

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI



**FONKSİYONELİZE KARBON NANOTÜPLERİN ENERJİ VE
BİYOTEKNOLOJİ ALANINDAKİ UYGULAMALARI**

FATMA NUR YALÇINKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Mehmet DOĞAN (Tez Danışmanı)**
 Öğr. Gör. Dr. Zeynep BİCİL (Eş Danışman)
 Doç. Dr. Gözde DUMAN TAÇ
 Dr. Öğr. Üyesi Berna KOÇER KIZILDUMAN

BALIKESİR, HAZİRAN- 2024

ETİK BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak tarafımda hazırlanan “**Fonksiyonelize Karbon Nanotüplerin Enerji ve Biyoteknoloji Alanındaki Uygulamaları**” başlıklı tezde;

- Tüm bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Kullanılan veriler ve sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tüm bilgi ve sonuçları bilimsel araştırma ve etik ilkelere uygun şekilde sunduğumu,
- Yararlandığım eserlere atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Fatma Nur YALÇINKAYA

Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından (122Z634) nolu proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

**FONKSİYONELİZE KARBON NANOTÜPLERİN ENERJİ VE BİYOTEKNOLOJİ
ALANINDAKİ UYGULAMALARI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
FATMA NUR YALÇINKAYA
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. MEHMET DOĞAN)
(EŞ DANIŞMAN: ÖĞR. GÖR. DR. ZEYNEP BİCİL)
BALIKESİR, HAZİRAN - 2024**

Bu çalışmada, fonksiyonelize çok duvarlı karbon nanotüpler, farklı kimyasal reaksiyonlarla çok duvarlı karbon nanotüpten (ÇDKNT) ve Li-doplanmış ÇDKNT ve Li-doplanmış fonksiyonelize ÇDKNTler sırasıyla çözücü ve hidrotermal yöntemlerle üretilmiştir. Örnekler Brunner-Emmett-Teller (BET), Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), diferansiyel termal analiz/termogravimetri (DTA/TG) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak karakterize edildi. Tüm örneklerin hidrojen depolama kapasiteleri IMI PSI gaz depolama cihazı kullanılarak ölçüldü. *Salvia aethiopis* L.'den PPO'nun saflaştırılmasında ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA yapısının afinite kolonunda dolgu matrisi olarak kullanılabilirliği araştırıldı. ÇDKNT'nin FTIR spektrumunda fonksiyonel gruplara ait yeni bantlar gözlemlendi. Fonksiyonelleştirilmiş ÇDKNT'ler farklı sıcaklık ve basamaklarda bozundu. SEM görüntüleri, ÇDKNT'nin fonksiyonelleştirilmesi ve Li-doplanması ile morfolojisinde değişiklikler meydana geldiğini gösterdi. ÇDKNT'nin BET yüzey alanı fonksiyonelizasyonla azalırken, genel olarak hidrojen depolama kapasitesinde bir artış gözlemlendi. Hidrotermal yöntemin ÇDKNT'nin hidrojen depolama kapasitesinin artırılmasında çözücü yönteminden daha etkili olduğu belirlendi. Örnekler düşük sıcaklıklarda daha yüksek hidrojen depolama kapasitesine sahipti. Hidrojen depolama kapasitesi en yüksek örnek Li-doplanmış ÇDKNT'dir. İzoterm eğrileri oda sıcaklığında Henry kanununa uyarken, kriyojenik sıcaklıklarda çok tabakalı adsorpsiyon davranışı sergilediler. Adsorpsiyon prosesi fiziksel ve izoterm tipi, Tip IV'dür. *Salvia aethiopis* L.'nin yaprak ve çiçeklerinden ekstrakte edilen PPO, amonyum sülfat, diyaliz ve afinite kromatografisi ile sırasıyla 8,4 ve 3 kat saflaştırıldı. Her saflaştırma basamağı için katekol, 4-metil katekol ve pirogallol substratları kullanılarak optimum pH ve sıcaklık değerleri belirlendi. Saflaştırma işlemiyle birlikte V_{max}/K_m değeri artmış ve enzim en fazla pirogallol substratına spesifite göstermiş bunu 4-metilkatekol ve katekol izlemiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: ÇDKNT, fonksiyonelizasyon, Li-doplama, hidrojen depolama, polifenol oksidaz, saflaştırma.

