



SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN FAKÜLTESİ
FEN DERGİSİ



<http://dergipark.gov.tr/sufefd>

Nisan 2017

Cilt: 43

Sayı : 1



SELÇUK ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ FEN DERGİSİ

SELÇUK UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE FACULTY

Dergi Sahibi: **Prof.Dr. Mustafa KÜÇÜKÖDÜK**

Baş Editör: **Doç.Dr. Evren YILDIZTUGAY**

İletişim/Correspondence

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Dekanlığı
Alaeddin Keykubat Kampusu, Selçuklu, 42250, Konya
Tel: +90 332 2231873 Fax: +90 332 2412499

Web: <http://dergipark.gov.tr/sufefd>

E-posta: selcukfendergi@gmail.com

Yayın Tarihi / Publication Date

28.04.2017

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ FEN DERGİSİ SELCUK UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE FACULTY

Baş Editör (Editor in chief)

Doç.Dr. Evren YILDIZTUGAY
(S.Ü. Fen Fakültesi Biyoteknoloji Bölümü)

Yayın Kurulu (Editorial Board)

Prof.Dr. Yavuz BAĞCI, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Ülfet ATAV, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Ahmet Sinan ÇEVİK, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Matematik Bölümü, Türkiye
Doç.Dr. Haluk ÖZPARLAK, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Türkiye
Doç.Dr. İlkey Hilal GÜBBÜK, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye
Doç.Dr. Mustafa ÖZMEN, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye
Doç.Dr. İsmail KINACI, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü, Türkiye
Dr. Sinan ALKAN, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Türkiye
Dr. Marcello LOCATELLI, Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti e Pescara, İtalya
Dr. Adriano MOLLICA, Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti e Pescara, İtalya
Dr. Simone CARRADORI, Università degli Studi G. d'Annunzio Chieti e Pescara, İtalya

Danışma Kurulu (Advisory Board)

Prof.Dr. Rıza OĞUL, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Ayhan ÖZMEN, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Salih YILDIZ, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Mustafa YILMAZ, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Ahmet KOÇAK, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Kemal AYDIN, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Matematik Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Mehmet Fedai KAYA, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi, Aktüerya Bölümü, Türkiye
Prof.Dr. Coşkun KUŞ, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü, Türkiye
Doç.Dr. İmren HATAY PATİR, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoteknoloji Bölümü, Türkiye
Doç.Dr. Buğra SARAÇOĞLU, Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, İstatistik Bölümü, Türkiye
Doç.Dr. Gülşin ARSLAN, Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyokimya Bölümü, Türkiye

43(1)
2017

Yazışma Adresi

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Dekanlığı
Alaeddin Keykubat Kampusu, Selçuklu, 42250, Konya
✉: selcukfendergi@gmail.com
Tel : 0 332 223 18 73 • Faks : 0 332 241 24 99

..... Yılda İki Kez Yayınlanır



SELÇUK ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ FEN DERGİSİ

SELCUK UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE FACULTY

e-ISSN: 2458-9411

CİLT:43, SAYI:1, NİSAN 2017

VOLUME:43, ISSUE 1, APRIL 2017

İÇİNDEKİLER

Contents

- Thermococcus gorgonarius* DNA Polimerazının Rekombinant Olarak Üretimi.....1–9**
Recombinant DNA Polymerase Production of Thermococcus gorgonarius
Bilge Hilal ÇADIRCI, Oğuzhan BEBEK, Deniz ÇAM
- Kompleks Küresel Harmoniklerin Binom Katsayıları Cinsinden Analitik İfadesi11–14**
The Analytical Formula of Complex Spherical Harmonics in terms of Binomial Coefficients
Erhan AKIN
- Kaliks[4]aren Nanopartikül Bazlı Modifiye Katı Elektrot Yüzeyleri Kullanılarak Cd(II) nin Voltametrik Tayini15–25**
Voltammetric Determination of Cd(II) Using Modified Solid Electrode Surface Based Nanoparticle and Calix[4]arene
Aygen DEMİR, Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI, Serkan SAYIN
- Tekrarlı Kesikli Süreçte *Funalia trogii* ve *Trametes versicolor* ile Lakkaz Enziminin Çeşitli Ortamlarda Üretimi27–40**
Production of Laccase Enzyme in Various Media by Funalia trogii and Trametes versicolor in Repeated Batch Process
Emre BİRHANLI, Özfer YEŞİLADA
- Piperazin Türevi İçeren Yeni Çinko (II) ve Kobalt (II) Ftalosiyanimlerin Sentezi, Spektroskopik ve Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi41–57**
Novel Zinc(II) and Cobalt(II) Phthalocyanines Bearing Piperazine Derivative: Spectroscopic and Electrochemical Properties
Emine BAYRAKTAROĞLU, Pervin DEVECİ
- Merluccius merluccius* L.'un Total Yağ Asidi Kompozisyonunda Mevsimsel Değişiklikler59–64**
Seasonal changes in the total fatty acid composition of Merluccius merluccius L.
Leyla KALYONCU
- Slater-Tipi Orbitaler Üzerinden İki-Merkezli Moleküler İntegrallerin Eliptik Koordinatlar Kullanılarak Hesaplanması için Kullanılan Yardımcı Fonksiyonlar.....65–74**
On the Auxiliary Functions Used for the Evaluation of Two-Center Molecular Integrals over Slater-Type Orbitals using Elliptical Coordinates
Erhan AKIN
- Tek Elektronlu Kuantum Nokta Yapılarda Manyetik Alan Etkisinin Pertürbasyon Yöntemiyle İncelenmesi75–90**
Investigation of Magnetic Field Effect on the Quantum Dot with One Electron by Perturbation Method
Mustafa Doğan SARIKAYA, Bekir ÇAKIR, Ayhan ÖZMEN, Yusuf YAKAR

Thermococcus gorgonarius DNA Polimerazının Rekombinant Olarak Üretimi

Bilge Hilal ÇADIRCI¹, Oğuzhan BEBEK¹, Deniz ÇAM¹

¹Gaziosmanpaşa Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Biyomühendislik
Bölümü, TOKAT
bilgehilal.cadirci@gop.edu.tr

Öz: Termostabil bir enzim olan Tgo DNA polimeraz hipertermofilik bir arkea olan *Thermococcus gorgonarius* tarafından sentezlenmektedir. Çalışmamızda 3'-5' ekzonükleaz aktivitesiyle yüksek kalitede DNA sentezi gerçekleştiren Tgo DNA polimeraz, rekombinant olarak üretimi hedeflenmiştir. Bu amaçla, üretilen yapay gen uygun restriksiyon enzimleri ile kesilip aynı enzimlerle kesilmiş olan pET28a vektör sistemine ligasyon ile birleştirilmiştir. *E. coli* BL21 hücrelerinde eksprese edilen enzim aktivitesi, PCR reaksiyonu gerçekleştirilerek kontrol edilmiştir.

Anahtar kelimeler: DNA polimeraz, PCR, Rekombinant DNA teknolojisi, *Thermococcus gorgonarius*.

Recombinant DNA Polymerase Production of *Thermococcus gorgonarius*

Abstract: A thermostable enzyme Tgo DNA polymerase was produced by a hyperthermophilic archaea, *Thermococcus gorgonarius*. In this study, it was aimed to produce the Tgo DNA polymerase which synthesizes highly qualified DNA by its 3'-5'-exonuclease activity, by recombinant DNA technology. For this purpose, synthesized synthetic DNA was cut with restriction enzymes and ligated into a pET28a vector. The activity of the enzyme expressed in *E. coli* BL21 was controlled by PCR reaction.

Keywords: DNA polymerase, PCR, Recombinant DNA technology, *Thermococcus gorgonarius*.

1. Giriş

Yeni bir DNA polinükleotidini sentezleyebilen enzim, DNA polimeraz olarak adlandırılır. Yeni sentezlenen polinükleotitte baz dizilişi, kalıp polinükleotidin baz dizilişine bağlıdır ve eşleniği şeklindedir. Bilinen bütün DNA polimerazlar DNA'yı 5'-3' yönünde sentezlerler. *Escherichia coli*'de 5 tip DNA polimeraz vardır (Fijalkowska ve ark., 2012). İlk keşfedilen DNA polimeraz,

1959'da Arthur Kornberg ve arkadaşlarına nobel ödülü kazandıran, *E. coli*'den izole edilen DNA polimeraz I'dir. Enzim bu reaksiyonu gerçekleştirebilmek için, dört deoksiribonükleotidin 5'trifosfatına (dATP, dTTP, dGTP, dCTP) ihtiyaç duymakta ve Mg⁺² iyonları ve DNA varlığında aktif olmaktadır (Gawel ve ark., 2008).

DNA polimeraz I kendiliğinden DNA sentezini başlatamaz ve mutlaka serbest bir 3'-OH ucuna ihtiyaç duyar. Primer DNA,

DNA sentezi sırasında nükleotidleri eklenebileceği serbest bir 3'-OH grubuna sahip başlangıç noktası sağlar. DNA polimeraz I, primer DNA'nın 3'-OH grubu ile, yeni eklenecek DNA'nın 5'fosfat grubu arasında fosfodiester köprüsü oluşumunu katalizler. DNA polimeraz I *polA* olarak bilinen bir gen tarafından kodlanan, moleküler ağırlığı 103.000 dalton olan bir polipeptittir. DNA polimeraz I'in polimeraz aktivitesi yanında iki enzimatik aktivitesi daha vardır. Bu aktivitelerin ikisi de ekzonükleaz aktivitesidir. DNA polimeraz I hem DNA ipliğini 5' ucundan başlayarak, 5'-3' yönünde kesme aktivitesine, hem de DNA'nın 3'-OH grubundan başlayarak mononükleotidleri 3'-5' yönünde kesme aktivitesine sahiptir. 5'-3' aktivitesi, genellikle 10 nükleotide kadar nükleotid içeren küçük oligomerleri kesip çıkartır (Banach-Orlowska ve ark., 2005). *pol A* geni mutasyona uğratıldığında, DNA'nın hala replike olabildiğinin görülmesi farklı polimerazların da hücrede bulunduğunu göstermiştir (Yang ve Polisky, 1993).

DNA polimeraz II, DNA polimeraz I gibi bir DNA tamir enzimidir (proofreading). Fakat çok az polimerizasyon aktivitesi vardır. 5'-3' polimeraz ve 3'-5' ekzonükleaz aktiviteleri vardır. DNA polimeraz III çok sayıda alt birimden oluşan kompleks bir enzimidir. Bu enzim 5'-3' polimeraz ve 5'-3' ve 3'-5' ekzonükleaz aktivitesine sahiptir. DNA polimeraz IV ve

V ise DNA polimeraz II ile birlikte hasarlı DNA'nın replikasyonunda önemli rol oynarlar (Banach-Orlowska ve ark., 2005).

Bakteriyal, viral ve ökaryotik DNA polimerazlar hakkında çok şey bilinmesine rağmen, arkeal replikasyon tam olarak aydınlatılmadığı için arkeal DNA polimerazlar hakkında sınırlı bilgiye ulaşılmaktadır. Çoğu bilinen arkeal DNA polimerazlar ökaryotik DNA polimerazların da bulunduğu B tipi sınıfa aittir. Arkeal DNA polimerazlar ökaryotik DNA polimeraz α ve δ 'ya benzemektedir. Ancak ökaryotik DNA polimerazlardan farklı olarak daha yüksek sıcaklıklarda daha düşük hata oranı ile ($3.3-2.2 \times 10^{-6}$) çalışmaktadır. Bu da arkeal DNA polimerazların biyoteknolojik açıdan kullanımını uygun hale getirmektedir (Hopfner ve ark., 1999).

Termostabil DNA polimerazlar genellikle termofil mikroorganizmalardan izole edilmiş olan enzimlerdir. Archaealarda DNA polimeraz sayısı mikroorganizmasına göre değişmektedir. DNA polimerazlarda 5'-3' polimeraz 5'-3' ekzonükleaz 3'-5' ekzonükleaz aktiviteleri bulunmaktadır (Jozwiakowski ve ark., 2014). PCR'da kullanılan Taq DNA polimeraz, sıcak kaplıca sularından izole edilmiş *Thermus aquaticus* bakterisinin DNA polimeraz I enzimidir. Pfu polimeaz, hipertermofilik *Pyrococcus furiosus* arkesinden izole edilmiş bir polimerazdır. Bu enzimler ısı ile denatüre olmadıkları için in vitro PCR

çalışmalarında, DNA'yı denatüre etmek için 94°C'ye sıcaklık çıkartıldığında aktivitelelerini korurlar (Ishino ve Ishino, 2014).

Bu çalışmada PZR (polimeraz zincir reaksiyonu)'da kullanılmak üzere yüksek doğrulukta DNA polimerizasyonu yaptığı bilinen *Thermococcus gorgonius* arkesine ait DNA polimeraz rekombinant olarak üretilmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Hedef Genin Seçilmesi

Elde etmek istediğimiz Tgo DNA polimeraz enziminin genomik dizi National Center for Biotechnology Information (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) web sayfası kullanılarak belirlenmiş ve *Thermococcus*'a ait bir gen, *Escherichia coli* hücresinde sentezletirileceği için kodon optimizasyonunu Serial Cloner 2.6.1 programı kullanılarak yapılmıştır. *BamHI* ve *XhoI* restriksiyon enzimi kesim bölgeleri de ekledikten sonra, elde edilen dizi Sentegen firması tarafından ampisilin direnç geni içeren pTZ57RT vektörü içinde sentezlenmiştir.

2.2. Genin pET28a Vektörüne Klonelanması

Klonlama teknikleri Sambrook ve Russell (2001)'e göre yapılmıştır. Tgo DNA Polimeraz genini içeren plazmid ve pET28a vektörünün *XhoI* (Thermo) ve *BamHI*

(Promega) ile kesimi, uygun tamponlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enzimle kesim ile ilgili optimizasyonlar, DNA miktarına göre hesaplanmıştır. Restriksiyon karışımı, üretici firmanın önerilerine göre hazırlanmıştır. Genel olarak 20µL son hacim için, 2 µL vektör, 4µL 10x tampon, 2µL, 10U/mL *BamHI*, 1 µL *XhoI*, 11µL dH₂O kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda iki restriksiyon enzimi aynı tamponda kesim yapmadığı için, ilk önce *BamHI* ile kesim yapılmıştır, sonra da *XhoI* ile tek tek kesim yapılmıştır. Gerek duyulduğunda DNA konsantrasyonu etanol ile presipitasyon tekniği kullanılarak yoğunlaştırılmıştır.

Kesim gerçekleştirildikten sonra %0.8'lik agaroz jelde görüntülenen fragmentler, Biobasic jel ekstraksiyon kiti kullanılarak üretici firmanın önerileri doğrultusunda prosedür uygulanarak jelden izole edilmiştir. Spektrofotometrik olarak konsantrasyonları belirlendikten sonra, fragmentler T4 DNA ligaz enzimi kullanılarak +4°C'de gece boyunca birbirine bağlanmıştır. Daha sonra ligasyon ürününün CaCl₂ yöntemi ile kompetent hale getirilmiş *E.coli* DH5α hücrelerine ısı şoku transformasyon tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 100 µL ligasyon ürünleri, kanamycin içeren LB agar besiyerlerine yayıldıktan sonra, petriler 37°C'de 1 gece etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

Etüvden çıkarılan petrilere oluşan koloniler, içinde 5ml+5 µl kanamycin sıvı kültür bulunan steril tüplere kürdan aracılığıyla aktarıldıktan sonra gece boyunca 37°C'de 200 rpm'de inkübe edilmiştir. Üreyen hücrelerden plasmid profilleri gözlemek için jelde yürütülür. Bunun için öncelikle 100°C'de 5 dakika bekletilen hücreler, 13000 rpm'de santrifüj edildikten sonra doğrudan agaroz jele yüklenerek plazmit varlıkları araştırılır. Bu basamak, petride çok sayıda transformant olduğu zaman gerçekleştirilmiştir.

Doğru ebatta plazmit içerdiği gözlemlenene hücrelerden izole edilen plazmitlerin ebatları sadece BamHI enzimi ile kesilerek doğrulandıktan sonra, protein ekspresyonu çalışmaları yapılmıştır.

2.3. Tgo DNA Polimeraz Enziminin Ekspresyonu

Protein ekspresyonu için *E. coli* BL21 pLysE suşu kullanılmıştır. Restriksiyon kesimleri sonucunda Tgo DNA polimeraz enziminin başarılı bir şekilde klonlandığı anlaşıldıktan sonra kompetent hale getirilmiş *E. coli* BL21 pLysE suşuna daha önce anlatıldığı gibi ısı şoku ile transformasyon işlemi yapılmıştır. Transforme edilen *E.coli* hücreleri klorofenikol ve kanamisin içeren LB agar besi yerine yayma ekim yöntemiyle ekilmiş, üreyen hücrelerden koloniler olarak tekrar antibiyotik içeren 4 ml'lik LB besiyerine alınıp 1 gece inkübe edilmiştir. Büyüyen hücreler klorofenikol ve

kanamisinli 50 ml LB besi yeri bulunan erlenlere inoküle edilerek, 600 nm'deki OD değeri yaklaşık 0.6'ya ulaştığında buz üzerinde 10 dakika soğutulmuş ve daha sonra 1M IPTG (İzopropil tiyogalaktozit) ilave edilerek indüklenerek 3-4 saat inkübasyona bırakılmıştır. İndükleme sonrasında hücre kültürü 8000 rpm de 5 dakika santrifüjlenerek ortamdan besi yeri uzaklaştırılmış ve pellet 10 mM Tris-HCl pH: 8.5 içerisinde çözülmüştür. Hücreler soğuk ortamda sonikatör kullanılarak parçalanmıştır. 10000 rpm, 10 dakika santrifüj sonucu çözümlü haldeki proteinlerin bulunduğu süpernatant, Tgo Polimeraz kaynağı olarak kullanılmıştır. Süpernatant, 80 °C'da 10 dk ısıtılarak süpernatanttaki diğer proteinler denatüre edilerek saflaştırma yapılmıştır. 15000 rpm'de 30dk santrifüj edilerek süpernatantta aktif haldeki Tgo Polimeraz diğer proteinlerden ayrılmıştır. Karışım içerisine son konsantrasyon %50 gliserol, 50 mM KCl, 10 mM 2-Merkaptoetanol, 0.1 mM EDTA olacak şekilde ilaveler yapıldıktan sonra -20°C'de kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

2.4. Tgo DNA Polimeraz Enziminin Aktivite Tayini

Isı denatürasyonu yolu ile saflaştırılmış Tgo polimerazın aktivite tayini için PZR denemeleri yapılmıştır. Bunun için template olarak elimizde bulunan *Pseudomonas* DNA'sı ve universal bakteri primerleri

EubF, (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') ve EubR, (5'-GGAACATGTGTGGCGGGCC-3') kullanılmıştır. Reaksiyon tamponu 5X konsantrasyonundaki 50 mM Tris-HCl pH 8.5, 87.5 mM (NH₄)₂SO₄, 6.25 mM MgCl₂, %2.5 tween 20 %7.5 DMSO olarak kullanılmıştır.

Reaksiyon koşulları; başlangıç denatürasyon 94°C 2 dk. 1 döngü, denatürasyon 94°C 30 s annealing 52°C 60 s, uzama 72°C 2 dk., 30 döngü ve son uzama, 72°C 7 dk. olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

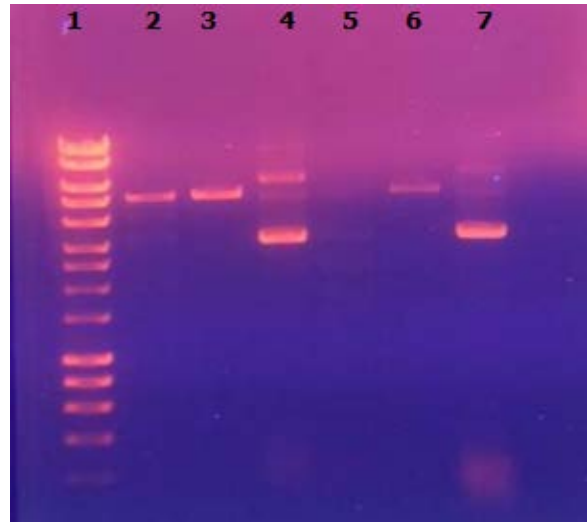
3. Sonuçlar ve Tartışma

Termo-stabil bir enzim olan Tgo DNA polimeraz hipertermofilik bir archaea olan *T. gorgonarius* tarafından sentezlenmektedir. 3'-5' ekzonükleaz aktivitesiyle Tgo DNA polimeraz yüksek kalitede DNA sentezi gerçekleştirir (Jozwiakowski ve ark., 2014).

Çalışmamızda domainler arasında klonlama yapıldığı ve bu anlamda ekspresyonda kodon eğilimlerinin önemi olduğu için Tgo DNA polimeraz geni *in vitro* olarak sentezlenmiştir. *BamHI* ve *XhoI* restriksiyon kesim bölgeleri içeren yapay genin ve pET28a ifade vektörünün ikili kesimi verimli olmadığı için, ayrı ayrı tüplerde, enzimlerin uygun çalışma koşulları altında kesimler gerçekleştirilmiştir.

Tgo DNA polimeraz geni 2324 ve pTZ57RT vektörü 2886 baz çifti

uzunluğunda olduğu için toplam 5210 baz çifti uzunluğunda bir bant elde edildiği Şekil 1'de gözlenmektedir. Uygun koşullar belirlendikten sonra restriksiyon enzimleri ile kesimler 100 µl son hacimde yapılmış ve reaksiyon sonrası jel ekstraksiyonları yapılarak temiz bantlar elde edilmiştir. İşlem sonrası 9.8 ng/µL konsantrasyonlarında elde edilen DNA fragmentleri, molar katsayıları 3:1 olacak şekilde aşağıdaki formül kullanılarak karıştırılmış ve T4 DNA ligaz varlığında +4 °C'de gece boyunca inkübe edilmiştir.



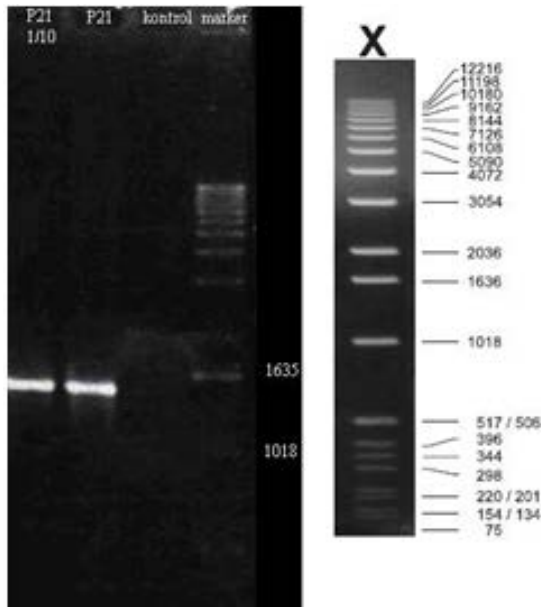
Şekil 1. Restriksiyon enzimleri ile kesim 1)DNA Ladder 2)pTZ57RT+BamHI 3)pTZ57RT+XhoI 4)pTZ57RT 5)pET28a+BamHI 6)pET28a+XhoI 7)pET28a

Insert kütlesi (ng)=3x [insert ebatı (bp)](Vektör ebatı (bp)) x vektör kütlesi (ng)

İnsert:vektör molar konsantrasyon oranları 1:1, 3:1 ve 6:1 olacak şekilde çeşitli optimizasyonlar yapıldıktan sonra *E.coli* DH5α hücrelerine ısı şoku ile transforme

edilmiştir. Transformantların inkübasyonu sonucunda elde edilen kolonilerden doğru ebatta vektör içeren hücreler belirlendikten sonra izole edilen plazmit, yine ısı şoku ile *E. coli* BL21 pLysE suşuna aktarılarak hücreler indüklenmiş ve inkübasyon sonucu büyüyen hücreler parçalanmış ve proteinler izole edilmiştir.

E. coli hücresine ait proteinler yüksek sıcaklık ile denatüre olacağı için, protein karışımı ısıtıldıktan sonra aktif olan proteinin Tgo DNA polimeraz olacağı kabul edilerek PCR çalışmaları yapılmıştır.



Şekil 2. *Pseudomonas* geninin Tgo DNA polimeraz ile amplifikasyonu

Optimizasyonlar sonrası *Pseudomonas* hücresine ait olan 1400 kb büyüklüğünde 16s rRNA kodlayan gen bölgesi, üretmiş olduğumuz Tgo DNA polimeraz ile çoğaltılmıştır (Şekil 2). Şekil 2’de de görüldüğü gibi bantlar oldukça parlak ve temiz görünmektedir. Bilindiği gibi rRNA’lar ribozomun yapısında bulunan,

protein sentezinin gerçekleştirilebilmesi için mRNA’yı ribozoma sabitleyen böylelikle sentezlenen ilk aminoasitin metionin/formilmetionin olmasını sağlayan, evrimsel olarak çok az değişikliğe uğramış 1200-1600 bp uzunluğunda RNA’lardır. Çalışmamızda bu bölgenin çoğaltılmasının nedeni, *Pseudomonas*larda 16s rRNA’yı kodlayan DNA bölgesinin yaklaşık 1400 baz uzunluğunda olduğunun bilinmesinden kaynaklanmaktadır. Reaksiyon karışımı içine eklenen Tgo polimerazın aktif olduğu ve *Pseudomonas* DNA’sından bu bölgeye ait beklenen uzunlukta geni çoğaltması, saflaştırılan Tgo Polimerazın aktif olduğunu göstermektedir. DNA polimeraz eklenmeyen reaksiyon karışımında herhangi bir bant oluşumunun gözlemlenmemesi de, bant gözlemlenme sebebinin, Tgo Polimeraz aktivitesinden olduğunu kanıtlamaktadır.

DNA polimeraz enzimleri yaygın olarak tarımdan tıbbi ve biyolojik araştırma laboratuvarlarına kadar birçok alanda rutin analizlerde kullanılan PZR çalışmalarında kullanılmaktadır (Kovalskaya ve ark., 2014; Grogan, 2015; Mitchel ve ark., 2016). Böyle çalışmalarda düşük hata oranı oldukça önemlidir. Düşük hata oranına sahip arkeal DNA polimeraz enzimlerinin piyasaya girmesi ile diğer enzimlerin kullanımının kısıtlanacağı öngörülmektedir (Zhang ve ark., 2015).

Bu enzimlerin üretimi uluslararası platformalarda gerçekleştirilmiştir fakat

ülkemize kullanılmak istendiğinde çok yüksek maliyet, ürünün teslimat süresinin uzunluğu gibi birçok sorun ortaya çıkmaktadır. Bu çalışma kapsamında uluslararası platformda yapılan üretimlerde oluşan maliyetlerden daha düşük bir maliyette daha fazla miktarda ürün üretimi

yapılacaktır. Böylece ülkemiz açısından enzim sektörü olarak dışa bağımlılık azalacaktır. Bilimsel çalışmalarda düşük maliyet ve kolay ulaşılabilmesiyle üretimi gerçekleştirilecek olan enzimin kullanımı sağlanmış olacaktır.

Teşekkür

Bu çalışma TÜBİTAK 2209/B - Sanayi Odaklı Lisans Bitirme Tezi Destekleme Programı kapsamında 1139B411500184 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Banach-Orlowska M, Fijalkowska IJ, Schaaper RM, Jonczyk P (2005). DNA polymerase II as a fidelity factor in chromosomal DNA synthesis in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol* 58(1): 61-70.
- Fijalkowska IJ, Schaaper RM, Jonczyk P (2012). DNA replication fidelity in *Escherichia coli*: a multi-DNA polymerase affair. *FEMS Microbiol Rev* 36(6): 1105-1121.
- Gawel D, Pham PT, Fijalkowska IJ, Jonczyk P, Schaaper RM (2008). Role of accessory DNA polymerases in DNA replication in *Escherichia coli*: analysis of the dnaX36 mutator mutant. *J Bacteriol* 190(5): 1730-42.
- Grogan DW (2015). Understanding DNA repair in hyperthermophilic archaea: persistent gaps and other reasons to focus on the fork. *Archaea* 2015: 942605.
- Hopfner KP, Eichinger A, Engh RA, Laue F, Ankenbauer W, Huber R, Angerer B (1999). Crystal structure of a thermostable type B DNA polymerase from *Thermococcus gorgonarius*. *Proc Natl Acad Sci Biochemistry* 96(7): 3600–3605.
- Ishino S and Ishino Y (2014). DNA polymerases as useful reagents for biotechnology – the history of developmental research in the field. *Front Microbiol* 5: 465.
- Jozwiakowski SK, Keith BJ, Gilroy L, Doherty AJ, Connolly BA (2014). An archaeal family-B DNA polymerase variant able to replicate past DNA damage: occurrence of replicative and translesion synthesis polymerases within the B family. *Nucl Acids Res* 42(15): 9949–9963.
- Kovalskaya N, Owensa R, Bakera CJ, Deahl K, Hammond RW (2014) Application of a modified EDTA-mediated exudation technique and guttation fluid analysis for potato spindle tuber viroid RNA detection in tomato plants (*Solanum lycopersicum*). *J Virol Methods* 198: 75–81.

- Mitchell KJ, Wood JR, Llamas B, Patricia A, McLenachan PA, Kardailsky O, Scofield RP, Worthy TH, Cooper A (2016). Ancient mitochondrial genomes clarify the evolutionary history of New Zealand's enigmatic acanthisittid wrens. *Mol Phylogenetics Evol* 102: 295–304.
- Sambrook J and Russell DW (2001). Molecular cloning. A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Yang YL and Polisky B (1993). Suppression of ColEI high-copy-number mutants by mutations in the polA gene of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 175: 428-437
- Zhang L, Kang M, Xu J, Huang Y (2015) Archaeal DNA polymerases in biotechnology. *Appl Microbiol Biotechnol* 99: 6585–6597.



Kompleks Küresel Harmoniklerin Binom Katsayıları Cinsinden Analitik İfadesi

Erhan AKIN

Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, KONYA
e-mail: eakin@selcuk.edu.tr

Öz: Bu çalışmada Condon-Shortley faz düzenindeki kompleks küresel harmonikler için binom katsayıları cinsinden bir analitik ifade elde edilmiştir. Bu analitik ifadedeki sonlu toplam minimum sayıda terim içerdiği için bu analitik ifadenin atomik ve moleküler yapı hesaplamalarında kullanılması oldukça elverişlidir.

Anahtar kelimeler: Kompleks küresel harmonikler, Legendre polinomları

The Analytical Formula of Complex Spherical Harmonics in terms of Binomial Coefficients

Abstract: In this study, an analytical formula in terms of binomial coefficients have been obtained for complex spherical harmonics in Condon-Shortley phases convention. The use of this analytical expression in the calculations of atomic and molecular structure is quite usefull since the finite sum in this analytical expression consists of minimum number of elements.

Keywords: Complex spherical harmonics, Legendre Polynomials

1. Giriş

Bir atomik yada moleküler sistemin fiziksel özelliklerini belirleyebilmek için sistemi anlatan dalga fonksiyonunun bilinmesi gerekir. Bu dalga fonksiyonu ise sistem için Schrödinger dalga denkleminin çözümünden elde edilir. Çok elektronlu sistemlerde sistemin hamiltonieni, elektronlar arası elektriksel ve manyetik etkileşmeler nedeniyle oldukça karmaşıktır. Bu nedenle böyle sistemlerde Schrödinger denklemini çözmek hemen hemen imkansızdır. Bu zorlukları aşmak için bazı yaklaşımlar yapmak gerekir. Bu yaklaşımların çoğunun ana fikri ise sistemi

hidrojen atomuna benzetmeye dayanır. Çünkü hidrojen atomunda elektriksel potansiyel küresel simetriktir. Küresel simetriye sahip sistemler için ise Schrödinger denklemi, dalga fonksiyonu,

$$\psi(r, \theta, \varphi) = R(r) \Theta(\theta) \Phi(\varphi) \quad (1)$$

biçiminde yalnızca r, θ ve φ ye bağlı ayrı ayrı fonksiyonların çarpımı şeklinde ele alınarak kolaylıkla çözülebilir (Karaoğlu, 2008). Buradaki açığa bağlı fonksiyonların çarpımı, kompleks küresel harmonikler olarak adlandırılır ve $Y_{lm}(\theta, \varphi)$ ile gösterilirler. Yani

$$Y_{\ell m}(\theta, \varphi) = \Theta(\theta)\Phi(\varphi) \quad (2)$$

şeklindedir. Elektriksel potansiyeli küresel simetriye sahip olan bir kuantum sistemi için Schrödinger denklemi çözüldüğünde

$\Theta(\theta)$ ve $\Phi(\varphi)$ elde edilerek Denk.(2) de yerine yazılırsa küresel harmoniklerin analitik ifadesi Condon-Shortley fazında $[Y_{\ell m}^*(\theta, \varphi) = (-1)^m Y_{\ell -m}(\theta, \varphi)]$,

$$Y_{\ell m}(\theta, \varphi) = i^{m+|m|} \left[\frac{(2\ell + 1)(\ell - |m|)!}{4\pi(\ell + |m|)!} \right]^{\frac{1}{2}} P_{\ell |m|}(\cos \theta) e^{im\varphi} \quad (3)$$

olarak elde edilir (Weniger ve Steinborn, 1982). Burada $P_{\ell |m|}(\cos \theta)$ lar ilgili Legendre fonksiyonlarıdır ve bazı özellikleri aşağıda verilmiştir (Arfken ve ark., 2011):

$$P_{\ell \lambda}(\pm 1) = (\pm 1)^\ell \sqrt{\frac{2\ell + 1}{2}} \delta_{\ell 0} \quad (4)$$

$$P_{\ell \lambda}(x) = (-1)^{\ell - \lambda} P_{\ell \lambda}(-x) \quad (5)$$

$$\frac{2}{2\ell + 1} \sum_{\lambda=0}^{\ell} \frac{2}{1 + \delta_{\lambda 0}} P_{\ell \lambda}^2 = 1. \quad (6)$$

Literatürde ilgili Legendre fonksiyonları için binom katsayıları cinsinden iki analitik ifade bulunmaktadır. Bu ifadeler aşağıda verilmiştir (Guseinov, 1995):

$$P_{\ell \lambda}(x) = \frac{(1-x^2)^{\lambda/2}}{2^\ell} \left[\frac{2\ell + 1}{2F_\lambda(\ell)F_\lambda(\ell + \lambda)} \right]^{\frac{1}{2}} \times \sum_k (-1)^k F_k(\lambda + k) F_{\ell - k}(2\ell - 2k) F_{\ell - \lambda - 2k}(\ell - k) x^{\ell - \lambda - 2k} \quad (7)$$

burada $x = \cos \theta$, $\lambda = |m|$ ve $0 \leq k \leq \frac{1}{2} \{ \ell - \lambda - \frac{1}{2}(1 - (-1)^{\ell - \lambda}) \}$ olup $F_m(n)$ ler ise iyi bilinen binom katsayılarıdır.

$$P_{\ell \lambda}(\cos \theta) = \left[\frac{2\ell + 1}{2} \frac{F_\ell(2\ell)}{F_{\ell + \lambda}(\ell + \lambda)} \right]^{\frac{1}{2}} \sum_{k=0}^{\ell - \lambda} (-1)^{\ell - k} F_k(\ell) F_{\lambda + k}(\ell) (\cos \frac{\theta}{2})^{\lambda + 2k} (\sin \frac{\theta}{2})^{2\ell - \lambda - 2k}. \quad (8)$$

2. Materyal ve Metot

Kompleks küresel harmoniklerin analitik ifadesinin elde edilmesi, içerdiği ilgili Legendre fonksiyonlarının analitik ifadesinin elde edilmesine dayanır. İlgili Legendre fonksiyonları

$$P_{\ell \lambda}(x) = (1-x^2)^{\frac{\lambda}{2}} \frac{d^\lambda}{dx^\lambda} P_\ell(x) \quad (9)$$

şeklinde tanımlanır. Burada $x = \cos \theta$ olup $\lambda = 0, 1, 2, \dots, \ell$ dir. $P_\ell(x)$ ler ise Legendre fonksiyonlarıdır ve

$$P_\ell(x) = \frac{1}{2^\ell \ell!} \frac{d^\ell}{dx^\ell} (x^2 - 1)^\ell \quad (10)$$

dir. Buna göre Denk.(10), Denk.(9) da yerine yazılırsa ilgili Legendre fonksiyonları için

$$P_{\ell\lambda}(x) = \frac{(1-x^2)^{\frac{\lambda}{2}}}{2^\ell \ell!} \frac{d^{\ell+\lambda}}{dx^{\ell+\lambda}} (x^2-1)^\ell \quad (11)$$

elde edilir. Burada türev içindeki terime binom açılımı uygulanırsa

$$(x^2-1)^\ell = \sum_{i=0}^{\ell} (-1)^{\ell-i} F_i(\ell) x^{2i} \quad (12)$$

bulunur. Burada $F_i(\ell)$ ler de binom katsayılarıdır ve

$$F_m(n) = \frac{n!}{m!(n-m)!} \quad (13)$$

$$P_{\ell\lambda}(x) = \frac{(1-x^2)^{\frac{\lambda}{2}}}{2^\ell \ell!} \sum_{i=s}^{\ell} (-1)^{\ell-i} (\ell+\lambda)! F_i(\ell) F_{\ell+\lambda}(2i) x^{2i-(\ell+\lambda)} \quad (16)$$

olarak elde edilir. Denk.(16), Denk.(3) de yerine yazılarak düzenleme yapılırsa kompleks küresel harmoniklerin Condon-Shortley fazında binom katsayıları cinsinden ifadesi,

$$Y_{\ell m}(\theta, \varphi) = i^{m+|m|} \frac{\sin^\lambda(\theta)}{2^\ell} \left[\frac{(2\ell+1) F_\lambda(\ell+\lambda)}{4\pi F_\lambda(\ell)} \right]^{\frac{1}{2}} e^{im\varphi} \sum_{i=s}^{\ell} (-1)^{\ell-i} F_i(\ell) F_{\ell+\lambda}(2i) x^{2i-(\ell+\lambda)} \quad (17)$$

olarak elde edilir. Burada $\lambda = |m|$ olup

$$s = \begin{cases} \frac{\ell+\lambda}{2} & \ell+\lambda \text{ çift ise} \\ \frac{\ell+\lambda+1}{2} & \ell+\lambda \text{ tek ise} \end{cases} \quad (18)$$

şeklinde tanımlanmıştır.

