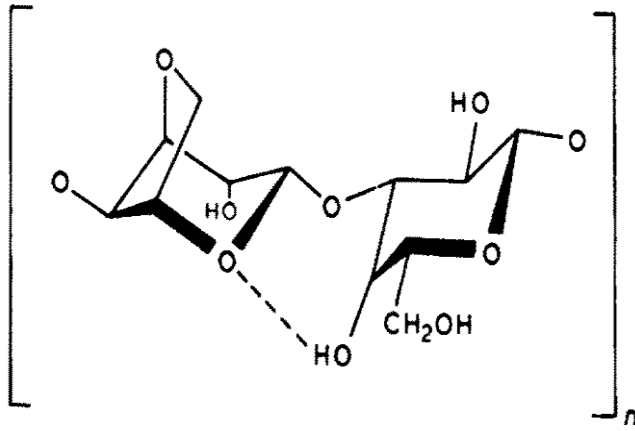
Agarose'un jelleşme mekanizmasının şematik temsili şekil 3.3'te verilmiştir. a noktasında yüksek sıcaklıkta çözücü içindeki agarose zincirleri rasgele yumaklar halindedir.

Sistem soğutulmaya başladıktan belli bir süre sonra bağ yapmaya uygun olan b noktasına gelir ve agarose zincirleri sarmal yapının oluşması için kıvrılmaya başlar. Sistemin sıcaklığı yaklaşık olarak 60 °C'nin altına düştüğünde molekül içi hidrojen bağları kurulur (Nijenhuis, 1997). Molekül içi hidrojen bağları şekil 3.4' te gösterilmiştir. Bu olay agarose zincirlerini rijit hale getirir (c noktası). Sıcaklık daha da düştüğünde moleküller arası hidrojen bağları kurulur. Moleküller arası hidrojen bağlarının neden olduğu bükülmeler sonucunda tek ve sonrasında da çift sarmallar oluşur (d noktası). Kurulan moleküller arası hidrojen bağları şekil 3.5'te gösterilmiştir (Nijenhuis, 1997).

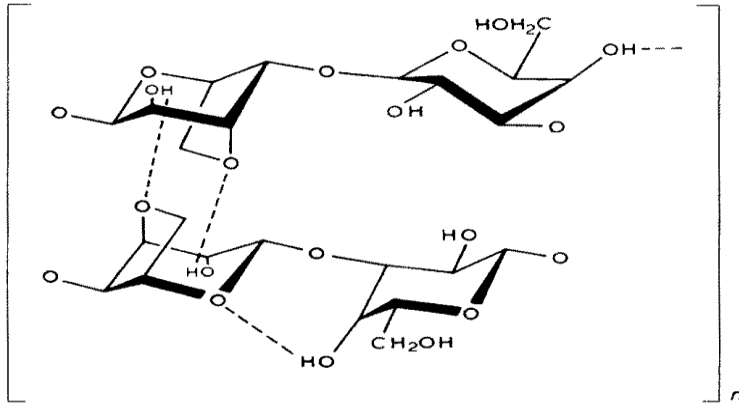


Şekil 3.3: Agarose'un jelleşme mekanizmasının şematik temsili

Sistem daha da soğutulursa oluşan tek ve çift sarmalların bir araya gelmesiyle tek ve çift sarmal kümeleri yani jel oluşur (e noktası). Agarose'un oluşturduğu jeller sıcaklıkla dönüşebilen (thermoreversible) jellerdir. Elde ettiğimiz jeli ısıtırsak, sıcaklığın artmasıyla sarmallar titreşerek aralarındaki fiziksel bağlar kopar, agarose zincirleri su içine homojen olarak dağılır ve başlangıçtaki a noktasına dönülür



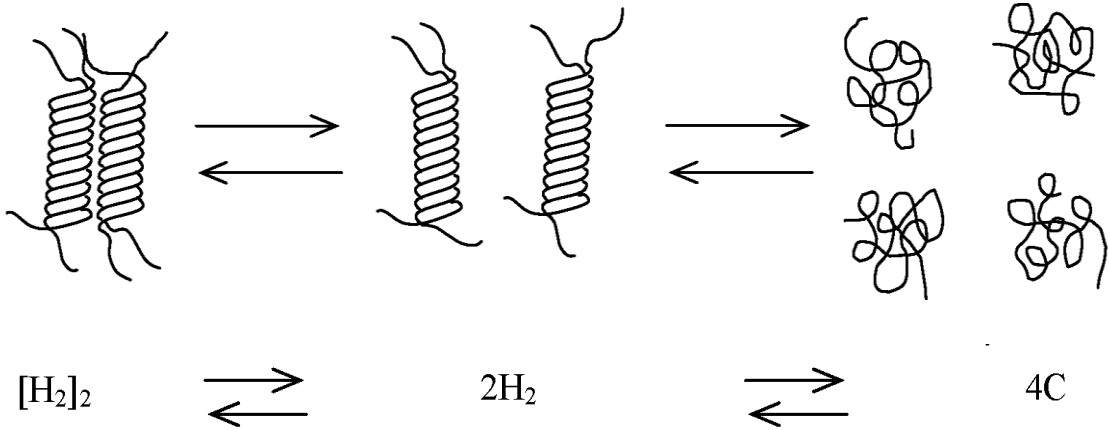
Şekil 3.4: Agarose çözeltisindeki molekül içi hidrojen bağları



Şekil 3.5: Agarose çözeltisindeki moleküller arası hidrojen bağları

Şekil 3.5'te görüldüğü gibi hidrojen hem su molekülüne hem de sisteme bağlıdır. Bu durum aynı zamanda zincirin sertliğine de katkı sağlar. Hem molekül içi, hem de moleküller arası hidrojen bağlarınının 60 °C'ye kadar jelleşmeden sorumlu en önemli unsur olduğu söylenebilir.

Polisakkaritlerin jelleşmesi için yaygın olarak kabul edilen bir model de Domain modeldir (Şekil 3.6). Çözücü (su) içindeki agarose, yüksek sıcaklıklarda sol durumda iken, rasgele yumak benzeri polimer zincirleri yapısındadır. Düşük sıcaklıklarda yapısındaki anhydro-galactose'un neden olduğu bükülmeler sonucunda tek ve sonrasında da çift sarmal yapılar oluşur (Morris ve Rees, 1980). Buna yumak-sarmal dönüşümü de denir.



Şekil 3.6: Domain modelin şematik gösterimi

Bu modellemede çift sarmal yapıların oluşumunun iki moleküllü reaksiyon olduğunu hesaba katmalıyız. Bu süreçte ilk düşünülen $4C \leftrightarrow [H_2]_2$ denkleminin işleyeceği. Burada çift sarmalların tekrarından oluşan bimoleküler (iki moleküllü) toplam H_2 , rasgele yumaklar C ile gösterilmiştir. Jel durumunda ısıtmaya başlanan agarose önce belirli bir sıcaklıkta küme(jel)-sarmal(heliks) geçişi ardından da sarmal(heliks)-yumak(coil) geçişini gerçekleştirip çözelti haline gelir. Sol durumuna gelmiş bu malzeme soğutulmaya başlayınca önce yumak(coil)-sarmal(heliks), ardından da sarmal(heliks)-küme(jel) geçişleri oluşmaktadır.

BÖLÜM 4

KULLANILAN ALETLER, MALZEME VE YÖNTEM

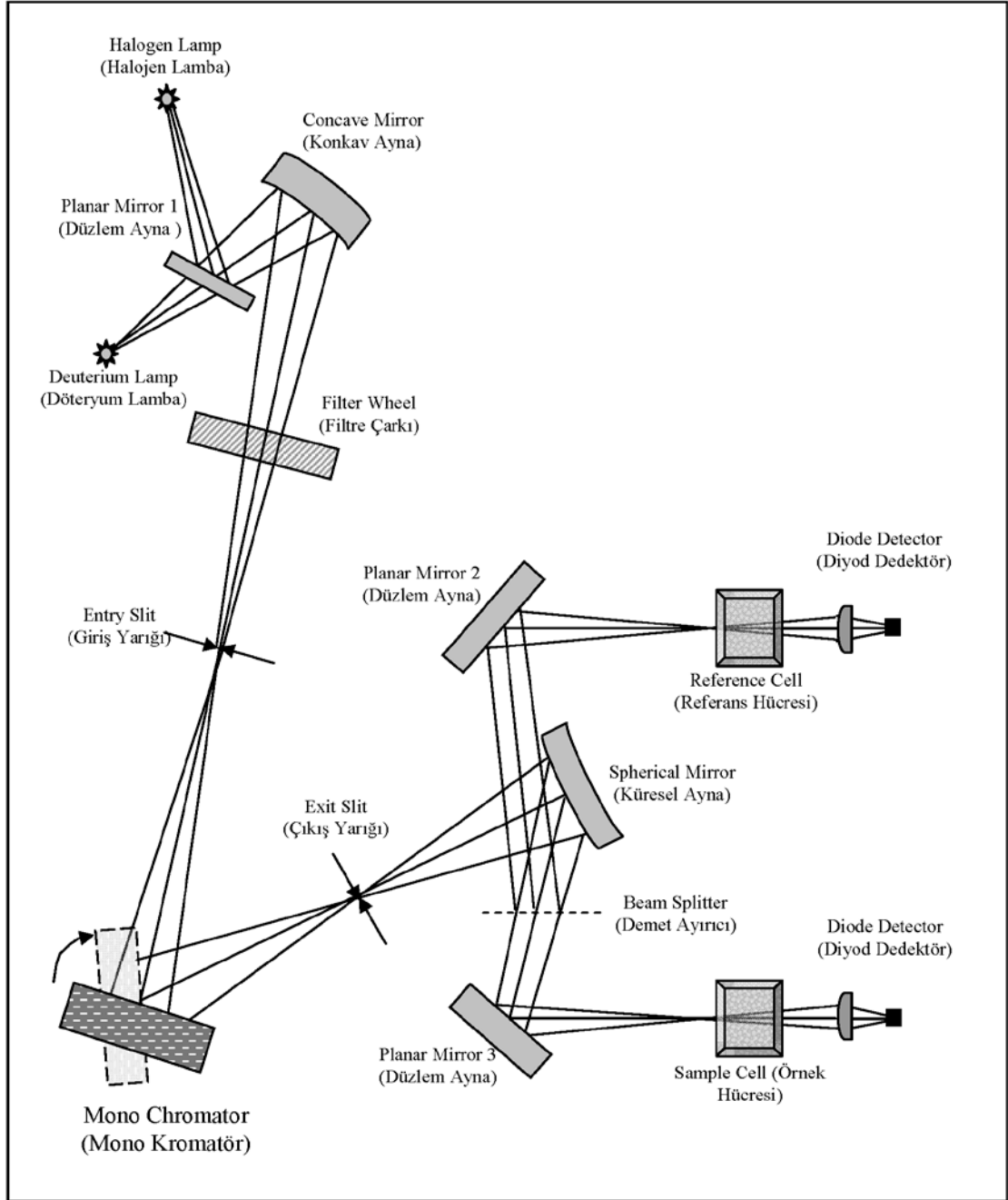
4.1. UV Visible Spektrofotometre

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlardaki agarose jel örneklerinin termal faz geçişini incelemek için foton geçirme tekniği kullanılmıştır. Bunun için ışık şiddetini, sıcaklık, dalgaboyu ve zamana göre ölçebilen, bilgisayar kontrollü olarak çalışan Varian Cary 100 Bio UV-visible spektrofotometreden yararlanılmıştır (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: Varian Cary 100 Bio UV-visible spektrofotometre