ABSTRACT

APPLICATIONS OF FUNCTIONALIZED CARBON NANOTUBES IN ENERGY AND BIOTECHNOLOGY AREAS

MSC THESIS

FATMA NUR YALÇINKAYA

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

CHEMISTRY

(SUPERVISOR: PROF. DR. MEHMET DOĞAN)

(CO-SUPERVISOR: ÖĞR. GÖR. DR. ZEYNEP BİCİL)

BALIKESİR, JUNE - 2024

In this study, the functionalized multi-walled carbon nanotubes were produced from multi-walled carbon nanotube (MWCNT) by different chemical reactions and, Li-doped MWCNT and Li-doped functionalized MWCNTs by solvent and hydrothermal methods. Samples were characterized using Brunner–Emmett–Teller (BET), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), differential thermal analysis/thermogravimetry (DTA/TG) and scanning electron microscopy (SEM). The hydrogen storage capacities of all samples were measured using IMI PSI gas storage instrument. The usability of the MWCNT-O-L-Tyrosine-PABA structure as a filling matrix in the affinity column for the purification of PPO from *Salvia aethiopis* L. was investigated. New bands belonging to functional groups were observed in the FTIR spectrum of MWCNT. Functionalized MWCNTs degraded at different temperatures and steps. SEM images showed that the changes in the morphology of MWCNT with functionalization and Li-doping occurred. While the BET surface area of MWCNT decreased with functionalization, an increase in its hydrogen storage capacity was observed in general. The hydrothermal method is more effective than the solvent method and functionalization in increasing the hydrogen storage capacity of MWCNT. All samples had higher hydrogen storage capacity at lower temperatures. The sample with the highest hydrogen storage capacity was Li-doped MWCNT. While the isotherm curves obeyed Henry's law at room temperature, they exhibited multilayer adsorption behavior at cryogenic temperatures. The adsorption process was physical and isotherm type was Type IV. PPO extracted from the leaves and flowers of *Salvia aethiopis* L. was purified 8.4-fold and 3-fold by ammonium sulfate, dialysis and affinity chromatography, respectively. For each purification step, optimum pH and temperature values were determined using catechol, 4-methyl catechol and pyrogallol substrates. The V_{max}/K_m value increased with the purification process and the enzyme showed the highest specificity for pyrogallol, followed by 4-methylcatechol and catechol.

KEYWORDS: MWCNT, functionalization, Li-doping, hydrogen storage, polyphenol oxidase, purification.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ	vi
TABLO LİSTESİ.....	viii
KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖNSÖZ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1 Nanoteknoloji.....	1
1.2 Enerji.....	3
1.3 Hidrojen	5
1.4 Hidrojen Depolama	5
1.4.1 Gaz Depolama	6
1.4.2 Sıvı Depolama	6
1.4.3 Katı Maddelerde Depolama	7
1.4.3.1 Hidrürlerde Depolama	7
1.4.3.2 Adsorbanlar.....	8
1.4.3.2.1 Karbon Türevi Malzemelerde Depolama	8
1.4.3.2.1.1 Aktif Karbon.....	8
1.4.3.2.1.2 Fulleren	9
1.4.3.2.1.3 Grafen	9
1.4.3.2.1.4 Karbon Nanotüpler	10
1.4.3.2.1.4.1 Tek Duvarlı Karbon Nanotüp (TDKNT)	10
1.4.3.2.1.4.2 Çok Duvarlı Karbon Nanotüp (ÇDKNT).....	11
1.4.3.2.1.5 Karbon Nanotüplerin Elde Edilme Yöntemleri	12
1.4.3.2.1.5.1 Ark Boşaltma Yöntemi.....	12
1.4.3.2.1.5.2 Lazer Ablasyon Yöntemi	12
1.4.3.2.1.5.3 Kimyasal Buhar Çöktürme Yöntemi (CVD).....	13
1.4.3.2.1.6 Karbon Nanotüplerin Hidrojen Depolamada Kullanımı.....	14
1.5 Biyoteknoloji.....	15
1.5.1 Enzimler.....	16
1.5.1.1 Polifenol oksidaz Enzimi (PPO).....	16
1.5.1.1.1 Polifenol oksidaz Enzimi Substratları	17
1.5.1.1.2 Polifenol oksidaz Enziminin Saflaştırılması	18
1.6 Literatür Özeti.....	19
1.7 Çalışmanın Amacı.....	22
2. MATERYAL VE METOT	23
2.1 Materyal	23
2.2 Metot.....	24
2.2.1 ÇDKNT'lerin Saflaştırılması.....	24
2.2.2 ÇDKNT'lerin Hidroksilasyonu	24
2.2.3 ÇDKNT-O-L-Tirozin Sentezi.....	24