3. Sonuçlar ve Tartışma

Kompleks küresel harmonikler ve kompleks küresel harmoniklerin basit

biçiminde tanımlanır. Atomik ve moleküler sistemlerin bilgisayarla yapı hesaplamalarında binom katsayıları iki boyutlu bir dizi içine depolanır. Bu depolama işleminin yapılmasında ise binom katsayılarının

$$F_m(n) = F_{m-1}(n-1) + F_m(n-1) \quad (14)$$

şeklindeki tekrarlama bağıntısını kullanmak oldukça elverişlidir. Denk.(12), Denk.(11) da yerine yazılırsa

$$P_{\ell\lambda}(x) = \frac{(1-x^2)^{\frac{\lambda}{2}}}{2^\ell \ell!} \sum_{i=0}^{\ell} (-1)^{\ell-i} F_i(\ell) \frac{d^{\ell+\lambda}}{dx^{\ell+\lambda}} (x^{2i}) \quad (15)$$

elde edilir. Buradaki türev işlemi sonrasında

toplamlarından elde edilen gerçek küresel harmonikler atomik ve moleküler elektronik yapı hesaplamalarının hemen hemen en önemli elemanlarından biridir. Küresel harmonikler için hem doğrudan (Guseinov, 1995; Arfken, 2011) hem de tekrarlama formunda (Weniger, 1982; Akin, 2003; Arfken, 2011) çok sayıda analitik ifade bulunmaktadır. Bilindiği gibi atomik ve moleküler hesaplamalarda karşılaşılan integrallerin çoğunun çözümünde gama ya

da incomplete gama fonksiyonları dolayısıyla da faktöriyelerle karşılaşılır. Çok büyük sayıların faktöriyelerinin de çok büyük olması sözü edilen hesaplamalarda vakit ve duyarlılık kaybına neden olur. Bu nedenle atomik ve moleküler hesaplama yapan araştırmacıların çoğu faktöriyelli analitik ifadeler yerine binom katsayılı ifadeler ile çalışmayı tercih ederler. Bu nedenle atomik ve moleküler yapı hesaplamalarında sıkça karşılaşılan Clebsch-Gordan ve Gaunt katsayıları (Guseinov ve ark., 1995), dönme katsayıları (Guseinov ve ark., 1997) gibi katsayıların hepsinin binom katsayıları cinsinden ifadeleri bulunmaktadır. Buna göre kompleks küresel harmoniklerin de binom katsayıları ile ifade edilmesi oldukça önemlidir. Guseinov'un

çalışmasında (Guseinov, 1995) verilen küresel harmonik bağıntıları binom katsayıları cinsinden verilmiştir. Bizim çalışmamızda elde edilen küresel harmoniklerin analitik ifadesi de yalnızca binom katsayıları cinsinden ifade edildiği için Guseinov'un çalışmasında verilen küresel harmonik bağıntılarına bu bakımdan eşdeğerdir. Bununla birlikte Guseinov'un çalışmasındaki her iki küresel harmonik bağıntısı da toplam içinde beş adet terim içerirken bizim çalışmamızdaki küresel harmonik ifadesi toplam içinde dört terim içermektedir. Bu bakımdan da bu çalışmada önerilen küresel harmoniklerin analitik ifadesinin kullanılması atomik ve moleküler yapı hesaplamalarında zaman tasarrufu bakımından oldukça elverişlidir.

Kaynaklar

- Akin E (2003). Küresel Harmoniklerin Tekrarlama Bağıntıları ile Hesaplanması. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi* 21(1): 1-6.
- Arfken GB, Weber HJ, Harris FE (2011). *Mathematical methods for physicists*. Academic Press.
- Guseinov II (1995). On the evaluation of multielectron molecular integrals over slater-type orbitals using binomial coefficients. *Theochem-Journal of Molecular Structure* 336(1): 17-20.
- Guseinov II, Özmen A, Atav U, Yüksel H (1995). Computation of clebsch-gordan and gaunt coefficients using binomial coefficients. *Journal of Computational Physics* 122(2): 343-347.
- Guseinov II, Atav U, Özmen A, Yüksel H, Aliyeva TH (1997). Calculation of rotation coefficients for overlap integrals over arbitrary atomic orbitals. *Turkish Journal of Physics* 21(10): 1087-1092.
- Karaoğlu B (2008). Kuantum mekaniğine giriş. *Seçkin Yayıncılık*.
- Weniger EJ, Steinborn EO (1982). Programs for the coupling of spherical harmonics. *Computer Physics Communications* 25(2): 149-157.

Kaliks[4]aren Nanopartikül Bazlı Modifiye Katı Elektrot Yüzeyleri Kullanılarak Cd(II) nin Voltametrik Tayini

Aygen Demir¹, Semahat Küçükkolbaşı¹, Serkan Sayın²

¹Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, KONYA

²Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, GİRESUN

e-mail:aygendemir1@gmail.com

Öz: Ağır metal kirliliği insan sağlığı, canlı kaynaklara ve ekolojik sistemleri için ciddi bir tehdit haline gelmiştir. Bu nedenle ağır metallerin tayini oldukça önemlidir. Bu çalışmada; ağır metal iyonlarının kolayca tayin edilebilmesi için, nanopartikül temelli metal sensör hazırlanmıştır. Nanopartikül olarak yeni sentezlenen kaliksarenfonksiyonlandırılmış çok duvarlı karbon nanotüp kullanılarak katı yüzey elektrotlar hazırlanmış, hazırlanan yüzeylerde metal tayinin yapılabilmesi için yeni bir yöntem geliştirilmiştir.

Hazırlanan CNT-Calix-Cra/GCE elektrodun çalışmada analizi yapılması istenilen Cd(II) iyonuna karşı performansını belirlemek için belli aralıkta hazırlanan standart Cd(II) iyonuna karşı SWASV(kare dalda anodik sıyırma) voltammogram grafikleri elde edilmiştir. Duyarlılıkları ve çalışma aralıkları incelendiğinde modifiye edilmiş olan elektrodun Cd(II) duyarlılığının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Modifiye elektrot için optimum pH, kaliks[4]aren immobilize çok duvarlı karbon nanotüp miktarı, tampon derişimi ve çalışma potansiyeli sırasıyla; pH-5,5 μ L, 0,1 M ve -1,3 V olarak bulunmuştur. Modifiye elektrodun biriktirme süresi 120 s ve CNT-Calix-Cra/GCE için doğrusal çalışma aralığı $3,23 \cdot 10^{-7}$ - $4,81 \cdot 10^{-5}$ molL⁻¹ ve korelasyon sabiti 0,9905 olarak kaydedilmiştir.

Anahtar kelimeler: Kare dalga anodik sıyırma voltametri, Kaliksaren, MWCNT, Modifiye elektrot, Sensör.

Voltammetric Determination of Cd(II) Using Modified Solid Electrode Surface Based Nanoparticle and Calix[4]arene

Abstract: Heavy metal pollution has become a serious threat for human health, living resources and ecological systems. Therefore, the determination of heavy metal concentrations is important. In this study; metal sensor based nanoparticles was prepared to determine heavy metal ions. For this purpose, solid surface electrodes were prepared using the new synthesized calixarene functionalized multiwalled carbon nanotube as nanoparticle and developed a new method to determine metal on prepared surface.

To determine the performance of the prepared CNT-Calix-Cra/GCE electrode, SWASV (square wave anodic stripping voltammetry) voltammogramme calibration graphs were obtained using certain range of standards. When the sensitivity and operating range of the modified electrode examined it was observed that a higher Cd(II) sensitivity. The optimum pH, Calix [4] arene immobilized multi-walled carbon nanotube quantity, buffer concentration and work potential for the modified electrode, respectively; pH-5,5 μ L, 0.1 M and -1.3 V were found. Deposition time 120 s and linear operating range $3,23 \cdot 10^{-7}$ - $4,81 \cdot 10^{-5}$ molL⁻¹ for CNT-Calix-Cra/GCE and correlation coefficient was recorded as 0,9905.

Keywords: Square wave anodic stripping voltammetry, Calixarene, MWCNT, Modified electrode, Sensor.

Kısaltmalar ve Semboller

SWASV	: Kare dalga anodik sıyırma voltametri
GCE	: Camsı karbon elektrot
CNT	: Karbon nanotüp
CNT-Calix-Cra/GCE	: Kaliksarenle modifiye edilmiş camsı karbon elektrot

1. Giriş

Ağır metaller; çevresel önemleri bakımından pestisitlerden sonra ikinci sırayı alırlar. Çevresel şartlar göz önüne alındığında metaller en tehlikeli çevre kirleticileridir. Çünkü fiziksel yöntemle ayrılmamakta ve uzun süre mevcudiyetleri devam etmektedir (Kasassi ve ark., 2008). Ağır metaller birçok yollarla metabolizmaya dahil olurlar. Başta kanser olmak üzere davranış bozuklukları dahil bir çok hastalığın tetikleyicisi rolündedirler (Devi ve ark., 2011). Karbon nanotüpler (CNTs); kimyasal olarak modifiye edilmiş elektrotların geliştirilmesi, birçok bileşiğin elektron transfer reaksiyonlarını desteklemek, yüksek potansiyeli düşürmek ve birkaç elektroaktif maddenin reaksiyon hızını artırmak ve/veya elektrot cevap süresini düşürmek, böylece sensörlerin ve biyosensörlerin hassasiyet kapasitelerini artırmak için yaygın olarak kullanılırlar (Wildgoose, 2006; Ghica, 2009). Karbon nanotüpler, elektrot materyali olarak büyük bir ilgi görmüştür, çünkü iyi elektrokatalitik özelliklere sahiptir, yarıiletken, üstün iletken elektronları taşır ve konak

molekülleri depolar (Niu, 1999). Karbon nanotüplerin bu eşsiz özellikleri, kimyasal sensörler için, özellikle elektrokimyasal sensörler için, onu fazlasıyla ilgi çekici yapar (Devi ve ark., 2011). Kaliksarenler halkalı yapıda buldukları için metal katyonlarını taşıma özelliğine sahiptirler. Ayrıca boşluklu yapılarında nötral organik (toluen, kloroform, metanol v.b.) bileşikleri tutabilmekte, metal (alkali, toprak alkali ve geçiş) katyonları ile kompleks yapabilmektedir. Bu özellikleriyle kaliksarenler birçok araştırmacının dikkatini üzerinde toplamış ve son otuz yılda yüzlerce makale yayınlanmıştır (Gutsche ve ark., 1999). Kısmen uçucu özellikte olan kadmiyum ve kadmiyum bileşenleri doğada çinko bileşenleri ile birleşmiş halde bulunur. Diğer mineral filizleri de değişen miktarlarda kadmiyum içerirler (Dunnick, 1988). Kadmiyum ve bileşikleri; boya (boyar madde ve mürekkep üretimi), cam, tekstil, elektrik, pil, fungusit [mantar(küf) öldürücü madde], insektisit ve metal alaşımlar ile sentetik polimerlerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar; kadmiyumun birçok

sanayi dalında kullanılmasının, bu toksik metalin toprak, hava ve su yoluyla gıda maddelerine bulaşma riskini artırdığını ve bazı gıdalarda yüksek düzeyde kirlilik olduğunu göstermektedir (Beliles, 1970; Concon, 1988). Yapılan çalışmalar; kadmiyumun birçok sanayi dalında kullanılmasının, bu toksik metalin toprak, hava ve su yoluyla gıda maddelerine bulaşma riskini artırdığını ve bazı gıdalarda yüksek düzeyde kirlilik olduğunu göstermektedir (Cirugeda Delgado, 1988; Marcovecchio, 1988; Abu-Hilal, 1990; Barak, 1990; Scholz, 2010; El Nabavvi, 1987). Nicel analizlerde numunede çok olan bileşenin yanında az miktardaki bileşenlerin tayini de önemlidir. Eser element analizi terimi, büyük miktardaki bileşenlerden oluşan ortam içinde çok küçük miktarlardaki elementlerin tayini için kullanılmaktadır. Literatürde elektroanalitik yöntemler uygulanarak ve çeşitli modifiye elektrotlar kullanılarak çok düşük tayin sınırlarına inebilecek yöntemlerin geliştirilebileceği görülebilmektedir.

Bu makalede nanopartikül olarak yeni sentezlenen kalikserenle fonksiyonlandırılmış çok duvarlı karbon nanotüp kullanılarak katı yüzey elektrotlar hazırlanması ve hazırlanan yüzeylerde metal tayinin yapılabilmesi için yeni bir yöntem geliştirilmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çözelti ortamında bulunan oksijeni uzaklaştırmak için inert gaz olarak yüksek saflıktaki azot gazı kullanıldı. Çalışmada kullanılan modifiyer madde kaliksaren bazlı karbon nanotüp (CNT-Calix-CrA) Selçuk Üniversitesi Kimya Organik Kimya Laboratuvarında sentezlenmiş, çıkış maddesi olarak *p-tert-butylcalix[4]arene* seçilmiştir. (Gutsche ve ark., 1999; Van Loon, 1990; Unob, 1998; Balazs, 2001). Monoaminle olan bileşik oksitlenmiş karbonnanotüp yüzeyine immobilize edilmiştir (Zhang, 2008).

2.2. Kullanılan Cihazlar, Elektrotlar ve Yöntem

Elektrokimyasal ölçümler, IVIUM marka elektrokimyasal analiz cihazı ve BAS marka 5 girişli hücre standı kullanılarak yapıldı ve voltametrik çalışmalarda, çalışma elektrodu olarak camsı karbon elektrot (GCE) (BAS-MF-2012); karşıt elektrot olarak Pt tel (BAS-MW-1032); referans elektrot olarak ise, Ag/AgCl elektrot (BAS-MF-2052 RE-3M KCl) kullanıldı. pH ölçümleri pH-iyon metre VMR pH enomenal ve kombine cam pH elektrodu (pH enomanal 111) kullanılarak yapıldı. Ultrasonik banyo (Ultrasonic-LC30H) hazırlanan karışımların homojen hale gelmesi ve elektrotların temizleme aşamalarında kullanıldı. Çözeltiler, Iso Lab Laborgerate model manyetik karıştırıcı ile

karıştırıldı. Kimyasal maddelerin tartımları, 0.1 mg duyarlıkla tartım yapan analitik terazi (Acculab) kullanılarak yapıldı. Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan ultra saf su ELGA Pure lab Options Ultra Pure Water System cihazı yardımıyla elde edildi. Çözelti ilaveleri için Eppendorf Research plus marka farklı hacimlerde mikro pipetler kullanıldı.

2.3. Modifiye GCE'lerin Hazırlanması

CNT-Calix-Cra/GCE modifiye elektrot: 0.001gram CNT-Calix-Cra 1 mLmetanol içerisinde yarım saat ultrasonik banyoda dağıtıldı. Daha sonra temizlenmiş GCE yüzeyine damlatıldı ve kuruması için oda sıcaklığında bekletildi.

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

3.1. CNT-Calix-Cra/GCE elektrodunun karakterizasyonu

Hazırlanan modifiyecamsı karbon elektrodun karakterizasyonu için dönüşümlü voltametri tekniği kullanıldı. Elde edilen sonuçlar sade camsı karbon elektrodun aynı şartlardaki dönüşümlü voltametri sonuçları ile karşılaştırıldı. Bunun için; 0.05 M $K_3[Fe(CN)_6]$ ve 0.10 M KNO_3 içeren 0.10 M fosfat tampon çözeltisi (pH7.00) elektrokimyasal hücreye alınarak hücreden 5dk boyunca saf azot gazı geçirilmiş ve çözelti içerisindeki çözünmüş gazların giderilmesi sağlandı. Aynı koşullarda hazırlanan modifiye ve sade camsı karbon

elektrot için -0,2/+1,0V potansiyel aralığında dönüşümlü voltammogramları kaydedildi (Şekil 1).

3.2. Modifiye elektrodun optimum çalışma koşullarının belirlenmesi

Destek elektrolit türü, pH, biriktirme potansiyeli, biriktirme süresi, modifiye madde miktarı gibi deneysel şartları optimize etmek için aşağıda anlatılan işlemler yapılmıştır.

Voltametik sıyırma deneylerindeki uygun koşulların belirlenmesi amacıyla Cd(II)'nin sıyırma pik sinyallerine elektrolit türünün etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla 0.1 M ve pH 5.0 olan PBS (Fosfat tamponu), BR (Britton-Robinson), 0.1 M KNO_3 çözeltileri hazırlanmış, tarama hızı $0,1 V s^{-1}$, karıştırma hızı 300 rpm, biriktirme süresi 120 s olacak şekilde sıyırma voltammogramları elde edilmiştir. Optimizasyon deneyleri 2.04×10^{-5} Cd(II) iyon derişimlerini içeren çözeltilerde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sıyırma voltammogramlarındaki pik akımları dikkate alınarak en uygun destek elektrolit çözelti PBS (Fosfat tamponu) olarak belirlenmiştir (Şekil 2). CNT-Calix-Cra/GCE modifiye edilmiş camsı karbon elektrot hazırlamak için en uygun CNT-Calix-Cra miktarının belirlenmesi amacıyla; CNT-Calix-Cra çözeltisinden: 2.5µL/5µL/10µL/20µL/30µL lik kısımlar damlatıldı ve dört elektrot hazırlandı. Her bir elektrot karıştırma hızı 300 rpm, biriktirme potansiyeli -1,3 V,

biriktirme süresi 120 s'de 0.100 M PBS pH=5 çözeltisine 2.04×10^{-5} Cd(II) olacak şekilde ilave edildi. Her bir modifiye camı karbon elektrodun Cd(II) iyonuna cevabı ölçüldü. Elde edilen sıyırma voltammogramlarındaki pik akımları dikkate alınarak en uygun modifiye madde miktarı 5 μ L olarak belirlenmiştir (Şekil 3). Cd(II) iyonu içeren numunede elektrolit çözeltinin pH'sının modifiye camı karbon elektrodun elektrokimyasal cevap üzerine etkisini incelemek için; pH'sı 4, 5, 6, 7, 8 olan 0.1 M PBS içeren çözeltiler hazırlandı. 2.04×10^{-5} mol L⁻¹ Cd(II) içeren çözeltilerin hazırlanan farklı pH'lardaki çözeltilerin her biri için tarama hızı 0,1 Vs⁻¹, karıştırma hızı 300 rpm, biriktirme potansiyeli -1,3V, biriktirme süresi 120 s olacak şekilde ilave edildi. Elde edilen akım farkı değerleri karşılaştırılarak en iyi pH 5 olarak belirlenmiştir. Şekil 4'de elektrolit pH'sının elektrot cevabına etkisi gösterilmiştir. pH değerinin 5'den az olması durumunda liganın protonlanarak asidik çözeltide çözünmesi ve Cd(II) iyonlarıyla kompleks kabiliyetinin azaldığı, yüksek pH'larda ise metal katyonlarının hidrolizinden dolayı akım cevaplarının olduğu gözlenmektedir (Şekil 4). CNT-Calix-Cra ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot için en uygun biriktirme potansiyelini belirlemek amacıyla elektrodu Cd(II) cevabı 0.1 mol L⁻¹ PBS pH=5.0'de karıştırma hızı 300 rpm, biriktirme süresi 120 s'de incelendi. -0,5; -0,6; -0,7; -0,8; -

0,9; -1,0; -1,1; -1,2; -1,3 V potansiyel değerlerinde akım değerleri elde edildi (Şekil 5). CNT-Calix-Cra ile modifiye edilmiş camı karbon elektrot için en uygun biriktirme süresinin belirlenmesi için; 30, 60, 120, 180, 240, 300 s sürede akım değerleri elde edildi. Herbir süre için 0.1 molL⁻¹ PBS pH=5.0'de çalışılmıştır. Biriktirme potansiyeli -1,3 V, karıştırma hızı 300 rpm'de, 2.04×10^{-5} mol L⁻¹ Cd(II) olacak şekilde ilave edildi (Şekil 6).

3.3. Modifiye Elektrodun Performans Faktörlerinin Değerlendirilmesi

Optimum çalışma koşullarında modifiye elektrodun Cd(II) cevabı belirlendi. Bu amaçla akım değerleri Cd(II) derişimine karşı grafiğe geçirildi (Şekil 7). Eğrilerden yararlanılarak elektrodun doğrusal çalışma aralığı, duyarlılığı ve validasyon verileri kalibrasyon eğrileri çizilerek bulundu. CNT-Calix-Cra/GCE için doğrusal çalışma aralığı 3.23×10^{-7} – 4.81×10^{-5} ve korelasyon sabiti 0,9905 olarak bulunmuştur (Tablo 1).

Tablo 1. CNT-Calix-Cra GC ile Cd(II) tayinyöntemi için kalibrasyon grafiği validasyon verileri.

Parametre	Cd(II)
Lineer aralık (μ M)	0.3-48
Denklem	y=a+bx
Eğim (μ A (μ M ⁻¹))	1,390±0,028
Kesim noktası (μ A)	-9,462±0,613
Korelasyon sabiti (R ²)	0,9905

Bu çalışmada modifiye edilmiş camı karbon elektrodu CNT-Calix-Cra kullanılarak kare dalga anodik sıyırma voltametri ile Cd(II)'nin eser analizi yapılmıştır. Elektrolit türü, elektrolit derişimi, elektrolit çözeltinin pH'sı, biriktirme süresi, karıştırma hızı, biriktirme potansiyeli gibi temel parametreler optimize edilerek metal miktarları tespit edilmiştir. Sonuç olarak diğer metotlarla

kıyaslandığında en düşük kalitatif ve kantitatif derişimler (LOD ve LOQ) Cd(II) için 4.37×10^{-8} ve 1.3×10^{-7} mol L⁻¹ olarak hesaplanmış olması ve elektrot modifikasyon işleminin kısa sürmesi, pratik olması gibi üstünlüklerinin yanında düşük derişimlerde yüksek hassasiyetle cevap verebilen iyi bir elektrot özelliği taşıdığı görülmektedir.

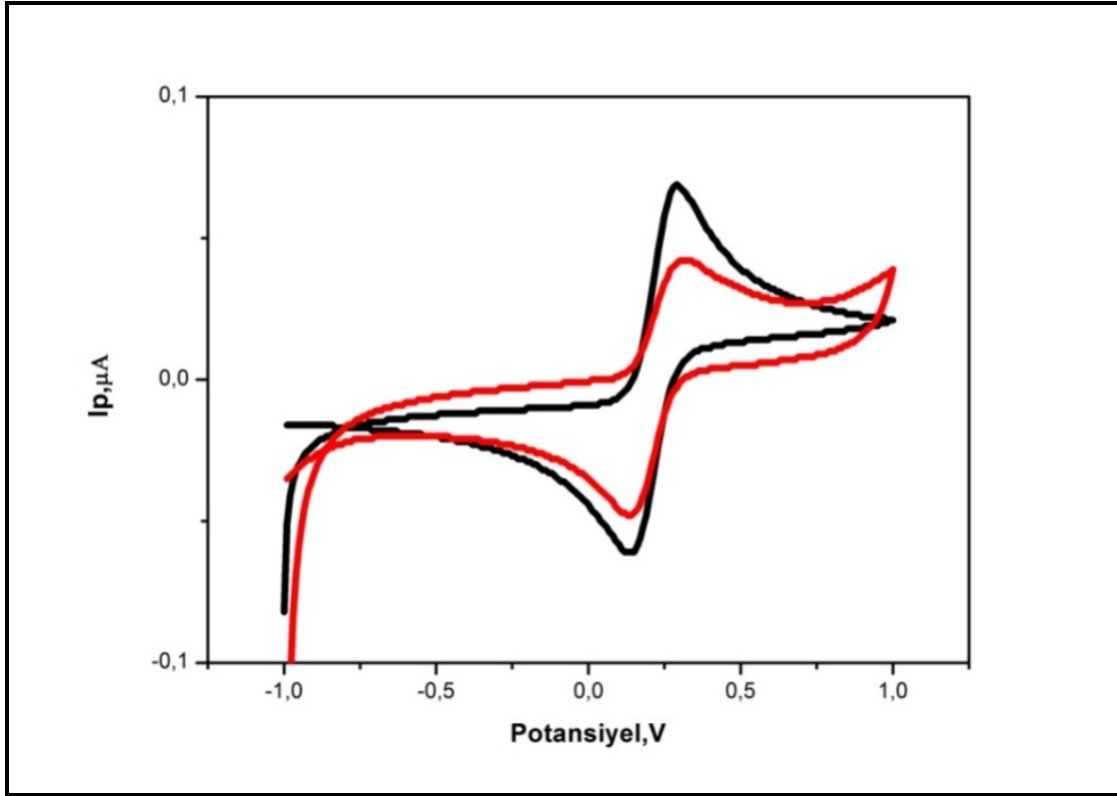
Teşekkür

Bu çalışma "Kaliks[4]aren ve nanopartikül bazlı modifiye katı elektrot yüzeyleri kullanılarak bazı metallerin voltametrik tayini" isimli yüksek lisans tezinin bir bölümü olup; 15201075 no'lu proje ile maddi destek sağlayan Selçuk Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğüne teşekkür ederiz.

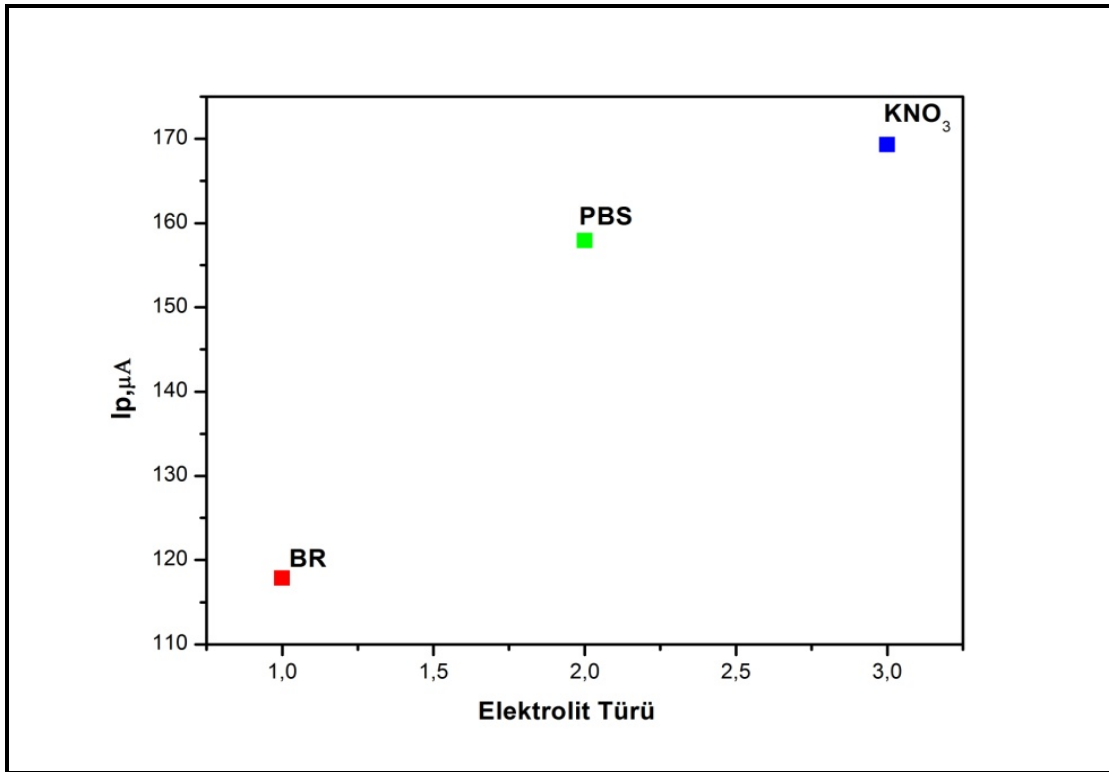
Kaynaklar

- Abu-Hilal AH, Badran MM (1990). Effect of pollution sources on metal concentration in sediment cores from the Gulf of Aqaba (Red Sea). *Marine Pollution Bulletin* 21(4): 190-197.
- Balazs BT, Horvath G, Grün A, Csokai V, Töke L, Bitter G (2001). Synthesis and structure elucidation of chromogenic calix[4]arene indophenols capped by carboxamide bridges. *I Eur J Org Chem* 61-71.
- Barak NAE, Mason CF (1990). Mercury, cadmium and lead in eels and roach the effects of size, season and locality on metal concentrations in flesh and liver. *Sci Total Envir* 92: 249-256.
- Beliles RV (1970). Metals, in toxicology. The Basic Science of Poisons. L.J. Casarett & Doull's Toxicology, Eighth Edition
- Cirugeda DC, Şantöz DA, Cirugeda Delgado ME (1988). Content of the toxic metals lead and cadmium in chicken eggs from different Spanish regions. *Alimemaria* 191(21): 23-24.

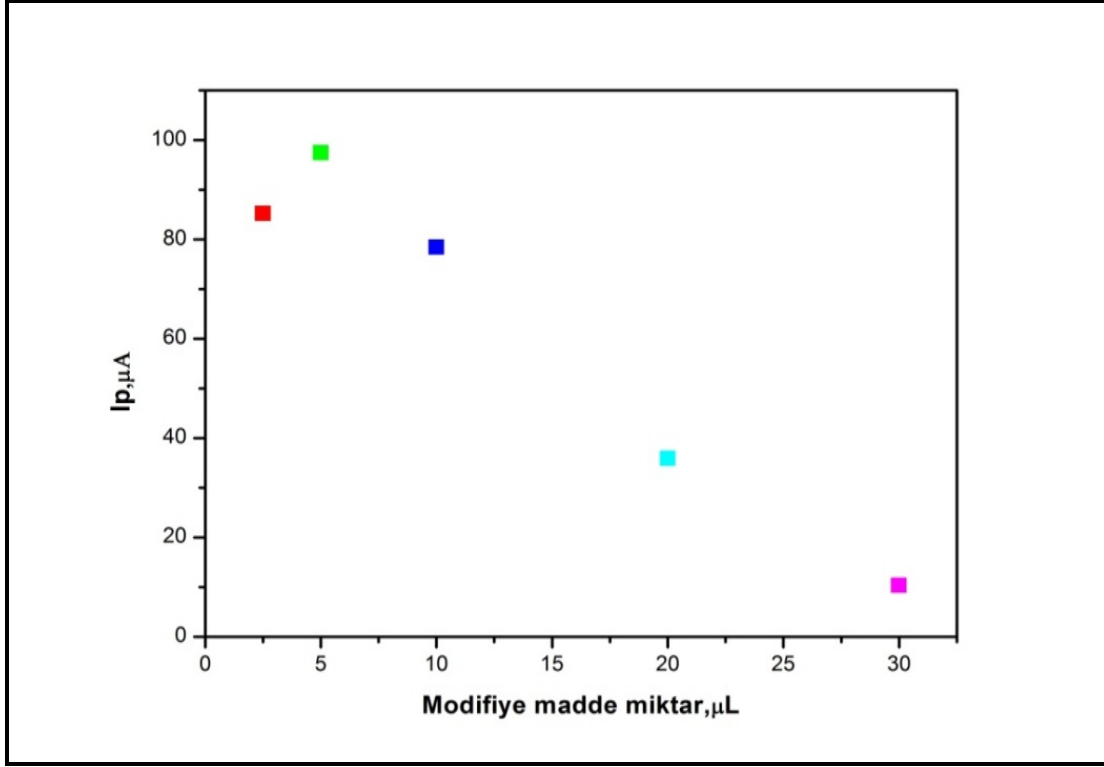
- Devi R, Yadav S, Pundir CS (2011). Electrochemical detection of xanthine in fish meat by xanthine oxidase immobilized on carboxylated multiwalled carbon nanotubes/polyaniline composite film. *Biochemical Engineering Journal* 59: 148-153.
- Dunnick JK, Fowler BA (1988). Cadmium in Handbook on toxicity of inorganic compounds.
- El Nabavvi A, Heinzow B, Kruse H (1987). As, Cd, Cu, Pb, Hg and Zn in fish from Alexandria Region. *Bull Environ Contam Toxicol Egypt* 39: 889-897.
- Ghica ME, Paulikaite R, Fatibello-Filho O, Brett CMA (2009). Application of functionalized carbon nanotubes immobilized on chitosan films in amperometric enzyme biosensors. *Sens Actuators B* 142: 308-315.
- Gutsche CD, Johnston DE, Stewart DR (1999). Pathways for the reversion of p-tert-Butylcalix[8]arene top-tert-Butylcalix[4]arene(1). *Journal of Organic Chemistry* 64(10): 3747-3750.
- Kasassi A, Rakimbei P, Karagiannidis A, Zabaniotou A, Tsiouvaras K, Nastis A, Tzafeiropoulou K (2008). Soil contamination by heavy metals: Measurements from a closed unlined landfill. *Bioresource Technology* 99(18): 8578-8584.
- Marcovecchio E, Moreno VJ, Perez A (1988). Determination of heavy metal concentrations in biota of bahia blanca, Argentina. *The Science of The Environment* 75: 181-190.
- Niu J, Lee JY (1999). Renewable-surface graphite–ceramic enzyme sensors for the determination of hypoxanthine in fish meat. *Anal Lett* 36: 81-83.
- Scholz F (2010). *Electroanalytical Methods*. Springer; 2nd edition.
- Unob FAZ, Vicens J (1998). An anthracene-based fluorescent sensor for transition metal ions derived from calix[4]arene. *Tetrahedron Lett* 39: 2951-2954.
- Van Loon JDAA, Coppi L, Verboom W, Pochini A, Ungaro R, Harkema S, Reinhoudt DNJ (1990). Selective functionalization of calix[4]arenes at the upper rim. *Org Chem* 55: 5639-5646.
- Wildgoose GG, Banks CE, Leventis HC, Compton RG (2006). Chemically modified carbon nanotubes for use in electroanalysis. *Microchimica Acta* 152: 187-214
- Zhang TXM, He L, Xi K, Gu M, Jiang Z (2008). Synthesis, characterization and cytotoxicity of phosphoryl choline-grafted water-soluble carbon nanotubes. *Carbon* 46: 1782-1791.



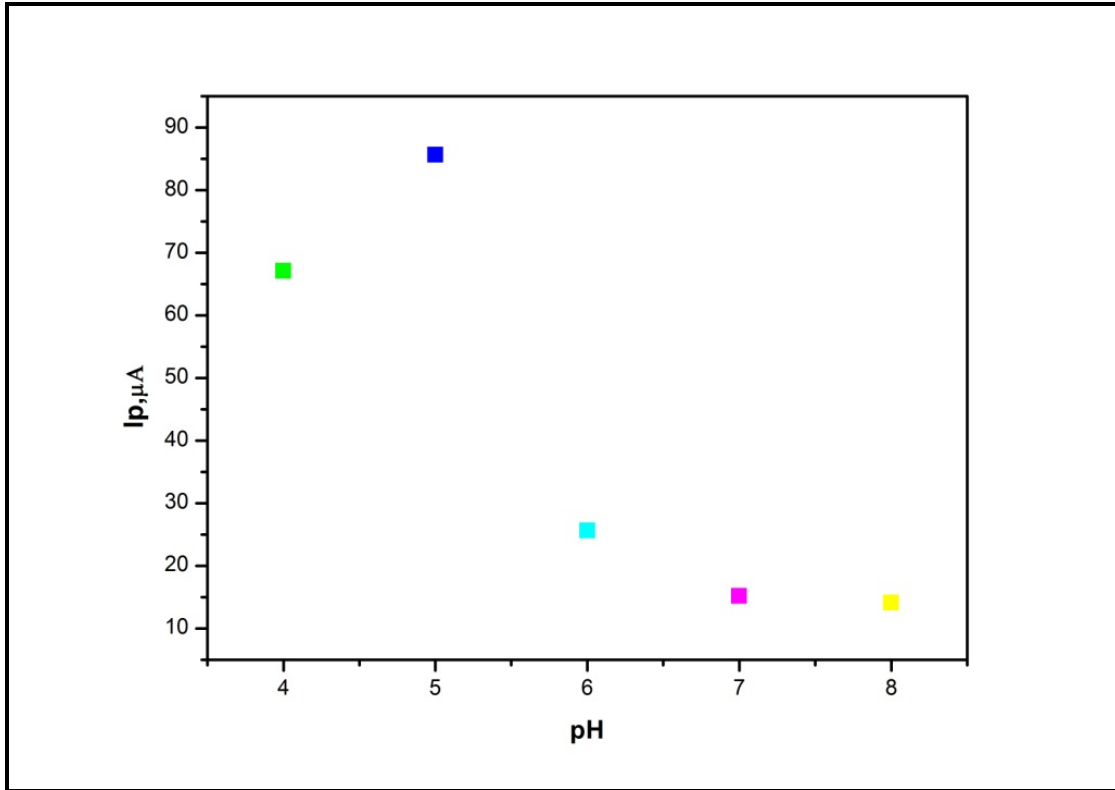
Şekil 1. 0.05 M K_3FeCN_6/K_4FeCN_6 , 0.10 M KNO_3 pH=7.0 ortamda modifiye edilmiş (kırmızı) (MGCE) ve sade camsi karbon (siyah) (GCE) elektrotlarına ait dönüşümlü voltammogramlar.



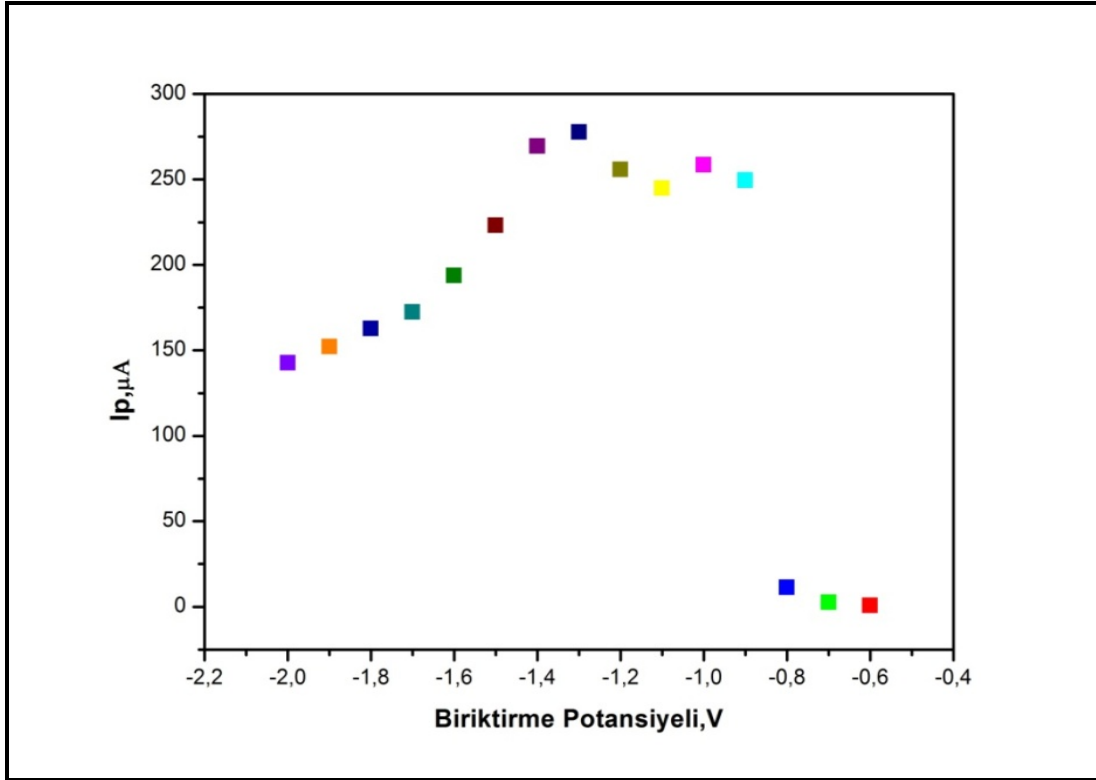
Şekil 2. $2.04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1} \text{ Cd(II)}$ iyonları için farklı elektrolit türünün elektrot cevabına etkisi ($0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KNO}_3$; pH=5 0.1 M PBS; 0.1 M BR, biriktirme potansiyeli: $-1,3 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, biriktirme süresi: 120 s, karıştırma hızı: 300 rpm).