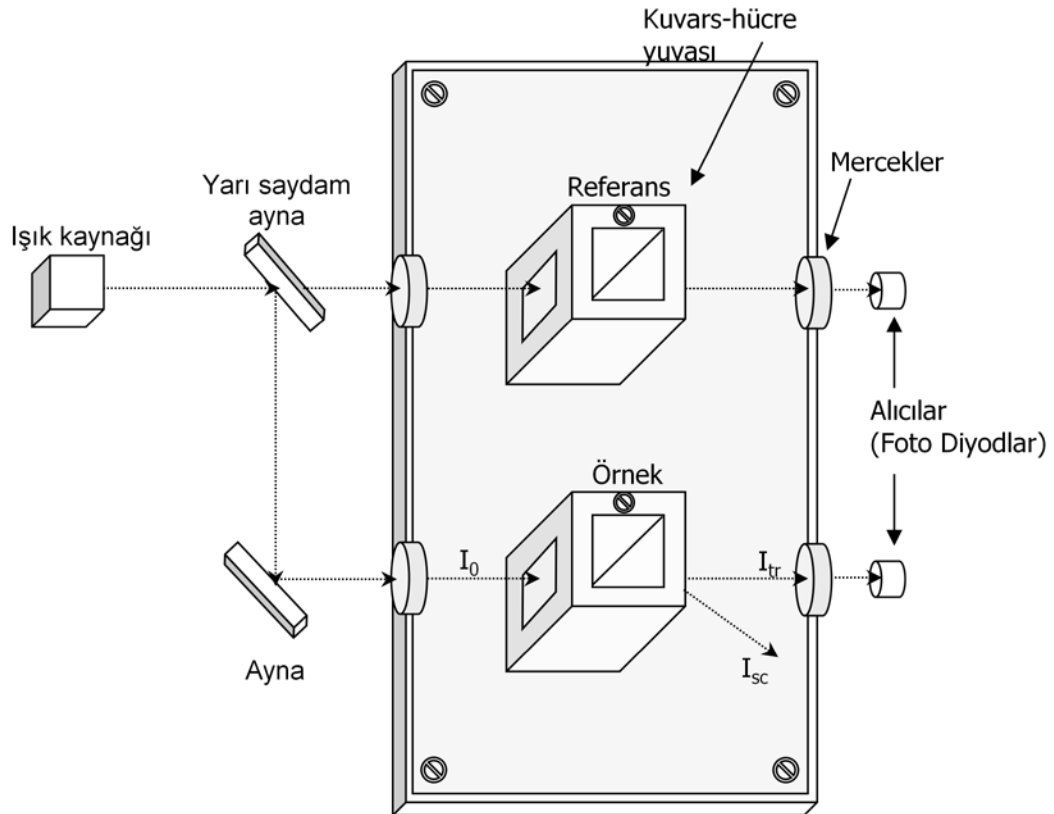
Şekil 4.2’de spektrofotometrenin temel çalışma blok şeması görülmektedir.



Şekil 4.2: UV Visible spektrofotometrenin optik düzeneği

Spektrofotometrede kaynak olarak döteryum lamba ve halojen lamba kullanılmaktadır. Döteryum lamba görünür bölge altı ölçümleri (190 nm -326 nm) için, halojen lamba ise görünür bölge ve üstü ölçümleri (326 nm – 1100 nm) için kullanılmaktadır. Lamba tarafından yayılan ışın demeti monokromatör (prizma) yardımıyla tek bir dalga boyundaki ışına (monokromatik ışına) dönüştürülür. Çift ışınlı spektrofotometrelerde ışın hem örnekten hem de referanstan geçirilir. Işık kaynağından çıkan 1 cm yüksekliğinde ve 1 mm genişliğindeki I_0 , şiddetli ışık demeti örnek ve referans üzerinden geçerek diğer taraftaki fotodiyodlara ulaşır. Sonuçta bu alet yardımıyla örnek üzerinden geçen ışık şiddeti (I_r) zamanın, dalga boyunun yada sıcaklığın fonksiyonu olarak takip edilebilir. Sonuçlar ölçümle eşzamanlı olarak alete bağlı bilgisayara aktarılır.

Şekil 4.3'te temsili şekil 4.4'te Varian Cary 100 Bio UV-visible spektrofotometrenin ölçüm bölmesi görülmektedir.



Şekil 4.3: Spektrofotometrenin ölçüm hücresinin üstten görünüşü

Varian Cary 100 Bio UV-visible spektrofotometrenin ölçüm bölmesi içinde oniki adet kuartz ölçüm hücresi vardır. Bunlardan altı tanesi referans diğerleri ise örnek yuvasıdır. Isıtma soğutma sistemi -10 ile 100 °C arasında 0.05 °C hassasiyet ile çalışmaktadır. Aletin dalga boyu çalışma aralığı 190–1100 nm'dir.



Şekil 4.4: Varian Cary 100 Bio UV-visible spektrofotometrenin ölçüm bölmesi

UV-Visible spektrofotometrenin ölçümleri Beer-Lambert yasasına dayanmaktadır.

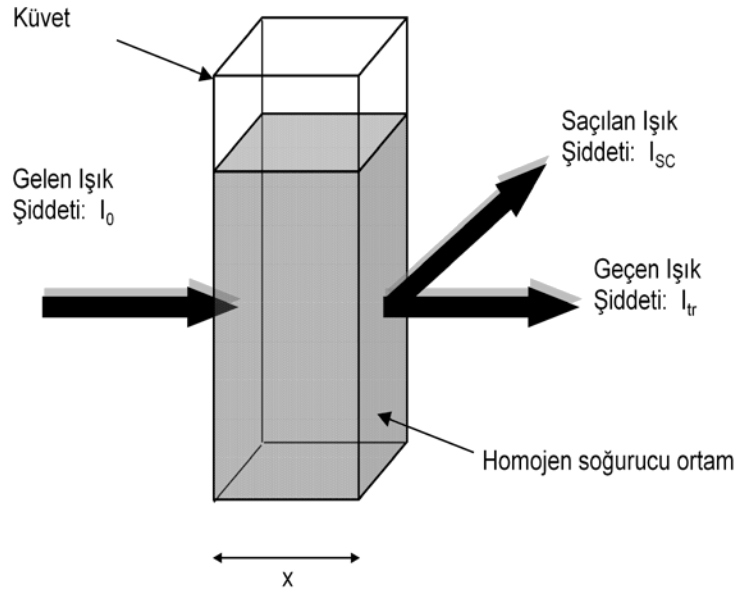
4.2. Beer Lambert Yasası

Bir çözelti içindeki madde miktarını çözeltilen geçen veya çözeltilenin tuttuğu ışık miktarından faydalanarak ölçme işlemine fotometri, bu ölçümü yapan cihazlara ise fotometre adı verilir. Fotometre, farklı dalga boylarında (görünür, UV) ışık demetleri gönderip ölçüm alabiliyorsa spektrofotometre olarak adlandırılır. Çözeltilerin optik özelliklerini belirlemek için, ışığın çözelti içindeki madde etkileşmesine bakılır.

İncelenmek istenen örneğin üzerine ışık gönderildiğinde bu ışığın bir bölümü saçılır, bir bölümü çözelti içindeki maddeler tarafından soğurulur ve bir kısmı da yansır (Şekil 4.5). Bu yansıma, soğurulma ve saçılma oranlarına bakılarak maddelerin optik özellikleri belirlenir.

Işıma enerjisinin bir madde tarafından absorblanması ilk kez 1760 yılında Lambert tarafından maddeye giren ve maddeden çıkan ışımının şiddetleri arasındaki ilişkinin araştırmasıyla başlamıştır. Daha sonra benzer araştırmalar 1852 yılında Beer tarafından çözeltiler için yapılarak ışığın bir madde içinden geçişine ilişkin Beer-Lambert yasası ortaya konmuştur.

Lambert çalışmasında, ışın şiddeti-çözeltinin derinliği veya kalınlığını, Beer ise ışın şiddeti-çözelti konsantrasyonu etkileşimini ifade eden durumları açıklar. Beer ve Lambert yasalarının birleştirilmesiyle ortaya Beer-Lambert yasası çıkmıştır.



Şekil 4.5: Küvet içindeki örneğe gelen ve geçen ışık

a soğurulma katsayısı ve c konsantrasyonuna sahip, x kalınlığındaki bir madde üzerine I_0 , şiddetli bir ışık gönderildiğinde maddenin ışık geçirgenliği

$$I_{tr} = I_0 e^{-cax}$$

şeklinde verilir.

4.3. Kullanılan Malzemeler

Agarose jellerin sıcaklık etkisiyle zayıf hidrojen bağlarının ve sarmal yapısının bozularak bir hal değişimi geçirdiği bilinmektedir. Oda sıcaklığında jel halinde bulunan örnek, ısıtıldığında bağların kopması sonucu sol hale geçer. Yaşanan bu faz geçişi tersinir özelliğindedir. Yaptığımız deneylerde sigma firmasından temin edilen Type 1-B (Sigma A0576), Type 2-A (Sigma A9918), Low Melting Point (Sigma A9414) kodlu 3 farklı agarose malzemesi kullanılarak, bunların oluşturduğu jellerin termal faz geçişleri incelenmiştir. Kullanılan malzemelerin bazı özellikleri tablo 4.1’de verilmiştir.

	Type 1B-A0576	Type 2A-A9918	LMP A9414
Sülfat (SO ₄ ²⁻)	≤ 0.12%	≤0.25%	≤ 0.10%
Jel kuvveti	≥1800 g/cm ² (1% jel)	≥1000 g/cm ² (1% jel)	Ölçülemeyecek kadar küçük
Bulanıklık	≤40 NP (1.5% jel)	≤40NP (1% jel)	-

Tablo 4.1: Deneylerde kullanılan malzemelerin bazı özellikleri

4.4. Agarose Jel Örneklerinin Hazırlanışı

Örneklerin hazırlanmasında, polimer malzemelerin tartılması için bilgisayar kontrollü, 0.1 mg hassasiyetli dijital terazi ve 380 °C’ye kadar ısıtılabilen dakikada 1500 devir kapasiteli ısıtıcı manyetik karıştırıcı kullanılmıştır (Şekil 4.6).