2.2.4 ÇDKNT-O-L-Tirozin-p-aminobenzoik Asit Sentezi.....	25
2.2.5 Çözücü Yöntemi ile ÇDKNT örneklerinin Li-doplanması	25
2.2.6 Hidrotermal Yöntemle ÇDKNT örneklerinin Li-doplanması	26
2.3 Karakterizasyon İçin Kullanılan Cihazlar.....	26
2.3.1 BET Yüzey Alanı Tayin Cihazı.....	26
2.3.2 FTIR Cihazı	26
2.3.3 DTA/TG Analizi.....	26
2.3.4 SEM Analizi	27
2.3.5 Hidrojen Depolama Analizi.....	27
2.3.6 Enzim Aktivite Ölçüm Analizi	27
2.4 Polifenol oksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Aktivite Ölçümleri.....	27
2.4.1 Ham Ekstraktın Hazırlanması.....	27
2.4.2 Amonyum Sülfat Çöktürmesi	27
2.4.3 Diyaliz.....	28
2.4.4 Afinite Kromatografisi.....	28
2.4.5 Polifenol oksidaz Enziminin Aktivite Ölçümü.....	29
2.4.6 Enzim Aktivitesine pH'ın Etkisi.....	29
2.4.7 Enzim Aktivitesine Sıcaklığın Etkisi.....	29
2.4.8 Enzim Kinetiği.....	29
2.4.9 Salvia aethiopis L. Bitkisinin Protein Tayini.....	30
3. BULGULAR.....	31
3.1 Karakterizasyon	31
3.1.1 BET Yüzey Alanı Analizleri	31
3.1.2 FTIR Analizleri.....	31
3.1.3 DTA/TG Analizleri.....	34
3.1.4 SEM Analizleri	36
3.1.5 Hidrojen Gazı Depolama Kapasitesi Analizleri	40
3.2 PPO Karakterizasyonu ve Saflaştırması	55
3.2.1 Optimum pH	55
3.2.2 Optimum Sıcaklık.....	59
3.2.3 Enzim Kinetiği.....	63
3.3 Enzim Saflaştırma.....	72
3.3.1 Protein Tayini	72
3.3.2 Afinite Kromatografisi.....	73
4. SONUÇ VE TARTIŞMA	75
4.1 Karakterizasyon	75
4.1.1 FTIR Analizleri.....	75
4.1.2 DTA/TG Analizleri.....	76
4.1.3 SEM Analizleri	79
4.2 Hidrojen Depolama.....	80
4.2.1 ÇDKNT ve Fonksiyonelize ÇDKNT Örneklerinin Hidrojen Depolaması.....	80
4.2.2 Çözücü ve Hidrotermal Yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT Örneklerinin Hidrojen Depolaması	83
4.3 PPO Karakterizasyonu ve Saflaştırılması	89
4.3.1 Optimum pH.....	89
4.3.2 Optimum Sıcaklık.....	92
4.3.3 Enzim Kinetiği.....	94