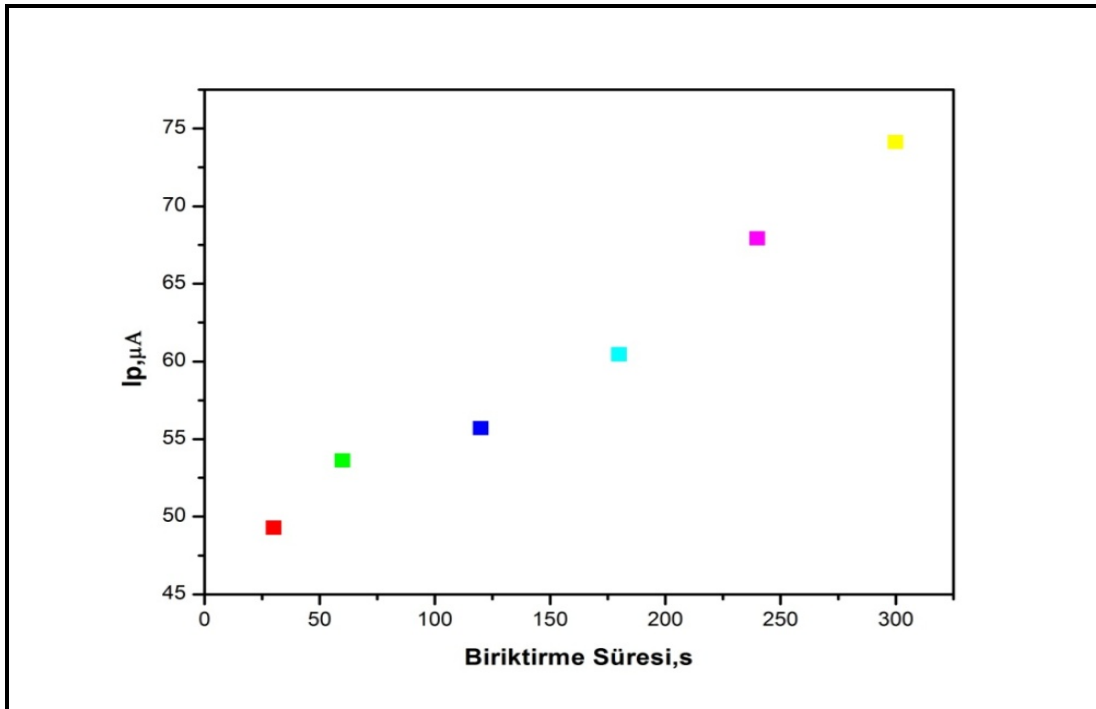
Şekil 3.2.5 $5 \mu\text{L}/5 \mu\text{L}/10 \mu\text{L}/20 \mu\text{L}/30 \mu\text{L}$ Cd(II) iyonu için farklı elektrot bileşiminin etkisi (0.1 mol L^{-1} pH=5 PBS, biriktirme potansiyeli: $-1,3 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, biriktirme süresi: 120 s, karıştırma hızı: 300 rpm).



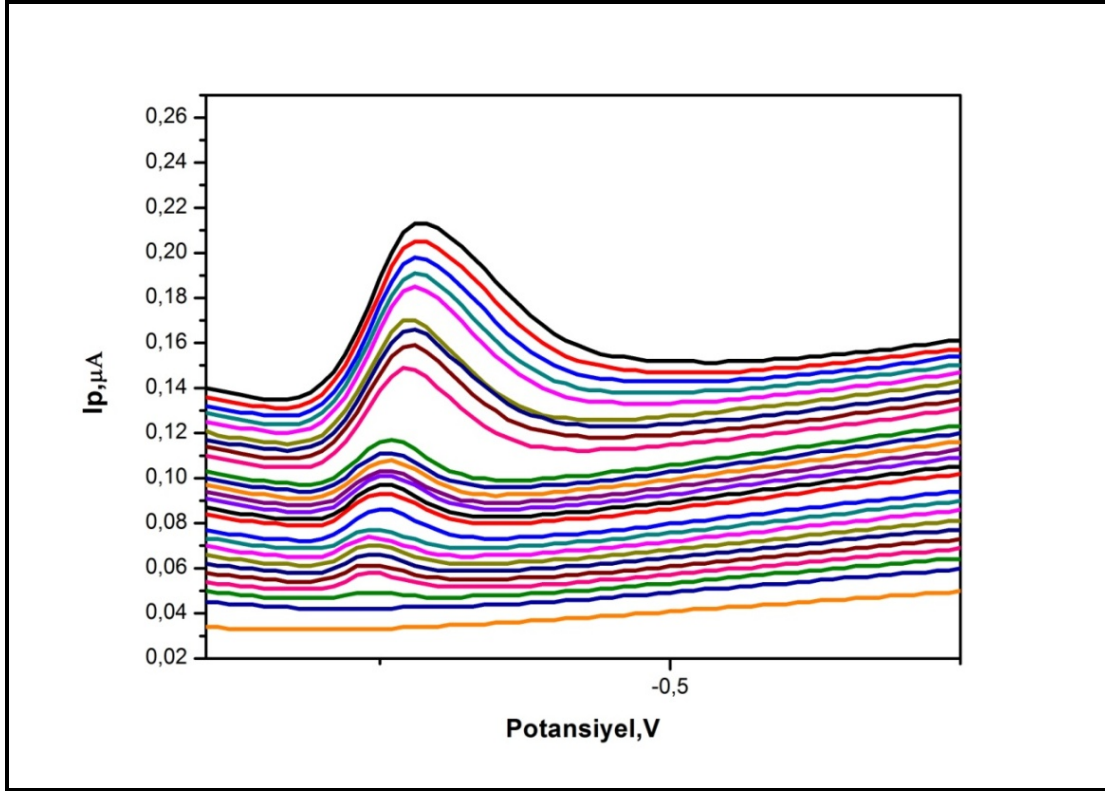
Şekil 4. $2.04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ Cd(II) iyonu için farklı pH'ların elektrot cevabına etkisi (0.1 mol L^{-1} pH= 4; 5; 6; 7; 8 PBS, biriktirme potansiyeli: $-1,3 \text{ V}$ vs. Ag/AgCl, biriktirme süresi: 300 s, karıştırma hızı: 300 rpm).



Şekil 5. $2.04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1} \text{ Cd(II)}$ iyonu için biriktirme potansiyelinin elektrot cevabına etkisi (-0,5; -0,6 ; -0,7; -0,8; -0,9; -1,0; -1,1; -1,2; -1,3; -1,4; -1,5; -1,6; -1,7; -1,8; -1,9; -2,0) V $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ PBS}$ pH=5.0 Ag/AgCl, biriktirme süresi: 120 s, karıştırma hızı: 300 rpm).



Şekil 6. $2.04 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1} \text{ Cd(II)}$ iyonu için biriktirme süresinin elektrot cevabına etkisi (30; 60; 120; 180; 240; 300 s $0.1 \text{ mol L}^{-1} \text{ PBS}$ pH=5.0; biriktirme potansiyeli: $-1,3 \text{ V vs. Ag/AgCl}$, karıştırma hızı: 300 rpm).



Şekil 7. Modifiye edilmiş yüzeyin Cd(II) iyonuna karşı 3.23×10^{-7} – 4.81×10^{-5} aralığındaki voltammogramları.

Tekrarlı Kesikli Süreçte *Funalia trogii* ve *Trametes versicolor* ile Lakkaz Enziminin Çeşitli Ortamlarda Üretimi

Emre BİRHANLI¹, Özfer YEŞİLADA¹

¹İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, MALATYA

e-mail: emre.birhanli@inonu.edu.tr

Öz: Lakkaz enzimi (EC 1.10.3.2) yapısında dört bakır iyonu bulunan bir polifenol oksidaz olup, en iyi lakkaz üreten organizmalar beyaz çürükçül funguslardır. Oldukça geniş bir substrat özgüllüğüne sahip olan lakkaz enzimi pek çok biyoteknolojik, endüstriyel ve çevresel alanlarda kullanılabilir. Ancak lakkaz enziminin bu alanlarda kullanılabilmesi için yüksek miktarlarda üretilmesi gerekir. Bu nedenle yüksek miktarlarda lakkaz üreten organizmaların, düşük maliyetli ve uygun enzim üretim ortamlarının ve de yöntemlerinin araştırılması son derece önemlidir. Bu amaç doğrultusunda enzim üreticisi olarak yüksek lakkaz üretim potansiyeline sahip olan *Funalia trogii* ATCC 200800 ve *Trametes versicolor* ATCC 200801 kullanılmıştır. Enzim üretim ortamları olarak bakır içeren ve bakır içermeyen distile su, Sabouraud Dekstroz Broth, Malt Ekstrakt Broth ve peynir altı suyu ortamları kullanılmıştır. Lakkaz üretim yöntemi olarak daha önceki çalışmalarımızda verimli bir yöntem olarak saptadığımız tekrarlı kesikli işlem kullanılmıştır. En yüksek lakkaz aktiviteleri bakır ilave edilmiş Malt Ekstrakt Broth ortamlarında *F. trogii* ve *T. versicolor* için sırasıyla 17.68 ve 6.27 U mL⁻¹ olarak elde edilmiştir. Lakkaz üretimi açısından bakır ilave edilmiş ortamların etkinlik sıralaması her iki fungus için de; Malt Ekstrakt Broth > Sabouraud Dekstroz Broth > distile su şeklindedir. Bakırsız ortamlardaki etkinlik sıralaması *F. trogii* için Malt Ekstrakt Broth > Sabouraud Dekstroz Broth > %25 peynir altı suyu > distile su > %50 peynir altı suyu iken, *T. versicolor* için; Malt Ekstrakt Broth > %25 peynir altı suyu > Sabouraud Dekstroz Broth > %50 peynir altı suyu > distile su şeklindedir. Sonuç olarak her iki fungus da tüm ortamlarda lakkaz üretebilmiş ve bakırlı ortamlarda lakkaz üretimi son derece artmıştır.

Anahtar kelimeler: *Funalia trogii*, *Trametes versicolor*, Lakkaz, Bakır

Production of Laccase Enzyme in Various Media by *Funalia trogii* and *Trametes versicolor* in Repeated Batch Process

Abstract: Laccase enzyme (EC 1.10.3.2) is a polyphenol oxidase which has four copper ions in the structure and the best laccase-producing organisms are white rot fungi. Laccase enzyme which has a rather broad substrate specificity can be used in many biotechnological, industrial and environmental fields. However, laccase enzyme should be produced at large amounts as it can be used in these fields. Therefore, it is extremely important to investigate high levels of laccase-producing organisms, the cost-effective and appropriate enzyme production media and also methods. In accordance with this purpose *Funalia trogii* ATCC 200800 and *Trametes versicolor* ATCC 200801 which have high laccase production potential were used as enzyme producers. Distilled water, Sabouraud Dextrose Broth, Malt Extract Broth and cheese whey media with copper and without copper were used as enzyme production media. Repeated batch process is used as laccase production method which we have found as an efficient method in our previous studies. The highest laccase activities for *F. trogii* and *T. versicolor* were obtained from Malt Extract Broth as 17.68 and 6.27 U mL⁻¹, respectively. In terms of the laccase production, the efficiency order of copper added media for both fungus is Malt Extract Broth > Sabouraud Dextrose Broth > distilled water. While the efficiency order of copper free media for *F. trogii* is Malt Extract Broth > Sabouraud Dextrose Broth > 25% cheese whey > distilled water > 50% cheese whey, the efficiency order of copper free media for *T. versicolor* is Malt Extract Broth > 25% cheese whey > Sabouraud Dextrose Broth > 50% cheese whey > distilled water. As a result both fungus could produce laccase in all media and laccase production highly increased in copper added media.

Keywords: *Funalia trogii*, *Trametes versicolor*, Laccase, Copper

Kısaltmalar ve Semboller

EC	: Enzim Komisyonu
ATCC	: Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu
U	: Ünite
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
Cu	: Bakır
SO ₄	: Sülfat
H ₂ O	: Su
DS	: Distile su
SDB	: Sabouraud Dekstroz Broth
MEB	: Malt Ekstrakt Broth
PAS	: Peynir altı suyu
<i>F. trogii</i>	: <i>Funalia trogii</i>
<i>T. versicolor</i>	: <i>Trametes versicolor</i>
UV	: Ultraviyole
SPSS	: Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi
ABTS	: 2,2'-azino-bis(3-etilbenziazolin-6-sülfonik asit)
µM	: Mikromolar
nkat	: Nanokatal
NFCCI	: Hindistan Ulusal Mantar Kültürü Koleksiyonu
cU	: Santiünite
L	: Litre

1. Giriş

Lakkaz enzimi (EC 1.10.3.2) yapısında dört bakır iyonu bulunan bir polifenol oksidaz olup, bu enzimler mono-, di- ve polifenoller, aminofenoller, metoksifenoller, aromatik aminler ve askorbat dahil çok çeşitli organik ve inorganik substratların bir elektron oksidasyonunu katalizler. Bu

reaksiyon sonucunda da moleküler oksijen dört elektron alarak suya indirgenir. Lakkaz enzimi bazı bakteriler, böcekler, yüksek yapılı bitkiler ve funguslar tarafından üretilebilir. Fakat en iyi lakkaz üreten organizmalar beyaz çürükçül funguslardır (Madhavi ve Lele, 2009; Chandra ve Chowdhary, 2015; Roth ve Spiess, 2015).

Oldukça geniş bir substrat özgüllüğüne sahip olan lakkaz enzimi toprak ve su kirliliğine neden olan çeşitli ksenobiyotiklerin yıkımında, boya ve tekstil fabrikası atık sularının renginin gideriminde kullanılabilir. Buna ilaveten lakkaz enzimi; gıda endüstrisinde fırınlama ve içecek işlemede ayrıca kağıt hamurunun ağartılması, lakkaz tabanlı biyosensör yapımı, bazı su arıtım sistemlerinde temizleyici ajan, anti-kanser ilaçlarının üretiminde katalizör ve kozmetik ürünlerinin bileşeni olarak da kullanılabilir (Couto ve Herrera, 2006; Singh ve Singh, 2014; Pezzella ve ark., 2015). Ancak lakkaz enziminin bahsedilen endüstriyel alanlarda kullanılabilmesi için ucuz ve yüksek miktarlarda üretilmesi gerekir. Bu nedenle yüksek miktarlarda lakkaz üreten organizmaların, düşük maliyetli ve uygun enzim üretim ortamlarının ve yöntemlerinin araştırılması son derece önemlidir. Bu amaç doğrultusunda pek çok araştırmacı lakkaz üreten yeni soylar, kültivasyon metotları ve koşulları ile çeşitli kimyasallar, ksenobiyotikler, tarımsal atıklar, atık sular ve metaller kullanarak lakkaz üretiminin artırılması üzerine yoğunlaşmıştır. Buna göre; yapılan çalışmalar kullanılan organizmanın soyuna, üretim metoduna ve ortama eklenen indükleyici gibi faktörlere bağlı olarak lakkaz üretiminin yüksek oranlarda artırılabilirliğini göstermektedir (Mougin ve ark., 2002; Birhanli ve Yesilada,

2006; Birhanli ve Yeşilada, 2013; Sun ve ark., 2013; Amutha ve Abhijit, 2015; Jegatheesan ve Eyini, 2015; Patel ve Gupte, 2016).

Literatür taramamıza göre lakkaz üretim çalışmalarında sıklıkla çalkalamalı veya statik kesikli üretim kullanılmış, daha sınırlı olarak da kesikli üretimden farklı bir üretim yöntemi olan tekrarlı kesikli üretim metodu test edilmiştir. Ancak tekrarlı kesikli işlem kesikli üretim metoduna kıyasla daha uzun süreli ve daha iyi sonuçlar elde edilebilecek bir yöntemdir (Birhanli ve Yesilada, 2006). Bu yöntem lakkaz üretiminde ekonomik etkinliği arttırmada önemli bir yer tutan fermentör ve inokulum hazırlanması ile sterilizasyon işlemlerinin maliyetini azaltabilir. Buna ilaveten; tekrarlı kesikli işlemin bir diğer avantajı da uygulama sonrasında sıvı ortamdan hücrelerin ayrılmasının kolaylığıdır. Bahsedildiği üzere tekrarlı kesikli işlemden test edilen beyaz çürükçül fungusların öncelikle peletleri elde edilir ve ardından bu peletler kararlı ve uzun süre lakkaz üretiminde veya çeşitli biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabilir. Endüstriyel uygulamalarda ve lakkaz üretiminde tutuklanmış hücreler de büyük bir potansiyele sahiptir. Ancak bu hücrelerin de bazı dezavantajları bulunmaktadır. Örneğin tutuklama işlemi çok ekonomik bir işlem olmayıp, işlemin gerçekleştirilmesi zaman alıcıdır. Fungal hücrelerin kendi kendine

tutuklanması sonucu oluşan peletler kullanılarak bu tür problemlerin üstesinden kolayca gelinebilir (Birhanlı ve Yeşilada, 2006).

Bu çalışmanın amacı *Funalia trogii* ATCC 200800 (*F. trogii*) ve *Trametes versicolor* ATCC 200801 (*T. versicolor*)'un distile su (DS), sabouraud dekstroz broth (SDB), malt ekstrakt broth (MEB) ve bir atık su olan peynir altı suyu (PAS) gibi farklı ortamlarda tekrarlı kesikli süreçteki lakkaz üretme potansiyellerinin ortaya konulmasıdır. Ayrıca çalışmada bakırın lakkaz üretimine olan etkisinin ortaya konması da hedeflenmiştir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Çalışmalarda Kullanılan Organizmalar

Çalışmalarda lakkaz üretici organizma olarak Basidiomycetes sınıfına dahil olan beyaz çürükçül funguslardan *F. trogii* ve *T. versicolor* kullanılmıştır. Funguslar her 2–3 haftada bir periyodik olarak taze steril sabouraud dekstroz agar (SDA) içeren plaklara transfer edilerek 30 °C'de saf kültür olarak üretilmiştir. Elde edilen saf kültürler İnönü Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarı'nın buzdolabında + 4 °C'de stok kültür olarak muhafaza edilmektedir.

2.2. Fungus Peletlerinin Hazırlanışı

Tekrarlı kesikli koşullar altında lakkaz üretimi için öncelikle fungus peletlerinin hazırlanması gerekmektedir. Bu amaç

doğrultusunda öncelikle her iki fungusunda saf katı kültürlerinden birer parçaları öze ile alınarak kültür tüpleri içerisinde hazırlanan steril yatık SDA ortamına aseptik koşullarda transfer edilmiştir. Transfer sonrasında kültür tüpleri statik inkübatörde 30 °C'de 1 hafta bekletilerek her iki fungusunda fungal miselleri elde edilmiştir. Daha sonra aseptik koşullarda kültür tüplerine 10'ar mililitre steril distile su ilave edilmiş ve kültürler yüzeyden kazınarak misel süspansiyonları elde edilmiştir. Bu işlem sonrasında 5 mL süspansiyon 100 mL SDB içeren 250 mL'lik erlenlere pipetlenmiş ve bu erlenler içindeki fungus miselleri çalkalamalı inkübatörde 30 °C'de 150 rpm'de 5 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası kültürler aseptik koşullarda homojenizatörde (Polytron PT 10–35) homojenize edilmiş ve homojenize edilmiş fungal kültürlerden 7 mL'si aseptik koşullarda 600 mL taze SDB içeren ortamlara pipetlenmiştir. Bu inokülasyon işlemi sonrasında kültürler çalkalamalı inkübatörde 30 °C'de 150 rpm çalkalama hızında 5 gün üretilmiştir. İnkübasyon sonrasında fungal peletler aseptik süzgeçler vasıtasıyla steril koşullarda süzülerek elde edilen peletler tekrarlı kesikli süreçte lakkaz üretimi çalışmalarında kullanılmıştır (Birhanlı ve Yeşilada, 2010).

2.3. Tekrarlı Kesikli Süreçte Lakkaz Üretimi

Tekrarlı kesikli süreçte yürütülen çalışmaların ilk aşamasında önceden

hazırlanmış olan *F. trogii* ve *T. versicolor* peletlerinden yaş ağırlık 30'ar gram olacak şekilde aseptik koşullarda tartılan fungal peletler 250 mL'lik steril erlenlere aktarılmıştır. Aseptik koşullarda ayrı ayrı ve her ortam için üçer tekrarlı olarak hazırlanmış peletler üzerine 50'şer mililitre bakırlı DS, SDB, MEB (DS+Cu, SDB+Cu, MEB+Cu) ve bakırsız steril DS, SDB, MEB ve bir de atık su olarak %25 ve %50 konsantrasyonlarda peynir altı suyu (PAS) ilave edilmiştir. Daha sonra peletler çalkalamalı inkübatörde 30 °C'de, 150 rpm çalkalama hızında, 24 saat inkübe edildikten sonra steril koşullarda süzülerek alınmış ve üzerlerine aynı miktarlarda, test edilen aynı ortamlardan ilave edilmiştir. Üç tekrarlı olarak test edilen bakırlı ve bakırsız tüm ortamlardan beş gün boyunca her 24 saatte bir elde edilen süzüntülerdeki lakkaz aktivitesi spektrofotometrik (Shimadzu-UV-1601, UV/Visible) olarak saptanmıştır. Bu işlem sonrasında elde edilen spektrofotometrik absorbans değerleri paket program (SPSS 15.0) aracılığıyla ortalama enzim aktivite değerlerine dönüştürülmüş ve lakkaz aktiviteleri $U\ mL^{-1} \pm$ standart sapma şeklinde ifade edilmiştir.

2.4. Lakkaz Aktivitesinin Tayini

Lakkaz aktivitesi, 2,2'-azino-bis(3-etilbenziazolin-6-sülfonik asit) (ABTS)'nin katyon radikaline (ABTS^{•+}) oksidasyonunun 30 °C'de 1 dakika boyunca 420 nm'de spektrofotometrik olarak izlenmesiyle

saptanmıştır. Deney karışımı 100 mM sodyum asetat tamponu (pH 5.0), 0.5 mM ABTS ve uygun bir miktar ham enzim içermektedir. Bir ünite lakkaz aktivitesi 30 °C'de 1 dakikada 1 μ mol substratı (ABTS) oksitleyen enzim miktarı olarak tanımlanmıştır. Spektrofotometrik ölçümler sonucu elde edilen spektrofotometrik absorbans değerleri SPSS 15.0 paket program kullanılarak çalışmalarda enzim aktiviteleri $U\ mL^{-1}$ cinsinden tanımlanmıştır. Tüm enzim aktivite değerleri 3 tekrarın ortalaması olup, ortalamalar \pm standart sapmalarıyla birlikte gösterilmiştir (Birhanlı ve Yeşilada, 2013).

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Bakır lakkaz enziminin kofaktörü olması nedeni ile pek çok çalışmada lakkaz üretimini arttırmak için test edilen ağır metallerin başında gelir. Ancak her ağır metal gibi bakır da kullanılan organizmaya bağlı olarak belirli bir konsantrasyonun üzerinde toksik etki göstererek gelişimi ve dolayısıyla da enzim üretimini baskılar (Baldrian, 2003; Shutova ve ark., 2008; Zhu ve ark., 2016). Bu nedenle enzim üretimini arttırmak için kullanılan bakırın optimum konsantrasyonunu tespit etmek gerekir. Revankar ve Lele (2006) tarafından yapılan bir çalışmada *WR-1* beyaz çürükçül fungusunun üreme ortamına 0.5–5 mM konsantrasyonlarda bakır sülfat ilave edilmiş ve her 24 saatte bir lakkaz aktivitesi

ölçülmüştür. Buna göre; en yüksek enzim aktivitesinin 1 mM bakır ilave edilmiş ortamda olduğu ve bakır konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinde düşüş gözlemlendiği rapor edilmiştir. Janusz ve ark. (2006) tarafından *Rhizoctonia praticola* kullanılarak yapılan çalışmada ise fungusun kültür ortamına 5–300 μM bakır ilave edilmiş ve en yüksek lakkaz aktivitesinin 5 μM bakır ilave edilmiş ortamda 3. günde yaklaşık 1000 nkat L^{-1} olduğu saptanmıştır. Artan bakır konsantrasyonlarında (10 μM 'dan 300 μM 'a) ise lakkaz üretiminin baskılandığı ifade edilmektedir. Bu durum test edilen organizmaya bağlı olarak bakır toleransının değiştiğini göstermektedir. Önceki çalışmamızda (Birhanlı ve Yeşilada, 2006) test edilen her iki fungus içinde en uygun bakır konsantrasyonunun 0.5 mM bulunması sebebiyle bu çalışmada da 0.5 mM bakır test edilen ortamlara ilave edilmiştir.

3.1. DS ve DS+Cu ortamlarında *F. trogii* ve *T. versicolor* ile Lakkaz Üretimi

Çalışmada DS ve DS+Cu ortamlarında tekrarlı kesikli süreçte inkübe edilen her iki fungusunda DS'ye kıyasla DS+Cu ortamlarındaki lakkaz aktivitelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hem bakırlı hem de bakırsız DS ortamında her iki fungus için de inkübasyonun 1. gününden 4. gününe kadar lakkaz aktivitelerinde kademeli bir artış gerçekleşirken, inkübasyonun son günü olan 5. günde enzim aktivitelerinde azalış gerçekleşmiştir. Buna göre bakırlı ve bakırsız

DS ortamlardaki en yüksek lakkaz aktiviteleri her iki fungus içinde inkübasyonun 4. gününde gerçekleşmiştir. Bakırsız DS ortamlarında *F. trogii* ve *T. versicolor* peletlerinden elde edilen en yüksek lakkaz aktiviteleri sırasıyla 0.27 ve 0.22 U mL^{-1} iken, bakırlı DS ortamlarındaki en yüksek enzim aktiviteleri sırasıyla 4.04 ve 2.42 U mL^{-1} ' dir (Tablo 1).

Tablo 1. Tekrarlı kesikli süreçte DS ve DS+Cu ortamında *F. trogii* ve *T. versicolor* peletleri ile lakkaz üretimi (U mL^{-1}).

İnkübasyon Zamanı (Gün)	<i>F. trogii</i>		<i>T. versicolor</i>	
	DS	DS+Cu	DS	DS+Cu
1.	0.19±0.01	0.34±0.01	0.13±0.01	0.32±0.01
2.	0.20±0.01	0.41±0.02	0.17±0.01	0.71±0.03
3.	0.24±0.01	3.76±0.13	0.20±0.01	2.21±0.16
4.	0.27±0.01	4.04±0.16	0.22±0.01	2.42±0.16
5.	0.25±0.02	3.23±0.20	0.18±0.03	2.11±0.10

DS: Distile su. Sonuçlar üç tekrarın ortalamasıdır.

DS ve DS+Cu ortamında herhangi bir karbon ve azot kaynağı bulunmamasına rağmen, hem *F. trogii* hem de *T. versicolor*'un lakkaz ürettiği saptanmıştır. Bakırın indükleyici etkisiyle DS ortamına kıyasla DS+Cu ortamında *F. trogii* ve *T. versicolor* peletleri toplamda sırasıyla 10.2 ve 8.6 kat daha fazla lakkaz üretmiştir. Ancak bir süre sonra hücrelerde azalan besin miktarına ve fungal peletlerin yaşlanmasına

bağlı olarak her iki ortamda da lakkaz aktivitesinde bir düşüş gerçekleşmiştir.

3.2. SDB ve SDB+Cu Ortamlarında *F. trogii* ve *T. versicolor* ile Lakkaz Üretimi

SDB ve SDB+Cu ortamlarında inkübe edilen her iki fungusunda en yüksek lakkaz aktiviteleri inkübasyonun 5. gününde belirlenmiş olup, indükleyici madde olarak 0.5 mM bakır ilave edilmiş ortamlarda bakırsız ortamlara kıyasla enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Tekrarlı kesikli süreçte SDB+Cu ortamında inkübe edilen *F. trogii* ve *T. versicolor* peletlerinin 5 günlük inkübasyonu sonucunda elde edilen en yüksek lakkaz aktiviteleri sırasıyla 15.02 ve 4.26 U mL⁻¹ olarak tespit edilmiştir (Tablo 2).

Literatür taramamıza göre SDB oldukça az sayıda araştırmacı tarafından lakkaz üretimi amacıyla test edilmiş bir besiyeri ortamıdır (Manimozhi ve Kaviyaran, 2012; Divya ve ark., 2013). Bu iki çalışmadan birinde *Agaricus heterocystis* (Manimozhi ve Kaviyaran, 2012) diğerinde ise *Trichoderma viride* NFCCI 2745 (Divya ve ark., 2013) SDB besiyerinde inkübe edilmiş ve bu organizmalardan elde edilen en yüksek lakkaz aktiviteleri sırasıyla 30 ve 0.1 U mL⁻¹ olarak belirlenmiştir. Bu iki çalışmadan elde edilen lakkaz aktiviteleri arasındaki bu yüksek farkın, inkübasyon koşulları kadar üretici organizmaların lakkaz

üretim potansiyellerinin farklı olmasından da kaynaklandığı açıktır.

Tablo 2. Tekrarlı kesikli süreçte SDB ve SDB+Cu ortamında *F. trogii* ve *T. versicolor* peletleri ile lakkaz üretimi (U mL⁻¹).

İnkübasyon Zamanı (Gün)	<i>F. trogii</i>		<i>T. versicolor</i>	
	SDB	SDB+Cu	SDB	SDB+Cu
1.	0.42±0.03	4.86±0.28	0.29±0.02	2.25±0.15
2.	0.52±0.02	5.72±0.38	0.32±0.01	3.09±0.18
3.	0.63±0.03	7.98±0.40	0.34±0.03	3.41±0.21
4.	0.65±0.02	9.36±0.56	0.37±0.04	3.62±0.07
5.	0.67±0.03	15.02±0.82	0.39±0.02	4.26±0.23

SDB: Sabouraud Dekstroz Broth. Sonuçlar üç tekrarın ortalamasıdır

Bu çalışmada SDB ve SDB+Cu ortamlarının fungal gelişim ve enzim üretimi için gerekli besinsel kaynakları içerdiği düşünüldüğünde bu ortamlarda inkübe edilen her iki fungusunda DS ve DS+Cu ortamlarında ürettikleri lakkaz miktarlarından daha yüksek olması tahmin edilebilecek bir sonuçtur. Besin faktörleri fungus peletlerinin ömür uzunluğunda arttırmaktadır. Buna göre; SDB ve SDB+Cu ortamlarında inkübe edilen her iki fungusunda en yüksek lakkaz aktiviteleri inkübasyonun 5. gününde belirlenmiştir.

3.3. MEB ve MEB+Cu Ortamlarında *F. trogii* ve *T. versicolor* ile Lakkaz Üretimi

MEB ve MEB+Cu ortamlarında inkübe edilen fungus peletlerinin hem DS ve DS+Cu hem de SDB ve SDB+Cu ortamlarında üretilenlerden daha fazla lakkaz ürettiği saptanmıştır. *F. trogii* ile *T. versicolor*'un MEB ve MEB+Cu ortamlarında 5 gün boyunca üretmiş oldukları lakkaz aktiviteleri kıyaslandığında her iki ortamda da *F. trogii*'nin (Şekil 1a) enzim aktivitesinin *T. versicolor*'un (Şekil 1b) enzim aktivitesinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Tekrarlı kesikli süreçte MEB ortamında 5 gün boyunca inkübe edilen *F. trogii* ve *T. versicolor* peletlerinden elde edilen en yüksek lakkaz aktiviteleri sırasıyla 1.64 (Şekil 1a) ve 1.28 U mL⁻¹ (Şekil 1b)'dir. MEB+Cu ortamında inkübe edilen *F. trogii* ve *T. versicolor* peletlerinden elde edilen en yüksek lakkaz aktiviteleri ise sırasıyla 17.68 (Şekil 1a) ve 6.27 U mL⁻¹ (Şekil 1b) olarak belirlenmiştir.

MEB'in lakkaz üretimi için besiyeri ortamı olarak test edildiği bir çalışmada MEB ortamının *T. versicolor*, *Dichomitus squalens*, *Phlebia fascicularis* ve *Phlebia floridensis*'in lakkaz aktivitesi üzerine etkisi incelenmiştir. Bu dört beyaz çürükçül fungusun MEB ortamındaki en yüksek lakkaz aktivitelerinin sırasıyla 0.020, 4.955, 3.480 ve 2.650 cU mL⁻¹ olduğu ifade edilmiştir (Arora ve Gill, 2000). Çalışmamızda MEB ortamında *F. trogii* ve *T.*

versicolor ile elde edilen en yüksek lakkaz aktiviteleri ise literatürdeki Arora ve Gill (2000)'in sonuçlarına göre son derece yüksektir. Bu durum hem test edilen fungusların ve inkübasyon koşullarının hem de tekrarlı kesikli üretim metodunun bir sonucu olarak düşünülmektedir.

3.4. %25 PAS ve %50 PAS ortamlarında *F. trogii* ve *T. versicolor* ile Lakkaz Üretimi

Çalışmamızın son kısmında Türkiye'de peynir üretimi sırasında 1 kg peynire karşılık yaklaşık olarak 9 kg gibi yüksek bir oranda oluşan ve önemli bir kısmı değerlendirilmeyen PAS (Siso, 1996; Otlu, 2002), lakkaz üretimi için besiyeri olarak test edilmiştir. Çoğunlukla direkt veya dolaylı yollarla akarsulara karışan PAS oldukça zengin içeriğinden dolayı çevre kirliliğine neden olmaktadır. Bu nedenle bu atık suyun ya arıtılması ya da çeşitli şekillerde değerlendirilmesi gerekmektedir. PAS bileşiminde yaklaşık olarak %6.96 oranında süt kuru maddesi bulunmaktadır. Süt kuru maddesi içerisinde de %0.36 yağ, %0.84 protein, %5.76 laktoz ve tuzlar, %0.2 kadar laktik asit yer almaktadır. Bunlara ek olarak; PAS'da B1, B2, çok az miktarda da A ve D vitaminlerinin bulunduğu rapor edilmektedir (Otlu, 2002). PAS'da ayrıca potasyum oksit %0.188, sodyum oksit %0.075, kalsiyum oksit %0.071, magnezyum oksit %0.018, demir oksit %0.001, fosforpentoksit %0.11, klor %0.107 ve %0.029 oranında kükürt

trioksit bulunduğu saptanmıştır. Daha önce yapılan bir çalışmada (Otlu, 2002) besiyeri olarak PAS'ın üretim sürecinde kullanılmasıyla *F. trogii*'de yüksek lakkaz aktivitesi bildirildiğinden, daha önce test edilmemiş olan tekrarlı kesikli süreçte lakkaz üretimi amacıyla *F. trogii* ATCC 200800 ve *T. versicolor* ATCC 200801 çalışmamızda kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan PAS %25 ve %50'lik konsantrasyonlarda hazırlanarak fungal besiyeri ve lakkaz üretim ortamı olarak test edilmiş ve değerlendirilmiştir. Tekrarlı kesikli üretim sürecinde her iki fungusunda lakkaz aktivitesinin özellikle %25'lik konsantrasyonda daha yüksek olduğu gözlenmektedir. *F. trogii* (Şekil 2a) ile *T. versicolor*'un (Şekil 2b) lakkaz aktiviteleri kıyaslandığında %25'lik PAS konsantrasyonunda *T. versicolor*'un lakkaz aktivitesinin *F. trogii*'nin lakkaz aktivitesine kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 2). Peletlerin PAS ortamında uzun süreli lakkaz aktivitesini koruyabilmesinin sebebi PAS'ın zengin besinsel içeriğinden kaynaklanmaktadır. Yeşilada ve ark. (2003) da, PAS içeren ortamlarda fungal peletlerin oldukça kararlı kaldığını rapor etmiştir. Bu zengin içerikli atık su lakkaz üretim ortamı olarak oldukça sınırlı sayıda araştırmacı tarafından test edilmiştir. Vivekanand ve ark. (2011), muz kabuğu ortamına ek besin olarak %1 konsantrasyonda PAS ilave etmiş ve katı hal fermentasyonu yöntemiyle inkübe

ettikleri *A. fumigatus*'un lakkaz aktivitesinin 5000 U L⁻¹ olduğunu rapor etmişlerdir. Asıl karbon kaynağı olarak ucuz bir ortam olan PAS'ın kullanıldığı bir çalışmada lakkaz üretici organizmalar olarak *Pleurotus sajor-caju* ve *Phanerochaete chrysosporium* kullanılmış ve çeşitli ön işlemlerden sonra PAS ortamında inkübe edilen bu funguslardan sırasıyla 177 ve 98 U L⁻¹ oranında lakkaz aktivitesi elde edildiği ifade edilmiştir (Khan ve ark., 2016). Bu çalışmaya kıyasla mevcut çalışmada daha verimli ve kolay bir metot olan tekrarlı kesikli işleme her iki fungusunda kısa sürelerde elde edilen lakkaz aktiviteleri hem daha yüksek hem de daha ekonomiktir.

Çalışmanın geneli incelendiğinde kullanılan bakırlı ortamların lakkaz üretim verimi açısından sıralaması her iki fungus içinde; MEB > SDB > DS şeklindedir. Bakırsız ortamlardaki lakkaz üretim verimi ise *F. trogii* için MEB > SDB > %25 PAS > DS > %50 PAS iken, *T. versicolor* için; MEB > %25 PAS > SDB > %50 PAS > DS şeklindedir. Yapılan çalışma bakırın lakkaz enziminin kofaktörü olması sebebiyle her iki fungusunda lakkaz üretim kapasitelerini oldukça arttırdığını göstermiştir. SDB ve SDB+Cu fungal peletlerin gelişimi ve enzim üretimi için gerekli besinsel kaynakları içerdiğinden bu ortamlarda DS ve DS+Cu'ya kıyasla daha fazla lakkaz üretimi gerçekleşmiştir. Kullanılan diğer besiyeri ortamlarına göre PAS ortamlarında enzim

üretimi daha düşük oranda gerçekleşmiştir. PAS konsantrasyonu artırılınca (%50) lakkaz üretim veriminin de düştüğü gözlenmektedir. PAS hariç tekrarlı kesikli süreçte, aynı ortamlarda ve koşullarda inkübe edilen funguslardan *F. trogii*'nin *T. versicolor*'a kıyasla genelde daha yüksek miktarda lakkaz ürettiği saptanmıştır.