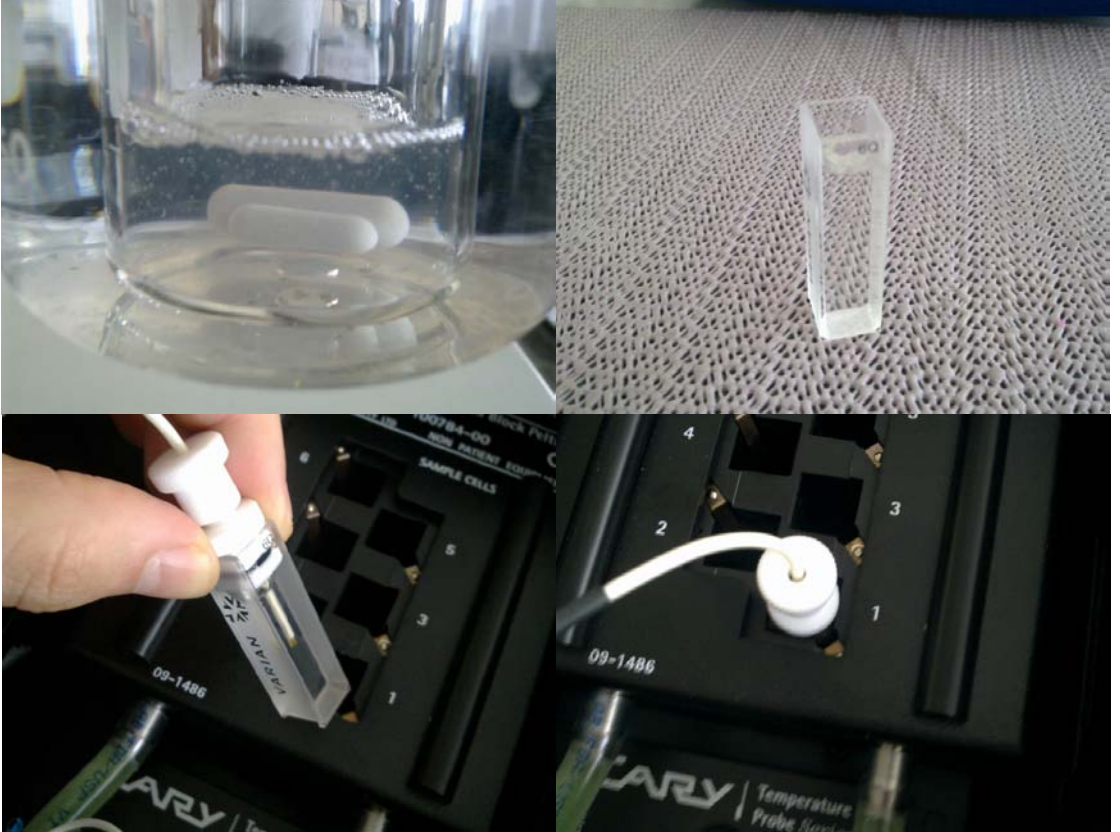
Şekil 4.6: Dijital terazi ve ısıtıcılı manyetik karıştırıcı

Deneylerde kullandığımız agarose biopolimerleri oda sıcaklığında toz halde iken opak ve beyaz renktedir, çözeltisi renksiz ve berraktır. Jel hazırlamak için toz halindeki agarose malzemesi, manyetik karıştırıcı ile döndürülebilen beher içindeki saf suya belli oranlarda yavaşça eklendi (Şekil 4.7).



Şekil 4.7: Agarose jel örneklerinin hazırlanması-1

Daha sonra sistemi homojen hale getirmek için manyetik karıştırıcıda kaynama noktasına gelene kadar ısıtılarak karıştırıldı. Hazırlanan yaklaşık olarak 90°C civarındaki çözelti örnekleri akışkan halde iken kuvarz hücreye döküldü, spektrofotometrenin ölçüm bölgesine yerleştirildi ve deneysel ölçümler alındı (Şekil 4.8).



Şekil 4.8: Agarose jel örneklerinin hazırlanması-2

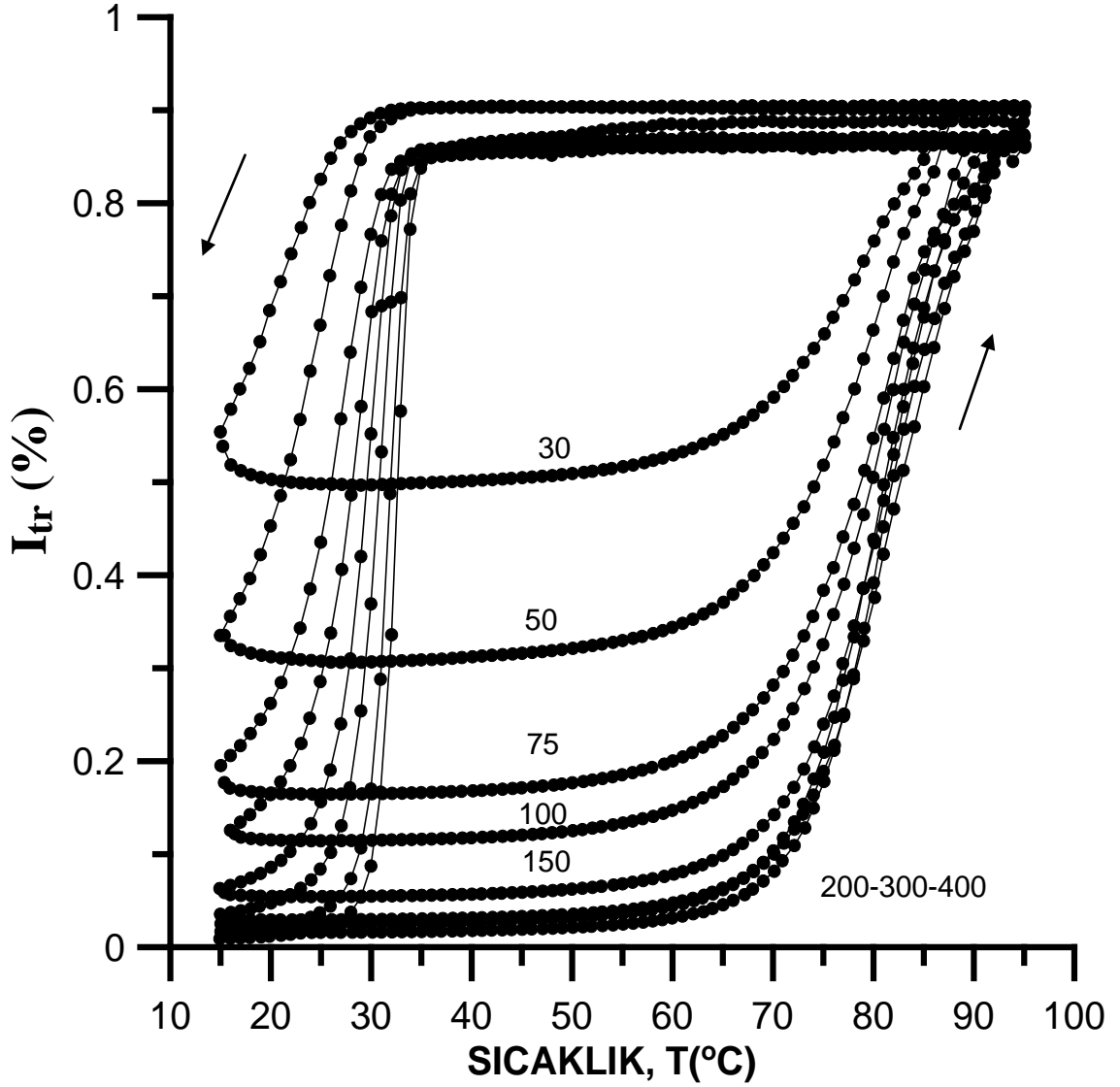
BÖLÜM 5

DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA

5.1. Agarose Biojellerin Faz Geçişleri

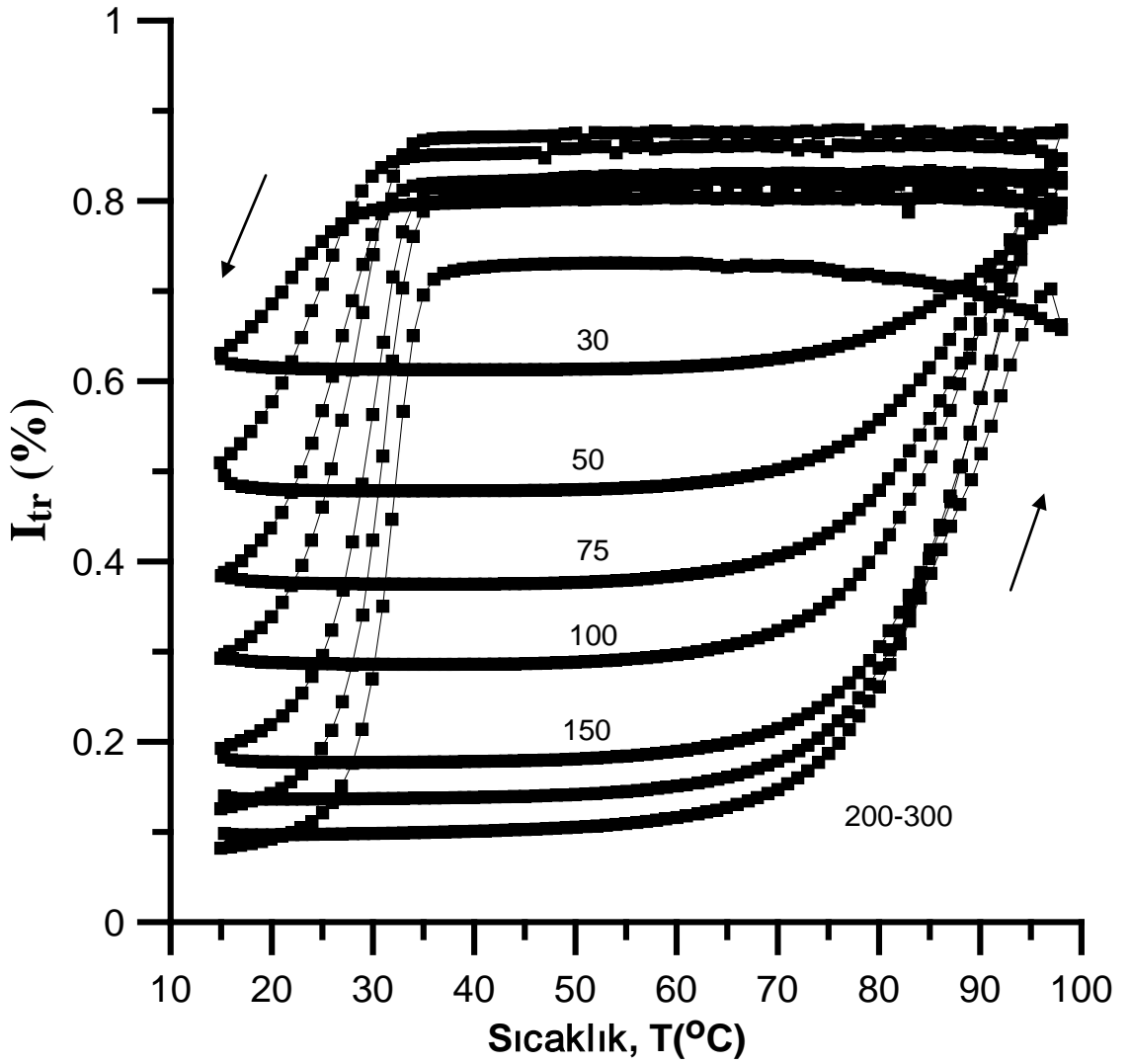
Yapılan deneylerde Type 1-B (Sigma A0576) için sekiz farklı konsantrasyonda (30, 50, 75, 100, 150, 200, 300 ve 400 mg), Type 2-A (Sigma A9918) için yedi (30, 50, 75, 100, 150, 200 ve 300 mg) ve Low Melting Point (Sigma A9414) içinde yedi (50, 75, 100, 150, 200, 250 ve 300 mg) farklı konsantrasyonda agarose jel örnekleri hazırlandı. Daha sonra 1x1x4.5 cm'lik boyutlarda kuvarz UV ölçüm küveti içerisine dökülen her bir örnek içerisinde hava kabarcığı kalmaması ve ölçüme hazır hale getirilebilmesi için 95 °C'ye kadar hızlı bir şekilde ısıtıldı ve yine hızlı bir şekilde 15 °C'ye kadar soğutuldu. Daha sonra agarose örnekleri UV spektrofotometrenin sıcaklık kontrol ünitesi kullanılarak 15-95 °C arasında 2 °C/dakika hız ile ısıtılıp soğutulurken üzerinden geçen ışık şiddeti (I_{tr}) ölçüldü. Yapının hassas olarak takibi için gönderilen ışığın dalgaboyu 400 nm seçildi.