4.4 Enzim Saflaştırma	95
4.5 Sonuçlar	96
5. KAYNAKLAR	98
ÖZGEÇMİŞ	116



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Bazı nano boyutlu malzemeler.	3
Şekil 1.2: Farklı türdeki TDKNT yapılarının şeması a) koltuk, b) zikzak, c) kiral.	11
Şekil 1.3: Çok duvarlı karbon nanotüp yapısı (ÇDKNT).	11
Şekil 1.4: Ark boşaltma yöntemi şeması.	12
Şekil 1.5: Lazer ablasyon yöntemi şeması.	13
Şekil 1.6: Kimyasal buhar çöktürme yöntemi (CVD) şeması.	14
Şekil 2.1: ÇDKNT'den ÇDKNT-O-L-tirozin-p-aminobenzoik asit sentezi.	25
Şekil 3.1: ÇDKNT, ÇDKNT-OH, ÇDKNT-O-L-Tirozin ve ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA ait KBr içinde alınmış FTIR spektrumları.	33
Şekil 3.2: Çözücü yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT, Li-doplanmış ÇDKNT-OH, Li- doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin- PABA ait KBr içinde alınmış FTIR spektrumları.	33
Şekil 3.3: Hidrotermal yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT, Li-doplanmış ÇDKNT-OH, Li- doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin- PABA ait KBr içinde alınmış FTIR spektrumları.	34
Şekil 3.4: ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lere ait TG eğrileri.	35
Şekil 3.5: Çözücü yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lere ait TG eğrileri.	35
Şekil 3.6: Hidrotermal yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lere ait TG eğrileri.	36
Şekil 3.7: a) ÇDKNT, b) ÇDKNT-OH, c) ÇDKNT-O-L-Tirozin ve d) ÇDKNT-O-L- Tirozin-PABA ait SEM görüntüleri.	37
Şekil 3.8: Çözücü yöntemi ile a) Li-doplanmış ÇDKNT, b) Li-doplanmış ÇDKNT-OH, c) Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve d) Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin- PABA ait SEM görüntüleri.	38
Şekil 3.9: Hidrotermal yöntemi ile a) Li-doplanmış ÇDKNT, b) Li-doplanmış ÇDKNT- OH, c) Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve d) Li-doplanmış ÇDKNT-O-L- Tirozin-PABA ait SEM görüntüleri.	39
Şekil 3.10: ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasiteleri a) oda sıcaklığı ve b) kriyojenik sıcaklık.	44
Şekil 3.11: Çözücü yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasiteleri a) oda sıcaklığı ve b) kriyojenik sıcaklık.	49
Şekil 3.12: Hidrotermal yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasiteleri a) oda sıcaklığı ve b) kriyojenik sıcaklık.	54
Şekil 3.13: Salvia aethiopis L.'nin yaprak kısmından a) ham ekstrat, b) amonyum sülfat çöktürmesi ve c) diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin pH ile değişimi.	56
Şekil 3.14: Salvia aethiopis L.'nin çiçek kısmından a) ham ekstrat, b) amonyum sülfat çöktürmesi ve c) diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin pH ile değişimi.	58
Şekil 3.15: Salvia aethiopis L.'nin yaprak kısmından a) ham ekstrat, b) amonyum sülfat çöktürmesi ve c) diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin sıcaklık ile değişimi.	60