Sonuç olarak; yapılan çalışma test edilen her iki fungusun çeşitli ortamlarda kısa süreli inkübasyonlarda bile lakkaz

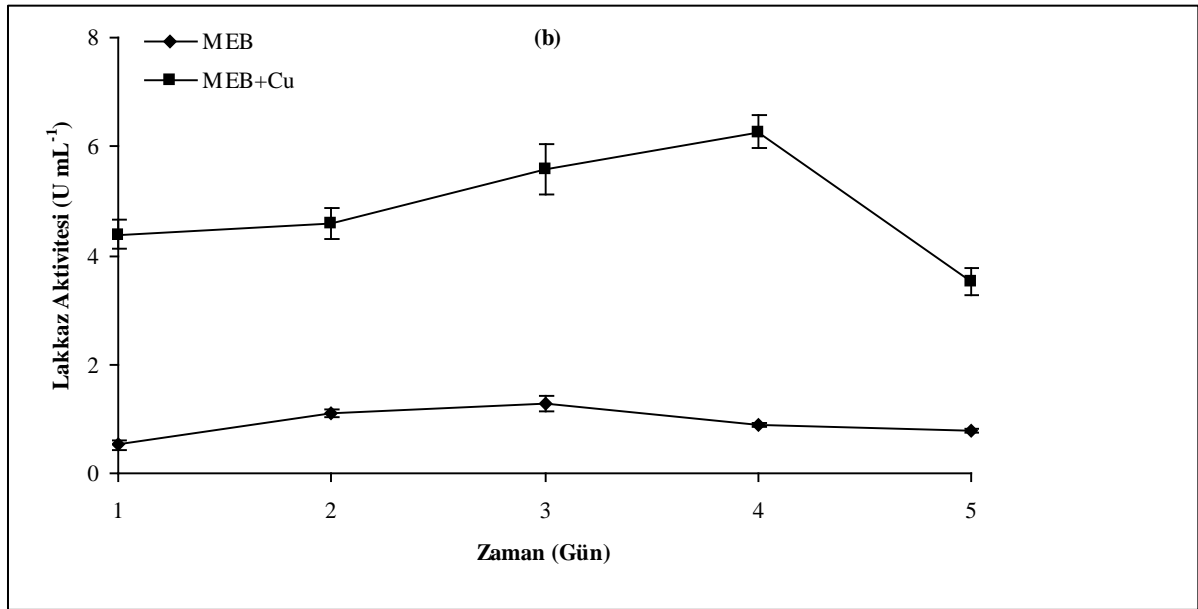
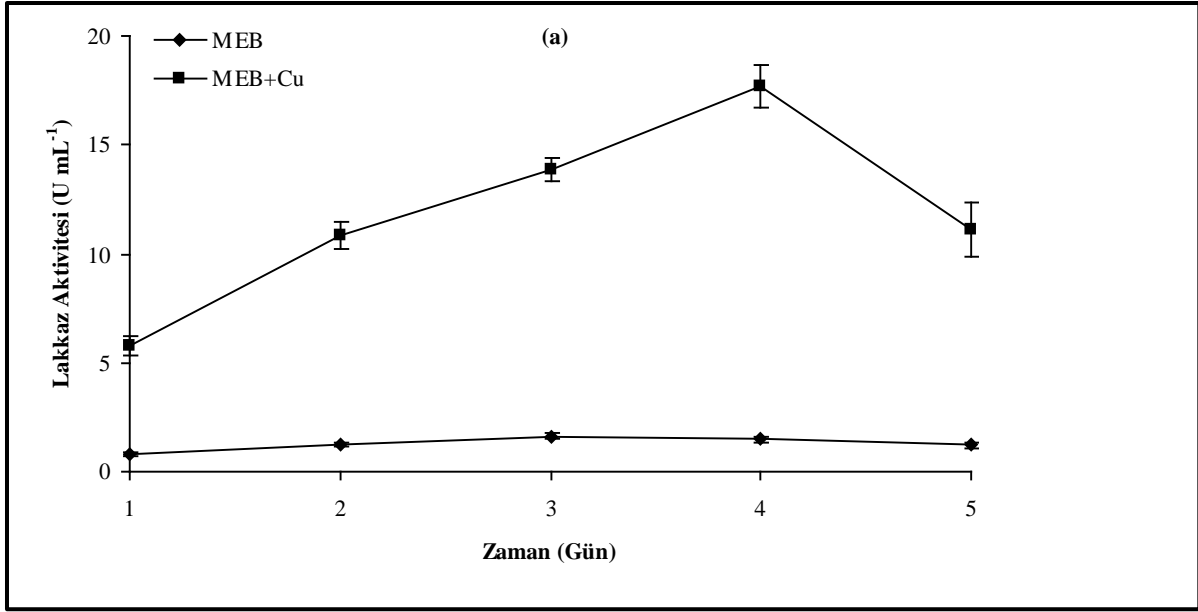
üretebileceğini ve indükleyici varlığında üretimin çok yüksek oranlarda arttığını ortaya koymuştur. Buna göre; enzim üretici organizmaların, besiyeri ortamlarının, inkübasyon koşullarının, indükleyici maddelerin ve konsantrasyonlarının çeşitlendirilmesi daha yüksek miktarlarda ve uzun süre lakkaz üretimini sağlayacak, buda lakkazın endüstriyel olarak kullanılabilirliğini yüksek oranda arttıracaktır.

Kaynaklar

- Amutha C, Abhijit M (2015). Screening and isolation of laccase producers, determination of optimal condition for growth, laccase production and choose the best strain. *Journal of Bioremediation & Biodegradation* 6: 1–8.
- Arora DS, Gill PK (2000). Laccase production by some white rot fungi under different nutritional conditions. *Bioresource Technology* 73: 283–285.
- Baldrian P (2003). Interactions of heavy metals with white-rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology* 32: 78–91.
- Birhanli E, Yesilada O (2006). Increased production of laccase by pellets of *Funalia trogii* ATCC 200800 and *Trametes versicolor* 200801 in repeated-batch mode. *Enzyme and Microbial Technology* 39: 1286–1293.
- Birhanli E, Yesilada O (2010). Enhanced production of laccase in repeated-batch cultures of *Funalia trogii* and *Trametes versicolor*. *Biochemical Engineering Journal* 52: 33–37.
- Birhanlı E, Yeşilada Ö (2013). The utilization of lignocellulosic wastes for laccase production under semisolid-state and submerged fermentation conditions. *Turkish Journal of Biology* 37: 450–456.
- Chandra R, Chowdhary P (2015). Properties of bacterial laccases and their application in bioremediation of industrial wastes. *Environmental Science: Processes & Impacts* 17: 326–342.
- Couto SR, Herrera JLT (2006). Industrial and biotechnological applications of laccases: A review. *Biotechnology Advances* 24: 500–513.

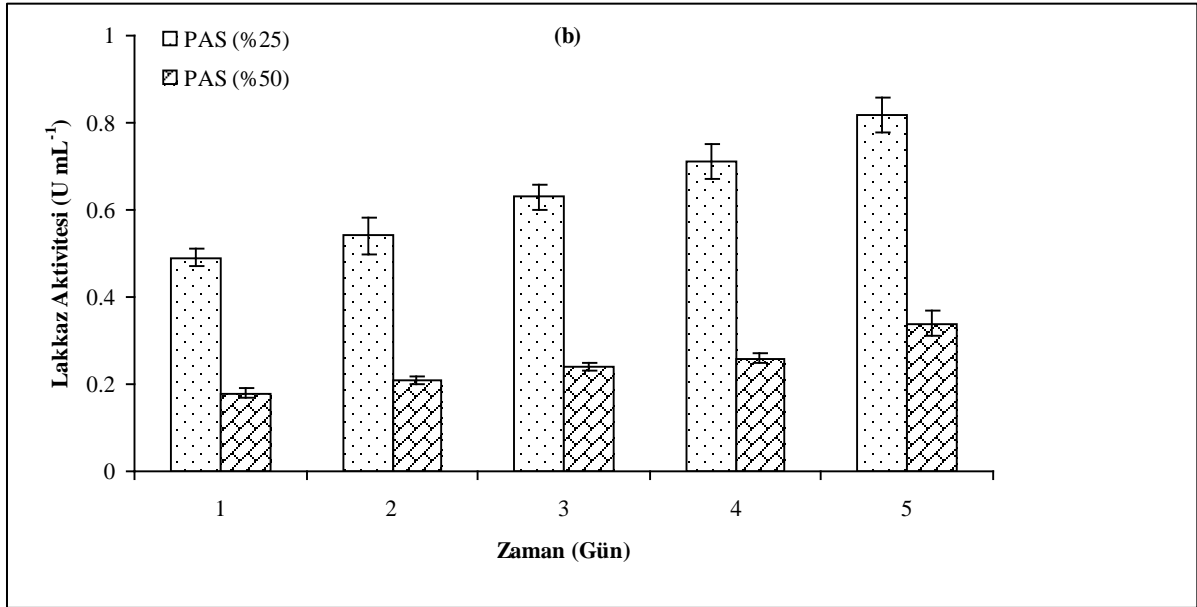
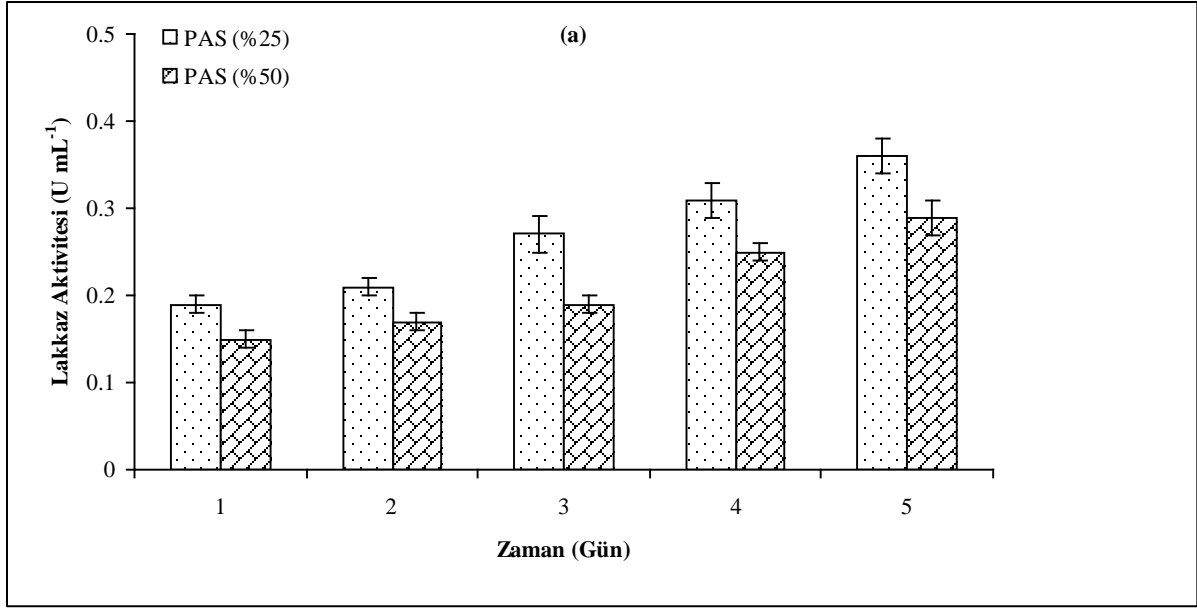
- Divya LM, Prasanth GK, Sadasivan C (2013). Isolation of a salt tolerant laccase secreting strain of *Trichoderma* sp. NFCCI–2745 and optimization of culture conditions and assessing its effectiveness in treating saline phenolic effluents. *Journal of Environmental Sciences* 25: 2410–2416.
- Janusz G, Rogalski J, Barwińska M, Szczodrak J (2006). Effects of culture conditions on production of extracellular laccase by *Rhizoctonia praticola*. *Polish Journal of Microbiology* 55: 309–319.
- Jegatheesan M, Eyini M (2015). Response surface methodology mediated modulation of laccase production by *Polyporus arcularius*. *Arabian Journal for Science and Engineering* 40: 1809–1818.
- Khan MMR, Ray M, Ray L, Guha AK (2016). Extracellular laccase from *Pleurotus sajor-caju*: Fermentative conditions and influence of nitrogenous sources. *Indian Journal of Biotechnology* 15: 230–235.
- Madhavi V, Lele SS (2009). Laccase: Properties and applications. *Bioresources* 4: 1694–1717.
- Manimozhi M, Kaviyarasan V (2012). Screening the effect of nutritional parameters on biomass and laccase production in submerged medium by litter decomposing basidiomycete *Agaricus heterocystis*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4: 592–599.
- Mougin C, Kollmann A, Jolivald C (2002). Enhanced production of laccase in the fungus *Trametes versicolor* by the addition of xenobiotics. *Biotechnology Letters* 24: 139–142.
- Otlu B (2002). *Peyniraltı Suyu ve Alkol Fabrikası Atıksularınının Arıtımı ve Değerlendirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Basılmamış), Malatya.
- Patel H, Gupte A (2016). Optimization of different culture conditions for enhanced laccase production and its purification from *Tricholoma giganteum* AGHP. *Bioresources and Bioprocessing* 3: 1–10.
- Pezzella C, Guarino L, Piscitelli A (2015). How to enjoy laccases. *Cellular and Molecular Life Sciences* 72: 923–940.
- Revankar MS, Lele SS (2006). Enhanced production of laccase using a new isolate of white rot fungus *WR-1*. *Process Biochemistry* 41: 581–588.
- Roth S, Spiess AC (2015). Laccases for biorefinery applications: A critical review on challenges and perspectives. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 38: 2285–2313.

- Shutova VV, Revin VV, Myakushina YA (2008). The effect of copper ions on the production of laccase by the fungus *Lentinus (Panus) tigrinus*. *Applied Biochemistry and Microbiology* 44: 619–623.
- Singh AP, Singh T (2014). Biotechnological applications of wood-rotting fungi: A review. *Biomass and Energy* 62: 198–206.
- Siso MIG (1996). The biotechnological utilization of cheese whey: A review. *Bioresource Technology* 57: 1–11.
- Sun W, Xu M, Xia C, Li A, Sun G (2013). Enhanced production of laccase by *Coriolus hirsutus* using molasses distillery wastewater. *Frontiers of Environmental Science & Engineering* 7: 200–210.
- Vivekanand V, Dwivedi P, Pareek N, Singh RP (2011). Banana peel: A potential substrate for laccase production by *Aspergillus fumigatus* VkJ2.4.5 in solid-state fermentation. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 165: 204–220.
- Yesilada O, Asma D, Cing S (2003). Decolorization of textile dyes by fungal pellets. *Process Biochemistry* 38: 933–938.
- Zhu C, Bao G, Huang S (2016). Optimization of laccase production in the white rot fungus *Pleurotus ostreatus* (ATCC 52857) induced through yeast extract and copper. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* 30: 270–276.



MEB: Malt Ekstrakt Broth

Şekil 1. Tekrarlı kesikli süreçte MEB ve MEB+Cu ortamlarında *F. trogii* (a) ve *T. versicolor* (b) peletleri ile lakkaz üretimi (U mL⁻¹). Sonuçlar üç tekrarın ortalamasıdır.



PAS: Peynir altı suyu

Şekil 2. Tekrarlı kesikli süreçte %25 PAS ve %50 PAS ortamlarında *F. trogii* (a) ve *T. versicolor* (b) peletlerinin lakkaz üretimi (U mL⁻¹). Sonuçlar üç tekrarın ortalamasıdır.

Piperazin Türevi İçeren Yeni Çinko (II) ve Kobalt (II) Ftalosiyanınların Sentezi, Spektroskopik ve Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi

Emine BAYRAKTAROĞLU¹, Pervin DEVECİ¹

¹Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, KONYA

e-mail: pervindeveci@gmail.com

Öz: Bu çalışmada, ter-butyl-4-(4-(3,4-disiyano-fenoksi)fenil)piperazin-1-karboksilat grubu ihtiva eden yeni Zn(II) ve kobalt(II) ftalosiyanın kompleksleri elde edilerek, yapıları karakterize edilmiştir. Her iki kompleks te, DMF, DMSO, THF ve CHCl₃ gibi polar çözücülerde çözünmektedir. Komplekslerin farklı çözücü ve konsantrasyonlarda agregasyon özellikleri de incelenmiştir. DMF, DMSO ve THF çözücülerinde 1.10⁻⁵ M konsantrasyona kadar her iki kompleksinde agregasyona uğramadığı, fakat CHCl₃ çözücüsünde agregasyona uğradıkları gözlenmiştir. Ayrıca komplekslerin elektrokimyasal özellikleri dönüşümlü voltametri ve kare dalga voltametri teknikleriyle incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Ftalosiyanın, Agregasyon, Zn(II) kompleks, Co(II) kompleks, Elektrokimya

Novel Zinc(II) and Cobalt(II) Phthalocyanines Bearing Piperazine Derivative: Spectroscopic and Electrochemical Properties

Abstract: In this manuscript, novel zinc (II) and cobalt (II) phthalocyanine complexes (ZnPc and CoPc) modified with tert-butyl 4-(4-(3,4-dicyanophenoxy)phenyl)piperazine-1-carboxylate substituents have been prepared and characterized. These complexes are soluble in many organic solvents such as DMF, DMSO, THF and CHCl₃. Aggregation properties of complexes were examined in different solvents and different concentrations. Spectroscopic evaluation of the Pcs showed a monomeric behaviour evidenced by a single Q band for ZnPc and CoPc up to 1 .10⁻⁵ mol dm⁻³ in DMF, DMSO and THF as typical of metallo Pcs. In all studied organic solvents except CHCl₃, ZnPc and CoPc complexes were non-aggregated. Cyclic and square wave voltammeteries were used to evaluate the electrochemical properties of the synthesized complexes. Cyclic voltammetry showed two reduction couples and one oxidation peak for the two phthalocyanine complexes.

Keywords: Phthalocyanine, Aggregation, Zn(II) complex, Co(II) complex, Electrochemistry

1. Introduction

The study of Phthalocyanine compounds is one of the growing areas in macrocyclic chemistry (Arul et al., 2016; Shumba and Nyokong, 2016; Yanık et al., 2016) owing to their increased stability, improved spectroscopic characteristics and diverse coordination properties. They can form different types of coordination compounds with metal ions due to several

electron rich donor centers with unique structural and chemical properties. Considerable efforts have been devoted to the rational design and synthesis of functional phthalocyanines (Pcs) and their complexes, which are widely employed in the catalysis (Karaca, 2016; Medyouni et al., 2016) biological and environmental applications (Abramczyk et al., 2017; Wu et al., 2016), sensors (Klyamer et al., 2016;

Kumar et al., 2015), medicine (Cong et al., 2015), dyes (Belekoukia et al., 2016; Sokolov et al., 2016), organic solar cells (Fukui et al., 2014; Williams et al., 2014) and photosensitizer for photodynamic therapy (PDT) (Duchi et al., 2016; Goksel, 2016; Oluwole et al., 2016; Pucelik et al., 2016). The low solubility and aggregation tendency of phthalocyanine molecules, has hindered the study of their structures and reactions (Shivashimpi et al., 2014). The attachments of the different functional groups to the Pcs increases the solubility and hinder the aggregation tendency, leading to significant advances in research.

In this study, two new Zn(II) and Co(II) complexes (ZnPc and CoPc) were obtained, and they were structurally and spectrally characterized, in detail for the first time to confirm the proposed structure using NMR (^1H , ^{13}C), FT-IR, UV-Vis, and elemental analysis. Electrochemical properties of the metal complexes were investigated in DMSO solution containing 0.1 M tetrabutylammonium tetrafluoroborate (TBATFB) as supporting electrolyte by cyclic and square wave voltammetry. Within our knowledge, this is the first paper which contains the synthesis, characterization, and redox properties of ZnPc and CoPc compounds.

2. Materials and methods

All chemicals were purchased from commercial suppliers unless otherwise

specified. 4-Nitrophthalonitrile (Young and Onyebugu, 1988) and *tert*-Butyl 4-(4-hydroxyphenyl)piperazine-1-carboxylate was prepared according to the literature procedures (Franc et al., 2009) and purified according to well-known literatures. The elemental analyses (C, H and N) were performed using a LECO-932 CHNSO model analyzer. NMR experiments were performed with a Varian Unity INOVA 500 spectrometer using a 5 mm ID-PFG probe at 298.15 K. Samples were dissolved in DMSO. Chemical shifts were reported in ppm relative to TMS for ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra. The FT-IR spectra of solid samples were recorded on a Perkin-Elmer Spectrum 100 FT-IR spectrometer (Universal/ATR Sampling Accessory). UV-Vis spectra were obtained using Shimadzu UV-1700 visible recording spectrophotometers. Melting points were determined with an electrothermal apparatus and were not corrected.

2.1. Synthesis of Boc-Pip

tert-Butyl 4-(4-(3,4-dicyanophenoxy)phenyl) piperazine-1-carboxylate (Boc-Pip) was synthesized modification of the literature procedures (Zheng et al., 2013). A mixture of *tert*-Butyl 4-(4-hydroxyphenyl) piperazine-1-carboxylate (1.39 g, 5.0 mmol), 4-nitrophthalonitrile (0.87 g, 5.0 mmol), and anhydrous K_2CO_3 (1.38 g, 10 mmol) in DMF (20 mL) was stirred at 40 °C for 48 h. The reaction mixture was poured into ice

water (200 mL) to give light red precipitate, which was collected by filtration, washed with water until pH 7 and dried in vacuum.

FT-IR (ν/cm^{-1}): 3073 (Ar-H); 2976, 2863, 2827 (CH_3 , CH_2); 2228 (CN); 1689 ($\text{C}=\text{O}$); 1597, 1566, 1504, 1485 ($\text{C}=\text{C}$); 1230 (C-N); 1170 (C-O).

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 , ppm, δ): 8.04 (d, 1H); 7.67 (d, 1H); 7.25-7.28 (dd, 1H); 7.02-7.07 (m, 4H); 3.44 (t, 4H); 3.09 t, 4H); 1.40 (s, 9H).

^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6 , δ): 28.49, 48.90, 79.46, 107.81, 115.90, 116.43, 116.97, 118.02, 121.48, 121.71, 122.31, 136.67, 146.31, 149.36, 154.27, 162.48.

2.2. Synthesis of ZnPc

A mixture of compound Boc-Pip (0.55 g, 1.5 mmol), anhydrous $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ (0.23 g, 1.5 mmol) and a catalytic amount of 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) in dry DMF (1 mL) was refluxed for 48 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was precipitated by adding methanol. The product was separated by filtration as a green solid which was washed several times with methanol and water. The residue was purified by a silica gel column chromatography using $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (14:1, v/v) as eluent. The obtained green solid was further purified by chromatography again using $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (10:1, v/v) as eluent to give a dark-green solid ZnPc (0.155 g, 7.36%).

FT-IR (ν/cm^{-1}): 3043 (Ar-H); 2972, 2917, 2850, 2816 (CH_3 , CH_2); 1691 ($\text{C}=\text{O}$); 1610 ($\text{C}=\text{N}$); 1505, 1466 ($\text{C}=\text{C}$); 1220 (C-N); 1161 (C-O).

^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6 , ppm, δ): 7.54-7.10 (m, 28H); 3.50 (t, 14H); 3.13 (t, 16H); 1.42 (s, 36H).

^{13}C NMR (125 MHz, DMSO-d_6 , ppm, δ): 28.68, 49.55, 79.61, 109.99, 117.96, 118.48, 118.81, 121.47, 121.65, 121.92, 123.68, 139.61, 148.71, 151.29, 154.47, 161.45.

2.3. Synthesis of CoPc

A mixture of compound Boc-Pip (0.55 g, 1.5 mmol), anhydrous CoCl_2 (0.195 g, 1.5 mmol) and a catalytic amount of 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene (DBU) in dry DMF (1 mL) was refluxed for 24 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was precipitated by adding water. The product was separated by filtration as a green solid which was washed several times with water. The residue was purified by a silica gel column chromatography using $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ (10:1, v/v) as eluent. A green band was collected and concentrated to give a crude product, which was purified by chromatography again using $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (10:1, v/v) as eluent.

FT-IR (ν/cm^{-1}): 3042 (Ar-H); 2971, 2919, 2885, 2816 (CH_3 , CH_2); 1689 ($\text{C}=\text{O}$); 1610 ($\text{C}=\text{N}$); 1505, 1463 ($\text{C}=\text{C}$); 1221 (C-N); 1162 (C-O).

2.4. Electrochemical measurements

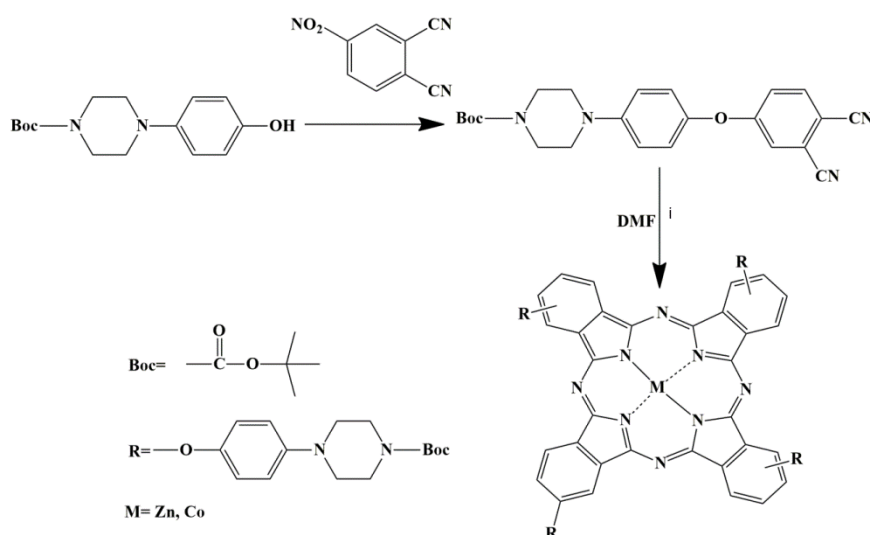
All electrochemical experiments were performed using a Gamry Reference 600 workstations (Gamry, Pennsylvania, USA) electrochemical analyzer (Model 600C series) equipped with BAS C3 cell stand. The working electrode was a bare, glassy carbon disk (BAS Model MF-2012) with a geometric area of 0.027 cm². The reference electrode was Ag/Ag⁺ (0.01 M) in nonaqueous media, and the counter electrode was a Pt wire. The glassy carbon electrodes were prepared by first polishing them first with fine, wet emery papers (grain size 4000) (Buehler, Lake Bluff, IL, USA) and then 0.1 μm and 0.05 μm alumina slurry on polishing pads (Buehler, Lake Bluff, IL, USA) in order to give them a mirror-like appearance. The electrodes were sonicated for 5 min in water and in a 50:50 (v/v)

isopropyl alcohol and acetonitrile (IPA+MeCN) solution purified over activated carbon. Prior to the electrochemical experiments, the electrodes were dried with an argon gas stream, and the solutions were purged with pure argon gas (i.e., 99.999%) for at least 10 minutes; additionally, an argon atmosphere was maintained over the solution during the experiments.

3. Results and discussion

3.1. Synthesis and Characterization

The *tert*-Butyl 4-(4-hydroxyphenyl) piperazine-1-carboxylate substituted phthalonitrile derivative (Boc-Pip) was obtained by reaction of *tert*-Butyl 4-(4-hydroxyphenyl) piperazine-1-carboxylate with 4-nitrophthalonitrile in the presence of K₂CO₃ (Scheme 1). The reaction was carried out in DMF.



Scheme 1. Synthesis of ZnPc and CoPc; i: DBU, Zn(CH₃COO)₂ or CoCl₂

Phthalonitrile derivative (Boc-Pip) was respectively treated with the zinc(II) acetate or cobalt (II) chloride in DMF in the presence of DBU to afford corresponding tetra-substituted phthalocyanine derivatives (ZnPc and CoPc) (Scheme 1). The ZnPc and CoPc were washed with methanol, water and ethanol and then were purified by column chromatography by using chloroform / methanol or dichloromethane / methanol as eluent. ZnPc and CoPc have good solubility in many polar organic solvents, such as DMSO, DMF, THF and CHCl_3 . Their chemical structures were fully characterized by elemental analysis, FT-IR, ^1H NMR, ^{13}C NMR. The FT-IR spectrum of Boc-Pip, CN stretching peak was seen at 2228 cm^{-1} . This peak disappeared in the case of ZnPc and CoPc, indicative of phthalocyanine formation. The C-H_{arom} and $\text{C-H}_{\text{aliph}}$ vibrations were observed at about $3043\text{-}3073\text{ cm}^{-1}$ and $2976\text{-}2816\text{ cm}^{-1}$, respectively.

The ^1H NMR spectra of Boc-Pip (Fig. S1) and ZnPc (Fig. S2) were recorded in DMSO-d_6 . In the ^1H -NMR spectra of Boc-Pip, a singlet signal at 8.89 ppm concerning the -OH group disappeared, and new chemical shifts at about 7.25-8.04 ppm was observed that could be assigned to the new aromatic ring. The chemical shifts of N- CH_2 protons were observed at about 3.44-3.50 and 3.09-3.13 ppm as triplets for Boc-Pip and ZnPc.

The ^1H NMR and ^{13}C NMR spectra of ZnPc are broader than the corresponding NMR signals in the starting dinitrile because of the aggregation of phthalocyanine cores (Bilgin et al., 2007; Kantar et al., 2015)

The ^{13}C -NMR spectra of Boc-Pip (Fig. S3) and ZnPc (Fig. S4) show 16 different carbon atoms. In other respects, ^1H NMR spectra and ^{13}C NMR of CoPc could not be measured due to the paramagnetic cobalt(II) center (Saka et al., 2013). The detailed information belonging to the chemicals shifts was given in the experimental section.

Spectroscopic evaluation was performed in several solvents such as, DMSO, DMF, THF and CHCl_3 . In the UV-vis spectra, ZnPc (Fig. 1) and CoPc (Fig. 2) show an intense single Q band absorption of $\pi\text{-}\pi^*$ transition at around 678-683 nm and 664-673 nm respectively in the pure solvents. B (Soret) bands of the complexes were observed in the UV region at about 350 nm. The two complexes showed similar absorption features in solutions.

3.2. Aggregation studies

The aggregation properties of the phthalocyanines ZnPc and CoPc were investigated at different concentrations ranging from 1.10^{-6} - 16.10^{-6} M in DMSO, DMF, THF and CHCl_3 . The results are given in Table 1. The UV-Vis spectra of ZnPc and CoPc compounds in DMSO, DMF, THF (Fig. 1,2) exhibit an intense and sharp Q-band at about 673-683 nm. But in

CHCl₃ solvent, the splitting of Q band was observed at 720 and 692 nm for ZnPc, 604, 667 and 720 nm for CoPc indicating the structure with non-degenerate D_{2h} symmetry of metal free. The results in DMF solutions investigated at different concentrations is given as an example in Fig. 3 and 4. The Q-band strictly obeys the Lambert-Beer law. The results in DMSO and THF solutions is given in Fig. S5-S8.

Table 1. UV–Vis results in various solvents

Compound	Solvent	Q-Band	log ε	B-Band	log ε
		λ _{max} , (nm)		λ _{max} , (nm)	
ZnPc	DMSO	683	5.05	353	4.67
ZnPc	DMF	681	4.83	353	4.38
ZnPc	THF	678	5.04	348	4.68
ZnPc	CHCl ₃	692, 720	3.65, 3.67	370	3.80
CoPc	DMSO	664	4.68	333	4.48
CoPc	DMF	667	4.64	327	4.54
CoPc	THF	673	4.19	353	3.98
CoPc	CHCl ₃	604, 667,720	4.55	350	4.23

3.3. Electrochemical studies

Cyclic voltammetry (CV) is a powerful method for investigating the electrochemical properties. The electrochemical properties of metallophthalocyanines have been studied extensively for their possible applications, including organic conductors, chemical

sensors, electrocatalysts, and electrochromic materials (Prakash Singh et al., 2010). CV and Square Wave Voltammetry (SWV) experiments were performed for ZnPc and CoPc in DMSO using a GCE, a Pt gauze counter electrode and an Ag/AgCl reference electrode at ambient temperature. The cyclic and square wave voltammograms of ZnPc and CoPc are given in Figs. 5-6 and Figs. 7-8, respectively. The experimental results of electrochemical analyses and assignments are given in Table 2. The voltammograms given in Fig. 5 and Fig 7 were recorded at 100 mV s⁻¹ with in the 0 V to -1.5 V potential window, and demonstrated two pair of symmetric peaks,

According to the ΔE_p values, ZnPc gives two quasi-reversible reduction (R₁ at -0.78 V, ΔE_p = 130 mV and R₂ at -1.18 V, ΔE_p = 140 mV), and one irreversible oxidation reactions (Fig. S9, Fig. S10) (O₁ at 0.74 V). The other complex, CoPc, behaved similarly. These two reduction couples are connected with the ring reduction processes, namely [M(II)Pc(-2)] / [M(II)Pc(-3)]⁻ and [M(II)Pc(-3)]⁻ / [M(II)Pc(-4)]²⁻ (M: Zn, Co) respectively (Acar et al., 2014; Çakır et al., 2015; Ömeroğlu et al., 2014). Also, the peak currents increased linearly with the square root of the scan rates for ZnPc (Fig. 10) and CoPc (Fig. 11).

Table 2. Voltammetric results in DMSO–TBATFB

Compound	Redox couple	Label	E_{pa} (V)	E_{pc} (V)	ΔE_p (mV)	$E_{1/2}$ (V) ^a
ZnPc	[Zn(II)Pc(-2)] / [Zn(II)Pc(-3)] ⁻	R ₁	-	-	130	-0.78
			0.8	0.7		
ZnPc	[Zn(II)Pc(-3)] / [Zn(II)Pc(-4)] ²⁻	R ₂	-	-	140	-1.18
			1.1	1.2		
CoPc	[Co(II)Pc(-2)] / [Co(II)Pc(-3)] ⁻	R ₁	-	-	280	-0.36
			0.5	0.2		
CoPc	[Co(II)Pc(-3)] / [Zn(II)Pc(-4)] ²⁻	R ₂	-	-	90	-1.28
			1.3	1.2		

E_{pa} (anodic peak potential), E_{pc} (cathodic peak potential),

^a $E_{1/2} = (E_{pa} + E_{pc})/2$ for reversible or quasi-reversible processes.

4. Conclusion

We have described the preparation, spectroscopic and electrochemical studies of novel zinc (II) and cobalt (II) phthalocyanine compounds (ZnPc and CoPc) modified with four tert-butyl 4-(4-(3,4-dicyanophenoxy)phenyl)piperazine-1-carboxylate moieties. Spectroscopic evaluation of the Pcs showed a monomeric behaviour in DMF, DMSO and THF. In all studied organic solvents except CHCl₃, ZnPc and CoPc complexes were non-aggregated. The redox behaviour was showed on the ring centered reduction processes for all complexes.

Acknowledgement

We thank the Research Foundation of The Selcuk University (BAP) for financial support of this work. This manuscript was performed under master thesis.

References

- Abramczyk H, Brozek-Pluska B, Surmacki J, Tondusson M, Freysz E (2017). Photostability of biological systems—Femtosecond dynamics of zinc tetrasulfonated phthalocyanine at cancerous and noncancerous human Breast tissues. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 332: 10-24.
- Acar İ, Arslan T, Topçu S, Aktaş A, Şen S, Serencam H (2014). Synthesis and electrochemistry of metallophthalocyanines bearing {4-[(2E)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)prop-2-enoyl]phenoxy} groups. *J Organomet Chem* 752: 25-29.
- Arul A, Christy M, Oh MY, Lee YS, Nahm KS (2016). Nanofiber Carbon-Supported Phthalocyanine Metal Complexes as Solid Electrocatalysts for Lithium-Air Batteries. *Electrochimica Acta* 218: 335-344.

- Belekoukia M, Ploumistos A, Sygellou L, Nouri E, Tasis D Lianos P (2016). Co-N doped reduced graphene oxide used as efficient electrocatalyst for dye-sensitized solar cells. *Solar Energy Materials and Solar Cells* 157: 591-598.
- Bilgin A, Ertem B Gök Y (2007). Highly Organosoluble Metal-Free Phthalocyanines and Metallophthalocyanines: Synthesis and Characterization. *European Journal of Inorganic Chemistry* 2007: 1703-1712.
- Cong F, Wei Z, Huang Z, Yu F, Liu H, Cui J, Yu H, Chu X, Du X, Xing K Lai J (2015). Characteristic absorption band split of symmetrically tetra-octyloxy metal phthalocyanines. *Dyes and Pigments* 120: 1-7.
- Çakır D, Bekircan O Biyiklioglu Z (2015). 1,2,4-Triazole-substituted metallophthalocyanines carrying redox active cobalt(II), manganese(III), titanium(IV) center and their electrochemical studies. *Synthetic Metals* 201: 18-24.
- Duchi S, Ramos-Romero S, Dozza B, Guerra-Rebollo M, Cattini L, Ballestri M, Dambruoso P, Guerrini A, Sotgiu G, Varchi G, Lucarelli E Blanco J (2016). Development of near-infrared photoactivable phthalocyanine-loaded nanoparticles to kill tumor cells: An improved tool for photodynamic therapy of solid cancers. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, And Medicine*.
- Franc G, Turrin C-O, Cavero E, Costes J-P, Duhayon C, Caminade A-M Majoral J-P (2009). gem-Bisphosphonate-Ended Group Dendrimers: Design and Gadolinium Complexing Properties. *European Journal of Organic Chemistry* 2009: 4290-4299.
- Fukui H, Nakano S, Uno T, Dao Q-D, Saito T, Fujii A, Shimizu Y Ozaki M (2014). Miscibility in binary blends of non-peripheral alkylphthalocyanines and their application for bulk-heterojunction solar cells. *Organic Electronics* 15: 1189-1196.
- Goksel M (2016). Synthesis of asymmetric zinc(II) phthalocyanines with two different functional groups & spectroscopic properties and photodynamic activity for photodynamic therapy. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 24: 4152-4164.
- Kantar C, Akal H, Kaya B, Islamoğlu F, Türk M Şaşmaz S (2015). Novel phthalocyanines containing resorcinol azo dyes; synthesis, determination of pKa values, antioxidant, antibacterial and anticancer activity. *J Organomet Chem* 783: 28-39.
- Karaca H (2016). Redox chemistry, spectroelectrochemistry and catalytic activity of novel synthesized phthalocyanines bearing four schiff bases on the periphery. *J Organomet Chem* 822: 39-45.

- Klyamer DD, Sukhikh AS, Krasnov PO, Gromilov SA, Morozova NB Basova TV (2016). Thin films of tetrafluorosubstituted cobalt phthalocyanine: Structure and sensor properties. *Applied Surface Science* 372: 79-86.
- Kumar A, Brunet J, Varenne C, Ndiaye A, Pauly A, Penza M Alvisi M (2015). Tetra-tert-butyl copper phthalocyanine-based QCM sensor for toluene detection in air at room temperature. *Sensors and Actuators B: Chemical* 210: 398-407.
- Medyouni R, Elgabsi W, Naouali O, Romerosa A, Sulaiman Al-Ayed A, Baklouti L Hamdi N (2016). One-pot three-component Biginelli-type reaction to synthesize 3,4-dihydropyrimidine-2-(1H)-ones catalyzed by Co phthalocyanines: Synthesis, characterization, aggregation behavior and antibacterial activity. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 167: 165-174.
- Oluwole DO, Uddin I, Prinsloo E Nyokong T (2016). The effects of silica based nanoparticles on the photophysicochemical properties, in vitro dark viability and photodynamic therapy study of zinc monocarboxyphenoxy phthalocyanine. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 329: 221-231.
- Ömeroğlu İ, Arslan T, Biyıklıoğlu Z Tosun G (2014). Novel phthalocyanines bearing 4-ferrocenylphenoxy substituents and their electrochemistry. *J Organomet Chem* 749: 261-265.
- Prakash Singh S, Emin S Loukanov A (2010). Synthesis Of Highly Soluble Phthalocyanine From A New Phthalonitrile Under Mild Conditions. *Advanced Materials Letters* 1: 148-150.
- Pucelik B, Gurol I, Ahsen V, Dumoulin F Dabrowski JM (2016). Fluorination of phthalocyanine substituents: Improved photoproperties and enhanced photodynamic efficacy after optimal micellar formulations. *European Journal of Medicinal Chemistry* 124: 284-298.
- Saka ETb, Acar İ, Biyıklıoğlu Z, Kantekin H Kani İ (2013). Synthesis and characterization of peripheral and non-peripheral substituted Co(II) phthalocyanines and their catalytic activity in styrene oxidation. *Synthetic Metals* 169: 12-17.
- Shivashimpi GM, Pandey SS, Hayat A, Fujikawa N, Ogomi Y, Yamaguchi Y Hayase S (2014). Far-red sensitizing octafluorobutoxy phosphorous triazatetrabenzocorrole: Synthesis, spectral characterization and aggregation studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 289: 53-59.

- Shumba M Nyokong T (2016). Development of nanocomposites of phosphorus-nitrogen co-doped graphene oxide nanosheets and nanosized cobalt phthalocyanines for electrocatalysis. *Electrochimica Acta* 213: 529-539.
- Sokolov VS, Gavrilchik AN, Kulagina AO, Meshkov IN, Pohl P Gorbunova YG (2016). Voltage-sensitive styryl dyes as singlet oxygen targets on the surface of bilayer lipid membrane. *Journal of Photochemistry and Photobiology B, Biology* 161: 162-169.
- Williams G, Suttly S, Klenkler R Aziz H (2014). Renewed interest in metal phthalocyanine donors for small molecule organic solar cells. *Solar Energy Materials and Solar Cells* 124: 217-226.
- Wu H, Guo L, Zhang J, Miao S, He C, Wang B, Wu Y Chen Z (2016). Polyelectrolyte-free layer by layer self-assembled multilayer films of cationic phthalocyanine cobalt(II) and carbon nanotube for the efficient detection of 4-nitrophenol. *Sensors and Actuators B: Chemical* 230: 359-366.
- Yanık H, Al-Raqa SY, Aljuhani A Durmuş M (2016). The synthesis of novel directly conjugated zinc(II) phthalocyanine via palladium-catalyzed Suzuki–Miyaura cross-coupling reaction and its quaternized water-soluble derivative: Investigation of photophysical and photochemical properties. *Dyes and Pigments* 134: 531-540.
- Young JG Onyebuagu W (1988). Synthesis and Characterization of Di-disubstituted Phthalocyanines. *The Journal of Organic Chemistry* 55: 2155-2159.
- Zheng B-Y, Zhang H-P, Ke M-R Huang J-D (2013). Synthesis and antifungal photodynamic activities of a series of novel zinc(II) phthalocyanines substituted with piperazinyl moieties. *Dyes and Pigments* 99: 185-191.