Şekil 5.1'de Type 1-B (Sigma A0576), şekil 5.2'de Type 2-A (Sigma A9918) ve şekil 5.3'te Low Melting Point (Sigma A9414) için UV-vis spektrofotometrede alınan sıcaklığa bağlı ışık şiddeti geçiş eğrileri verilmiştir.



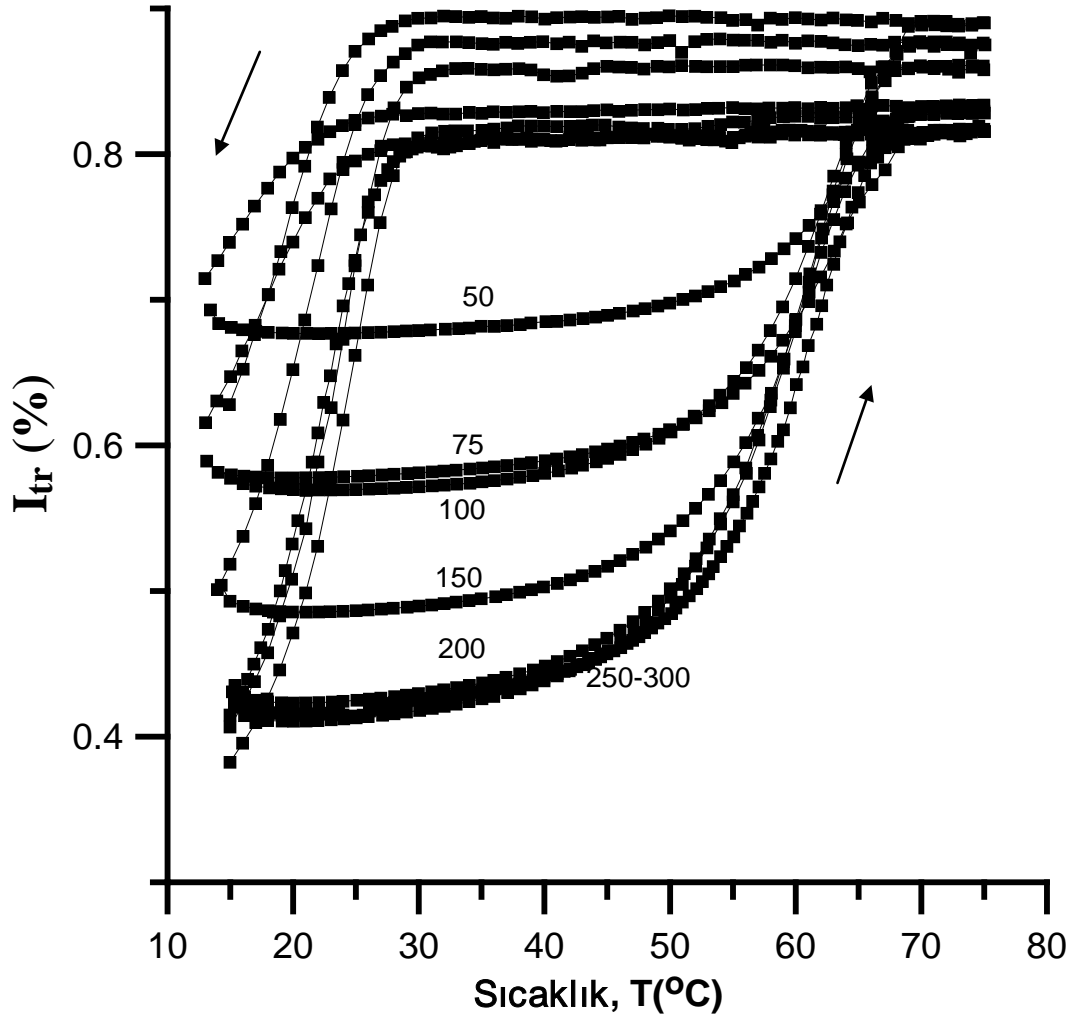
Şekil 5.1: Agarose Type 1-B örneklerinin UV-vis spektrofotometrede 400 nm dalgaboyu için alınan sıcaklığa bağlı ışık şiddeti geçiş eğrileri. Eğri üzerindeki sayılar mg cinsinden agarose miktarını göstermektedir.

Agarose Type 1-B örneklerinin 70 °C, Type 2-A örneklerinin 70 °C ve LMP örneklerinin 50 °C ve üstü sıcaklık değerleri civarında ışık geçirgenliklerinde hızlı bir artış olduğu ve geçen ışık şiddetinin %90'lara çıktığı gözlenmektedir. Tam tersi soğuma esnasında ise örneklerin ışık geçirgenliği hızla düşmektedir. Bu polisakkaritlerin sıcaklıkla yaptıkları faz geçişlerinin tipik karakteridir.



Şekil 5.2: Agarose Type 2-A örneklerinin UV-vis spektrofotometrede 400 nm dalgaboyu için alınan sıcaklığa bağlı ışık şiddeti geçiş eğrileri

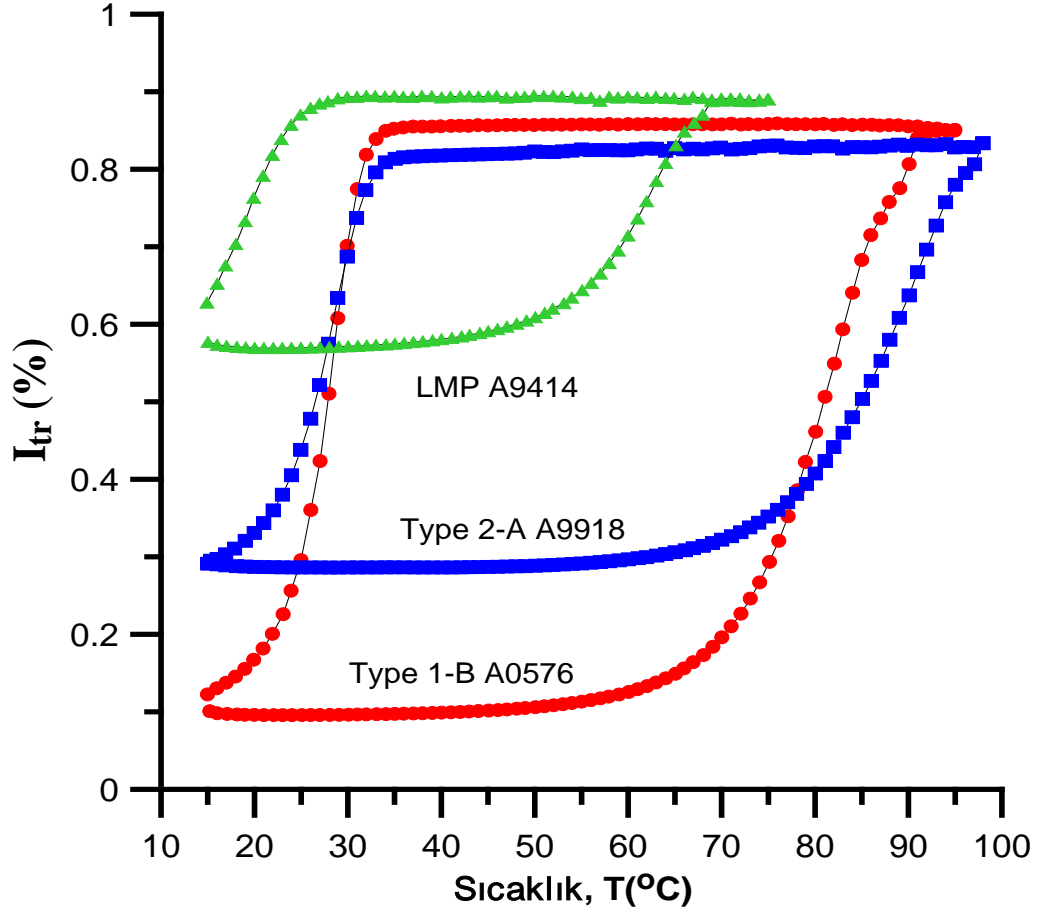
Literatürde kabul gören domain modele göre sistem ısıtıldığında sarmal-yumak (jel-sol) geçişi, soğutulduğunda ise yumak-sarmal (sol-jel) geçişi meydana gelmektedir. Düşük sıcaklıklarda agarose jelin yapısı sarmal kümeleri ve sarmallar arası sudan oluştuğu için ışık bu ortamdan geçerken kırınımına uğrar ve geçen ışık şiddeti (I_{tr}) düşer. Sıcaklığın artması ile beraber sarmalların titreşmesi sonucu aralarındaki fiziksel bağlar kopmakta ve agarose zincirleri su ortamına homojen olarak yayılmaktadır. Bunun sonucunda geçen ışık şiddeti maksimuma ulaşmaktadır.