Şekil 3.16: <i>Salvia aethiopis</i> L.'nin çiçek kısmından a) ham ekstrat, b) amonyum sülfat çöktürmesi ve c) diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin sıcaklık ile değişimi.....	62
Şekil 3.17: <i>Salvia aethiopis</i> L.'nin yaprak kısmından a) ham ekstrat, b) amonyum sülfat çöktürmesi ve c) diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.....	67
Şekil 3.18: <i>Salvia aethiopis</i> L.'nin çiçek kısmından a) ham ekstrat, b) amonyum sülfat çöktürmesi ve c) diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.....	71
Şekil 3.19: Bradford yöntemine göre protein tayini için kalibrasyon eğrisi.	72
Şekil 3.20: Yaprak için afinite kromatografisinde elde edilen tüp sayısına karşılık enzim aktivitesi ve protein eğrisi.....	74
Şekil 3.21: Çiçek için afinite kromatografisinde elde edilen tüp sayısına karşılık enzim aktivitesi ve protein eğrisi.....	74
Şekil 4.1: 80 barda oda ve kriyojenik sıcaklıklarda ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lerin hidrojen depolama değerleri.	82
Şekil 4.2: 80 barda oda ve kriyojenik sıcaklıklarda Li-doplanmış ÇDKNT ve Li-doplanmış fonksiyonelize ÇDKNT'lerin hidrojen depolama değerleri a) çözücü yöntemi ve b) hidrotermal yöntemi.	85
Şekil 4.3: En yüksek depolama kapasitesine sahip örneklerde hidrojenin adsorpsiyon mekanizması.	88

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: PPO'nun bazı substratları.....	18
Tablo 1.2: Bazı KNT'lerin hidrojen depolama kapasiteleri.	21
Tablo 2.1: Deneylerde kullanılan kimyasallar.....	23
Tablo 3.1: ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin BET ve gözenek boyut analiz sonuçları.	32
Tablo 3.2: ÇDKNT'nin hidrojen depolama verileri.	40
Tablo 3.3: ÇDKNT-OH'ın hidrojen depolama verileri.	41
Tablo 3.4: ÇDKNT-O-L-Tirozin'nin hidrojen depolama verileri.	42
Tablo 3.5: ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA'nın hidrojen depolama verileri.	43
Tablo 3.6: Li-doplanmış ÇDKNT (Çözücü)'nin hidrojen depolama verileri.....	45
Tablo 3.7: Li-doplanmış ÇDKNT-OH (Çözücü)'nin hidrojen depolama verileri.....	46
Tablo 3.8: Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin (Çözücü)'nin hidrojen depolama verileri.	47
Tablo 3.9: Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA (Çözücü)'nin hidrojen depolama verileri.....	48
Tablo 3.10: Li-doplanmış ÇDKNT (Hidrotermal)'nin hidrojen depolama verileri.	50
Tablo 3.11: Li-doplanmış ÇDKNT-OH (Hidrotermal)'nin hidrojen depolama verileri. ...	51
Tablo 3.12: Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin (Hidrotermal)'nin hidrojen depolama verileri.....	52
Tablo 3.13: Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA (Hidrotermal)'nin hidrojen depolama verileri.	53
Tablo 3.14: Salvia aethiopis L.'nin yaprak kısmından farklı saflaştırma prosesleri ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin pH ile değişimine ait deneysel veriler. .	55
Tablo 3.15: Salvia aethiopis L.'nin çiçek kısmından farklı saflaştırma prosesleri ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin pH ile değişimine ait deneysel veriler. .	57
Tablo 3.16: Salvia aethiopis L.'nin yaprak kısmından farklı saflaştırma prosesleri ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin sıcaklık ile değişimine ait deneysel veriler.....	59
Tablo 3.17: Salvia aethiopis L.'nin çiçek kısmından farklı saflaştırma prosesleri ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin sıcaklık ile değişimine ait deneysel veriler.....	61
Tablo 3.18: Salvia aethiopis L.'nin yaprak kısmından ham ekstrat ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.	64
Tablo 3.19: Salvia aethiopis L.'nin yaprak kısmından amonyum sülfat çöktürmesi ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.....	65
Tablo 3.20: Salvia aethiopis L.'nin yaprak kısmından diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.	66
Tablo 3.21: Salvia aethiopis L.'nin çiçek kısmından ham ekstrat ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.	68
Tablo 3.22: Salvia aethiopis L.'nin çiçek kısmından amonyum sülfat çöktürmesi ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.....	69
Tablo 3.23: Salvia aethiopis L.'nin çiçek kısmından diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.	70
Tablo 3.24: Bradford yöntemi ile protein tayini için konsantrasyon-absorbans verileri....	72