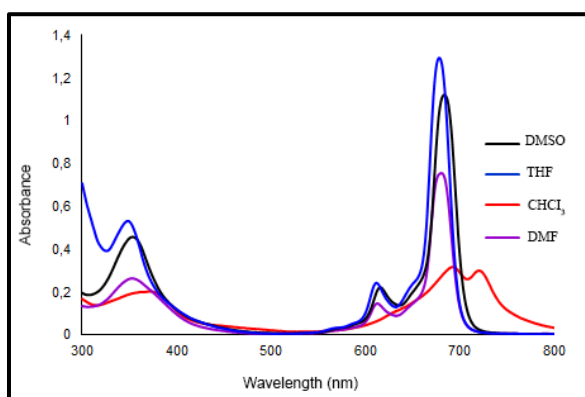


Fig.1. UV-Vis spectrum of 1.10^{-5} M ZnPc in DMSO, THF, CHCl_3 and DMF

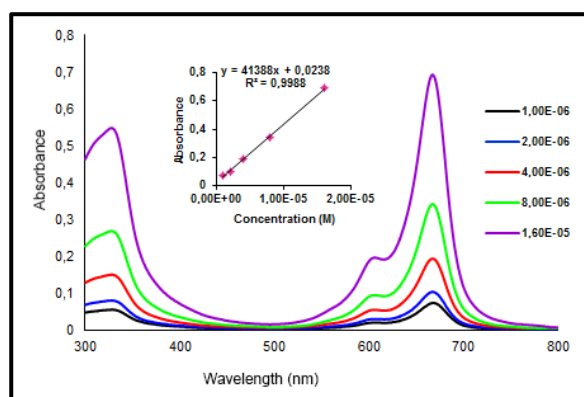


Fig. 4. UV-Vis spectrum of CoPc in DMF

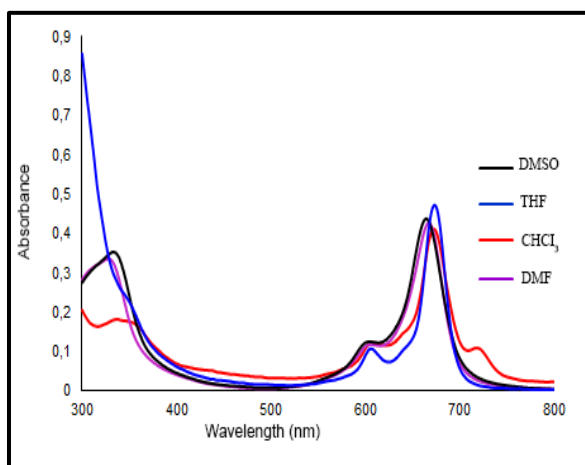


Fig.2. UV-Vis spectrum of 1.10^{-5} M CoPc in DMSO, THF, CHCl_3 and DMF

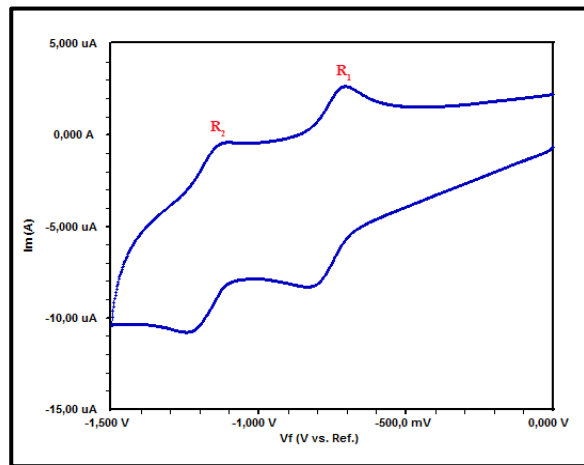


Fig. 5. Cyclic voltammograms of ZnPc in DMSO

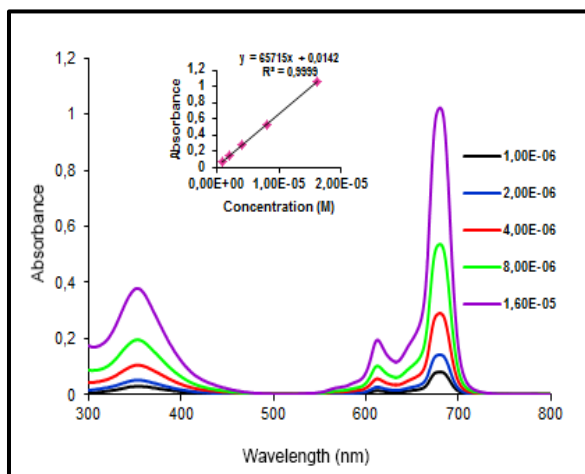


Fig. 3. UV-Vis spectrum of ZnPc in DMF

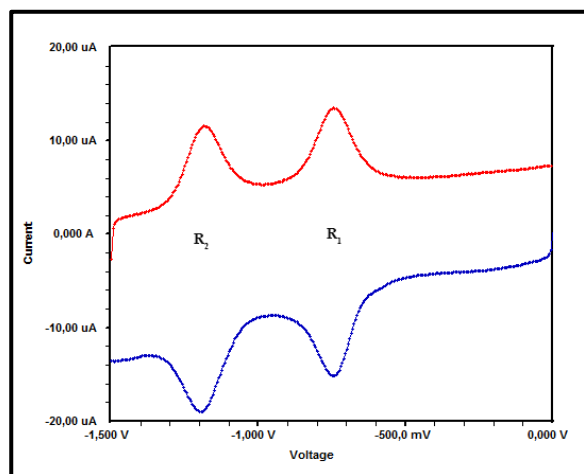


Fig. 6. SWV of ZnPc for cathodic scan

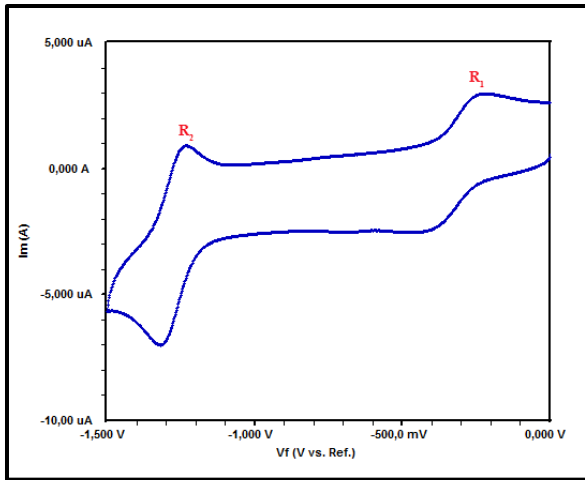


Fig. 7. Cyclic voltammograms of CoPc in DMSO

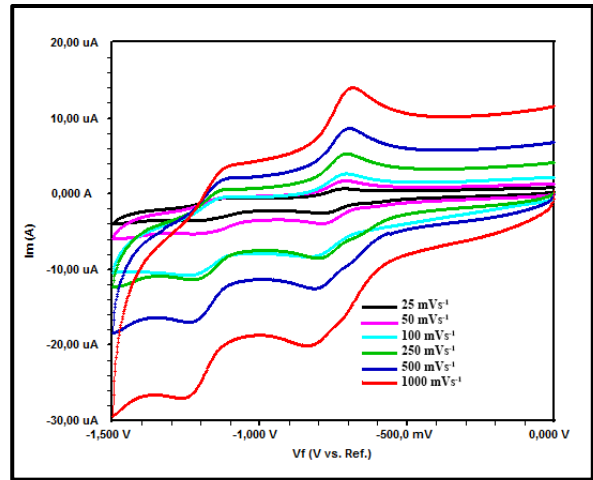


Fig. 9. CV of ZnPc at different scan rates

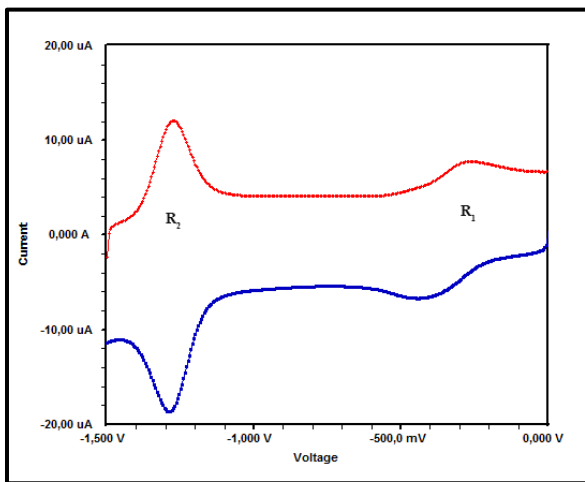


Fig. 8. SWV of CoPc for cathodic scan

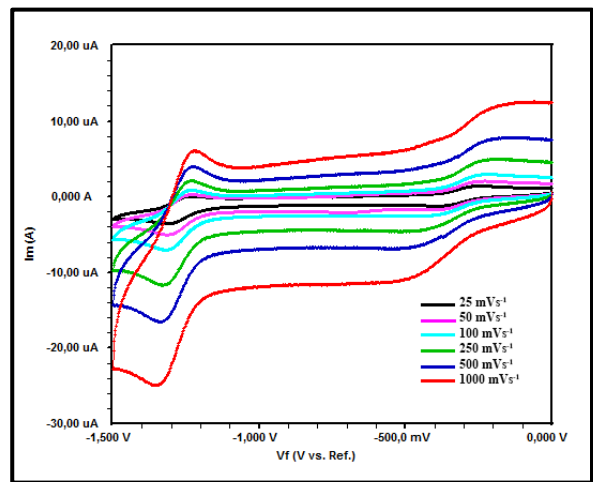


Fig. 10. CV of CoPc at different scan rates

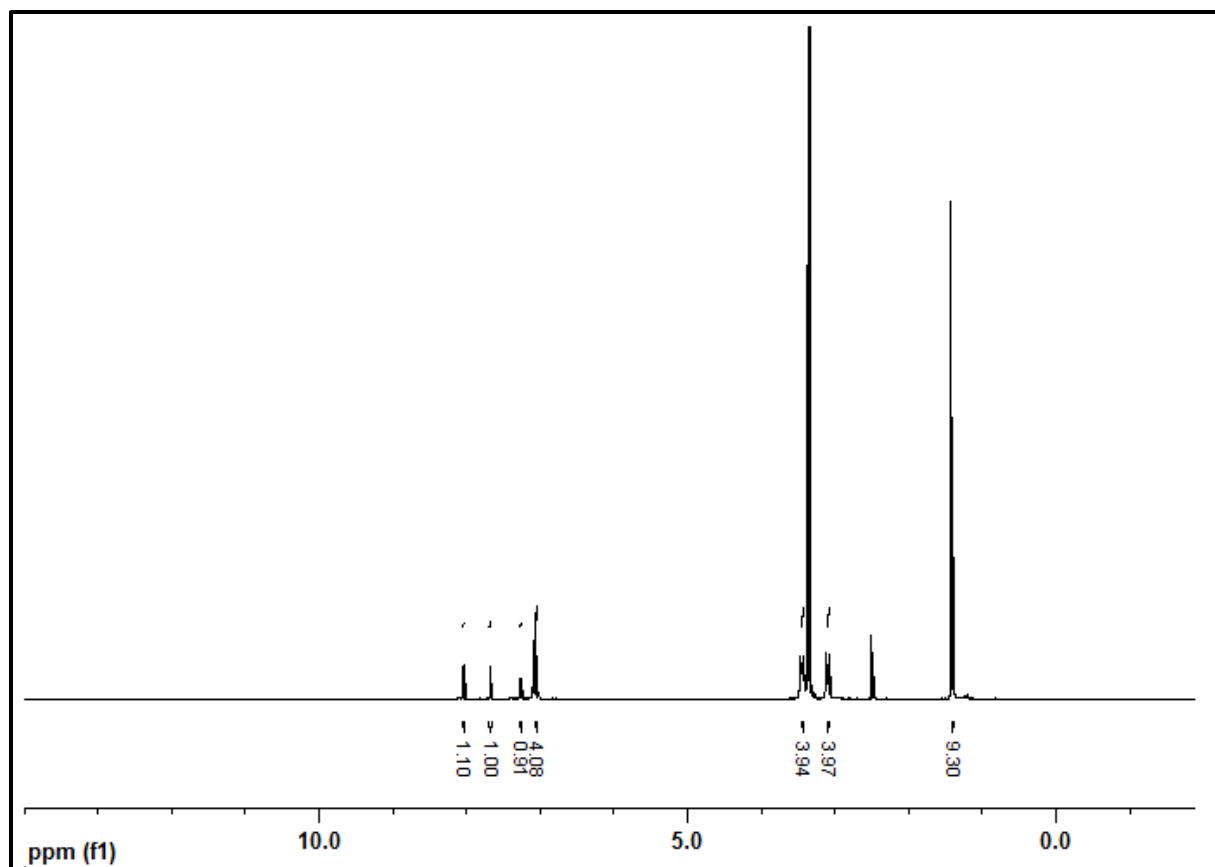


Fig. S1. ¹H NMR spectra of Boc-Pip

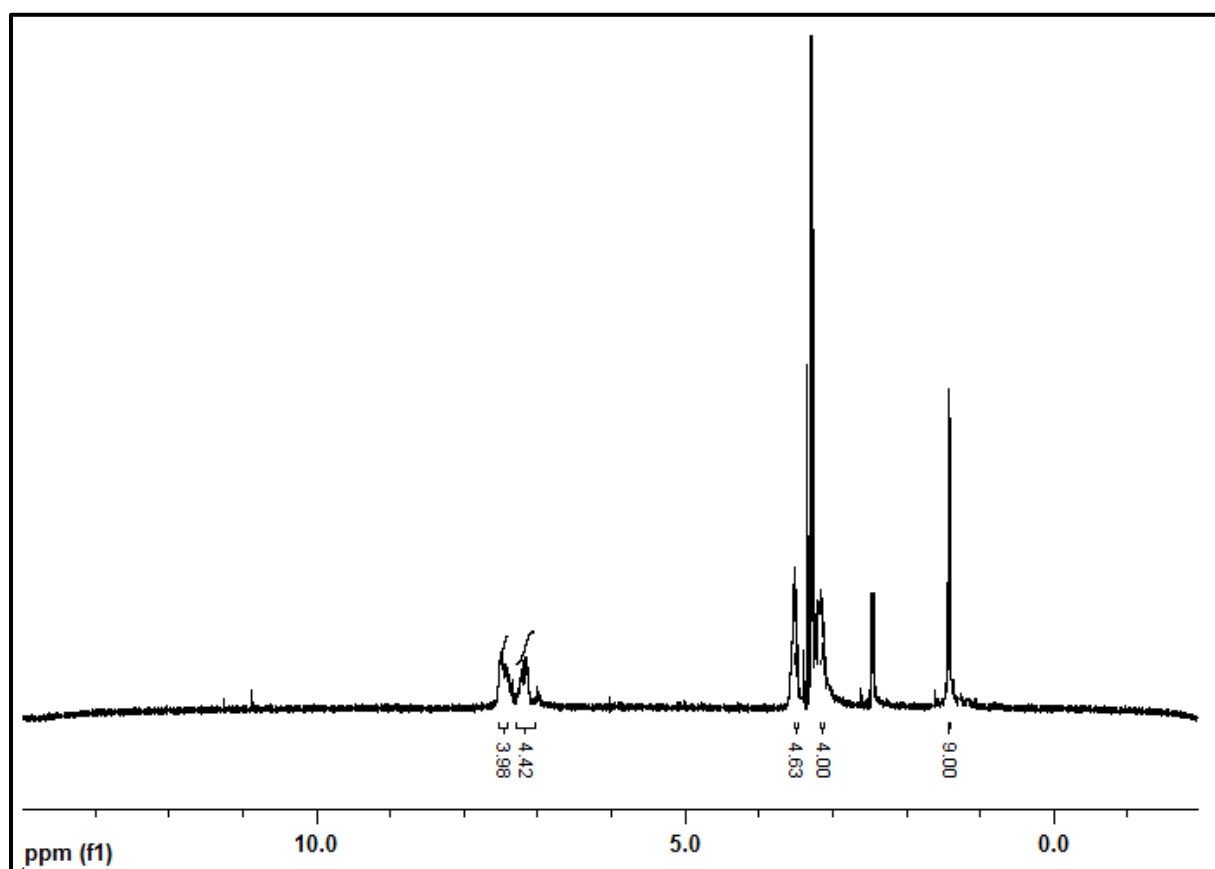


Fig. S2. ¹H NMR spectra of ZnPc

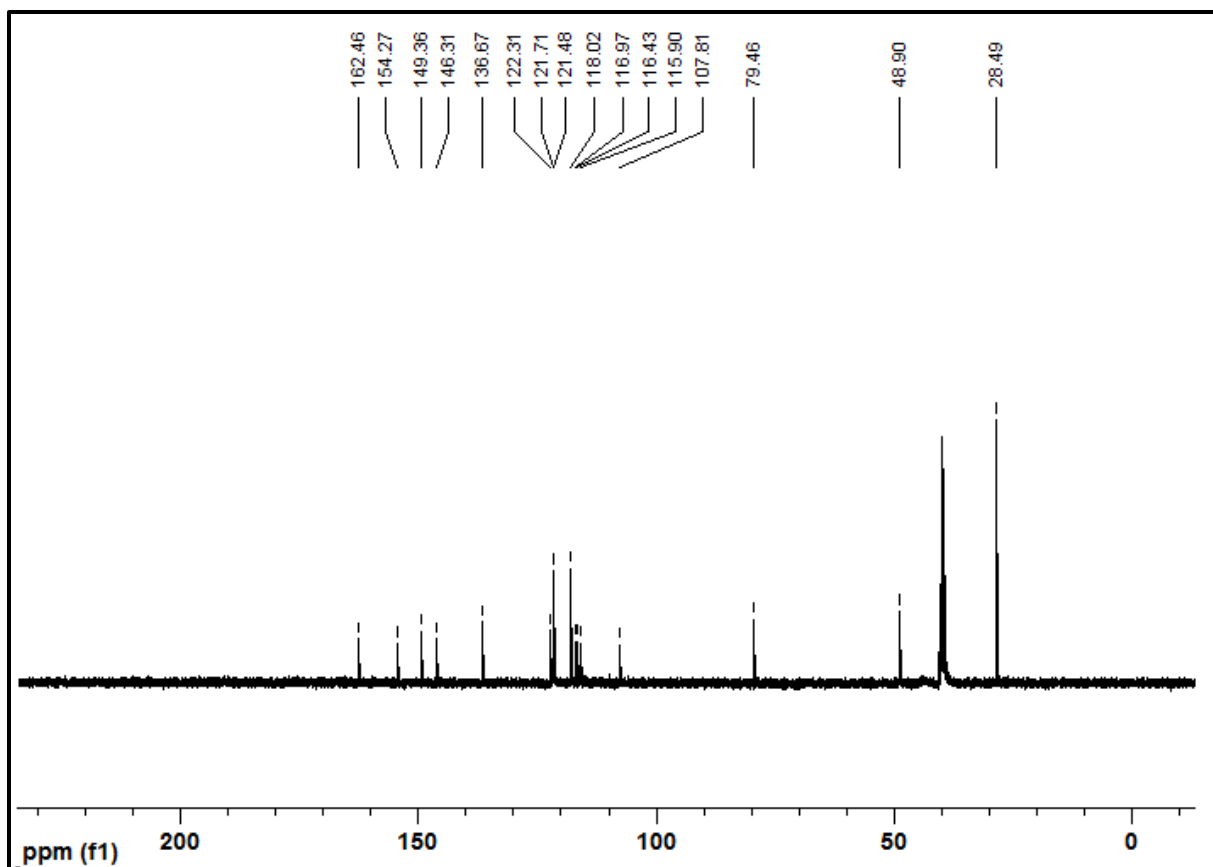


Fig. S3. ¹³C NMR spectra of Boc-Pip

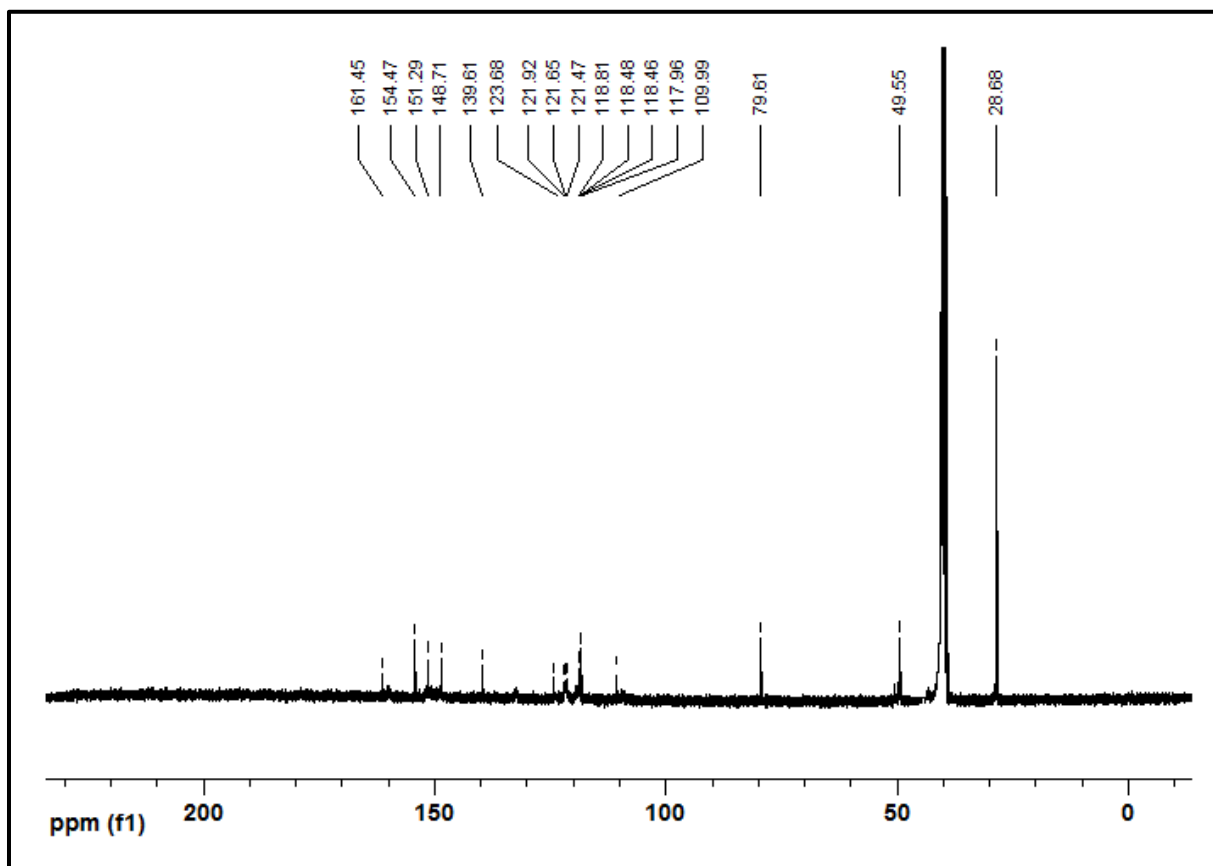


Fig. S4. ¹³C NMR spectra of ZnPc

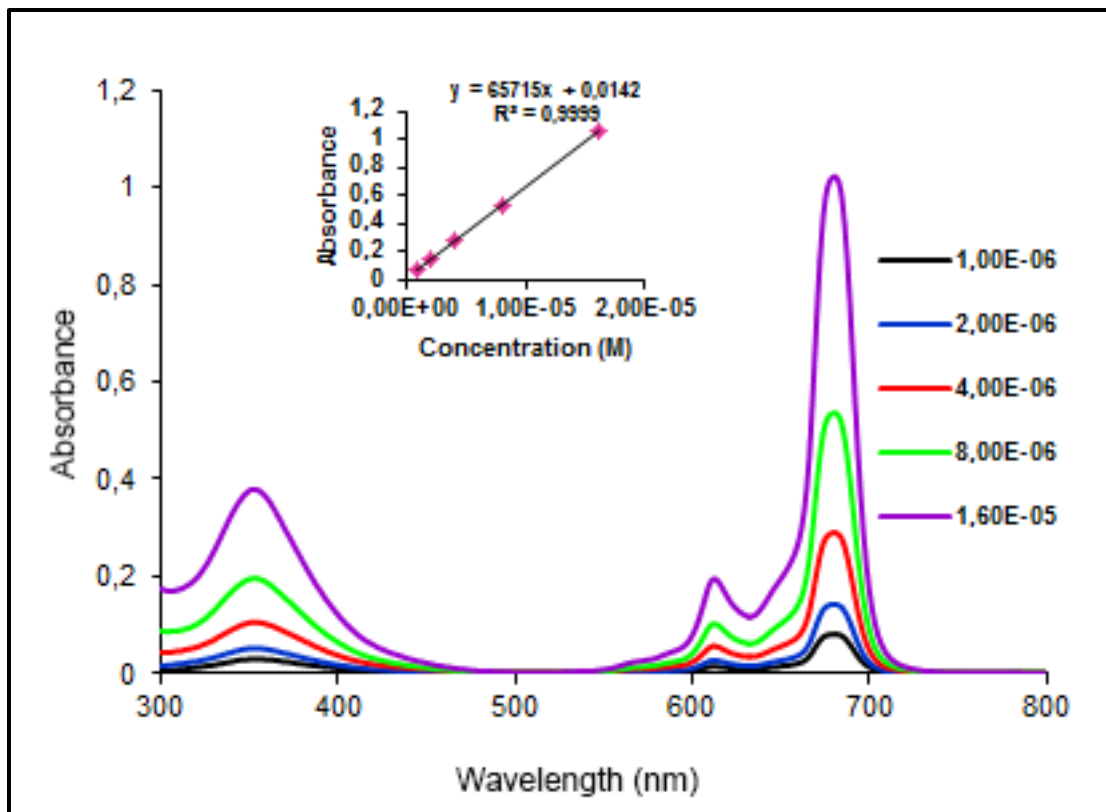


Fig. S5. UV-Vis Spectra of ZnPC (DMF)

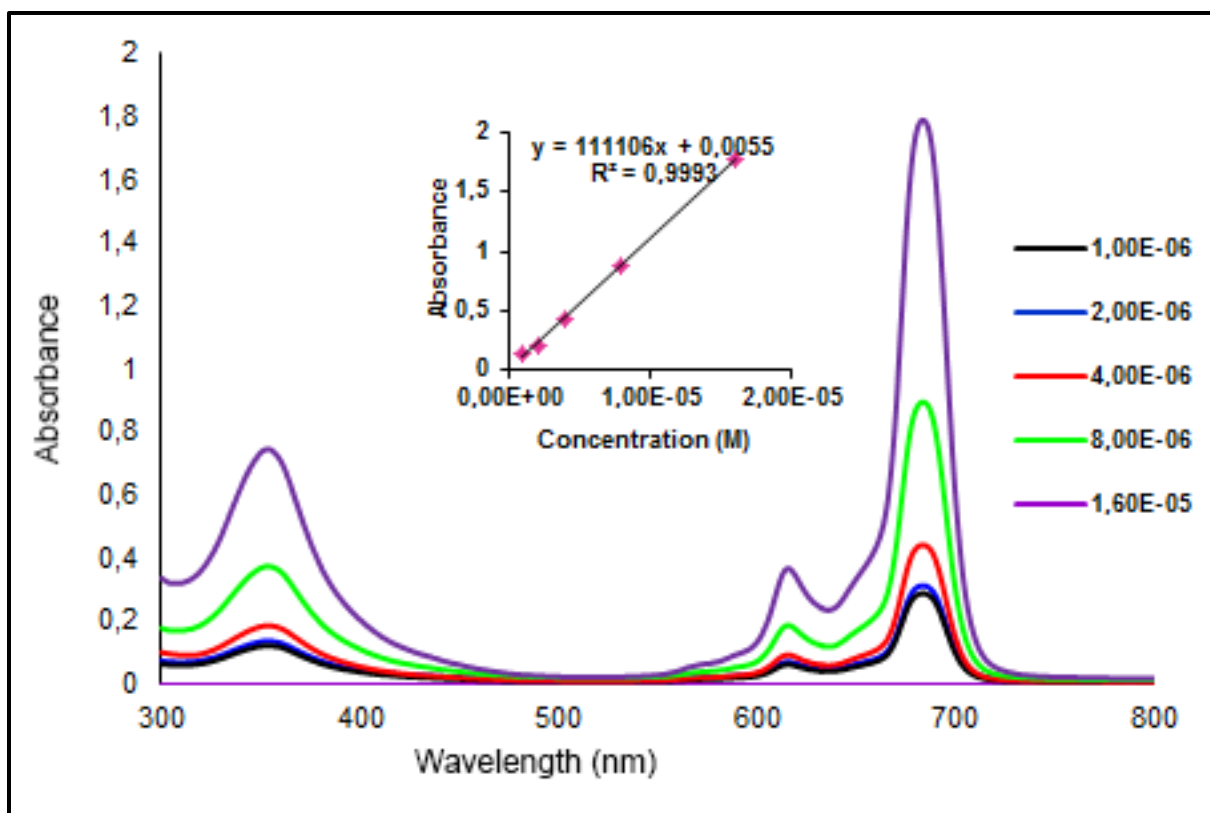


Fig. S6. UV-Vis Spectra of ZnPC (DMSO)

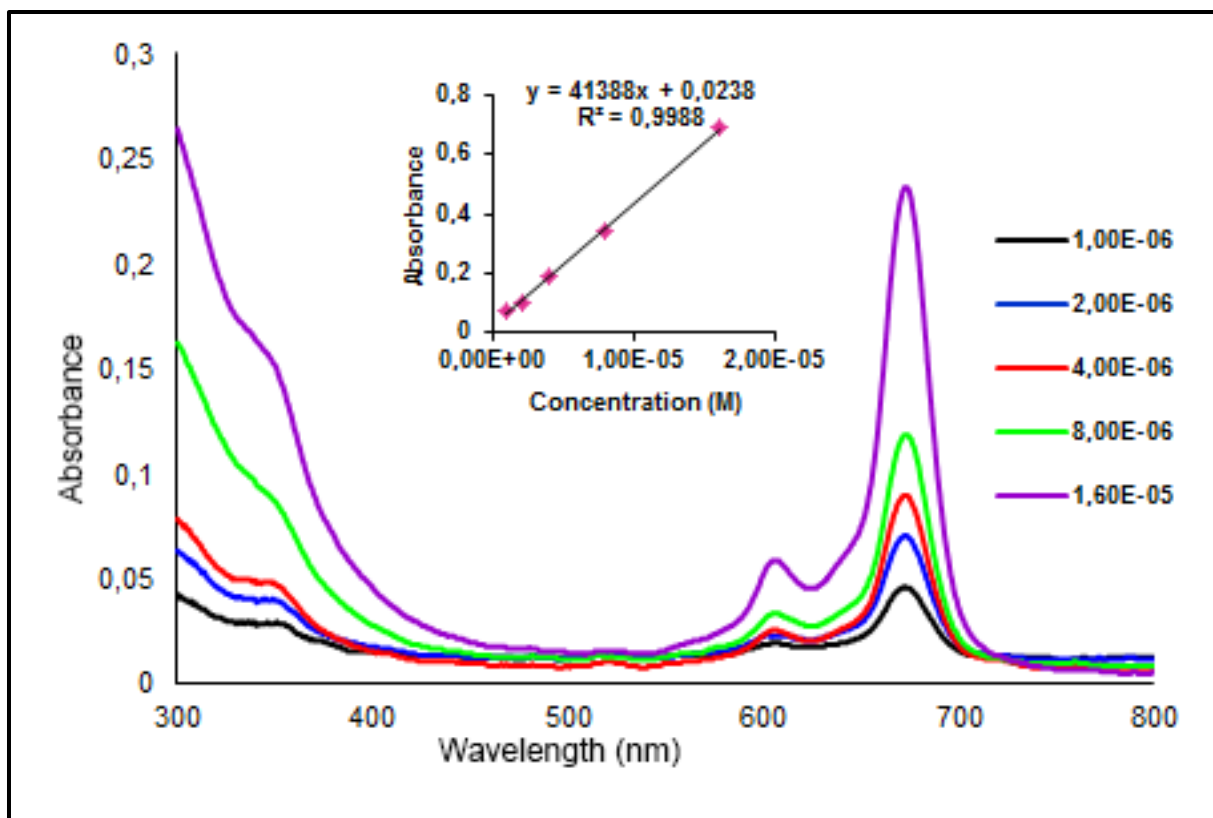


Fig. S7. UV-Vis Spectra of CoPC (THF)

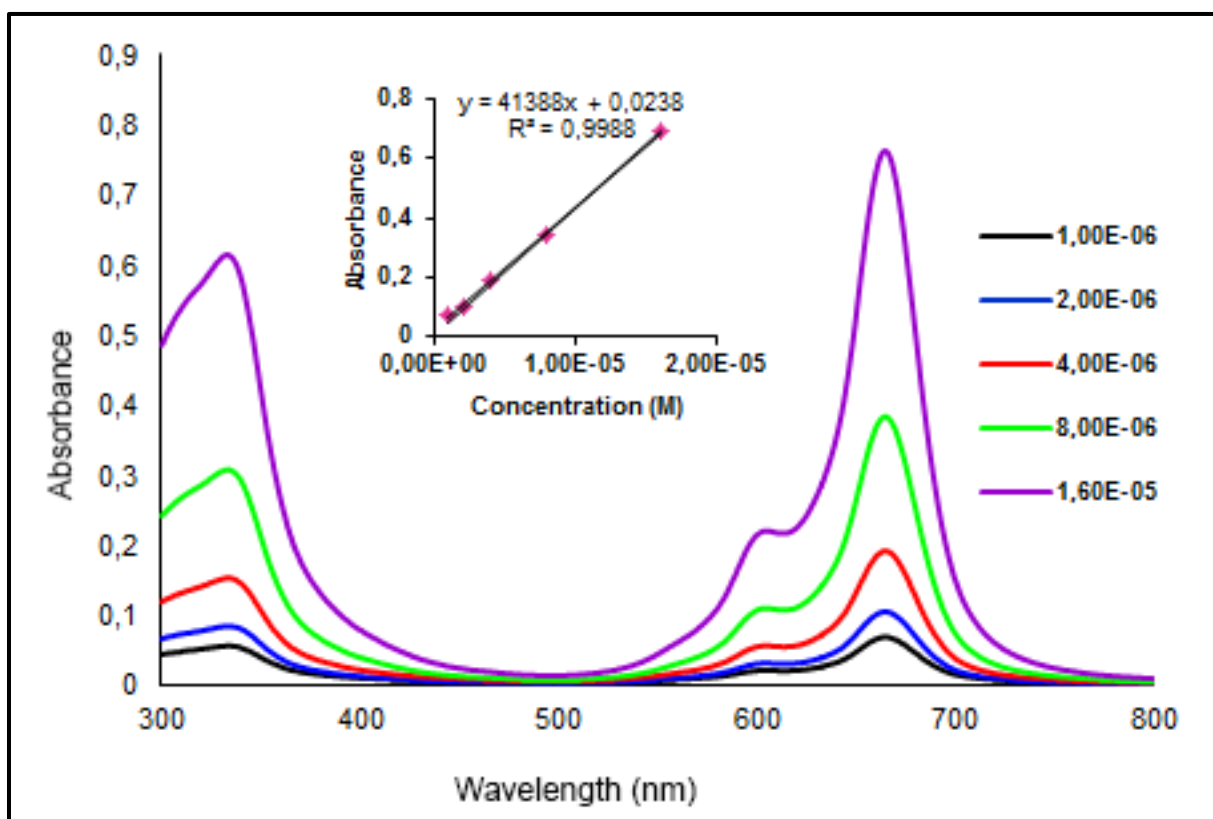


Fig. S8. UV-Vis Spectra of CoPC (DMSO)

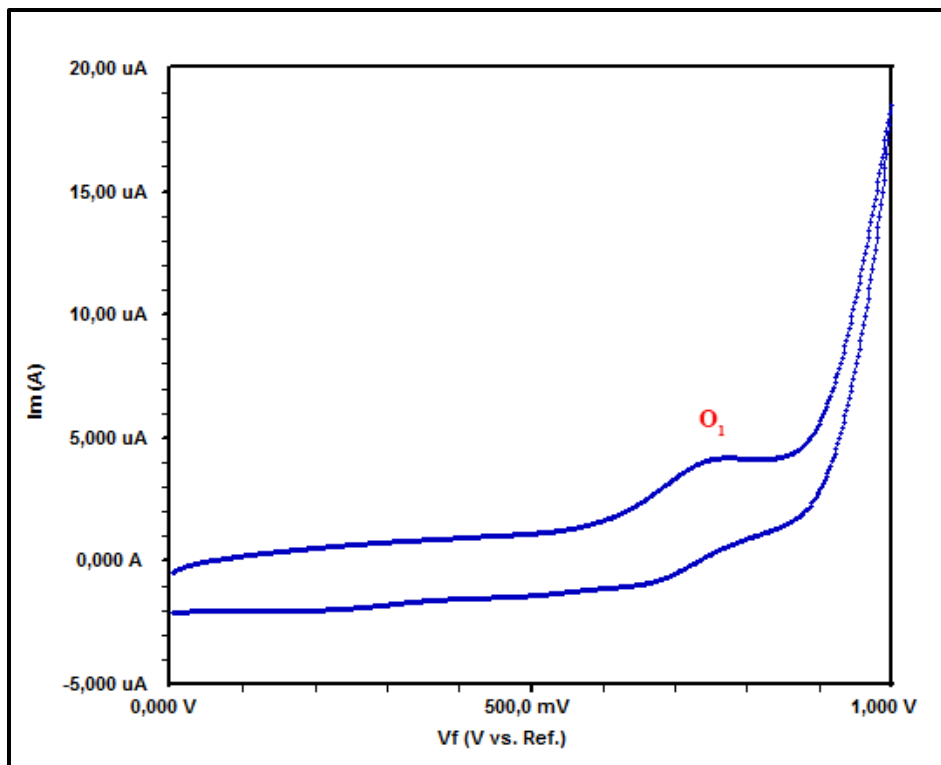


Fig. S9. Cyclic voltammograms of ZnPc in DMSO

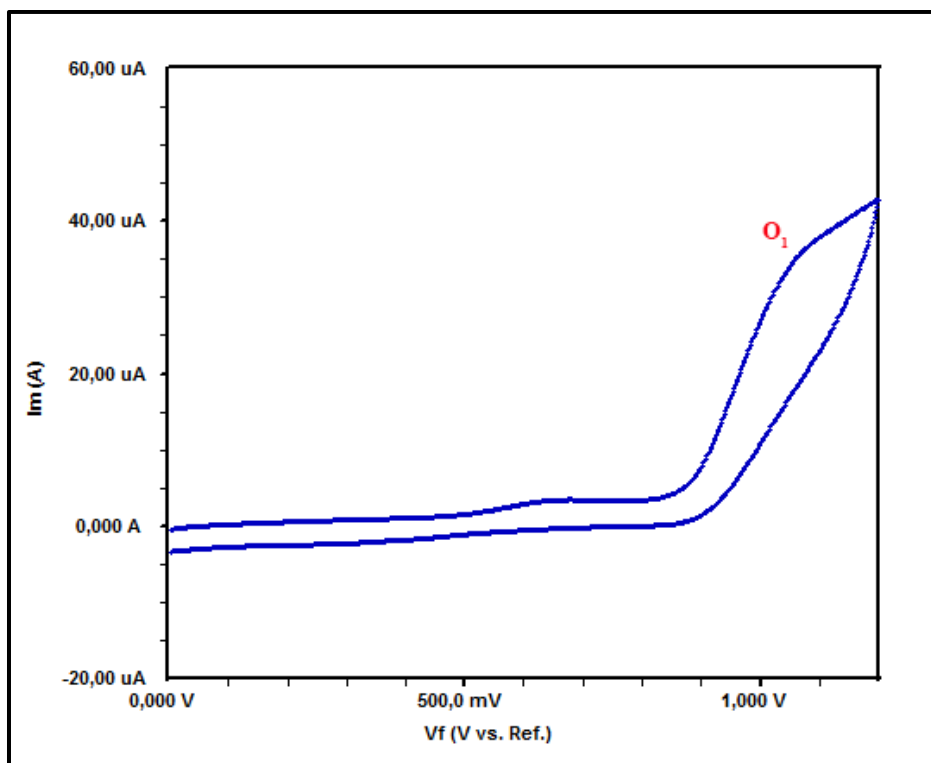


Fig. S10. Cyclic voltammograms of CoPc in DMSO

Merluccius merluccius L.'un Total Yağ Asidi Kompozisyonunda Mevsimsel Değişiklikler

Leyla KALYONCU

Selcuk University, Science Faculty, Department of Biology, KONYA
e-mail: lkalyoncu@selcuk.edu.tr

Öz: Bu çalışmada sonbahar ve ilkbaharda Marmara Denizi'nden alınan *Merluccius merluccius* L. total yağ asit kompozisyonu gaz kromatografik yöntemle araştırılmıştır. Palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0), oleik asit (C18:1) ve dokosaheksaenoik asit (C22:6) majör yağ asitleri olarak bulunmuştur. Her iki mevsimde balık kaslarında doymuş yağ asitleri (SFA), doymamış (MUFA) ve aşırı doymamış yağ asitlerinden (PUFA) daha yüksek bulunmuştur. Tavuk balığında, C20:5- ω 3 ve C22:6 içeriği toplam yağ asidinde sırasıyla %5.76'dan (sonbahar) %7.33'e (ilkbahar) ve %14.84'den (sonbahar), %25.97'ye (ilkbahar) değişmektedir. Balık dokularındaki yağ asidi bileşimi diyet, boyut, yaş, üreme periyodu, tuzluluk, sıcaklık, mevsim ve coğrafi konumdan etkilenmektedir. *M. merluccius* yağ asidi bakımından insan tüketimi için değerli bir besin olabilir.