Şekil 5.3: Agarose LMP örneklerinin UV-vis spektrofotometrede 400 nm dalgaboyu için alınan sıcaklığa bağlı ışık şiddeti geçiş eğrileri

Soğutma sürecinde, sistem fiziksel bağları oluşturmak için harekete geçer. Artan sıcaklığın etkisiyle kolayca dağılan sarmal yapının tekrar oluşabilmesi daha uzun bir zaman aldığından bir histeresis (gecikme) ortaya çıkmaktadır. Bu yüzden soğutma başladıktan sonra yaklaşık 30-35°C'lere kadar ışık şiddetinde belirgin bir değişim meydana gelmemektedir. Bu noktadan daha düşük sıcaklıklarda artık bağ yapmak için uygun konuma gelen zincirler aldıkları enerjiyle birlikte hızla sarmalları oluşturup içlerinde suyu hapsederek jeli oluştururlar. Bunun sonucunda jel ortamı, ışık için daha heterojen hale gelir ve geçen ışık şiddeti (I_{tr}) de minimuma düşer.

Şekil 5.4'te 3 malzemeye ait 100 mg'lık örneklerin karşılaştırılması verilmiştir.

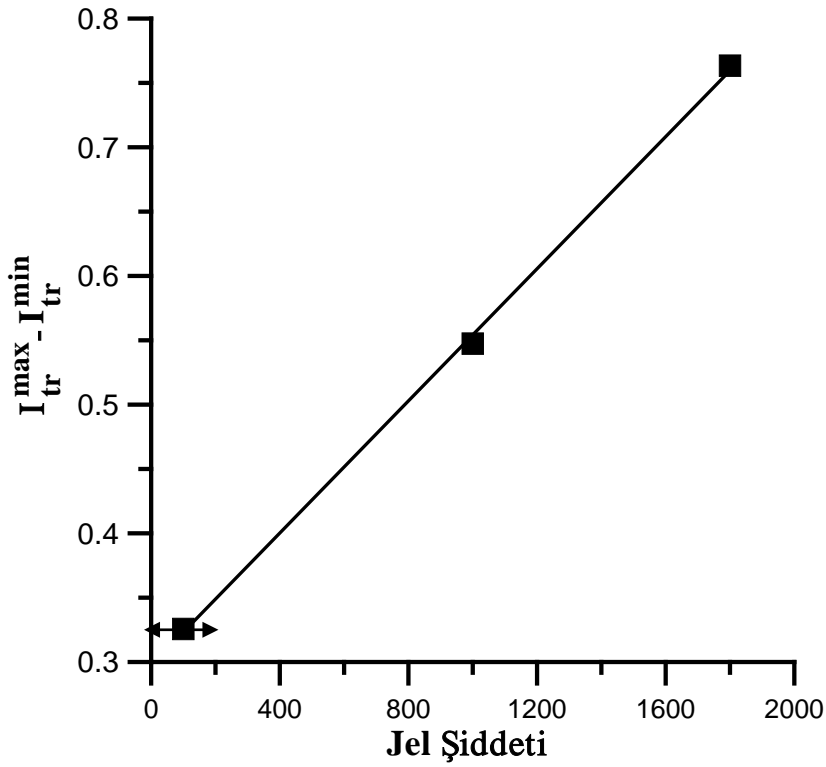


Şekil 5.4: 100 mg'lık üç farklı örneğin karşılaştırılması

Şekiller incelendiğinde, LMP örneğinin açıkça diğer iki örnekten daha düşük sıcaklıkta (~65 °C) tümüyle bozunuma uğradığı ve yine diğer iki örnekten daha yüksek bir minimum geçirgenliğe sahip olduğu gözlenmektedir. Bu bize LMP örneğinin içindeki küme ve heliks yoğunluğunun düşük olduğunu göstermektedir. Tersten söylemek gerekirse Type 2-A ve özellikle Type 1-B örnekleri, LMP örneğine nazaran daha yüksek oranlı küme ve yapısına sahip olduğundan ışık daha fazla kırınımına uğramakta ve geçirgenlikleri minimuma düşmektedir. Yine küme ve heliks yoğunluğu daha düşük LMP örneğinin çözünüp sol hale geçmesi de aynı sebepler dolayısıyla daha düşük sıcaklıkta meydana gelmektedir.

Örneklerin geçirgenlik değişimi incelendiğinde LMP A9414 örneğinde %25-30, Type 2A A9918 örneğinde %50-55'ler mertebesinde iken Type 1-B A0576 örneğinde bu oranın %80'ler mertebesinde olduğu görülmektedir.

Sülfat yoğunluğu açısından incelendiğinde ise en yüksek sülfata sahip Type 2-A'nın bozunumunun diğerlerine oranla daha yüksek sıcaklıkta gerçekleştiği gözlenmektedir. Buna dayanarak sülfatın, jelin çözünmesini engelleyici yönde bir etki yaptığı söylenebilir.

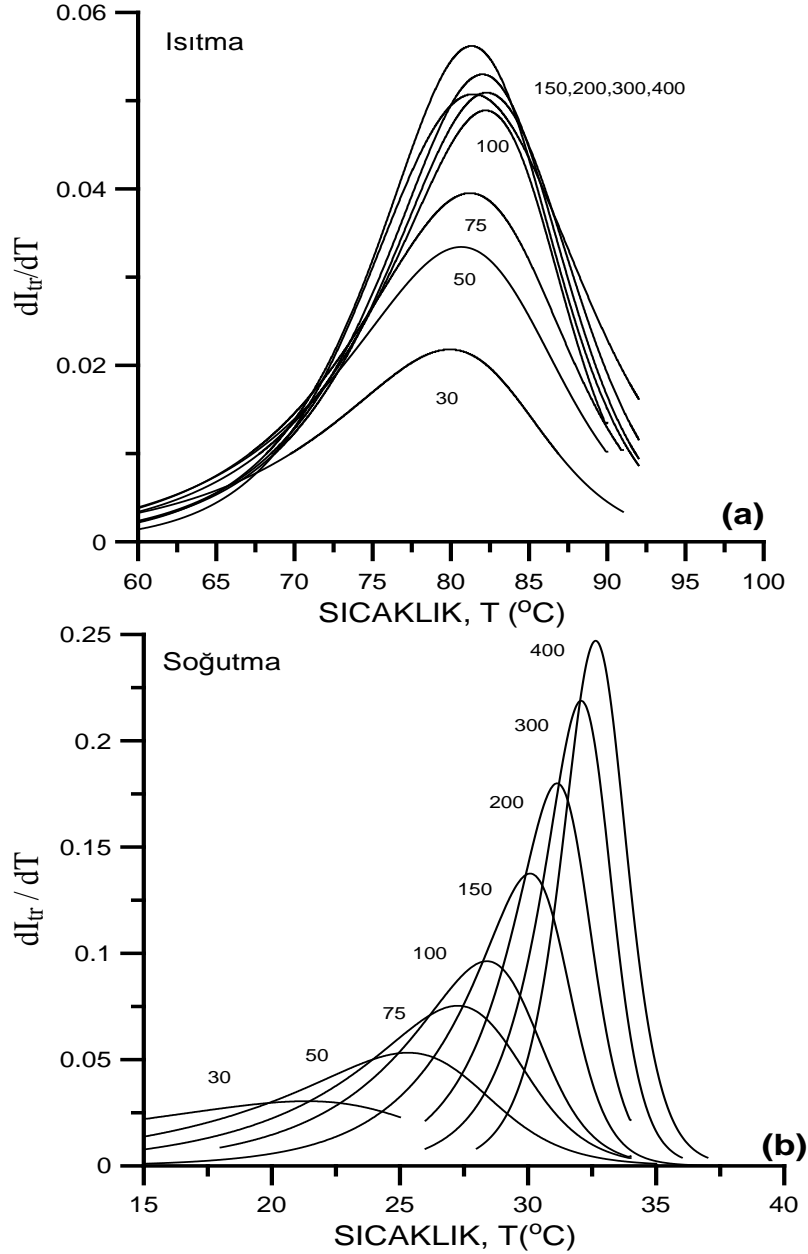


Şekil 5.5: Üç malzemeye ait geçirgenlik değişimine bağlı jel şiddetleri

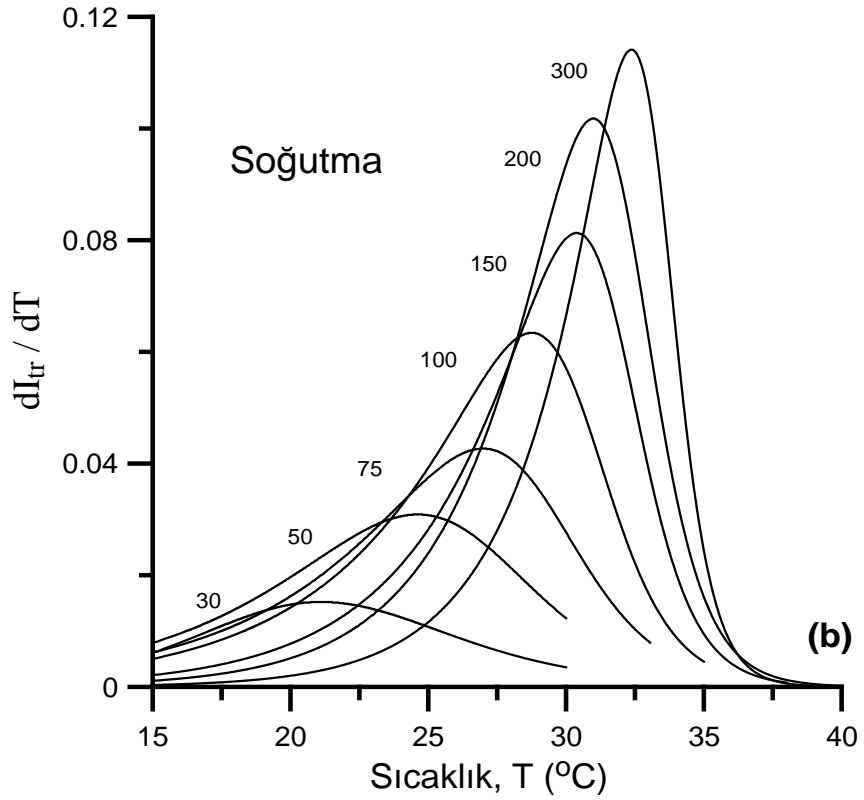
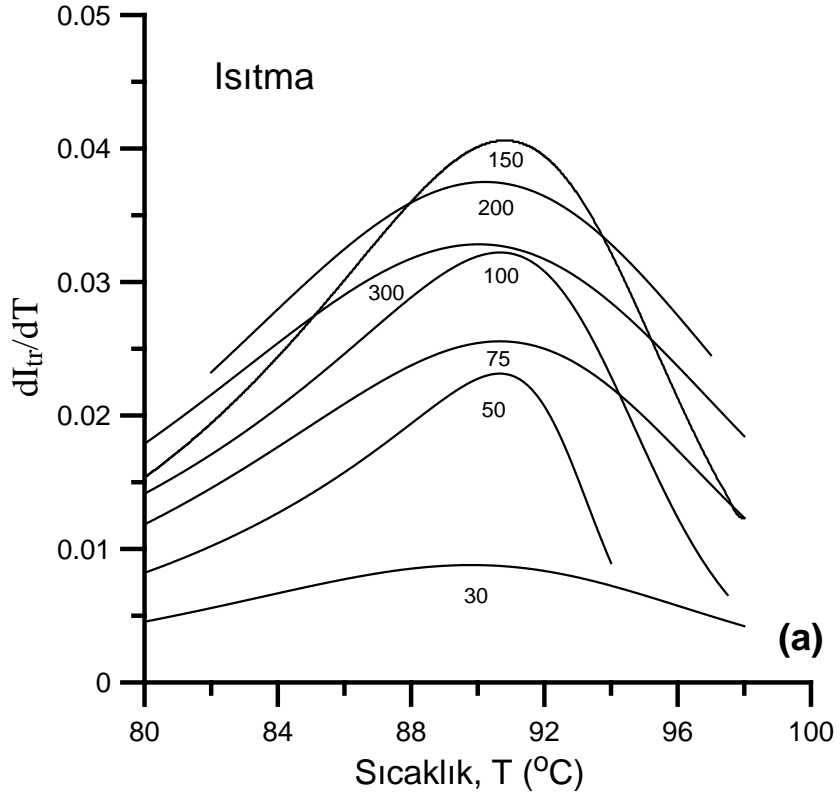
Sigma firmasının verdiği jel şiddetine bağlı olarak elde ettiğimiz $I_{tr}^{max} - I_{tr}^{min}$ değişimine bakacak olursak tam bir lineer artış olduğunu görmekteyiz. Bu ise jel içindeki kümelenme oranının bir ölçüsü olan $I_{tr}^{max} - I_{tr}^{min}$ değişiminin direkt olarak literatürde bulunan jel şiddeti ölçümlerine karşılık geldiğini söyleyebiliriz. Yani mekanik açıdan sıralarsak Type 1-B > Type 2-A > LMP' dir.