Anahtar kelimeler: Balık, yağ asidi bileşimi.

Seasonal changes in the total fatty acid composition of *Merluccius merluccius* L.

Abstract: In this study, total fatty acid composition of *Merluccius merluccius* from Marmara Sea, in autumn and spring was investigated by gas chromatographic method. Palmitic acid (C16:0), stearic acid (C18:0), oleic acid (C18:1) and docosahexaenoic acid (C22:6), were identified as the major fatty acid constituents. Saturated fatty acids (SFAs) were found to be higher than polyunsaturated fatty acids (PUFAs) and monounsaturated fatty acids (MUFAs) in the fish muscle in both seasons. The contents of C20:5- ω 3 and C22:6 in total fatty acid in the European hake ranged from 5.76% (autumn) to 7.33 % (spring) and from 14.84% (autumn) to 25.97% (spring), respectively. Total fatty acid compositions of fish tissues can be affected by diet, size, age, reproductive cycle, salinity, temperature, season and geographical location. *M. merluccius* may be a valuable food for human consumption in terms of fatty acids.

Keywords: Fish, fatty acid composition.

1. Introduction

Fish preferentially utilise lipids rather than carbohydrates as an energy source and accumulate considerable amounts of lipids in their muscle, liver or adipose tissue (Sheridan, 1988). The ω 3 and ω 6 PUFAs are considered essential to the growth and development of children and they are precursors of composite hormones known as eicosanoids, involved in several metabolic

processes of great importance for the human body, mainly related to cardiovascular activity (Eder, 1995; Inhamuns and Franco, 2008). EPA is the most important essential fatty acid of n3 series in the human diet because it is the precursor of the 3-series eicosanoids (Chen et al., 1995). Major depression is associated with lowered n-3 PUFA levels (Hibbeln, 1998; Maes et al., 1999).

European hake *Merluccius merluccius* is an important economic seafood in the Marmara Sea. *M. merluccius* were caught seasonally at the Marmara Sea. The main objective of this study was to measure the muscle fatty acid composition and ω 3/ ω 6 fatty acids ratio of European hake.

2. Materials and Methods

M. merluccius used in this study were obtained from Marmara Sea, Turkey. The samples were collected in the spring and autumn of 2015. After being caught, they were transported on ice to the laboratories, filleted and frozen. At the beginning of each analysis, the samples were allowed to equilibrate to room temperature, ground and homogenized in chloroform/methanol mixture (2:1, v/v).

The total lipids obtained were saponified by refluxing with methanol (50%) containing 5% sodium hydroxide for 1 h. Samples of fillets extracted by the method described by Folch et al., (1957) were transesterified with BF₃ methanol (Moss et al., 1974). The saponifiable lipids were converted to their methyl esters by using the standard boron tri-fluoride-methanol (BF₃) method. Fatty acids methyl esters were analyzed on a HP Agilent 6890N model gas chromatograph, equipped with a flame ionization detector and fitted with HP-88 capillary column (100 m, 0.25 mm i.d. and 0.20 μ m). Injector and detector temperatures were 240 and 250°C

respectively. Column temperature program was 160°C for 2 min then increasing at 4°C/min up to 185°C then increasing at 1°C/min up to 200°C where it was maintained for 46.75 min. Carrier gas was helium (1 ml/min) and split ratio was 10:1. Identification of normal fatty acids was carried out by comparing sample FAME peak relative retention times with those obtained for Alltech standards. Results were expressed as FID response area relative percentages. Each reported result is the average of three GC analyses. The results are represented as means \pm SD.

3. Results and discussion

Total fatty acid composition of *Merluccius merluccius* is presented in Table 1. We found 32 fatty acids in muscle lipids of European hake. The highest fatty acids in the fish were 22:6 ω 3, 16:0, 18:0, 18:1 ω 9 and 20:5 ω 3 in both season (spring-autumn).

Palmitic acid was found to be the primary saturated fatty acid, 27.89% (spring) and 32.56% (autumn) for *M. merluccius*. Similar results for other fish species have also been reported in the literature (Celik et al., 2005; Güler et al., 2008; Rahman et al., 1995). Stearic acid C18:0 was the second highest SFA in this study. For all seasons, the predominant fatty acids were found to be C16:0 and C18:0 in SFA; C16:1 n-7 and 18:1 n-9c in MUFA (Küçükgülmez et al., 2008). Many factors, such as diet salinity, temperature, species,

sex, size and geographic location, influence the fatty acid profile of fish (Martino and Cruz 2004).

Oleic acid C18:1 ω 9 was identified as a primary monounsaturated fatty acid (MUFA) in the hake. This fatty acid in muscle tissue of hake was found to be 12.58-12.88%. Similarly Roncarati et al., (2012) found that C18:1 ω 9 was the major MUFA in muscle tissue of hake, *M. merluccius* living in different seas. Palmitoleic acid C16:1 ω 7 (3.64-6.77%) was the second most abundant MUFA in the present study. C14:1 ω 5 and C22:1 ω 9 were found to be low amounts in the MUFA fractions of the muscle investigated. MUFA contents were lower than the SFAs and PUFAs. Variations in the fatty acid composition might be related to the changes in nutritional habits of the fish (Norrobin et al., 1990). In other study, in raw hake fillets, SFA levels were found to be 45.88% of total fatty acids (Telahigue et al., 2013).

The ω 3/ ω 6 ratio is a good index for comparing relative nutritional value of fish oils (Pigott and Tucker, 1990). An increase in the human dietary ω 3/ ω 6 fatty acid ratio is essential in the diet to help prevent coronary heart disease by reducing plasma lipids and to reduce cancer risk (Kinsella et al., 1990). Our study has revealed that *M. merluccius* is a species having a high nutritional value for human consumption due to its high ω 3/ ω 6.

The present data showed that DHA (22:6 ω 3) was the predominant fatty acid in muscle lipids of hake. The total PUFAs, especially EPA and DHA, in the fatty acid compositions of hake was found to be higher in the winter season (Küçükgülmez et al., 2008). In this study, DHA levels in spring was higher than autumn. The contents of 20:5 ω -3 and 22:6 in the European hake ranged from 5.76% (autumn) to 7.33% (spring) of total fatty acid and from 14.84% (autumn) to 25.97% (spring), respectively. Sargent (1996) reported that ω 3 PUFA, principally DHA, has a role in maintaining the structure and functional integrity of fish cells. The content of PUFA, such as EPA and DHA, in fish muscle are dependent on diet (Sargent, 1997). Freshwater fish normally contain n-6 PUFAs, whereas marine fish are rich in n-3 fatty acids, especially DHA and EPA (Wang et al., 1990). In our study, PUFAs levels were found to be 38.15-25.74% in spring and autumn respectively. DHA is the highest level in PUFAs (25.97% in spring). EPA levels was quite important. It was found to be the second highest fatty acid in PUFAs (7.33-5.76%). This study has shown that European hake is a desirable item in the human diet in the Marmara Sea of Turkey when the levels of EPA, DHA and ω 3/ ω 6 ratio are considered. The fish analysed in this study was found to be good sources of ω 3 fatty acids.

Table 1. Fatty acid composition of fillets of *Merluccius merluccius* (%)

Fatty acids	Means±S.D.	Means±S.D.
	(Spring)	(Autumn)
C 12:0	0.02±0.01	0.06±0.01
C 13:0	0.02±0.01	0.01±0.00
C 14:0	2.46±0.01	3.37±0.01
C 15:0	0.52±0.01	0.76±0.01
C 16:0	27.89±0.14	32.56±0.16
C 17:0	0.12±0.08	0.34±0.06
C 18:0	9.06±0.03	10.37±0.13
C 19:0	0.14±0.01	0.19±0.01
C 20:0	0,13±0.01	0.20±0.01
C 21:0	0,35±0.01	0.29±0.04
C 22:0	0.05±0.01	0.03±0.01
C 24:0	0.33±0.04	0.35±0.04
SFA	41.05±0.17	48.49±0.01
C 14:1 ω5	0.07±0.01	0.12±0.01
C 15:1 ω5	0.07±0.01	0.12±0.01
C 16:1 ω7	3.64±0.02	6.77±0.01
C 17:1 ω8	0.20±0.02	0.27±0.02
C 18:1 ω9	12.58±0.01	12.88±0.00
C 18:1 n7	3.34±0.04	4.32± 0.01
C 20:1 ω9	0.82±0.09	1.18±0.13
C 22:1 ω9	0.02±0.01	0.03±0.02
MUFA	20.71±0.15	25.67±0.14
C 18:2 ω6	0.99±0.05	1.04±0.01
C 18:3 ω6	0.25±0.01	0.46±0.02
C 18:3 ω3	0.36±0.03	0.29±0.01
C 20:2 ω6	0.17±0.06	0.14±0.04
C 20:3 ω6	0.01±0.00	0.01±0.00
C 20:3 ω3	0.06±0.00	0.13±0.02
C 20:4 ω6	1.30±0.01	1.37±0.02
C 20:5 ω3	7.33±0.02	5.76±0.12
C 22:2 ω6	0.07±0.01	0.12±0.01
C 22:5 ω6	0.61±0.01	0.45±0.03
C 22:5 ω3	1.06±0.05	1.17±0.05
C 22:6 ω3	25.97±0.16	14.84±0.18
PUFA	38.15±0.03	25.74±0.11
ω3	34.41±0.09	21.88±0.13
ω6	3.39±0.09	3.58±0.01
ω3/ω6	10,17±0.30	6.12±0.05

^aAverage of three lots analysed.^bValues reported are means±S.D.

References

- Celik M, Diler A, Küçükgülmez A (2005). A comparison of the proximate compositions and fatty acid profiles of zander (*Sander lucioperca*) from two different regions and climatic conditions. *Food Chemistry* 92: 637-641.
- Chen IC, Chapman FA, Wei C-I, Porteir KM, O'Keefe SF (1995). Differentiation of cultured and wild sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*) based on fatty acid composition. *Journal of Food Science* 60(3): 631-635.
- Eder K (1995). Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters. *Journal of Chromatography B* 671: 113-131.
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226: 497-509.
- Güler GO, Kızıtanır B, Aktümsek A, Citil OB, Özparlak H (2008). Determination of the seasonal changes on total fatty acid composition and ω 3/ ω 6 ratios of carp (*Cyprinus carpio* L.) muscle lipids in Beyşehir Lake (Turkey). *Food Chemistry* 108: 689-694.
- Hibbeln JR (1998). Fish consumption and major depression. *Lancet* 351: 1213.
- Inhamuns AJ, Franco MRB (2008). EPA and DHA quantification in two species of freshwater fish from Central Amazonia. *Food Chemistry* 107: 587-591.
- Kinsella JE, Lokesh B, Stone RA (1990). Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. *American Journal of Clinical Nutrition* 52(1): 1-28.
- Küçükgülmez A, Çelik M, Ersoy B, Yanar Y, Sangün L (2008). Seasonal variations in proximate and fatty acid compositions of two commercially important fish, hake (*Merluccius merluccius*) and lizardfish (*Saurida undosquamis*), from the Northeastern Mediterranean Sea. *Journal of Muscle Foods* 352-361.
- Maes M, Christophe AB, Delanghe J, Altamura C, Neels H, Meltzer HY (1999). Lowered omega3 polyunsaturated fatty acids in serum phospholipids and cholesteryl esters of depressed patients. *Psychiatr Res* 85: 275-291.
- Martino RC, Cruz GM (2004). Proximate composition and fatty acid content of Mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae* along the year seasons. *Braz Arch Biol Technology* 47: 955-960.
- Moss CW, Lambert MA, Merwin, WH (1974). Comparison of rapid methods for analysis of bacterial fatty acids. *Applied Microbiology* 28: 80-85.

- Norrobin MF, Olsen RE, Tande KS (1990). Seasonal variation in lipid class and fatty acid composition of two small copepods in Balsfjorden, Northern Norway. *Marine Biology* 105: 205-211.
- Pigott GM, Tucker BW (1990). Effects of technology on nutrition. New York: Marcel Dekker.
- Rahman SA, Huah TS, Hassan O, Daud NM (1995). Fatty acid composition of some Malaysian freshwater fish. *Food Chemistry* 54(1): 45-49.
- Roncarati A, Brambilla G, Meluzzi A, Iamiceli AL, Fanelli R, Moret R, Ubaldi A, Miniero R, Sirri F, Melotti P, di Domenico A (2012). Fatty acids profile and proximate composition of fillets from *Engraulis encrasicolus*, *Mullus barbatus*, *Merluccius merluccius* and *Sarda sarda* caught in Tyrrhenian, Adriatic and Ionian seas. *Journal of Applied Ichthyology* 28: 545-552.
- Sargent JR (1996). Origins and functions of egg lipid. In N.R. Bromage and R.J. Roberts (Eds.), Broodstock management and egg and larval quality (pp. 353-372). Oxford: Blackwell.
- Sargent JR (1997). Fish oils and human diet. *British Journal of Nutrition* 78: 5-13.
- Sheridan MA (1988). Lipid dynamics in fish: Aspects of absorption, transportation, deposition and mobilization. *Comparative Biochemistry and Physiology* 90: 679-690.
- Telahigue K, Hajji T, Rabeh I, El Cafsi M (2013). The changes of fatty acid composition in sun dried, oven dried and frozen hake (*Merluccius merluccius*) and sardinella (*Sardinella aurita*). *African Journal of Biochemistry Research* 7(8): 158-164.
- Wang YJ, Miller LA, Peren M, Addis PB (1990). Omega-3 fatty acids in lake superior fish. *Journal of Food Science* 55(1): 71-73.

Slater-Tipi Orbitaler Üzerinden İki-Merkezli Moleküler İntegrallerin Eliptik Koordinatlar Kullanılarak Hesaplanması için Kullanılan Yardımcı Fonksiyonlar

Erhan AKIN

Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, KONYA
e-mail: eakin@selcuk.edu.tr

Öz: Bu çalışmada bir- ve iki-elektron iki-merkezli moleküler integrallerin eliptik koordinatlar kullanılarak hesaplanmasında Yakar ve ark. tarafından önerilen I yardımcı fonksiyonlarının yalnızca binom katsayılarını içeren yeni bir formu elde edilmiştir. Aynı zamanda I yardımcı fonksiyonlarında görülen J ve K fonksiyonlarının analitik ifadeleri için negatif n değerleri durumunda seri açılım şeklinde yeni analitik ifadeler verilmiştir. Bu çalışmada elde edilen analitik ifadeler ile Yakar ve ark. tarafından verilen analitik ifadelerin hesaplamaları karşılaştırılmış ve her iki ifadenin sonuçlarının iyi uyum içinde olduğu görülmüştür. Slater-tipi atom orbitalleri üzerinden iki-merkezli elektrik alan gradyenti integrallerinin eliptik koordinatlar kullanılarak hesaplanması bazı zorluklar içerir, bununla birlikte bu integraller bu çalışmada elde edilen I , J ve K yardımcı fonksiyonları kullanılarak kolaylıkla hesaplanabilir. Bu hesaplamaların sonuçlarının da literatürle iyi uyum içinde olduğu görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Slater-tipi atom orbitalleri - Çokmerkezli moleküler integraller – Eliptik koordinatlar yöntemi

On the Auxiliary Functions Used for the Evaluation of Two-Center Molecular Integrals over Slater-Type Orbitals using Elliptical Coordinates

Abstract: In this study, a new form containing only binomial coefficients have been obtained for I auxiliary functions proposed by Yakar et al. (Yakar et al., 2006)(Yakar et al., 2006)in the calculation of one- and two-electron two-center molecular integrals by using elliptical coordinates. Also new analytical expressions in the form of serial expansion have been given for the analytical expressions of J and K functions for negative n values which appears in the I auxiliary function. Calculations of the analytical expressions obtained in this work and the analytical expressions given by Yakar et al. (Yakar et al., 2006)(Yakar et al., 2006)have been compared and it has been seen that the results from both expressions are in well agreement. Evaluation of two-center electric field gradient (EFG) integrals over Slater-type orbitals by using elliptical coordinates poses some difficulties, however these integrals have been easily evaluated by using the I , J and K auxiliary function obtained in this study. It has been seen that the results of this calculation are in good agreement with the results in the literature, too.

Keywords: Slater-type orbitals - Multicenter molecular integrals - Elliptical coordinates method

1. Introduction

In order to calculate the physical properties of a molecule theoretically, the wave function of the molecule has to be known. Hartree-Fock-Roothaan method (HFR) is the most used approximation method to determine the molecular wave function (Roothaan, 1951). This method

uses the multicenter integrals over the slater type orbitals (STO's). The wave function of molecule obtained using HFR approximation is a function called the slater determinant whose elements are the one-electron molecular spin orbitals (Slater, 1960). Multicenter integrals appear both in the solution of HFR equations and in the

evaluation of physical properties of the molecule by using the wave function obtained from solution of HFR equations. Integrals having more than two-center can be reduced into two-center integrals by using expansion of an STO about a displaced center (Guseinov, 1985; Jones, 1987). The solution of such two-center integrals can be succeeded by using Fourier Convolution theorem (Zeroka, 1966), expansion by Löwdin's α coefficient (Jones, 1987), expansion by Guseinov's V coefficients (Guseinov, 1985) and the methods employing elliptical coordinates (Guseinov et al., 1998; Mekelleche and BabaAhmed, 1997; Yakar et al., 2006; Ozmen et al., 2003; Akin, 2008).

A , B , J and K auxiliary functions arise in the evaluation of two-center molecular integrals by using elliptical coordinates. Analytical expressions in the recursive form have been given for auxiliary functions A and B in the works of Mekelleche et al. (Mekelleche and BabaAhmed, 1997) and Guseinov et al. (Mekelleche and BabaAhmed, 1997; Guseinov et al., 1998) and for auxiliary functions J and K in the works of and Özmen et al. (2003) and Yakar et al. (Ozmen et al., 2003; Yakar et al., 2006). It has been stated in the works of Mekelleche et al. (1997) and Guseinov et al. (Mekelleche and BabaAhmed, 1997; Guseinov et al., 1998) that the analytical

expressions used for calculation of auxiliary function A has given stable results but it has not always given stable results for B . Moreover, it has also been stated in the works of Özmen et al. (2003) and Yakar et al. (Ozmen et al., 2003; Yakar et al., 2006), that auxiliary function J has not given stable results in some cases while auxiliary function K has given stable results in all cases.

In order to overcome the instability in the auxiliary function B , Mekelleche and Baba-Ahmed (Mekelleche and BabaAhmed, 1997) have used an analytical expression in the serial expansion form instead of the recursive form while Guseinov et al. (1998) have used an analytical expression in the downward recursion. In the case of $n \geq 0$ and $n < \alpha$, Ozmen et al. (Ozmen et al., 2003) and Yakar et al. (Yakar et al., 2006) have overcome the instability of J by performing the recursion downward. In this study, analytical expressions in the serial expansion form have been obtained for the case of instability of J such as Mekelleche and Baba-Ahmed (1997) have done for B . These analytical expressions are completely stable. Although other recursive relations in the works of Özmen et al. (2003) and Yakar et al. (Ozmen et al., 2003; Yakar et al., 2006) are stable, new analytical expressions in serial expansion form can also be obtained for them.

In the evaluation of one- and two-electron two-center molecular integrals over Slater-type orbitals using elliptical coordinates, an integral appears in the form

$$\int_{-1}^1 \int_{-1}^1 (\mu + \nu)^n (\mu - \nu)^{n'} (\mu \nu)^q e^{-p\mu} e^{-p\nu} d\mu d\nu. \quad (1)$$

n value in this integral is always positive for overlap, nuclear attraction, electric multipole moment and magnetic multipole moment integrals while it is negative for kinetic energy integrals with s-orbital, Coulomb and exchange integrals with $\ell > 0$, electric field gradient integrals and spin-spin nuclear attraction integrals. For the negative values of n , the binomial expansion gives infinite series for integral (1). However, the convergence of the infinite series is too slow. In these cases, abovementioned integrals can be calculated with high precision by using auxiliary function I containing J and K auxiliary functions. For example Ozmen et al. (Ozmen et al., 2003) have calculated two-center Coulomb integrals, and Akin (Akin, 2008) have calculated two-center electric field gradient

integrals by using auxiliary functions J and K .

2. Material and Method

The two-center molecular integrals have the following form in which the STOs are taken to be complex

$$\int_{\tau} \chi_{n_a \ell_a m_a}^*(\zeta_a, \vec{r}_a) \hat{F} \chi_{n_b \ell_b m_b}(\zeta_b, \vec{r}_b) d\tau. \quad (2)$$

Where \hat{F} is an operator corresponding to an observable centered at a or b nucleus of the molecule, $\chi_{n_a \ell_a m_a}(\zeta_a, \vec{r}_a)$ and $\chi_{n_b \ell_b m_b}(\zeta_b, \vec{r}_b)$ are STOs centered at a and b nuclei of the molecule, respectively. STOs have the general form

$$\chi_{n\ell m}(\zeta, \vec{r}) = \frac{(2\zeta)^{n+\frac{1}{2}}}{\sqrt{(2n)!}} r^{n-1} e^{-\zeta r} Y_{\ell m}(\theta, \varphi). \quad (3)$$

Here, $n\ell m$ are quantum numbers, ζ is the screening constant and $Y_{\ell m}$ are complex spherical harmonics. When the coordinate system is transformed from spherical to elliptical coordinates by placing STOs of (3) into (2) and by using the relations

$$r_a = \frac{R_{ab}}{2}(\mu + \nu) \quad r_b = \frac{R_{ab}}{2}(\mu - \nu) \quad d\tau = \frac{R_{ab}^3}{8}(\mu^2 - \nu^2)d\mu d\nu d\varphi \quad (4)$$

and then integrating over φ , an integral in the form

$$\int_{-1}^1 \int_{-1}^1 (\mu + \nu)^n (\mu - \nu)^{n'} (\mu \nu)^q e^{-p\mu} e^{-p\nu} d\mu d\nu \quad (5)$$

appears. Where R_{ab} is the distance between the nuclei a and b and the new variables p and t are defined to be

$$p = \frac{R_{ab}}{2}(\zeta_a + \zeta_b) \quad t = \frac{(\zeta_a - \zeta_b)}{(\zeta_a + \zeta_b)} .$$

n' and q in eq.(5) have always positive values while n sometimes may have negative values. Integral in (5) is labelled as $Q_{nn'}^q(p,t)$ for positive n and $Q_{-nn'}^q(p,t)$ for negative n by Guseinov (Guseinov, 1970) and as $I(n,n',q,p,t)$ for either case by

Yakar et al. (Yakar et al., 2006) and Ozmen *et al.* (Ozmen et al., 2003). Guseinov et al. (Guseinov et al., 1998) have calculated two-center overlap integrals over Slater-type orbitals using $Q_{nn'}^q$ auxiliary functions. Furthermore, Pashaev (Pashaev, 2009) has calculated two-center overlap integrals over Slater-type orbitals based on the B Filter-Steinborn and Guseinov $Q_{nn'}^q$.

The analytical solution of integral of (5) for the positive case of n in both of these works were given as

$$I(n,n',q,p,t) = Q_{nn'}^q(p,t) = \sum_{m=0}^{n+n'} F_m(n,n') A_{n+n'+q-m}(p) B_{q+m}(pt) \tag{6}$$

in terms of A and B auxiliary functions. Here, auxiliary functions A and B are defined by the integrals (Mulliken, 1949).

$$A_n(p) = \int_1^\infty \mu^n e^{-p\mu} d\mu \quad B_n(pt) = \int_{-1}^1 v^n e^{-ptv} dv . \tag{7}$$

p constants are always different than zero but $pt = 0$ occurs in the case of $\zeta_a = \zeta_b$. In this case, the solution of B integral is quite simple. Therefore, the case of $pt = 0$ is not in the scope of this work. Analytical solutions of A and B integrals are given in the works of Guseinov et al. (Guseinov et al., 1998) in the following recursive form

$$A_n(p) = \frac{n}{p} A_{n-1}(p) + \frac{e^{-p}}{p} \tag{8}$$

and

$$B_n(pt) = \frac{1}{pt} [nB_{n-1}(pt) + c] \tag{9}$$

for $pt \neq 0$. If n is an even number in equation of (9), $c = 2 \sinh(pt)$, otherwise $c = 2 \cosh(pt)$. The starting values for recursion relations (8) and (9) are $A_0(p) = e^{-p} / p$ and $B_0(pt) = (e^{pt} - e^{-pt}) / pt$. In the case of negative n , Ozmen *et al.* (2003) and Yakar et.al. (Ozmen et al., 2003; Yakar et al., 2006) have again labeled the analytical solution of the integral (5) as

$I(n, n', q, p, t)$. In this case, a different analytical expression for I has been given as

$$\begin{aligned}
 I(n, n', q, p, t) &= \sum_{i=0}^{2q} {}^{(2)}F_i(q, q)(n' + i)! \sum_{j=0}^{n'+i} \frac{[p(1-t)]^{j-n'-i-1}}{j!} \sum_{k=0}^j 2^{n'-2q+i-k} F_k(j, 0) \\
 &\times \left\{ e^{-p(1-t)} \left[(-1)^k J_{2q-i+n+k}(pt) - J_{2q-i+n+k}(p) \right] \right. \\
 &\left. + \left[(-1)^{j-k} e^{p(1-t)} - e^{-p(1-t)} \right] K_{2q-i+n+k}(p) \right\} \quad (10)
 \end{aligned}$$

Here J_n and K_n are defined to be

$$J_n(\alpha) = \int_0^2 x^n e^{-\alpha x} dx \quad K_n(\alpha) = \int_2^\infty x^n e^{-\alpha x} dx \quad (11)$$

and in the case of $\alpha \neq 0$, analytical solutions of these integrals have been given by the recursive relations

$$K_n(\alpha) = \frac{2^n}{\alpha e^{2\alpha}} + \frac{n}{\alpha} K_{n-1}(\alpha) \quad (13)$$

for $n \geq 0$ and

$$J_n(\alpha) = -\frac{2^n}{\alpha e^{2\alpha}} + \frac{n}{\alpha} J_{n-1}(\alpha) \quad (12)$$

$$J_n(\alpha) = -\frac{\alpha}{(n-1)} \left[J_{n-1}(\alpha) + \frac{(-\alpha)^{n-2}}{(n-1)!} \right] - \frac{1}{e^{2\alpha} (n-1) 2^{n-1}} \quad (14)$$

$$K_n(\alpha) = \frac{1}{e^{2\alpha} (n-1) 2^{n-1}} - \frac{\alpha}{(n-1)} K_{n-1}(\alpha) \quad (15)$$

for $n < 0$. The starting values of J and K in eqs. (12-15) are

$$J_0(\alpha) = (1 - e^{-2\alpha}) / \alpha \quad K_0 = e^{-2\alpha} / \alpha \quad (16)$$

$$J_{-1}(\alpha) = Ei(-2\alpha) - \log(|\alpha|) - \gamma \quad K_{-1} = -Ei(-2\alpha) \quad (17)$$

where $Ei(-2\alpha)$ is the well-known exponential integral (Arfken, 2011) and $\gamma = 0.577215664901532860$. Furthermore, for

$$\alpha = 0 \quad \text{and} \quad n \neq -1, \quad J_n(0) = \frac{2^{n+1}}{n+1} \quad \text{and} \\
 J_{-1}(0) = \ln(2).$$

J and K auxiliary functions can easily be evaluated for positive n values and

they can be expressed in a series expansion as follows

$$J_n(\alpha) = \lim_{N \rightarrow \infty} \sum_{i=0}^N \frac{(-\alpha)^i}{i!} \frac{2^{n+i+1}}{n+i+1} \quad (18)$$

$$K_n(\alpha) = \frac{n!}{\alpha^{n+1}} - J_n(\alpha). \quad (19)$$

However, the case for negative n values is a little more complicated and we have obtained the following series expressions

$$J_n(\alpha) = \lim_{N \rightarrow \infty} \sum_{\substack{i=0 \\ \neq n-1}}^N \frac{(-\alpha)^i 2^{i-n+1}}{i!(i-n+1)} + \frac{(-\alpha)^{n-1}}{(n-1)!} \ln(2) \quad (20)$$

$$K_n(\alpha) = E_n(\alpha) - J_n(\alpha) \quad (21)$$

Here E is the integral

$$E_n(\alpha) = \int_0^{\infty} x^n e^{-\alpha x} dx \quad (22)$$

for $n < 0$. We note that E is the well-known Gamma function for $n \geq 0$.

For $n < 0$ the E integral diverges, however in the evaluation of molecular integrals the diverging parts of negative and positive terms cancels and in this work we have obtained the net contribution of E integral to the I integral as

$$E_n(\alpha) = -\frac{\alpha}{n-1} \left[E_{n-1}(\alpha) + \frac{(-\alpha)^{n-2}}{(n-1)!} \right] \quad (23)$$

for $n < 0$. This newly introduced $E_n(\alpha)$

expression is essentially a sum of $J_n(\alpha)$ and $K_n(\alpha)$ auxiliary functions of Özmen et al.

(2003) and Yakar et al. (Ozmen et al., 2003; Yakar et al., 2006). The starting value of E is

$$E_{-1}(\alpha) = -\log(|\alpha|) - 0.577215664901532860$$

Using E auxiliary function and binomial coefficients, another version of I function in eq.(16) of the works of Yakar et al. (Yakar et al., 2006) has been obtained as

$$I(n, n', q, p, t) = \frac{1}{2^{2q+1}} \sum_{i=0}^q (-1)^{q-i} F_i(q) M(2i+n, 2q-2i+n', p, t) \quad (24)$$

where

$$M(m, n, p, t) = \sum_{i=0}^n F_i(n) \frac{j!}{[p(1-t)]^{i+1}} \sum_{j=0}^{n-i} F_j(n-i) 2^{n-i-j}$$

$$\times \left\{ (-1)^j e^{-p(1-t)} J_{m+j}(pt) + (-1)^{n-i-j} e^{p(1-t)} K_{m+j}(p) - e^{-p(1-t)} E_{m+j}(p) \right\}. \quad (25)$$

3. Results and Discussion

In this work, analytical expressions for J and K auxiliary functions occurring in the calculation of two-center molecular integrals using elliptical coordinates have been obtained. Available analytical expressions of B and J are unstable for $n \geq 0$ and their accurate calculation need a demanding process (Ozmen et al., 2003). In order to overcome this instability some researchers have employed a downward recursive approach (Guseinov et al., 1998; Ozmen et al., 2003; Yakar et al., 2006). When $n > \alpha$ the downward recursion has been started from a certain value of n_{top} and eqs.(9) and (12) have been rewritten in the form of downward recursion. Thus authors have accurately computed two-center overlap integrals and two-center Coulomb integrals. Also, Mekelleche and Baba-Ahmed (Mekelleche and BabaAhmed, 1997) have given an analytical expression in the form of serial expansion for B . Our main aim in this work is to give new analytical expressions for auxiliary functions J , K and I to compare them with other analytical expressions in the literature. For this purpose, Eq.(24) obtained in this work and eq.(16) of the works of Yakar et al. (Yakar et al., 2006) for I integral are given in

Table 1. Furthermore, we have tested our expressions by calculating two-center electric field gradient integrals with large negative n values over STO's by using J , K and I auxiliary functions obtained in this study. One reason for choosing the EFG integrals to test our analytical expressions is the evaluation of these integrals involves using of I integrals given in eq.(5) with negative n values up to $n = -3$. Another one is that there are only a few works in the literature dealing with these integrals. In the two of these works (Pietrovito et al., 1984; Kim et al., 1986) authors have used the Fourier Convolution theorem to evaluate EFG integrals. In another work, Guseinov and Görgün have employed unsymmetrical one-range addition theorem (Guseinov, 2011). ζ - function method was also used by Fernandez et al. (Fernandez et al., 2006) and Ema et al. (Ema et al., 2008). However we have calculated these integrals by using recursive J , K and I given in the works of Özmen et al. (Ozmen et al., 2003), Yakar et al. (Yakar et al., 2006) and Akin (Akin, 2008). We have done same calculations by using J , K , E and I auxiliary functions given in this work.

In Table 2 we have compared our results with the results obtained by using the

auxiliary function J , K and I given in the works of Özmen et al. (Ozmen et al., 2003) and Yakar et al. (Yakar et al., 2006) and the values given in the literature. The values in 10th and 11th columns of Table 2 are obtained by using J , K and I expressions given in the works of Özmen et al. (Ozmen et al., 2003) and Yakar et al. (Yakar et al., 2006) and the expressions obtained in this work, respectively. The values in the last column are calculated in the works of Fernandez et al. (Fernandez et al., 2006) and Ema et al. (Ema et al., 2008) by using Fourier convolution method. The calculations were performed by using a computer program written in Fortran. As it is seen from these tables, the results obtained from both expressions are in good agreement with each other and the literature.

4. Conclusions

There are many methods in the literature to evaluate one- and two-electron

multicenter molecular integrals over Slater-type orbitals (for example, Fourier convolution method, zeta-function method). However, these methods requires tiresome and extensive mathematical work. I auxiliary function obtained in this work is quite useful for the calculation of abovementioned integrals since it is valid for negative n values and has a simple form. In the methods as Guseinov's serial expansion method (Guseinov, 1985), multicenter molecular integrals over Slater-type orbitals are reduced to one-center integrals over Slater-type orbitals by the expansion of Slater-type orbitals about a displaced center. Such multicenter molecular integrals can be reduced to two-center molecular integrals and these integrals can easily be calculated by I auxiliary functions obtained in this work.

Table 1. Values of $I(n, n', q, p, t)$ auxiliary functions ($n' = 2, q = 1, p = 0.8, t = 0.5$)

n	Eq.(24) of this work	Eq.(16) of Ref.[8,9]
-5	0.38941676551581904802102210019279	0.38941676551581904802102210019279
-4	-0.62162628075197282391508908960522	-0.62162628075197282391508908960522
-3	1.07708732401540886367377492715020	1.07708732401540886367377492715020
-2	-0.27446182690608160388378277282755	-0.27446182690608160388378277282755
-1	-5.29413870922867268220669641006507	-5.29413870922867268220669641006507
0	-9.34090519700667437925461708808344	-9.34090519700667437925461708808344
1	-28.8219700285684076924023810006771	-28.8219700285684076924023810006771
2	-119.425243440923029382409224664043	-119.425243440923029382409224664043
3	-598.815281744536476379448764400859	-598.815281744536476379448764400859
4	-3385.69868647477301826312183456009	-3385.69868647477301826312183456009
5	-19886.5514034588125773373632092033	-19886.5514034588125773373632092033

Table 2. Values of two-center EFG integrals over STOs for various quantum numbers, screening parameters and internuclei distances (in a.u.)

n	ℓ	m	ζ	n'	ℓ'	m'	ζ'	R_{ab}	With J , K and I in this work	With J , K and I in the works of Yakar et al.(Yakar et al., 2006)	Literature
1	0	0	2.6909	1	0	0	2.6909	3.0150	7.296834320972788953147773702176585E-02	7.296834320972788953147773702176585E-02	0.07296834 (*)
1	0	0	2.6909	2	0	0	0.7075	3.0150	1.366137444142847518483457371303036E-02	1.366137444142847518483457371303036E-02	0.01366137 (*)
1	0	0	2.6909	2	1	0	0.8449	3.0150	1.140078508925205959441859145918451E-02	1.140078508925205959441859145918451E-02	0.01140079 (*)
1	0	0	8.6533	2	1	0	2.6693	1.7330	3.389061807111278069258415884799817E-02	3.389061807111278069258415884799817E-02	0.03389062 (**)
2	1	0	2.6693	2	1	0	2.6693	1.7330	0.530556492362047265674903615523203E-00	0.530556492362047265674903615523203E-00	0.5305565 (**)
2	1	1	2.4965	2	1	1	2.4965	1.7330	0.214318056694851096762003845680240E-00	0.214318056694851096762003845680240E-00	0.2143181 (**)

(*) (Petrovito et al., 1984)

(**)(Kim et al., 1986)

References

- Akin E (2008). Evaluation of two-center electric field gradient integrals over STOs using elliptical coordinates. *Eur Phys J D* 49: 305-310.
- Arfken GB, Weber HJ, Harris FE (2011). *Mathematical methods for physicists*, Academic Press, New York.
- Ema I, Lopez R, Fernandez JJ, Ramirez G, Rico JF (2008). Auxiliary functions for molecular integrals with Slater-type orbitals. II. Gauss transform methods. *International Journal of Quantum Chemistry* 108: 25-39.
- Fernandez JJ, Lopez R, Ema I, Ramirez G, Rico JF (2006). Auxiliary functions for molecular integrals with Slater-type orbitals. I. translation methods. *International Journal of Quantum Chemistry* 106: 1986-1997.
- Guseinov II (1970). Analytical evaluation of two-centre Coulomb, hybrid and one-electron integrals for Slater-type orbitals. *Journal of Physics B: Atomic and Molecular Physics* 3: 1399-1406.
- Guseinov II (1985). Expansion of Slater-type orbitals about a displaced center and the evaluation of multicenter electron-repulsion integrals. *Physical Review A* 31: 2851.
- Guseinov II, Görgün NS (2011). Calculation of multicenter electric field gradient integrals over Slater-type orbitals using unsymmetrical one-range addition theorems. *J Mol Model* 17.
- Guseinov II, Ozmen A, Atav U, Yuksel H (1998). Computation of overlap integrals over Slater-type orbitals using auxiliary functions. *International Journal of Quantum Chemistry* 67: 199-204.
- Jones HW (1987). Exact formulas and their evaluation for Slater-type-orbital overlap integrals with large quantum numbers. *Physical Review A* 35: 1923-1926.
- Kim HW, Hameka HF, Zeroka D (1986). Calculation of the deuterium electric-field gradient in Df. *J Chem Phys* 84: 5639-5644.
- Mekelleche SM, BabaAhmed A (1997). Calculation of the one-electron two-center integrals over Slater-type orbitals by means of the ellipsoidal coordinates method. *International Journal of Quantum Chemistry* 63: 843-852.
- Mulliken RS, Rieke CA, Orlof D, Orlof H (1949). Formulas and numerical tables for overlap integrals. *J Chem Phys* 17.
- Ozmen A, Karakas A, Atav U, Yakar Y (2003). Computation of two-center coulomb integrals over Slater-type orbitals using elliptical coordinates. *International Journal of Quantum Chemistry* 91: 13-19.
- Pashaev FG (2009). Use of filter-steinborn b and guseinov Q(ns)(q) auxiliary functions in evaluation of two-center overlap integrals over Slater type orbitals. *J Math Chem* 45: 884-890.
- Petrovito AJ, Hameka HF, Zeroka D (1984). Calculation of the deuterium electric-field gradient in Lid. *J Chem Phys* 81: 1960-1965.
- Roothaan CCJ (1951). New developments in molecular orbital theory. *Rev Mod Phys* 23: 69-89.
- Slater C (1960). *Quantum Theory of Atomic Structure*, London:McGraw-Hill Book Company Inc., London.
- Yakar Y, Ozmen A, Atav U (2006). Evaluation of two-center one- and two-electron integrals over Slater type orbitals. *Chinese J Chem* 24: 603-608.
- Zeroka D, Hameka, H.F. (1966). Calculation of magnetic shielding constants of diatomic molecules. I. General theory and application to HF molecule. *J Chem Phys* 45: 300-311.