5.2. Kritik Geçiş Sıcaklıkları

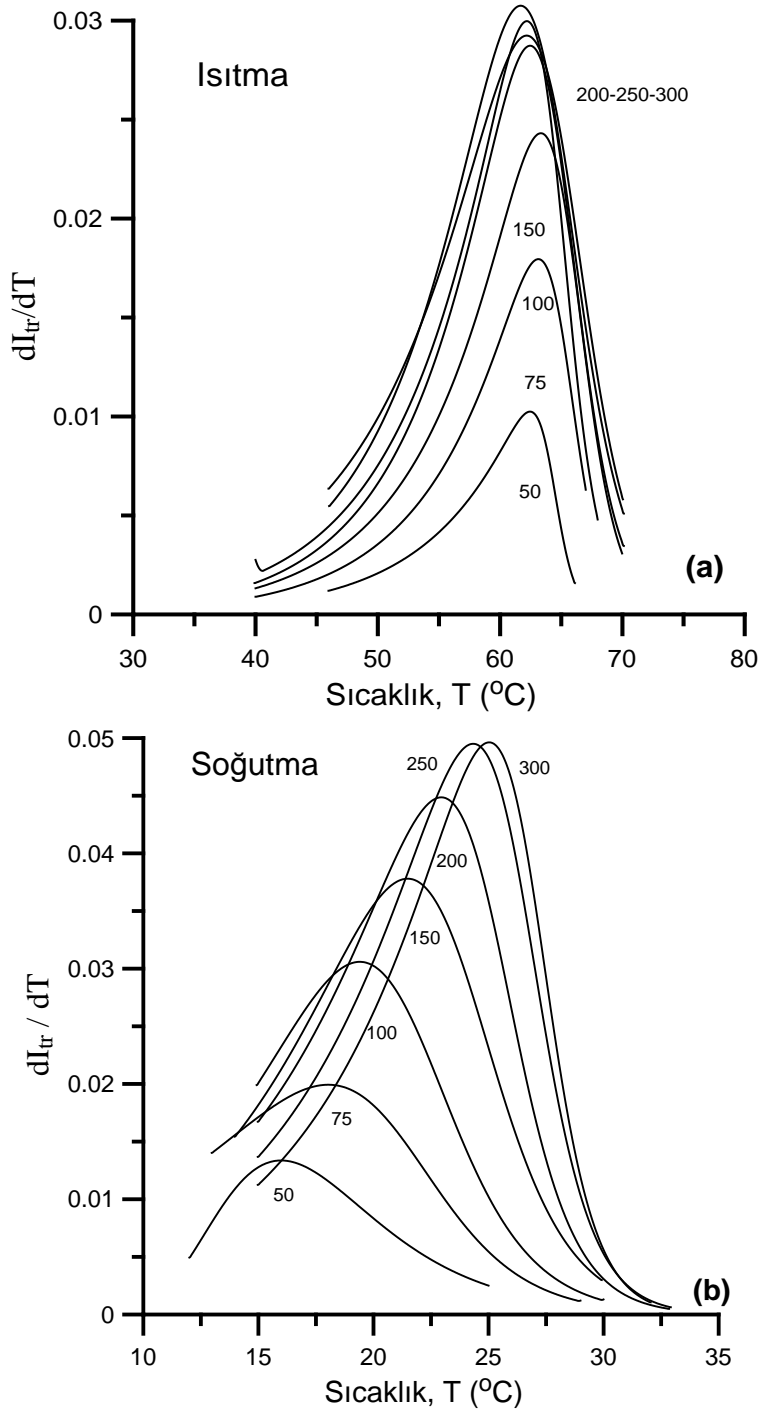
Sistemin jel durumundan sol durumuna ya da sol durumundan jel durumuna faz geçişi süreçlerinde örnekten geçen ışık şiddetinin (I_{tr}) artış hızındaki değişimin meydana geldiği nokta kritik geçiş sıcaklığı (T_{sg} ve T_{gs}) olarak yorumlanır. Elde edilen I_{tr} verilerine ait ısıtma ve soğutma süreçlerinin sıcaklığa göre türevleri şekil 5.6, 5.7 ve 5.8'de verilmiştir.



şekil 5.6: Agarose Type1-B A0576 için(a) Isıtma (b) soğutma süreçlerinde ışık geçirgenliğinin sıcaklığa göre türevleri



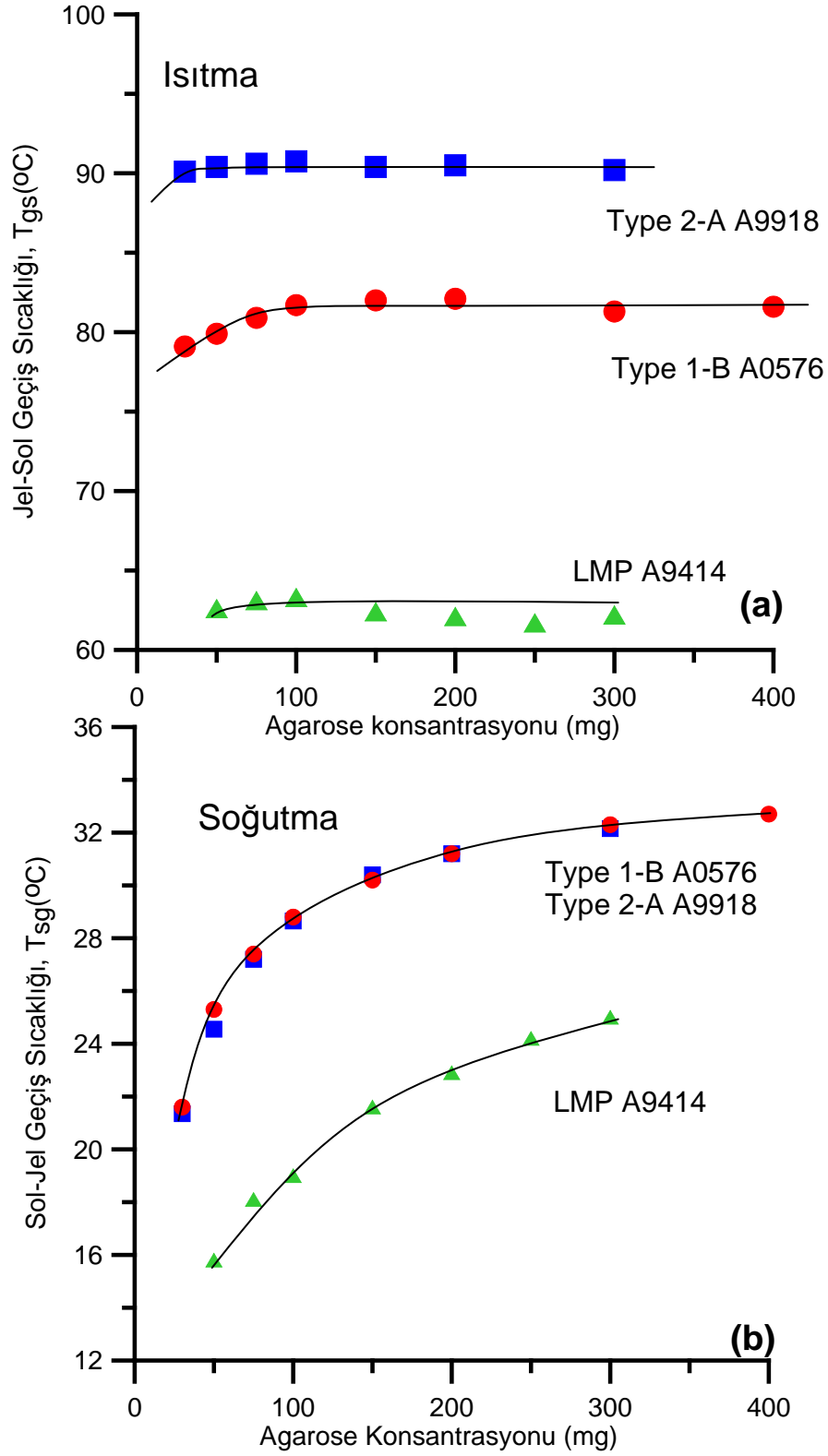
Şekil 5.7: Agarose Type2-A A9918 için (a) Isıtma (b) soğutma süreçlerinde ışık geçirgenliğinin sıcaklığa göre türevleri



Şekil 5.8: Agarose LMP A9414 için (a) Isıtma (b) soğutma süreçlerinde ışık geçirgenliğinin sıcaklığa göre türevleri

Örnekler incelendiğinde her üç tip agarose için de özellikle soğutma esnasında, yani sol-jel geçişlerinde sıcaklığa bağlı olarak oldukça düzenli bir değişimin yaşandığı görülmektedir. Ancak bu düzenli ve belirgin sıcaklık değişimi, aynı ölçüde ısıtma eğrilerinde yani jel-sol geçişlerinde görülmemektedir. Sol-jel geçiş sıcaklık bandı, jel-sol geçişi sıcaklık bandından daha geniş ve düzenli yapıdadır.

Eğrilerin tepe noktalarından elde edilen kritik geçiş sıcaklık değerlerinin agarose konsantrasyonuna bağlılığı şekil 5.9'de grafiksel olarak gösterilmiştir.



Şekil 5.8: 9 örnek için (a) Jel-sol (b) sol-jel geçiş sıcaklıklarının konsantrasyon bağımlılıkları

Şekil 5.8 incelendiğinde jel-sol geçiş sıcaklıklarının sol-jel geçiş sıcaklıklarından oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Bu ise jel oluşumu sürecindeki gecikmenin (histeresis) bir sonucudur.

Yine jel-sol geçiş sıcaklıklarına bakıldığında (Şekil 5.9 a) agarose konsantrasyonu artışının sıcaklıkları belirgin biçimde arttırmadığı ancak hafif bir (1-2 °C'lik) artışın meydana geldiği gözlenmektedir. Bununla birlikte sol-jel geçişinde ise (Şekil 5.9 b) agarose konsantrasyon artışının geçiş sıcaklığında hızla arttırdığı ve yaklaşık 200 mg' dan sonra ise bir doyuma ulaştığı görülmektedir.

3 tip örnek içerisinde en düşük sülfat içeren LMP örneğinin diğerlerine nazaran oldukça düşük sıcaklıklarına sahip olduğu, sol-jel geçişi Type 1-B ve Type 2-A için elde edilen sıcaklık değerlerinin birebir aynı olduğu ancak jel-sol geçişi için Type 2-A'nın Type 1-B' den yaklaşık 8-10 °C daha yüksek olduğu görülmektedir. Geçiş sıcaklıkları üzerine etkiler düşünüldüğünde zincirin molekül kütlesi akla ilk gelenlerdendir. Ancak elimizde bu 3 tip zincirin molekül kütlesini ölçecek bir sistem yoktur ve literatürde de bunlarla ilgili bir bilgi elde edilememektedir.

Aşağıda karşılaştırma yapmak için farklı yöntemlerle yapılan agarose'un jelleşme sıcaklıkları verilmiştir.

Fernandez vd. shear oscillation (makaslama salınımı) ve DSC (diferansiyel taramalı kalorimetre) tekniğini kullanarak yaptıkları çalışmalarında farklı konsantrasyondaki agarose'un jelleşme sıcaklığını 34.3 °C-38.5 °C olarak belirlediler (Fernandez vd., 2007).

Matsuo vd. polarize ışık saçılması ve X-ışını kırınımı tekniğini kullandıkları deneylerinde jelleşme sıcaklığını 41 °C-50 °C arasında belirlediler (Matsuo vd., 2002).

Aymard vd. reolojik, nükleer manyetik rezonans (NMR), bulanıklık ve DSC'ye dayanan çoklu teknik yaklaşımı ile jelleşme sıcaklığını 35 °C- 43 °C olarak belirlediler (Aymard vd., 2001).

5.3. Sol-Jel ve Jel-Sol Geçişi Aktivasyon Enerjileri

Reaksiyon hızına sıcaklığın etkisi ilk defa Arrhenius tarafından denklem 1 ile açıklanmıştır. Arrhenius deneysel sonuçlardan yola çıkarak, reaksiyon hız değişiminin mutlak sıcaklıkla üssel olarak değişeceğini belirlemiştir.

$$k = A \exp(-E_a/RT) \quad (1)$$

Bu eşitlikte;

k = reaksiyon hız değişimi

A = moleküllerin birbirine çarpma hızı

E_a = aktivasyon enerjisi (J/mol)

R = gaz sabiti ($k_B \cdot N_A$) = 8.3145 J/mol K

T = mutlak sıcaklık (K)

Bu ampirik denklem deneysel sonuçlarımızı yorumlamak içinde kullanılabilir. Jel-sol ve sol-jel eğrilerimizin değişimini;

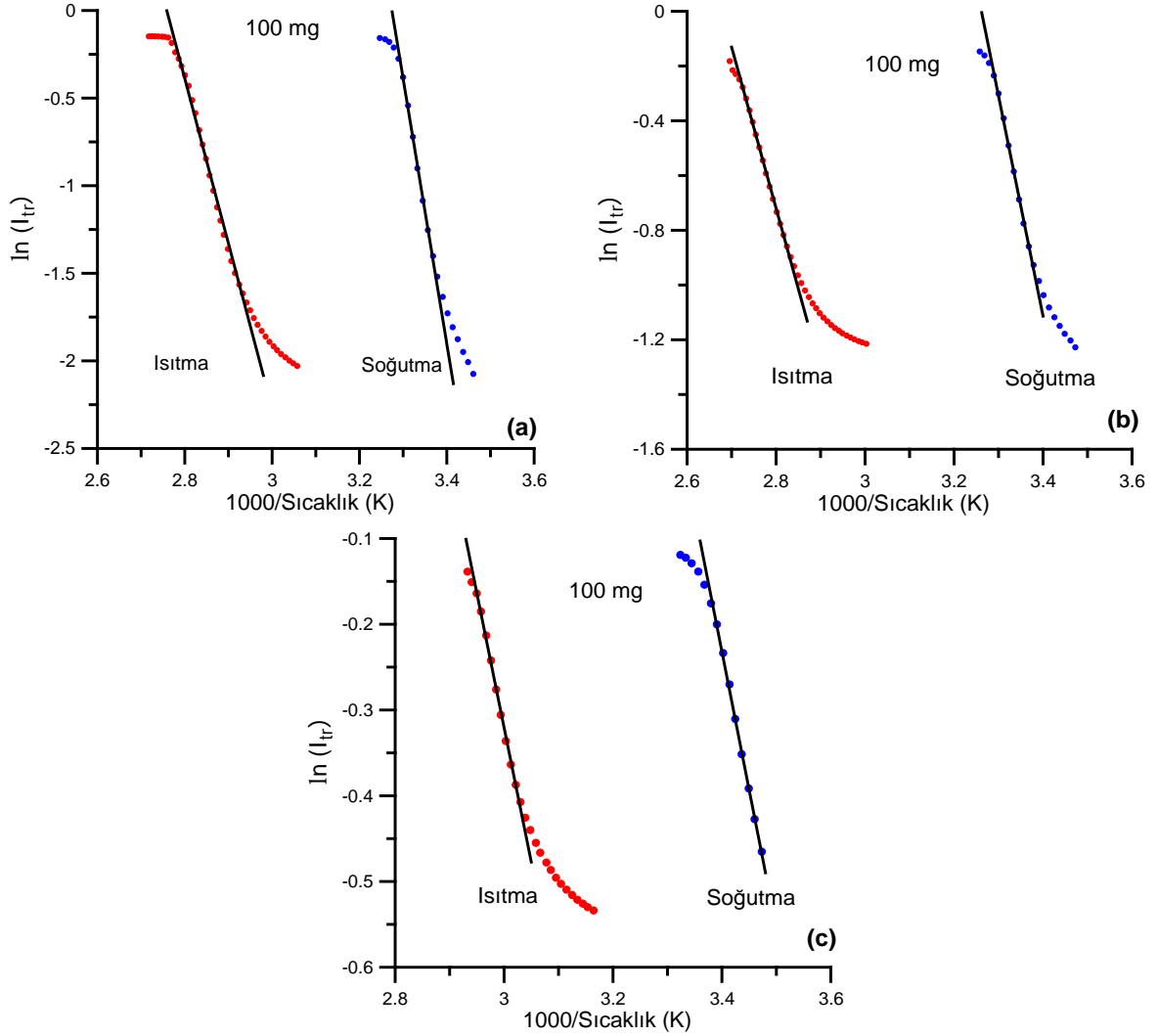
$$I_{tr}/I_{\infty} = \exp(-\Delta E/k_B T) \quad (2)$$

denklemlle karakterize edebiliriz. (2) nolu Arrhenius denklemi aşağıdaki gibi linearize edilerek kullanılır. (2) denkleminde

$$\Delta E = -k_B \ln(I_{tr}/I_{\infty})/T^{-1} \quad (3)$$

elde edilir. Dolayısıyla $\ln(I_{tr}/I_{\infty})$ 'un T^{-1} 'e göre çizilmiş grafikten faydalanarak ΔE aktivasyon enerjileri bulunur. Denklem 3'teki $k=8.31$ J/K.mol alınarak enerjiler, kJ/mol cinsinden hesaplanır.

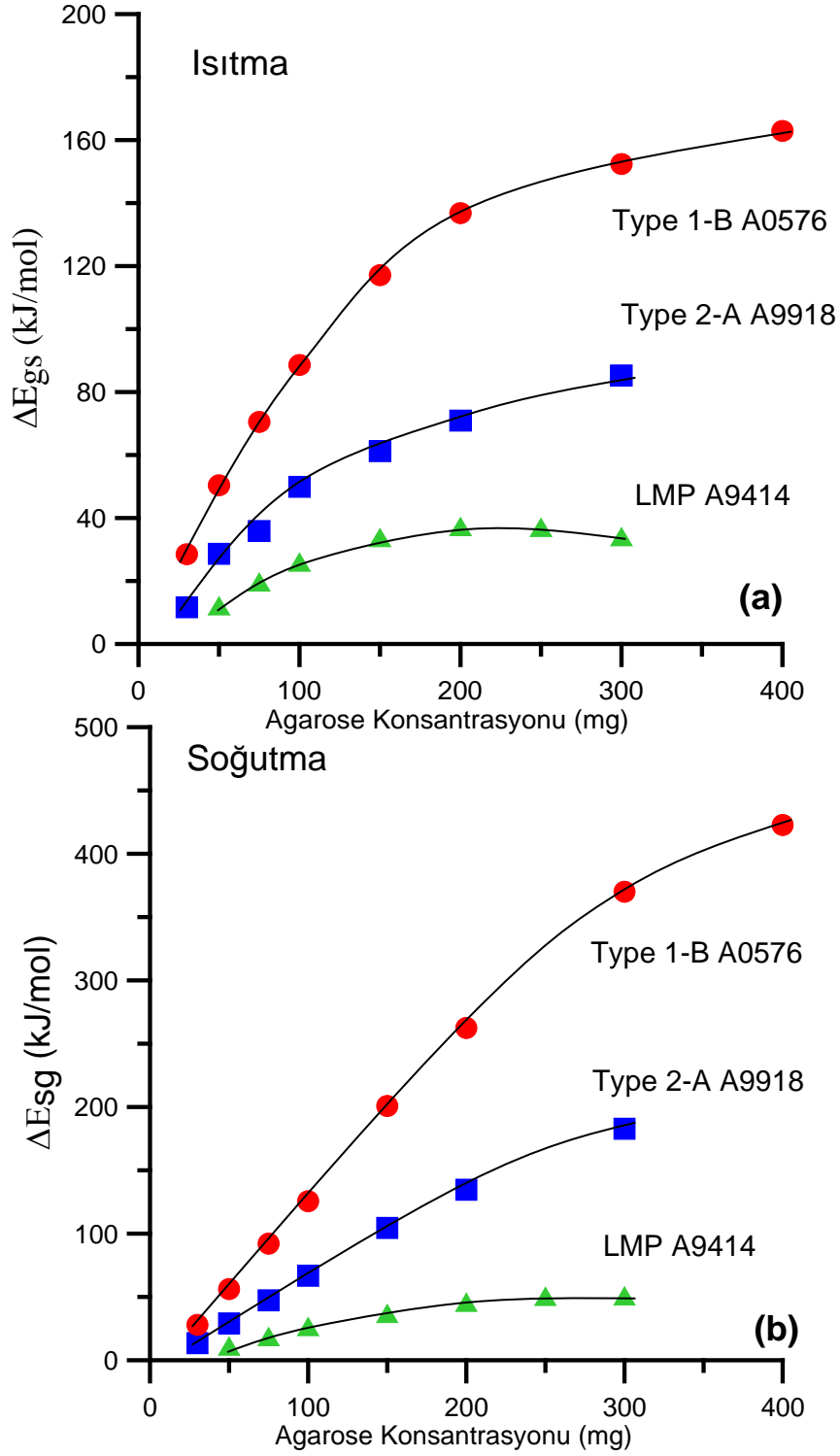
Arrhenius ifadesi, ölçümlerden elde edilen $\ln I_{tr} - 1000/T$ değerlerine uygulandı. Bunların 100 mg örnekleri şekil 5.10'da gösterilmiştir.