Tek Elektronlu Kuantum Nokta Yapılarda Manyetik Alan Etkisinin Pertürbasyon Yöntemiyle İncelenmesi

Mustafa Doğan SARIKAYA¹, BekirÇAKIR², Ayhan ÖZMEN², Yusuf YAKAR³

¹ Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, KONYA

² Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, KONYA

³ Aksaray Üniversitesi, Fen Fakültesi, Fizik Bölümü, AKSARAY

e-mail:must1890@hotmail.com

Öz: Bu çalışmada dış manyetik alan içinde tek elektronlu kuantum nokta yapının elektronik özellikleri pertürbasyon yöntemiyle incelendi. Sonlu derinlikli potansiyelle sınırlandırılmış merkezinde hidrojen benzeri safsızlık olan tek elektronlu kuantum nokta yapı ele alındı. Kuantum Genetik Algoritma (KGA) tekniği ile bu yapı için Schrödinger denkleminin olası çözümleri bulundu. Bu çözümler kullanılarak tek elektronlu kuantum nokta yapının enerjilerinin beklenen değerleri Hartree-Fock-Roothaan Metodu (HFR) kullanılarak hesaplandı. Sistemin dalga fonksiyonları Slater Tipi Orbitalerin (STO) lineer kombinasyonu şeklinde kuruldu. Bu nokta yapının taban ve bazı uyarılmış enerji seviyelerine paramanyetik ve diamanyetik terimden gelen katkılar kuantum nokta yarıçapına bağlı olarak incelendi.

Anahtar kelimeler: Hartree-Fock-Roothaan Metot, Kuantum Nokta Yapı, Kuantum Genetik Algoritma, Pertürbasyon Yöntemi, Slater Tipi Orbital, Manyetik Alan.

Investigation of Magnetic Field Effect on the Quantum Dot with One Electron by Perturbation Method

Abstract: In this study we investigated the effect of an external magnetic field on the electronic properties of one-electron quantum dot using perturbation method. One electron quantum dot structure with hydrogen-like impurities at the center confined by finite parabolic potential was considered. Possible solutions of the Schrödinger equation of this structure were determined by the Quantum Genetic Algorithm (QGA), and energy eigenvalues of the quantum dot were calculated by Hartree-Fock-Roothaan Method (HFR). The wave functions of the system were constructed by linear combination of Slater Type Orbitals (STO). The contribution due to the paramagnetism and diamagnetism terms to the ground and some excited energies states of this structure were investigated depending on the radius of this structures.

Keywords: Hartree-Fock Roothaan Method, Quantum Dot, Quantum Genetic Algorithm, Perturbation Method, Slater Type Orbital, Magnetic Field.

1. Giriş

Günümüz teknolojilerinde haberleşme ve iletişime olan yoğun talep ve farklı uygulamaların ivme kazandırdığı teorik ve deneysel araştırmalar, yarı iletken yapılar teknolojisindeki ve bilimindeki gelişmelere önemli ölçüde hız kazandırmıştır. Bunun yanı sıra kayıt ve hesaplama sistemlerine

olan ihtiyaç neticesinde ortaya çıkan yoğun talep, sinyal iletim ve çalışma düzeyinin artırılması yönündeki olumlu araştırmalar, yeni mikroelektronik ve optoelektronik cihazların geliştirilmesine ve üretilmesine zemin hazırlamıştır.

Yarı iletken aygıtlar üzerinde kuantum sınırlandırmasının etkileri ile ilgili

tartışmalar 1950'li yıllarda başlamıştır. Bir potansiyel kuyu içerisinde hapsedilmiş elektronların klasik olarak davranamayacakları ve bu elektronların enerji seviyelerinin sınırlandırmanın olduğu boyutta kesikli değerler alacağı ileri sürülmüştür (Schrieffer, 1957). Yarı iletken lazerin bulunması, birbirinden farklı en az iki yarı iletken malzemeyi bir araya getirerek oluşturdukları heteroeklemlerin ortaya çıkışı, 1960'lı yıllarda kuantum mekaniğinin katıhal elektroniği üzerinde daha etkin bir rol oynamasına neden olmuştur (Anderson, 1962; Hall ve ark., 1962).

Moleküler demet kaplama Molecular Beam Epitaxy (MBE) yönteminin bulunuşu çoklu eklem kuantumlu yapıların gelişmesine büyük oranda ışık tutmuştur (Cho ve Arthur, 1975). 250 nm kenar uzunluğu olan kare biçiminde bir geometrik yapıya sahip ilk kuantum nokta yapının üretilmesiyle (Reed ve ark., 1986) daha düşük boyutta (30-45 nm) ve farklı geometrik (kübik, elipsoid, küresel ve piramit) yapıya sahip kuantum nokta yapılar üretilmeye başlanmıştır (Cibert ve ark., 1986; Temkin ve ark., 1987).

Helyum ve helyuma benzeyen kuantum nokta yapılarda iyonizasyon enerjisi ve bazı uyarılmış seviyelerin enerjileri hesaplanmıştır (Yakar ve ark., 2011). Parabolik potansiyel ile sınırlandırılmış, içinde safsızlık bulunduran

küresel bir kuantum nokta yapıda deşiklerin kırılma indisleri ve soğurma katsayıları hesaplanmıştır (Çakır ve ark., 2012). Tek elektronlu küresel kuantum nokta yapıların lineer ve lineer olmayan optiksel özellikleri ve rölativistik düzeltme terimleri hesaplanmıştır (Çakır ve ark., 2013). İki elektronlu sonsuz parabolik küresel kuantum nokta yapının, taban ve bazı uyarılmış seviye enerjilerinin kuantum nokta yarıçapına göre değişimi hesaplanmıştır (Çakır ve ark., 2015). Sonsuz potansiyelli küresel kuantum nokta yapısının çizgisel ve çizgisel olmayan soğurma katsayıları hesaplanmıştır (Yakar ve ark., 2015a).

Tek elektronlu ya da çok elektronlu kuantum nokta yapıların elektronik özelliklerini incelemek için çeşitli yöntemler, araştırmacılar tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlardan bazıları, varyasyon yöntemi, pertürbasyon yöntemi, matris köşegenleştirme yöntemi, yoğunluk fonksiyonel teorisi, Hartree-Fock yöntemi gibi tekniklerdir. Her bir yöntemin, ele alınan probleme ve yapılmak istenen hesaplamalara bağlı olarak birbirinden daha etkin, daha başarılı olduğu durumlar vardır. Böyle durumlarda da birden çok tekniğin, problemin farklı aşamalarında ayrı ayrı veya birlikte kullanılması söz konusu olabilir. Son yıllarda nanoyapılı sistemlerin elektronik özelliklerinin ve fiziksel özelliklerinin incelenmesinde en iyileme yöntemi olan Kuantum Genetik Algoritma (KGA) tekniği

kullanılmaya başlanmıştır (Venugopal ve Narendran, 1992; Homaifar ve ark., 1994; Şahin ve ark., 2000; Castro ve ark., 2004; Kulkarni ve ark., 2004; Çakır ve ark., 2006.; Çakır, 2007; Çakır ve ark., 2007; Yakar ve ark., 2007; Yakar ve ark., 2010a; Yakar ve ark., 2010b; 2011; Çakır ve ark., 2012; 2013; Yakar ve ark., 2013a; Yakar ve ark., 2013b; Çakır ve ark., 2015; Yakar ve ark., 2015b; 2015a). Bu tür kuantum nokta yapıların elektronik özelliklerini dış manyetik alan varlığında inceleyen birçok çalışma vardır (Halonen ve ark., 1992; Fal'ko ve Efetov, 1994; Nomura ve ark., 1994; Oaknin ve ark., 1994; Wojs ve Hawrylak, 1996; Dineykan ve Nazmitdinov, 1997). Manyetik alanın etkisinde GaN/AlGaN kuantum nokta yapısında bir hidrojenik örneğin bağlanma enerjileri, tek parçacık etkin kütle yaklaşımı altında varyasyonel yöntemle hesaplanmıştır (Joseph Sharkey ve ark., 2010).

Manyetik alan etkisini inceleyen yukarıda bahsedilen bu çalışmaların çoğunda, kuantum nokta yapıların taban durumlarının elektronik özellikleri incelenmiştir. Böyle yapıların uyarılmış seviyelerinin elektronik özelliklerini dış manyetik alan varlığında inceleyen çalışmalar çok azdır. Biz bu çalışmamızda

dış manyetik alan etkisindeki bir kuantum nokta yapının taban ve bazı uyarılmış durumların paramanyetik terimi de içine katarak enerji öz değerlerini ve dalga fonksiyonlarını KGA tekniğini ve HFR yöntemini kullanarak hesapladık. Bu enerji öz değerleri ve dalga fonksiyonları kullanılarak diamanyetik terimin enerji seviyelerine getirdiği katkıları pertürbasyon yöntemiyle inceledik.

2. Materyal ve Metot

Merkezinde hidrojenik safsızlık bulunduran, tek elektronlu bir sistem üzerine dışarıdan bir manyetik alan uygulandığında elektronik Hamiltoniyeni,

$$H = \frac{1}{2m^*} \left(\vec{p} - \frac{e}{c} \vec{A} \right)^2 - \frac{e^2}{\epsilon r} + V(\vec{r}) \quad (1)$$

biçiminde yazılır. Burada m^* , \vec{p} ve e sırasıyla elektronun etkin kütlesi, çizgisel momentumu ve yüküdür. c ışık hızı, \vec{A} vektör potansiyelini göstermektedir, öyle ki $\vec{B} = \vec{\nabla} \times \vec{A}$ 'dir. ϵ ortamın dielektrik katsayısı ve \vec{r} elektronun safsızlığa göre yer vektörüdür. $V(\vec{r})$ sınırlandırıcı potansiyel olup,

$$V(\vec{r}) = \begin{cases} \frac{1}{2} \alpha r^2 & , 0 \leq r \leq R \\ V_0 & , r > R \end{cases} \quad (2)$$

biçiminde alınmıştır. Düzgün bir manyetik alan için vektör potansiyeli $\vec{A}(r) = \frac{1}{2} \vec{B} \times \vec{r}$ 'dir.

Çizgisel momentum \vec{p} 'nin operatörü $i\hbar \vec{\nabla}$ olduğundan ve manyetik alan z yönünde $\vec{B} = B_0 \hat{k}$ seçilirse, Hamiltoniyen ifadesi,

$$H = -\hbar^2 \frac{\nabla^2}{2m^*} - \frac{e^2}{\epsilon r} - \frac{e}{2m^* c} B_0 L_z + \frac{e^2}{8m^* c^2} B_0^2 \sin^2 \theta + V(r) \quad (3)$$

olur. Burada eşitliğin sağındaki üçüncü terim paramagnetik, dördüncü terim ise diyamagnetik terime karşılık gelir. Denk. (3) ifadesi,

$$H = H_0 + H' \quad (4)$$

şeklinde yazılır. Burada H_0 pertürbe olmamış Hamiltoniyen, H' pertürbe Hamiltoniyeni,

$$H_0 = -\hbar^2 \frac{\nabla^2}{2m^*} - \frac{e^2}{\epsilon r} - \frac{e}{2m^* c} B_0 L_z + V(r) \quad (5)$$

ve

$$H' = \frac{e^2}{8m^* c^2} B_0^2 r^2 \sin^2 \theta \quad (6)$$

olur. Sistemin Schrödinger denklemi,

$$H\psi = E\psi \quad (7)$$

olup, pertürbe olmamış Hamiltoniyen,

$$H_0\psi^{(0)} = E\psi^{(0)} \quad (8)$$

kısmı kolayca çözülebilir. Burada $\psi^{(0)}$ tek elektron spin orbitalleri olup, ϕ uzaysal kısmı ile temsil edilirse HFR yaklaşımında STO'nun lineer kombinasyonu şeklinde aşağıdaki gibi yazılır.

$$\phi_p = \sum_{k=1}^{\sigma} c_{pk} \chi_k(\zeta_k, r\theta\phi) \quad (8)$$

olur. Burada χ_k ,

$$\chi_{n_i \ell_i m_i}(\zeta, r\theta\phi) = r^{n-1} e^{-\zeta_i r} Y_{\ell_i}^{m_i}(\theta, \phi) \quad (9)$$

dir. χ_k k. STO'dur. $k \longrightarrow n_i \ell_i m_i$ STO için kuantum sayılarını, σ baz seti sayısını ve c_{pk} orbitallerin lineer katsayılarının toplamını ifade etmektedir. H_0 pertürbe olmamış Hamiltoniyenin beklenen değeri, Den. (3), Denk (8) ve Denk. (9) ifadeleri kullanılarak,

$$\begin{aligned}
 \langle \psi^{(0)} | H_0 | \psi^{(0)} \rangle = & \sum_{i=1}^{\sigma} \sum_{j=1}^{\sigma} c_{pn_i \ell_i m_i}^* c_{pn_j \ell_j m_j} \left[\frac{\zeta_i + \zeta_j}{n_i + n_j} S_{n_i \ell_i m_i, n_j \ell_j m_j}^{r < R}(\zeta_i, \zeta_j) - \frac{e^{-(\zeta_i + \zeta_j)R} R^{n_i + n_j}}{n_i + n_j} \right] + \\
 & \sum_{i=1}^{\beta} \sum_{j=1}^{\beta} d_{pn_i \ell_i m_i}^* d_{pn_j \ell_j m_j} \left[\frac{\zeta_i + \zeta_j}{n_i + n_j} S_{n_i \ell_i m_i, n_j \ell_j m_j}^{r > R}(\zeta_i, \zeta_j) - \frac{e^{-(\zeta_i + \zeta_j)R} R^{n_i + n_j}}{n_i + n_j} \right] + \\
 & \sum_{i=1}^{\sigma} \sum_{j=1}^{\sigma} \frac{c_{pn_i \ell_i m_i}^* c_{pn_j \ell_j m_j}}{m_1} \times \left\{ \frac{[\ell_j(\ell_j + 1) - n_j(n_j - 1)](\zeta_i + \zeta_j)^2}{2(n_i + n_j)(n_i + n_j - 1)} \times S_{n_i \ell_i m_i, n_j \ell_j m_j}^{r < R}(\zeta_i, \zeta_j) + \right. \\
 & \left. \left[\frac{[\ell_j(\ell_j + 1) - n_j(n_j - 1)] e^{-(\zeta_i + \zeta_j)R} R^{n_i + n_j - 1}}{2(n_i + n_j - 1)} \right] \times \left[1 + \frac{(\zeta_i + \zeta_j)R}{n_i + n_j} \right] + \right. \\
 & \left. \frac{n_j \zeta_j (\zeta_i + \zeta_j)}{n_i + n_j} S_{n_i \ell_i m_i, n_j \ell_j m_j}^{r < R}(\zeta_i, \zeta_j) + \frac{n_j \zeta_j}{n_i + n_j} e^{-(\zeta_i + \zeta_j)R} R^{n_i + n_j} - \right. \\
 & \left. \frac{(\zeta_i)^2}{2} S_{n_i \ell_i m_i, n_j \ell_j m_j}^{r < R}(\zeta_i, \zeta_j) \right\} + \sum_{i=1}^{\beta} \sum_{j=1}^{\beta} \frac{d_{pn_i \ell_i m_i}^* d_{pn_j \ell_j m_j}}{m_2} \times \\
 & \left\{ \frac{[\ell_j(\ell_j + 1) - n_j(n_j - 1)](\zeta_i + \zeta_j)^2}{2(n_i + n_j)(n_i + n_j - 1)} S_{n_i \ell_i m_i, n_j \ell_j m_j}^{r > R}(\zeta_i, \zeta_j) + \right. \\
 & \left. \frac{[\ell_j(\ell_j + 1) - n_j(n_j - 1)] e^{-(\zeta_i + \zeta_j)R} R^{n_i + n_j - 1}}{2(n_i + n_j - 1)} \left(-1 - \frac{(\zeta_i + \zeta_j)R}{n_i + n_j} \right) + \right. \\
 & \left. \frac{n_j \zeta_j (\zeta_i + \zeta_j)}{n_i + n_j} S_{n_i \ell_i m_i, n_j \ell_j m_j}^{r > R}(\zeta_i, \zeta_j) - \frac{n_j \zeta_j}{n_i + n_j} e^{-(\zeta_i + \zeta_j)R} R^{n_i + n_j} - \right. \\
 & \left. \frac{(\zeta_i)^2}{2} S_{n_i \ell_i m_i, n_j \ell_j m_j}^{r > R}(\zeta_i, \zeta_j) \right\} - \sum_{i=1}^{\sigma} \sum_{j=1}^{\sigma} c_{pn_i \ell_i m_i}^* c_{pn_j \ell_j m_j} \times \\
 & \left\{ \frac{B_0}{2 \times 137 m^*} m_{\ell} S_{n_i \ell_i m_i, n_j \ell_j m_j}^{r < R}(\zeta_i, \zeta_j) \right\} - \sum_{i=1}^{\beta} \sum_{j=1}^{\beta} d_{pn_i \ell_i m_i}^* d_{pn_j \ell_j m_j} \times \\
 & \left[\frac{B_0}{2 \times 137 m^*} m_{\ell} S_{n_i \ell_i m_i, n_j \ell_j m_j}^{r > R}(\zeta_i, \zeta_j) \right] + \\
 & \sum_{i=1}^{\sigma} \sum_{j=1}^{\sigma} c_{pn_i \ell_i m_i}^* c_{pn_j \ell_j m_j} \frac{\alpha}{2} \left\{ \frac{(n_i + n_j + 2)(n_i + n_j + 1)}{(\zeta_i + \zeta_j)^2} S_{n_i \ell_i m_i, n_j \ell_j m_j}^{r < R}(\zeta_i, \zeta_j) - \right. \\
 & \left. \frac{e^{-R(\zeta_i + \zeta_j)} R^{n_i + n_j + 1} [n_i + n_j + 2 + R(\zeta_i + \zeta_j)]}{(\zeta_i + \zeta_j)^2} \right\} +
 \end{aligned}$$

$$\sum_{i=1}^{\beta} \sum_{j=1}^{\beta} d_{pn_i \ell_i m_i}^* d_{pn_j \ell_j m_j} \frac{\alpha}{2} \left\{ \frac{(n_i + n_j + 2)(n_i + n_j + 1)}{(\zeta_i + \zeta_j)^2} S_{n_i \ell_i m_i, n_j \ell_j m_j}^{r>R}(\zeta_i, \zeta_j) - \frac{e^{-R(\zeta_i + \zeta_j)} R^{n_i + n_j + 1} [n_i + n_j + 2 + R(\zeta_i + \zeta_j)]}{(\zeta_i + \zeta_j)^2} \right\} \quad (10)$$

elde edilebilir. Pertürbasyon enerjisi $\langle \psi^{(0)} | H' | \psi^{(0)} \rangle$ ile hesaplanabilir. Burada küreselharmoninin çarpımı, Clebsch-Gordan katsayısı cinsinden,

$$Y_{\ell_i m_i}^*(\theta, \phi) Y_{\ell_j m_j}(\theta, \phi) = \sum_{L=\max(|\ell_j - \ell_i|, |m_j - m_i|)}^{\ell_i + \ell_j} \langle \ell_i m_i | \ell_j m_j | L m_j - m_i \rangle Y_{L, m_j - m_i}^*(\theta, \phi) \quad (11)$$

(Arfken, 1985) ifadesi ile,

$$\sin^2 \theta = \frac{2}{3} - \sqrt{\frac{16\pi}{45}} Y_{20} \quad (12)$$

ifadesi kullanılarak H' 'nün beklenen değeri,

$$\langle \psi | H' | \psi \rangle = \frac{e^2 B_0^2}{8m^* c^2} \left\{ \sum_{i=1}^{\sigma} \sum_{j=1}^{\sigma} c_{pn_i \ell_i m_i}^* c_{pn_j \ell_j m_j} \int_0^r r^{n_i + n_j + 2} e^{-(\zeta_i + \zeta_j)r} dr \int_{\Omega} Y_{\ell_j m_j}^*(\theta\phi) \left(\frac{2}{3} - \sqrt{\frac{16\pi}{45}} Y_{20} \right) Y_{\ell_i m_i}(\theta\phi) d\Omega + \sum_{i=1}^{\beta} \sum_{j=1}^{\beta} d_{pn_i \ell_i m_i}^* d_{pn_j \ell_j m_j} \int_r^R r^{n_i + n_j + 2} e^{-(\zeta_i + \zeta_j)r} dr \int_{\Omega} Y_{\ell_j m_j}^*(\theta\phi) \left(\frac{2}{3} - \sqrt{\frac{16\pi}{45}} Y_{20} \right) Y_{\ell_i m_i}(\theta\phi) d\Omega \right\} \quad (13)$$

olur. Tam olmayan gama fonksiyonları kullanılarak pertürbasyon teriminin beklenen değeri atomik birimlerde,

$$\langle \psi | H' | \psi \rangle = \frac{B_0^2}{137^2 \times 8m^*} \sum_{i=1}^{\sigma} \sum_{j=1}^{\sigma} c_{pn_i \ell_i m_i}^* c_{pn_j \ell_j m_j} S_{n_i \ell_i m_i, n_j + 2 \ell_j m_j}^{r<R}(\zeta_i, \zeta_j) \times \left(\frac{2}{3} \delta_{\ell_i \ell_j} \delta_{m_i m_j} - \sqrt{\frac{16\pi}{45}} \sum_{L=\max(|\ell_j - \ell_i|, |m_j - m_i|)}^{\ell_i + \ell_j} \langle \ell_j m_j | \ell_i m_i | L m_j - m_i \rangle \delta_{L2} \delta_{m_j - m_i, 0} \right) + \frac{B_0^2}{137^2 \times 8m^*} \sum_{i=1}^{\beta} \sum_{j=1}^{\beta} d_{pn_i \ell_i m_i}^* d_{pn_j \ell_j m_j} S_{n_i \ell_i m_i, n_j + 2 \ell_j m_j}^{r>R}(\zeta_i, \zeta_j) \times \left(\frac{2}{3} \delta_{\ell_i \ell_j} \delta_{m_i m_j} - \sqrt{\frac{16\pi}{45}} \sum_{L=\max(|\ell_j - \ell_i|, |m_j - m_i|)}^{\ell_i + \ell_j} \langle \ell_j m_j | \ell_i m_i | L m_j - m_i \rangle \delta_{L2} \delta_{m_j - m_i, 0} \right) \quad (14)$$

şeklinde bulunabilir.

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Merkezinde safsızlık bulunan sonlu potansiyelle sınırlandırılmış tek elektronlu ve parabolik GaAs/Al_xGa_{1-x}As yapısı için etkin Bohr yarıçapı $a^* = 100 \text{ \AA}$, etkin Rydberg enerjisi $R_y = 5.72 \text{ meV}$ alındı. Malzeme parametreleri olarak kuyu içinde GaAs'ın kuyu dışında ise Al_xGa_{1-x}As'ın parametreleri alındı. Bu materyal parametreleri $m_{GaAs} = 0.0665m_0$, $\varepsilon_{GaAs} = 13.18$ ve $m_{AlGaAs} = 0.0665 + 0.0835x$, $\varepsilon_{AlGaAs} = 13.18 - 3.12x$ olarak alındı (Shunji A. ve ark., 1994). Burada m_0 serbest elektron kütlesi ve x stokiyometri oranıdır. Potansiyel engeli yüksekliği ise GaAs ve Al_xGa_{1-x}As enerji bant yapılarını birbirlerine göre durumunu düzenleyen stokiyometri oranı x bağlı olarak $V = 0.6(1.155x + 0.37x^2) \text{ eV}$ alınmıştır. Ayrıca basitlik olması bakımından GaAs ve Al_xGa_{1-x}As'ın içerisinde elektronların etkin kütesini sırasıyla m_1 ve m_2 , dielektrik sabitlerini de ε_1 ve ε_2 aldık.

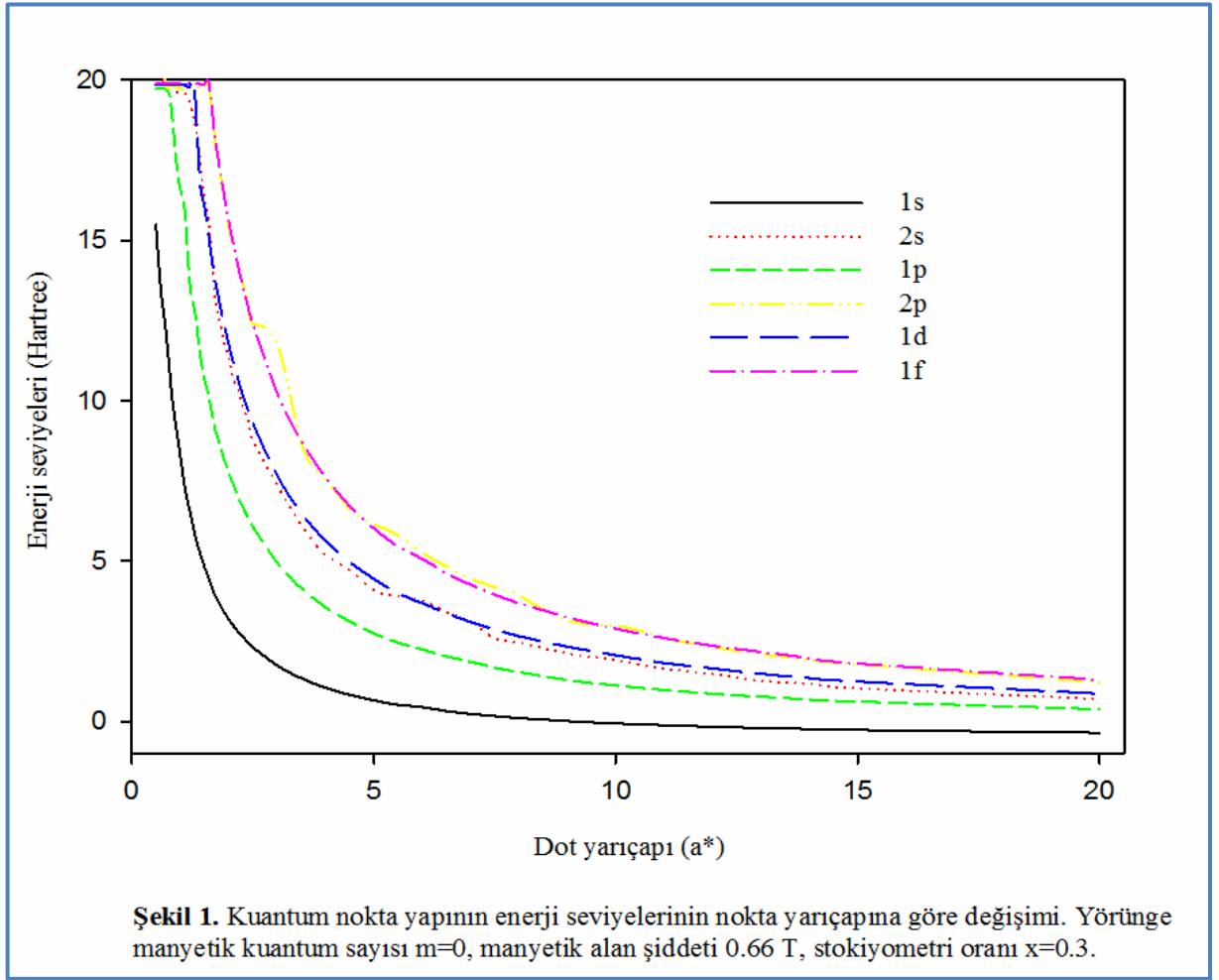
Sınırdaki bariyer yüksekliği ile parabolik potansiyel arasındaki sürekliliği sağlamak için parabolik potansiyel parametresi $\alpha = \frac{2V_0}{m^* r^2}$ alındı. Hesaplamalarımızda stokiyometri (katkılanma) oranı x 'in 0.3 değerleri alındı.

Tablo 1. Yörünge manyetik kuantum sayısı 0, manyetik alan şiddeti 0.66 T, stokiyometri oranı 0.3 olduğu durumda kuantum nokta yapının enerji seviyelerinin nokta yarıçapına göre verilmiş bazı değerleri. Enerjiler Hartree, etkin Bohr yarıçapı a^* cinsinden verilmiştir.

R (a^*)	1s Enerjisi (Hartree)	2s Enerjisi (Hartree)	1p Enerjisi (Hartree)	2p Enerjisi (Hartree)	1d Enerjisi (Hartree)	1f Enerjisi (Hartree)
0.5	15.505332158	21.21134929758	19.7329967572	21.42336339555	19.842113991917	19.880591294332
1	8.3363518073	19.62842135684	16.6169411276	19.73870766559	19.842178070526	19.880591727501
1.5	4.8256606945	16.28303929242	10.7017448380	19.78109598142	16.087362793444	19.880598058789
2	3.2014122832	11.3349799360	7.756452961368	15.44304271386	11.799511641711	15.619757644701
3.5	1.3535505169	6.12938161730	4.159664220375	8.688409826084	6.5026460533587	8.7478640191744
5	0.66182330553	4.0854705100	2.750583508513	6.139854431314	4.4445160952802	6.0190328148201
8	0.1100197888	2.45379518897	1.537928304311	3.921543363000	2.6569829002983	3.6891352850302
10	-0.0569996197	1.90479233971	1.118657261498	2.988992607317	2.0605154960386	2.8891950562311
15	-0.2618156210	1.0333760758	0.615918177781	1.771114250934	1.2432692237493	1.8039207730678
20	-0.3501442614	0.702024301421	0.378449795347	1.215186367527	0.8654786606102	1.2974227392392

Tablo 1'de ve Şekil 1'de yörünge manyetik kuantum sayısının $m=0$ değeri için, manyetik alan şiddetinin 0.66 T ve stokiyometri oranının 0.3 için pertürbe olmamış H_0 teriminden gelen enerjinin kuantum nokta yarıçapına göre sırasıyla değerleri ve değişimi verilmiştir. Bu grafik ve tablodan görüldüğü gibi kuantum nokta yarıçapı arttığında, enerji değerleri hızlı bir şekilde düşerek sabit değere gidiyor ve enerji seviyeleri birbirine yaklaşmaktadır. Elektronun safsızlığa bağlı olduğu durum enerjisinin negatif olduğu duruma karşılık gelir ve Tablo 1'den taban durum 1s de safsızlığa 10 a^* da bağlandığı görülmektedir. Halbuki manyetik alan yokluğunda taban durumunda elektron safsızlığı 2 a^* 'da

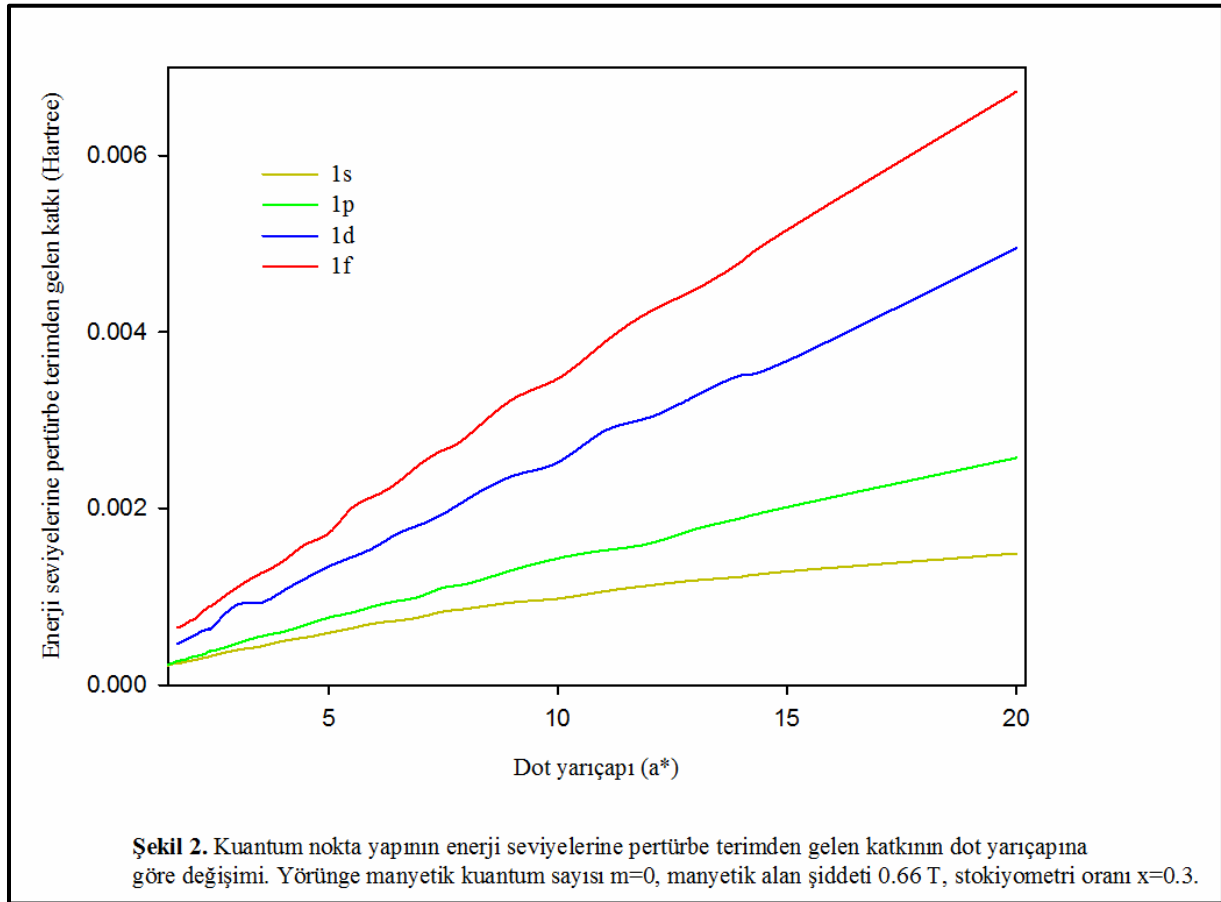
bağlanmaktadır (Çakır ve ark., 2008). Manyetik alanın varlığı elektronun safsızlığa bağlanmasını zorlaştırmaktadır.



Tablo 2’de ve Şekil 2’de $m=0$ değeri için ℓ farklı orbitallerinde, manyetik alan şiddetinin 0.66 T ve stokiyometri oranını 0.3 değerleri için, pertürbe diamanyetik terimden gelen katkının kuantum nokta yarıçapına göre sırasıyla değerleri ve değişimi verilmiştir. Kuantum nokta yapı yarıçapı arttıkça, orbitallere gelen katkı enerjileri de lineer bir şekilde artmaktadır. Açıl momentum kuantum sayısı (ℓ) küçük olan enerji seviyelerine az katkı gelirken, büyük olan seviyelere katkı daha fazla gelmektedir. Ayrıca manyetik alanın enerji üzerine etkisi, büyük dot yarıçaplarında, özellikle dış orbitallerde daha çok hissedilmektedir. Bunun sebebi de, dış manyetik alanın dış orbitalleri daha fazla etkilerken, perdelemeden dolayı iç orbitalleri daha az etkilemesidir.

Tablo 2. Yörünge manyetik kuantum sayısı $m=0$ için, manyetik alan şiddeti 0.66 T, stokiyometri oranı 0.3 olduğunda kuantum nokta yapının bazı pertürbe enerji seviyelerine pertürbe terimden gelen katkının kuantum nokta yarıçapına göre değerleri. Enerjiler Hartree, etkin Bohr yarıçapı a^* cinsinden verilmiştir.

R (a^*)	1s Enerji (Hartree)	1p Enerji (Hartree)	1d Enerji (Hartree)	1f Enerji (Hartree)
0.5	1.4070235594403e-4	7.01846801606985e-3	0.034674291682493	0.10168925531207
1	1.9044415218794e-4	1.17025124485916e-3	0.03465021471450	0.10171113132924
1.5	2.181759912942e-4	2.27671960015318e-4	6.02245146549929e-4	0.10172920825488
2	2.7273116884941e-4	3.12288192031283e-4	5.43704083934607e-4	7.2871751449437e-4
3.5	4.3398732136183e-4	5.46738321756022e-4	9.27072451322728e-4	1.256272764376e-3
5	5.8971240802699e-4	7.62100803274625e-4	1.34135597371743e-3	1.7149756186860e-3
8	8.618395304865e-4	1.14291874768792e-3	2.09590255434473e-3	2.8040963504368e-3
10	9.7719060669146e-4	1.43291921846198e-3	2.51924493772001e-3	3.4704782690249e-3
15	1.2854606793204e-3	2.01492159664711e-3	3.67186250717274e-3	5.1560305267468e-3
20	1.4890239538214e-3	2.5730529885493e-3	4.94976095187809e-3	6.7228503110717e-3



Birinci uyarılmış 1p seviyesine paramanyetik terimden gelen katkıdan dolayı oluşan yarılma Şekil 3'te, hem paramanyetik hem diamanyetik terimden gelen katkılardan oluşan yarılma Şekil 4'te dot yarıçapına göre verilmiştir. Bu seviyenin pertürbe olmamış enerji değerleri Tablo 3'te, pertürbe olmuş enerji değerleri Tablo 4'te verilmiştir. Burada yörünge manyetik kuantum sayısı $m_\ell = \pm 1, 0$, stokiyometri oranı 0.3'tür. Bu şekiller ve tablolardan

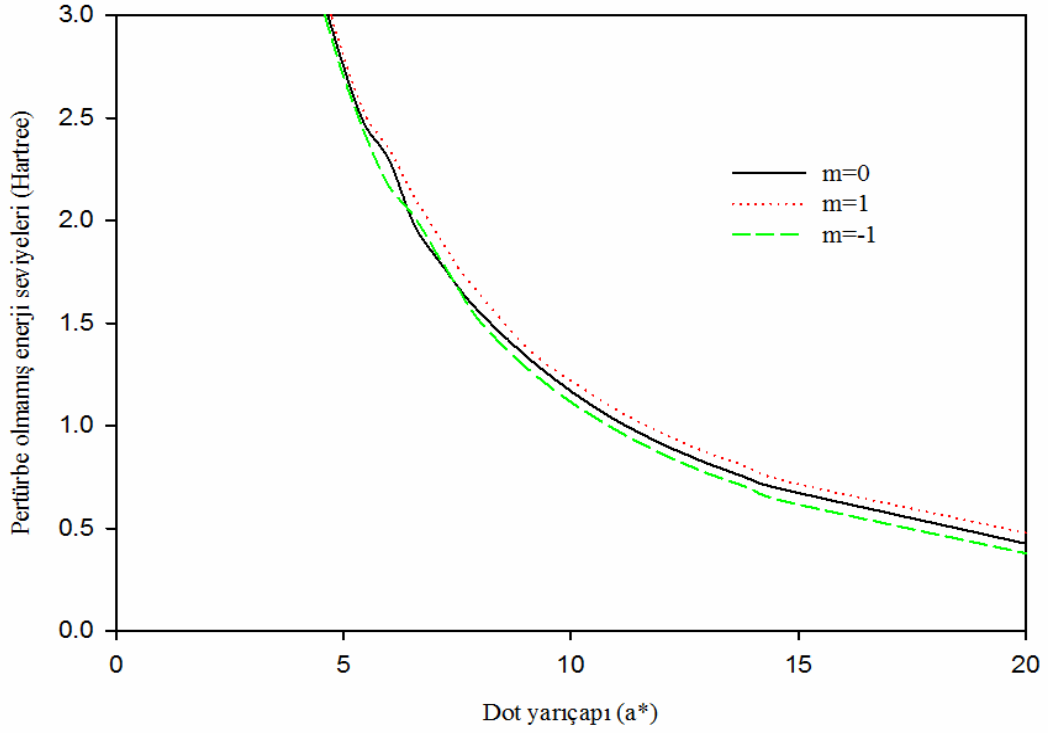
görüreceği gibi 1p seviyesinin paramanyetik terimden dolayı üçe yarıldığı, diamanyetik terimlerin ise bu seviyelerin hepsini çok az miktarda yukarı kaydıracağı gözlemlendi.