Şekil 5.10: (a) Type 1-B A0576 (b) Type 2-A A9918 (c) LMP A9414 için 100 mg agarose örneğinin denklem 1'e göre çizilen grafikleri, fitlerin eğimleri enerji katsayılarını ($\Delta E/k$) vermektedir

Jel-sol (ısıtma) ve sol-jel (soğutma) süreçleri için hesaplanan geçiş aktivasyon enerjilerinin agarose konsantrasyonuna bağlı değişimleri şekil 5.11'de verilmiştir. Şekildeki grafiklerden, jel-sol geçişi için gereken enerjinin (ΔE_{gs}), sol-jel geçişi için gerekenden (ΔE_{sg}) çok daha az olduğu görülmektedir. Bunun sebebi jel-sol geçişinde dışarıdan uygulanan ısı enerjisiyle kolayca dağılan sarmalların, sol-jel geçişinde tekrar sarmal halini alabilmesi için daha fazla enerjiye ihtiyaç duymasıdır. Isıtma ve soğutma süreçleri arasında görülen histeresisin nedeni de sistemin gereken enerjiyi kazanabilmesi için geçen zamandan dolayıdır. Bir başka deyişle rasgele yumakların (random coils) bir araya gelerek çift sarmal yapıyı oluşturmaları, yüksek sıcaklıklardaki

hızlı molekül hareketlerinde mümkün olmamaktadır. Çözelti sıcaklığı belirli bir değere indiğinde hızlı bir şekilde çift sarmallar ve kümeler oluşabilmektedir.



Şekil 5.11: (a) Jel-sol (ısıtma) (b) sol-jel (soğutma) süreçleri için hesaplanan geçiş aktivasyon enerjilerinin agarose konsantrasyonuna bağlı değişimi

Şekilde görüldüğü gibi hem jel-sol hem de sol-jel enerjilerinin 150-200 mg'a kadar hızla arttığı ve bundan sonra satüre olduğu söylenebilir. Bu konsantrasyon artışı sonucunda jel ağını oluşturan zincir sayısı ile birlikte kurulan bağ sayısını arttırdığı anlamına gelmektedir. Bunun sonucu olarak daha fazla bağ kurmak için gerekli olan enerji (sol-jel) ve daha fazla bağı kırmak için gerekli olan enerji (jel-sol) miktarının artması anlamına gelir.

Şekil 5.9 ve 5.11'da görüldüğü gibi hem kritik geçiş sıcaklıkları, hem de geçiş aktivasyon enerjilerine bakıldığında 200 mg'dan sonra değişimlerin yavaşladığı görülmektedir. Yani bu konsantrasyondan sonra agarose zincir sayısının artmasının jelin özelliklerini lineer olarak arttırmadığını söyleyebiliriz.

Burada mekanik olarak en zayıf görünen (düşük sol-jel ve jel-sol sıcaklıklarından dolayı) LMP örneğinin diğerlerine nazaran çok daha az enerjiye ihtiyaç duyduğu görülmektedir. Bu ise LMP jelini oluşturan Ağ yapının daha zayıf olarak kurulduğunu, bu nedenle gerekli enerjilerinde düşük olduğu söylenebilir. Elde edilen enerjilerin şekil 5.4' te ve tablo 4.1'deki verilerle uyumlu olduğu da görülmektedir. Yani mekanik olarak en kuvvetli jelin oluşması, içerisindeki bağ sayısı ve kümelenmelerin büyüklükleri ile ilgilidir. Burada da en çok bağ ve küme kuran Type 1-B'nin I_r eğrilerindeki en düşük geçiş değerine sahip olduğunu ve bu bağları kurmak ve kırmak için gerekli olan enerjilerinde diğerlerinden yüksek olduğunu söyleyebiliriz.

Özetle elde ettiğimiz sıcaklık ve enerjilere bakarak agarose'un yapısındaki sülfat oranına bir bağımlılık belirleyemedik, ancak sonuçlarımızın jel şiddeti ölçümleri ile uyumlu olduğunu tespit ettik. Elde edilen sonuçlardan yapısal değişim için sülfat miktarından ziyade moleküler ağırlık gibi belirleyici bir başka parametrenin rol oynadığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Almdal, K., Dyre, J., Hvidit, S. and Kramer, O., Towards a phenomenological definition of the term gel, *Polymer Gels and Networks*, 1, 5-17, 1993

Araki, C., Seaweed polysaccharide, in proc. 4th int. Cong. Biochem, Vienna, Pergamon pres, London, pp. 15-30, 1958.

Aymard, P., Martin D.R., Plucknett, K., Foster, T.J., Clark, A.H. and Norton, I.T., Influence of Thermal History on the Structural and Mechanical Properties of Agarose Gels, *Biopolymers* 59: 131-144, 2001.

Carothers, W.H., Studies on polymerization and ring formation I. An introduction to the general theory of condensation polymers, *J. Am. Chem. Soc.*, 51 (8), pp 2548–2559, 1929.

Dai, B. and Matsukawa, S., NMR measurements NMR studies of the gelation mechanism and molecular dynamics in agar solutions, *Food Hydrocolloids* 26, 181-186, 2012.

Duckworth, M. and Yaphe, W., The structure of agar. Part 1. Fractionation of a complex mixture of polysaccharides. *Carbohydr. Res.* 16, 359–366, 1971.

Fernandez, E., Lopez, D., Mijangos, C., Smrckova, M.-D., Ilavsky, M. And Dusek, K., Rheological and Thermal Properties of Agarose Aqueous Solutions and Hydrogels, *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, Vol. 46, 322–328, 2008.

Funke, W., Okay, O. and Müller B.J., Microgels- Intramolecularly Crosslinked

Hirokawa, Y., Tanaka, T., Volume phase transition in a non-ionic gel, *J.Chem Phys.* 81, 6379-6380, 1984.

Ikeda S., Morris V.J., Nishinari K., Microstructure of Aggregated and Nonaggregated κ -carrageenan Helices Visualized by Atomic Force Microscopy, *Biomacromolecules*, 2, 1331-1337, 2001.

Macromolecules with a Globular Structure, *Advances in Polymer Science*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 136, 139-234, 1998.

Matsuo, M., Tanaka, T. and Ma, L., Gelation mechanism of agarose and κ -carrageenan solutions estimated in terms of concentration fluctuation., *Polymer* 43 5299-5309, 2002.

McHugh, D.J., Worldwide distribution of commercial sources of seaweeds including *Gelidium*. *Hydrobiologia*, 221, 19–29, 1991.

Meer, S., Agar. In R. L. Davidson (Ed.), *Handbook of water soluble gums and resins* NY: McGraw-Hill. pp. 7–19, 1980.

Moritaka, H., Takashi, M. and Kubota, K., Effects of Cooling Rate and Sodium Chloride on Polysaccharide Gelation, *Food Sci. Technology*, 13(4), 345-350, 2007.

Morris, E.R., Rees, D.A. and Robinson, G., Cation-specific aggregation of carrageenan helices: domain model of polymer gel structure, *Journal of Molecular Biology*, 138, 349-362, 1980.

Nilsson S., Piculell L., Helix-coil transitions of ionic polysaccharides analyzed within the Poisson-Boltzmann cell model. 4. Effects of site-specific counterion binding *Macromolecules*, 24, 3804-3811, 1991.

Renn, D.W., Agar and Agarose Indispensible partners in biotechnology, *Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev.*, 23, 17-21, 1984.

Shibayama, M., Tanaka, T., Volume phase-transition and related phenomena of polymer gels, *Advances in polymer science*, 109, 1-62, 1993.

Singh, T., Meena, R. And Kumar, A., Effect of Sodium Sulfate on the Gelling Behavior of Agarose and Water Structure Inside, *J.Phys. Chem. B*, 113, 2519-2525, 2009.

Tanaka, T., Gels, *Scientific American*, 244, 124-138, 1981.

Te Nijenhuis K., Thermoreversible Networks - Viscoelastic Properties and Structure of Gel , *Advances in Polymer Science*, Springer 130 , 1-252, 1997.

Tüzün, Ş., *Kolloid Kimyası*, 1992.

Viebke, C., Piculell, L. and Nilsson, S., On the Mechanism of Gelation of Helix-Forming Biopolymers, *Macromolecules*, 27 (15), 4160-4166, 1994.

Vivek, K., Soni, R.S., Steady Light scattering studies of poly(dimethylsiloxane) solutions and swollen Networks, *Macromolecules*, 23 (25), pp 5257–5265, 1990.

Xiong, J.Y., Narayanan, J., Liu, X.Y., Chong, T.K., Chen, S.B. and Chung, T.S., Topology Evolution and Gelation Mechanism of Agarose Gel, *J. Phys. Chem. B*, 109 (12), 5638-5643, 2005.

ÖZGEÇMİŞ

13 Temmuz 1987 Tekirdağ doğumluyum. 2001 yılında Tekirdağ Anadolu Lisesini kazandım ve 2005 yılında mezun oldum. 2006 yılında Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü'ne girdim. 2010 yılında bölümü birinci olarak bitirdim. Aynı yıl Trakya Üniversitesi Fen-Bilimleri Enstitüsü'nde yüksek lisansa başladım ve şuan yüksek lisans eğitimine devam etmekteyim.