Tablo 3. 1p seviyesi için manyetik alan şiddeti 0.66 T, stokiyometri oranı 0.3 olduğunda enerji seviyelerine paramanyetik terimden gelen katkıdaki yarılmaların kuantum nokta yarıçapına göre değerleri. Enerjiler Hartree, etkin Bohr yarıçapı a^* cinsinden verilmiştir.

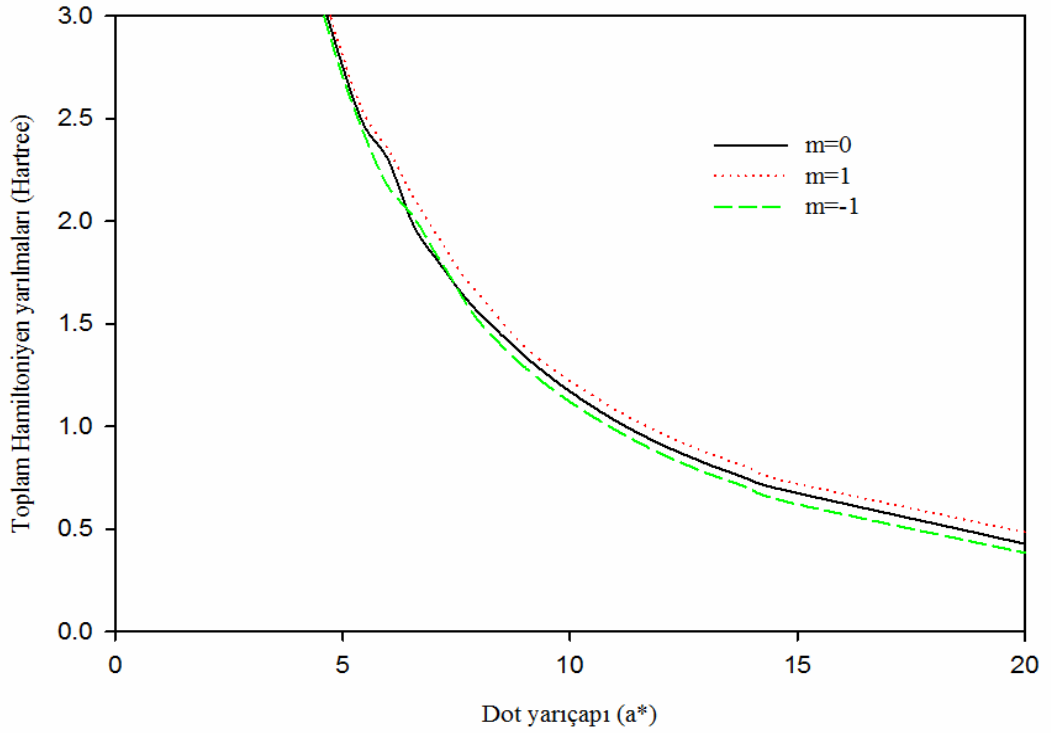
R (a^*)	$E_0, m=-1$	$E_0, m=0$	$E_0, m=1$
0.5	19.6830586001265	19.7329967572783	19.7830586001265
1	16.0891493219459	16.6169411276448	16.1891493219459
1.5	10.5978476530531	10.7820056983401	10.6978476530531
2	7.725078590776	7.7564529613684	7.825078590776
3.5	4.1186387469269	4.1596642203756	4.2186387469269
5	2.6996548396589	2.7505835085134	2.7996548396589
8	1.5069665976934	1.5502597615843	1.6379283043114
10	1.1152028194531	1.1686572614986	1.2186572614985
15	0.6159181777814	0.6727913108991001	0.7159181777814
20	0.3784497953473	0.4259175370186	0.4784497953473

Tablo 4. 1p seviyesi için manyetik alan şiddeti 0.66 T, stokiyometri oranı 0.3 iken enerji seviyelerine hem paramanyetik terimden gelen yarılmaların hem de diamanyetik terimden gelen katkıların sonucu enerjilerinin bazı kuantum nokta yarıçapına göre değerleri. Enerjiler Hartree, etkin Bohr yarıçapı a^* cinsinden verilmiştir.

R (a^*)	$E_0 + \Delta E, m=-1$	$E_0 + \Delta E, m=0$	$E_0 + \Delta E, m=1$
0.5	19.69688092685731	19.74001522529437	19.7968809268573
1	16.09148982443562	16.61811137888966	16.1895289970528
1.5	10.59830299697313	10.78223337030002	10.69835146859955
2	7.72574089482432	7.756765249560431	7.825666688148764
3.5	4.119736577801962	4.160210958697356	4.219721492125884
5	2.701282638202961	2.751345609316675	2.801138714983143
8	1.509514089612165	1.551402680331988	1.640375796230165
10	1.11812170110702	1.170090180717062	1.221422767878508
15	0.6199465401272018	0.6748062324957471	0.7199465401272017
20	0.3836213903039842	0.4284905900071494	0.4836213903039842



Şekil 3. 1p seviyesine paramanyetik terimden dolayı oluşan yarılmanın dot yarıçapına göre değişimi. (yörünge manyetik kuantum sayısı $m=0,\pm 1$, manyetik alan şiddeti 0.66 T, stokiyometri oranı $x=0.3$)



Şekil 4. 1p seviyesine toplam paramanyetik terimden gelen yarılmanın ve diamanyetik terimden bütün seviyelere gelen pozitif katkılardan dolayı oluşan yarılmanın dot yarıçapına göre değişimi. (yörünge manyetik kuantum sayısı $m=0,\pm 1$, manyetik alan şiddeti 0.66 T, stokiyometri oranı $x=0.3$)

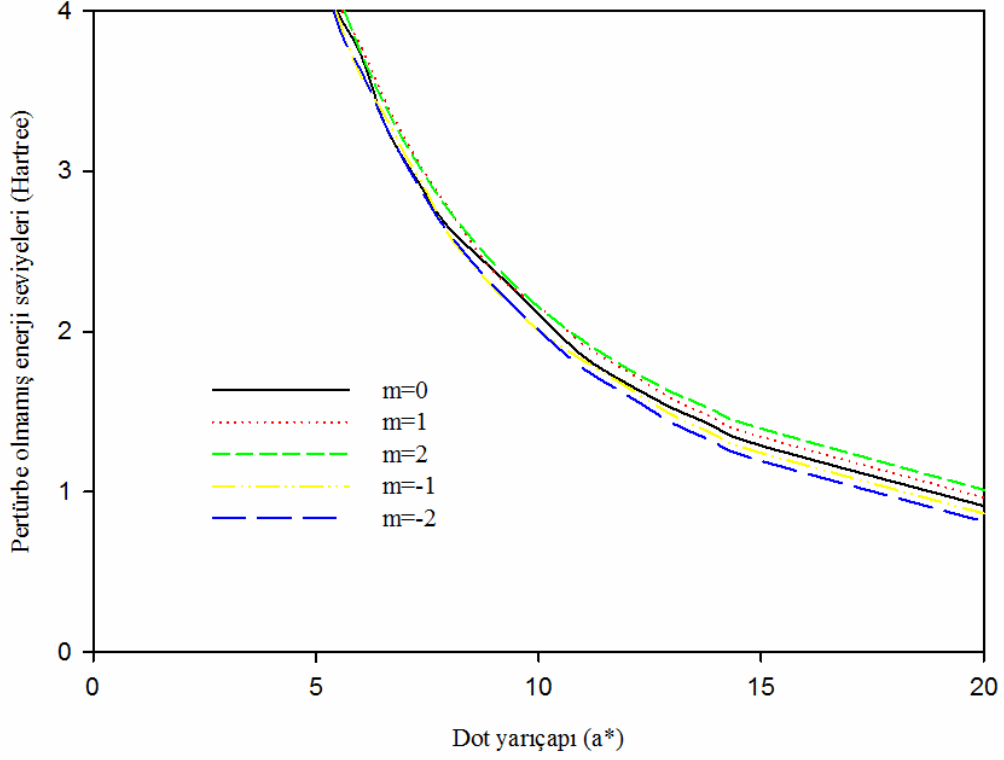
Tablo 5'te ve Şekil 5'te ikinci uyarılmış seviye olan 1d seviyesine paramanyetik terimden gelen yarılımların dot yarıçapına göre sırasıyla değerleri ve değişimi verilmiştir. Tablo 6'da ve Şekil 6'da ise manyetik alandan gelen toplam katkıların (hem paramanyetik hem diamanyetik terimden gelen katkı) bazı dot yarıçaplarına göre sırasıyla değerleri ve değişimi verilmiştir. 1d seviyesi paramanyetik terimden dolayı yörünge manyetik kuantum sayısı m_ℓ 'nin alacağı değer olan $2\ell + 1$ kere yarılmaya uğramıştır. Diamanyetik terim ise bu seviyelerin enerjilerini çok az yukarı kaydırmıştır.

Tablo 5. 1d seviyesi için manyetik alan şiddeti 0.66 T, stokiyometri oranı 0.3 iken enerji seviyelerine paramanyetik terimden gelen yarılımların enerjilerinin bazı kuantum nokta yarıçaplarındaki değerleri. Enerjiler Hartree, etkin Bohr yarıçapı a^* cinsinden verilmiştir.

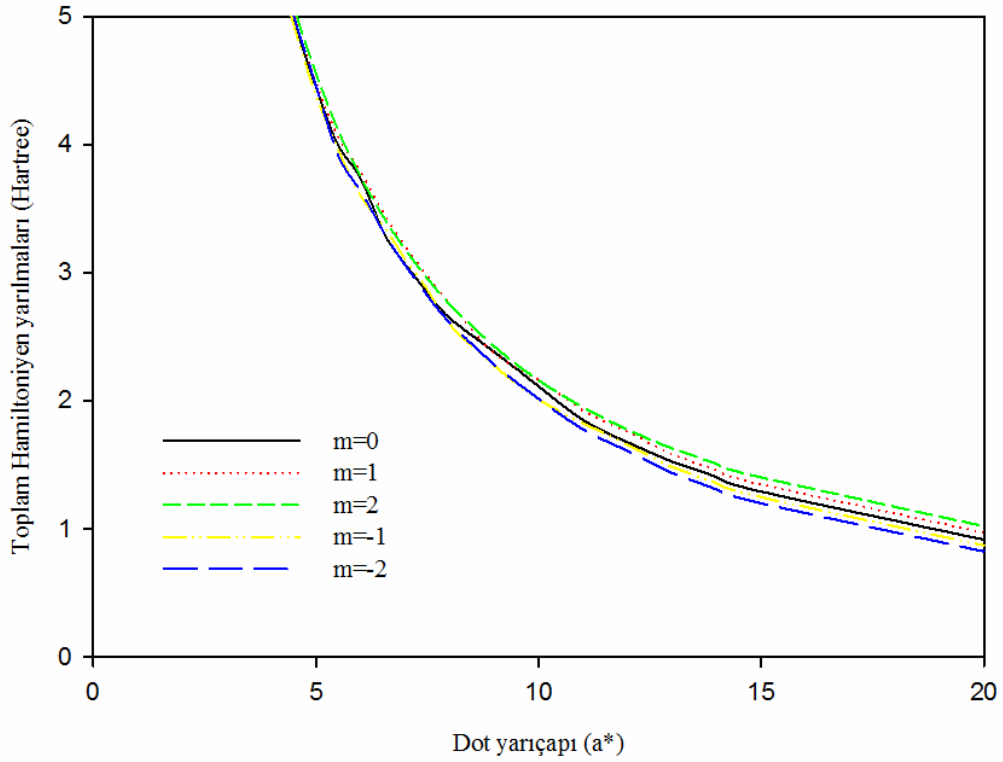
R (a^*)	$E_0, m=-1$	$E_0, m=-2$	$E_0, m=0$	$E_0, m=1$	$E_0, m=2$
0.5	19.79211423567	19.74211479755	19.842113991917	19.89211423567	19.94211479755
1	19.79217092540	19.742178070526	19.842178070526	19.89217092540	19.94217807052
1.5	15.84288793226	15.845635546199	15.945635546199	15.94288793226	16.04563554619
2	11.72405175961	11.681858656367	11.799511641711	11.82405175961	11.87405175961
3.5	6.46612696861	6.566208223657	6.502646053358	6.56612696861	6.61612696861
5	4.37728589495	4.45474517684	4.444516095280	4.47728589495	4.55025290132
8	2.59457584896	2.606982900298	2.642833560004	2.75698290029	2.75016333612
10	2.00846288825	2.010515496038	2.110515496038	2.16051549603	2.15460068324
15	1.24326922374	1.193269223749	1.28856986291	1.34326922374	1.39523845139
20	0.86547866061	0.815478660610	0.91247017765	0.96547866061	1.01281868069

Tablo 6. 1d seviyesi için manyetik alan şiddeti 0.66 T, stokiyometri oranı 0.3 iken enerji seviyelerine hem paramanyetik terimden gelen yarılımların hem de diamanyetik terimden gelen katkıların sonucu enerjilerinin bazı kuantum nokta yarıçapına göre değerleri. Enerjiler Hartree, etkin Bohr yarıçapı a^* cinsinden verilmiştir.

R (a^*)	$E_0 + \Delta E, m=-1$	$E_0 + \Delta E, m=-2$	$E_0 + \Delta E, m=0$	$E_0 + \Delta E, m=1$	$E_0 + \Delta E, m=2$
0.5	19.8337258376	19.8045322005	19.8767882836	19.93372583765	20.00453220052
1	19.8337511830	19.8045484570	19.87682828524	19.93384682086	20.00454845701
1.5	15.8436106264	15.8467195874	15.94623779134	15.94339716053	16.04671958746
2	11.7247270110	11.6828264381	11.80005534579	11.82472269916	11.87505816893
3.5	6.46731025858	6.56798315860	6.503573125810	6.567205096314	6.617744160162
5	4.37892836532	4.45720888240	4.445857451253	4.478888014565	4.552628153121
8	2.59720539492	2.61092721923	2.644929462558	2.759612446256	2.753843841674
10	2.01170141907	2.01521736211	2.113034740976	2.163754026859	2.159196188427
15	1.24780653379	1.20007518881	1.2922417254191	1.347806533790	1.402009929010
20	0.871298704253	0.82420872607	0.9174199386028	0.971298704253	1.021499575165



Şekil 5. 1d seviyesine paramanyetik terimden dolayı oluşan yarılımların dot yarıçapına göre değişimi. (yörünge manyetik kuantum sayısı $m=0,\pm 1,\pm 2$, manyetik alan şiddeti 0.66 T, stokiyometri oranı $x=0.3$)



Şekil 6. 1d seviyesine toplam paramanyetik terimden gelen yarılımların ve diamanyetik terimden bütün seviyelere gelen pozitif katkılardan dolayı oluşan yarılımların dot yarıçapına göre değişimi. (yörünge manyetik kuantum sayısı $m=0,\pm 1,\pm 2$, manyetik alan şiddeti 0.66 T, stokiyometri oranı $x=0.3$)

Sonuç olarak dış manyetik alandan dolayı paramanyetik terim herhangi bir enerji seviyesini $2\ell + 1$ kez yarılmaya uğrattırken, diamanyetik terim bu enerji seviyelerini ΔE kadar arttırmaktadır. ℓ 'si büyük olan seviyelerdeki yarılmalar, ℓ 'si küçük olan seviyelerden daha fazla olmaktadır.

Kaynaklar

- Anderson RL (1962). Experiments on Ge-GaAs heterojunctions. *Solid-State Electron* 5: 341-344.
- Arfken G (1985). *Mathematical Methods for Physics, Third Edition, Academic Press Inc, Orlando.*
- Castro CF, António CA, Sousa LC (2004). Optimisation of shape and process parameters in metal forging using genetic algorithms. *Journal of Materials Processing Technology* 146: 356-364.
- Cho AY, Arthur JR (1975). Molecular beam epitaxy. *Progress in Solid State Chemistry* 10: 157-191.
- Cibert J, Petroff PM, Dolan GJ, Pearton SJ, Gossard, AC, English JH (1986). Optically detected carrier confinement to one and zero dimension in GaAs quantum well wires and boxes. *Journal Applied Physics Letters* 49: 1275-1277.
- Cakir B, Ozmen A, Sahin M, Yakar Y, Atav U, Yüksel H (2006). Determination of wave functions of a quantum dot using the genetic algorithm. *Proceedings of the international conference on modeling and simulation, Konya.*
- Çakır B (2007). Çok elektronlu kuantum nokta yapıların elektronik özelliklerinin incelenmesi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.*
- Cakir B, Ozmen A, Atav U, Yüksel H, Yakar Y (2007). Investigation of electronic structure of a quantum dot using slater-type orbitals and quantum genetic algorithm. *International Journal Of Modern Physics C* 18: 61-72.
- Cakir B, Ozmen A, Atav U, Yüksel H, ve Yakar Y (2008). Calculation of electronic structure of a spherical quantum dot using a combination of quantum genetic algorithm and Hartree-Fock-Roothaan method. *International Journal of Modern Physics C* 19(4): 599-609.
- Cakir B, Yakar Y, Ozmen A, (2012). Refractive index changes and absorption coefficients in a spherical quantum dot with parabolic potential. *Journal of Luminescence* 132: 26-59.

- Cakir B, Yakar Y, Ozmen A (2013). Calculation of oscillator strength and the effects of electric field on energy states, static and dynamic polarizabilities of the confined hydrogen atom. *Optics Communications* 311: 222–228.
- Cakir B, Yakar Y, Ozmen A (2015). Linear and nonlinear optical absorption coefficients of two-electron spherical quantum dot with parabolic potential. *Physica B* 458: 138–143.
- Dineykhani M, Nazmitdinov RG (1997). Two-electron quantum dot in a magnetic field: analytical results. *Physical Review B* 55: 13707-13714.
- Fal'ko VI, Efetov KB (1994). Statistics of fluctuations of wave functions of chaotic electrons in a quantum dot in an arbitrary magnetic field. *Physical Review B* 50(15): 11267-11270.
- Hall RN, Fenner GE, Kingsley JD, Soltys TJ (1962). Coherent light emission from GaAs junctions. *Physical Review Letters* 9: 366-368.
- Halonen V, Chakraborty T, Pietiläinen P (1992). Excitons in a parabolic quantum dot in magnetic fields. *Physical Review B* 45(11): 5980-5985.
- Homaifar A, Lai HY, Cormick E (1994). System optimization of turbofan engines using genetic algorithms. *Applied Mathematical Modelling* 18: 72-83.
- Kulkarni AJ, Krishnamurthy K, Deshmukh SP (2004). Microstructural optimization of alloys using a genetic algorithm. *Materials Science and Engineering A* 372: 213-220.
- Nomura S, Segawa Y, Kobayashi T (1994). Confined excitons in a semiconductor quantum dot in a magnetic field. *Physical Review B* 49(19): 13571-13582.
- Oaknin JH, Palacios JJ, Brey L, Tejedor C (1994). Self-consistent Hartree description of N electrons in a quantum dot with a magnetic field. *Physical Review B* 49(8): 5718-5721.
- Schrieffer JR (1957). In Semiconductor surface physics. *University of Pennsylvania Press, Philadelphia*.
- Sharkey J, Yoo C, Peter AJ (2010). Magnetic field induced diamagnetic susceptibility of a hydrogenic donor in a GaN/AlGaIn quantum dot. *Superlattices and Microstructures* 48(2): 248-255.
- Shunji A, Masami C, Tachishige H, Shojiro N, Yuki N, Toshiyuki S (1994). Precise measurements of e^+e^- annihilation at rest into four photons and the search for exotic particles. *Physical Review A*: 3201.
- Sahin O, Sayan P, Bulutcu AN (2000). Application of genetic algorithm for determination of mass transfer coefficients. *Journal of Crystal Growth* 216: 475-482.
- Temkin H, Dolan GJ, Panish MB, Chu SN (1987). Low-temperature photoluminescence from InGaAs/InP quantum wires and boxes. *Applied Physics Letters* 50: 413-415.

- Venugopal V, Narendran TT (1992). A genetic algorithm approach to the machine-component grouping problem with multiple objectives. *Computers & Industrial Engineering* 22: 469-480.
- Wojs A, Hawrylak P (1996). Charging and infrared spectroscopy of self-assembled quantum dots in a magnetic field. *Physical Review B* 53: 10841-10845.
- Yakar Y, Ozmen A, Cakir B, Yüksel H (2007). Computation of rotation matrices making lined-up to the local Cartesian coordinates. *Journal of the Chinese Chemical Society* 54(5): 1139-1144.
- Yakar Y, Cakir B, Ozmen A, (2010a). Calculation of linear and nonlinear optical absorption coefficients of a spherical quantum dot with parabolic potential. *Optics Communications* 283: 1795-1800.
- Yakar Y, Cakir B, Ozmen A (2010b). Linear and nonlinear optical properties in spherical quantum dots. *Communications in Theoretical Physics* 53: 1185–1189.
- Yakar Y, Cakir B, Ozmen A (2011). Computation of ionization and various excited state energies of helium and helium-like quantum dots. *International Journal of Quantum Chemistry* 111: 4139-4149.
- Yakar Y, Cakir B, Ozmen A, (2013a). Computation of relativistic terms in a spherical quantum dot. *Journal of Luminescence* 134: 778-783.
- Yakar Y, Cakir B, Ozmen A (2013b). Off-center hydrogenic impurity in spherical quantum dot with parabolic potential. *Superlattices and Microstructures* 60: 389-397.
- Yakar Y, Cakir B, Ozmen A (2015a) Linear and nonlinear absorption coefficients of spherical two-electron quantum dot. *Computer Physics Communications* 188: 88–93.
- Yakar Y, Cakir B, Ozmen A (2015b). Electronic structure of two-electron quantum dot with parabolic potential. *Philosophical Magazine* 95: 311–325.

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi

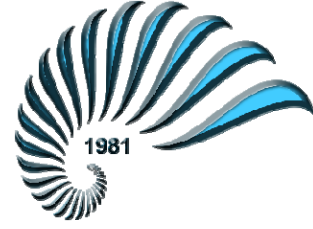
ISSN 2458-9411 (e-dergi) Dergi web sayfası <http://dergipark.gov.tr/sufefd>

Doç Dr. Evren YILDIZTUGAY, Editör,

Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi,

Biyoteknoloji Bölümü, 42250 Konya, TÜRKİYE

e-mail: selcukfendergi@gmail.com



Makale Gönderme ve Telif Hakkı Devir Sözleşmesi

Makale Başlığı	
Yazar(lar)	

Makaleden sorumlu yazarın bilgileri:

Adı ve Soyadı

Adresi

E-posta

Telefon

Faks

Sunmuş olduğumuz makalenin yazar(lar)ı olarak ben/bizler aşağıdaki konuları taahhüt ederiz:

- Bu makale tarafımı/ tarafımızdan yapılmış özgün bir çalışmadır.
- Yazar/Yazarlar olarak makalenin sorumluluğunu üstlenirim/üstleniriz.
- Bu makale başka bir yerde yayınlanmamış ve yayınlanmak üzere herhangi bir yere yollanmamıştır.
- Yazar/Yazarlar gönderilen makaleyi görmüş ve sonuçlarını onaylamıştır.

Yukarıdaki konular dışında yazar(lar)ın aşağıdaki hakları ayrıca saklıdır:

- Telif hakkı dışındaki patent hakları yazar/yazarlara aittir.
- Yazar/Yazarlar makalenin tümünü kitaplarında ve derslerinde, sözlü sunumlarında ve konferanslarında kullanabilir.
- Satış amaçlı olmayan kendi faaliyetleri için çoğaltma hakları vardır.

Bunun dışında, makalenin çoğaltılması, postalanması ve diğer yollardan dağıtılması, ancak bilim ve yayın kurulunun izni ile yapılabilir. Makalenin tümü veya bir kısmından atıf yapılarak yararlanılabilir.

Ben/Biz bu makalenin, etik kurallara uygun olduğunu ve belirtilen materyal ve yöntemler kullanıldığında herhangi bir zarara ve yaralanmaya neden olmayacağını bildiririz.

Makaleye ait tüm materyaller (kabul edilen veya reddedilen fotoğraflar, orijinal şekiller ve diğerleri), bilim ve yayın kurulunca bir yıl süreyle saklanacak ve daha sonra imha edilecektir.

Bu belge, tüm yazar/yazarlar tarafından imzalanmalıdır. Bütün imzalar, ıslak imza olmalıdır.

*Yazar(lar) Adı ve Soyadı	Adresi	Tarih	İmza

*Satır sayısı, yazar sayısı kadardır. Yetersizse artırılabilir.

Makalenin Editörler Kurulunca yayına kabul edilmemesi durumunda bu belge geçersizdir.



SELÇUK ÜNİVERSİTESİ FEN FAKÜLTESİ FEN DERGİSİ YAYIN İLKELERİ

Makaleler, A4 (210 mmx297 mm) boyutunda 12 punto Times New Roman yazı tipinde ve çift satır aralıklı yazılmalıdır. Sayfanın sağında, solunda, altında ve üstünde 2.5'er cm boşluk bırakılmalı ve yazılar sağa-sola dayalı olmalıdır. Makalenin her sayfası ve satırları numaralandırılmalıdır. Yazar ad(lar)ı açık olarak yazılmalı ve akademik unvan belirtilmemelidir. Türkçe hazırlanan makaleler Türk Dil Kurumu'nun son yazım kılavuzu dikkate alınarak yazılmalıdır.

Makale: Türkçe Başlık, Türkçe Öz, Anahtar Kelimeler, İngilizce Başlık, Abstract, Keywords, Giriş, Materyal ve Metot, Araştırma Sonuçları, Tartışma, Teşekkür (varsa), **Kaynaklar** bölümlerinden oluşmalıdır. Bölüm adları koyu yazılmalıdır. Varsa her bir şekil ve tablolar makale içerisinde bahsedildikleri yerden sonra sırayla yerleştirilmelidir.

Başlık: Kısa ve açıklayıcı olmalı, 14 punto ve koyu, kelimelerin ilk harfi büyük olmalı, ortalanarak yazılmalı ve 15 kelimeyi geçmemelidir. İngilizce başlık Türkçe başlığı tam olarak karşılmalı, 14 punto ve koyu yazılmalıdır.

Öz: Türkçe ve İngilizce özlere her biri 300 kelimeyi geçmemelidir. Türkçe ve İngilizce özlere sırasıyla "Öz" ve "Abstract" kelimeleri kullanılmalıdır. Öz, çalışmanın amacını, nasıl yapıldığını, sonuçları ve sonuçlar üzerine yazar(lar)ın yaptığı değerlendirmeleri içermelidir.

Öz ve Abstract kısımlarında kesinlikle referans kullanılmamalıdır.

Anahtar Kelimeler: Özlere 1 satır altına, her anahtar kelimenin ilk harfi büyük diğerleri küçük harflerle, mümkünse başlıkta kullanılmayan, çalışmayı en iyi biçimde tanımlayacak en fazla 6 anahtar kelime yazılmalıdır.

Giriş: Bu bölümde; çalışma konusu, gerekçesi, konu ile doğrudan ilgili önceki çalışmalar ve çalışmanın amacı verilmelidir.

Materyal ve Metot: Bu bölümde makalede kullanılan materyal ve metot açıkça belirtilmelidir.

Araştırma Sonuçları: Elde edilen sonuçlar verilmeli, gerekirse çizelge, şekil ve grafiklerle desteklenerek bulgular açıklanmalıdır. Elde edilen bulgular tekrardan kaçınılması amacıyla ya çizelge ya da grafik olarak verilmelidir. İstatistik olarak önemli bulunan faktörler, uygulanan istatistik analiz tekniğine uygun karşılaştırma yöntemi ile yorumlanarak ilgili istatistikler üzerinde harflendirme yapılmalıdır. İstatistik analiz yönteminin doğru seçilmediği ve/ya analiz gereği gibi yapılmadığı durumlarda editörler kurulu makaleyi değerlendirme dışında tutabilir.

Tartışma: Bulgular çalışma ile ilgili güncel makalelerle tartışılmalı, ancak gereksiz tekrarlardan kaçınılmalıdır. Bulguların başka araştırmalarla benzerlik ve farklılıkları verilmeli, nedenleri açıklanmalıdır.

Teşekkür: Mümkün olduğunca kısa olmalı ve yapılan katkı ifade edilerek verilmelidir.

Kaynaklar: Eserde yararlanılan kaynaklara ilişkin atıf metin içinde "(Yazarın soyadı, yıl)" yöntemine göre yapılmalıdır. Örnek: (Yıldızıtugay, 2006), (Yıldızıtugay ve Küçüködük, 2012). Yazara atıf yapılırsa sadece yayının yılı parantez içine alınmalıdır. Örnek: Yıldızıtugay (2006)'a göre ya da Bağcı ve Küçüködük (2000). Üç ya da daha fazla yazar için makale içindeki atıfta Türkçe makalelerde "ve ark." ; İngilizce makalelerde "et al." kullanılmalıdır. Örnek: (Yıldızıtugay ve ark., 2014), (Yıldızıtugay et al., 2014) veya Özfidan-Konakçı ve ark. (2015)'e göre. Aynı yazarın aynı yıl içinde 1'den fazla yayını varsa, yıldan sonra küçük harfler verilmelidir. Örnek: (Yıldızıtugay ve ark., 2014a). Aynı yazarın birden fazla yayınına atıf yapılacaksa yıldan sonra noktalı virgül (;) işareti ile ayırt edilmelidir. Örnek: (Yıldızıtugay, 2012; 2013; 2014). Birden fazla atıf yapılırsa atıflar arasında noktalı virgül (;) kullanılmalıdır. Örnek: (Yıldızıtugay ve Küçüködük, 2012; Yıldızıtugay ve ark., 2014; Yıldızıtugay, 2006).

Kaynaklar bölümünde metin içinde atıf yapılan tüm kaynaklar alfabetik olarak (yazarların soyadlarına göre) ve orijinal dilinde verilir. Dergi isimleri italik yazılmalıdır. **Kongre kitaplarında Türkçe ya da yabancı dilde özeti yayınlanmış çalışmalara atıf yapılamaz.** Makaledeki yanlış atıf ve kaynak gösterimlerine ait sorumluluk yazar(lar)a aittir.

Dergi:

Asada K (2006). The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 50: 601-639.

Madhava Rao KV and Sresty TVS (2000). Antioxidative parameters in the seedlings of pigeon pea [*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh] in response to Zn and Ni stresses. *Plant Sci* 157: 113-128.

Liu ZJ, Guo YK, Bai JG (2010a). Exogenous hydrogen peroxide changes antioxidant enzyme activity and protects ultrastructure in leaves of two cucumber ecotypes under osmotic stress. *J Plant Growth Regul* 29: 171-183.

Kitap:

Kılınç M, Kutbay HG (2008). Bitki Ekolojisi. Palme Yayıncılık, Ankara.

Odum EP (1971). Fundamentals of Ecology, Third Edition, W.B. Saunders Company, London.

Kitabın Bir Bölümü:

Babaoğlu M, Yorgancılar M, Akbudak MA (2001). Doku kültürü: temel laboratuvar teknikleri. (Editörler M. Babaoğlu, E. Gürel, S. Özcan), *Bitki Biyoteknolojisi Cilt I Doku Kültürü ve Uygulamaları*, S.Ü. Vakfı Yayınları, Konya, s. 1-35.

Eteve G (1985). Breeding for tolerance and winter hardiness in pea. In Hebblethwaite PD, Heath MC, Dawkins TCK (Eds) *The pea Crop: A Basis for Improvement*. Butterworths, London. UK, pp. 131-136.

Yazarı Belirtilmeyen Kurum Yayınları:

TÜİK (2012). Tarım İstatistikleri Özeti. Türkiye İstatistik Kurumu, Yayın No: 3877, Ankara

İnternette Alınan Bilgi:

FAO (2013). Production and trade statistics. <http://www.fao.org/economic/ess/ess-trade/en/> (Erişim tarihi:02.10.2013)

Şekiller ve Tablolar: Şekil, grafik, fotoğraf ve benzerleri "Şekil", sayısal değerler ise "Tablo" olarak belirtilmelidir. Tüm şekil ve tablolar makalenin içine yerleştirilmelidir. Şekil ve tabloların boyu tek sayfa düzeninde en fazla 16x20 cm ve çift sütun düzeninde ise genişliği en fazla 8 cm olmalıdır. Şekil ve tabloların boyutu baskıda çıkabilecek çözünürlükte olmalıdır. Araştırma sonuçlarını destekleyici nitelikteki resimler 600 dpi çözünürlüğünde "jpeg" formatında olmalıdır. Her tablo ve şekle metin içerisinde atıf yapılmalıdır. Tüm tablo ve şekiller makale boyunca sırayla numaralandırılmalıdır (**Tablo 1** ve **Şekil 1**). Tablo ve şekil başlıkları ve açıklamaları kısa ve öz olmalıdır. Şekil ve tablo başlık yazıları 10 punto, şekil ve tabloların içindeki yazılar 9 punto, tablo altı yazılar 8 punto Times New Roman yazı karakterinde olmalıdır. Tablo ve şekillerde kısaltmalar kullanılmış ise hemen altına bu kısaltmalar açıklanmalıdır.

Birimler: Tüm makalelerde SI (System International d'Units) ölçüm birimleri kullanılmalıdır. Ondalık kesir olarak kullanılmamalıdır (1,25 yerine 1.25 gibi). Birimlerde "/" kullanılmamalı ve birimler arasında bir boşluk verilmelidir (m/s yerine m s⁻¹, J/s yerine J s⁻¹, kg m/s² yerine kg m s⁻² gibi). Sayı ile sembol arasında bir boşluk bırakılmalıdır (4 kg N ha⁻¹, 3 kg m⁻¹ s⁻², 20 N m, 1000 s⁻¹, 100 kPa, 22 °C gibi). Bu kuralın istisnaları düzensel açılar için kullanılan derece, dakika ve saniye sembolleridir (°, ' ve "). Bunlar sayıdan hemen sonra konmalıdır (10°, 45', 60' gibi). Litrenin kısaltması "l" olarak belirtilmelidir. Cümle sonunda değillerse sembollerin sonuna nokta konulmamalıdır (kg, değil kg).

Formüller: Formüller numaralandırılmalı ve formül numarası formülün yanına sağa dayalı olarak parantez içinde gösterilmelidir. Formüllerin yazılmasında Word matematik işlemcisi kullanılmalı, ana karakterler 12 punto, değişkenler italik, rakamlar ve matematiksel ifadeler düz olarak verilmelidir. Metin içerisinde atıf yapılacaksa "Eşitlik 1" biçiminde verilmelidir (...ilişkin model, Eşitlik 1' de verilmiştir).

Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi

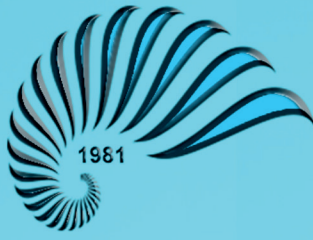
Fen Dergisi Editörlüğü

42075 Kampüs/KONYA

Faks: 0 332 241 24 99

E-mail: selcukfendergi@gmail.com

Web Sayfası: <http://dergipark.gov.tr/sufefi>



İÇİNDEKİLER (CONTENTS)



- Thermococcus gorgonarius* DNA Polimerazının Rekombinant Olarak Üretimi1–9**
Recombinant DNA Polymerase Production of Thermococcus gorgonarius
 Bilge Hilal ÇADIRCI, Oğuzhan BEBEK, Deniz ÇAM
- Kompleks Küresel Harmoniklerin Binom Katsayıları Cinsinden Analitik İfadesi.....11–14**
The Analytical Formula of Complex Spherical Harmonics in terms of Binomial Coefficients
 Erhan AKIN
- Kaliks[4]aren Nanopartikül Bazlı Modifiye Katı Elektrot Yüzeyleri Kullanılarak Cd(II) nin Voltametrik Tayini.....15–25**
Voltammetric Determination of Cd(II) Using Modified Solid Electrode Surface Based Nanoparticle and Calix[4]arene
 Aygen DEMİR, Semahat KÜÇÜKKOLBAŞI, Serkan SAYIN
- Tekrarlı Kesikli Süreçte *Funalia trogii* ve *Trametes versicolor* ile Lakkaz Enziminin Çeşitli Ortamlarda Üretimi27–40**
Production of Laccase Enzyme in Various Media by Funalia trogii and Trametes versicolor in Repeated Batch Process
 Emre BİRHANLI, Özfer YEŞİLADA
- Piperazin Türevi İçeren Yeni Çinko (II) ve Kobalt (II) Ftalosiyanimlerin Sentezi, Spektroskopik ve Elektrokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi.....41–57**
Novel Zinc(II) and Cobalt(II) Phthalocyanines Bearing Piperazine Derivative: Spectroscopic and Electrochemical Properties
 Emine BAYRAKTAROĞLU, Pervin DEVECİ
- Merluccius merluccius* L.'un Total Yağ Asidi Kompozisyonunda Mevsimsel Değişiklikler59–64**
Seasonal changes in the total fatty acid composition of Merluccius merluccius L.
 Leyla KALYONCU
- Slater-Tipi Orbitaler Üzerinden İki-Merkezli Moleküler İntegrallerin Eliptik Koordinatlar Kullanılarak Hesaplanması için Kullanılan Yardımcı Fonksiyonlar65–74**
On the Auxiliary Functions Used for the Evaluation of Two-Center Molecular Integrals over Slater-Type Orbitals using Elliptical Coordinates
 Erhan AKIN
- Tek Elektronlu Kuantum Nokta Yapılarda Manyetik Alan Etkisinin Pertürbasyon Yöntemiyle İncelenmesi.....75–90**

Nisan 2017

Cilt: 43

Sayı : 1