Tablo 3.25: Afinite kromatografisinde elde edilen tüp sayısına karşılık enzim aktivitesi ve protein miktarları.	73
Tablo 4.1: ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT örneklerine ait TG verileri.	78
Tablo 4.2: Bazı karbon numunelerinin hidrojen depolama kapasitelerinin karşılaştırılması.	89
Tablo 4.3: PPO enziminin farklı tekniklerle saflaştırma verileri.....	95



KISALTMALAR LİSTESİ

A	: ÇDKNT
B	: ÇDKNT-OH
BET	: Brunauer-Emmett-Teller
C	: ÇDKNT-O-L-Tirozin
ÇDKNT	: Çok duvarlı karbon nanotüp
ÇDKNT-OH	: Hidroksillenmiş çok duvarlı karbon nanotüp
ÇDKNT-O-L-Tirozin	: L-Tirozin bağlanmış hidroksillenmiş çok duvarlı karbon nanotüp
ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA	: L-Tirozin ve p-aminobenzoik asit bağlanmış hidroksillenmiş çok duvarlı karbon nanotüp
D	: ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA
DTA/TG	: Diferansiyel termal analiz/Termogravimetrik analiz
EÜ	: Enzim ünitesi
FTIR	: Fourier transform infrared
KNT	: Karbon nanotüp
K_m	: Maksimum hızın yarısına erişildiği andaki substrat konsantrasyonu (mol/L)
PPO	: Polifenol oksidaz enzimi
S₁	: 1'in kesri şeklinde mevcut amonyum sülfat doygunluğu
S₂	: 1'in kesri şeklinde istenilen amonyum sülfat doygunluğu
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TDKNT	: Tek duvarlı karbon nanotüp
V_{max}	: Enzimin substrata doyduğu andaki hız (EÜ/dk mL)
V₀	: Başlangıç hızı (EÜ/dk mL)
V	: Süpernatantın hacmi

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenimim boyunca, bilgi ve tecrübesiyle bana her zaman yol gösteren, karşılaştığım bütün zorluklarda çözüm yolları üreterek bir şekilde üstesinden gelmemi sağlayan, elinden gelen her imkanı öğrencileri ile paylaşan, akademik çalışmaları ve başarıları ile örnek aldığım çok değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. MEHMET DOĞAN'a,

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca tez çalışmalarımda bütün bilgi ve birikimlerini benim ile paylaşan, sorularımı cevapsız bırakmayan, her konuda bana yardımcı olan ve yol gösteren, samimiyetini her daim hissettiğim sevgili eş danışmanım canım hocam Öğr. Gör. Dr. ZEYNEP BİCİL'e,

Lisans eğitimim boyunca danışmanım olan, yüksek lisansa başlamam konusunda bana çok yardımcı olan, akademik bilgi ve görüşleri ile bana yol gösteren, her zaman desteğini ve ilgisini hissettiğim çok kıymetli hocam Prof. Dr. YASEMİN TURHAN'a,

Tez çalışmalarım boyunca her konuda bana yardımcı olan, bilgisini ve desteğini eksik etmeyen, sorularımı cevapsız bırakmayan, ihtiyacım olduğunda her zaman yol gösteren, samimiyetini hep hissettiğim çok değerli canım hocam Dr. Öğr. Üyesi BERNA KOÇER KIZILDUMAN'a,

Enzim çalışmalarım esnasında bilgisinden çokça faydalandığım, yardımını hiçbir zaman eksik etmeyen saygıdeğer hocam Doç. Dr. MEHMET EMİN DİKEN'e,

Tüm eğitim-öğretim hayatım boyunca her daim desteğini benden eksik etmeyen bana sonsuz güvenen, emeklerini ve hakkını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim canım babam Veli YALÇINKAYA ve yanımda olamasa da varlığını hep hissettiğim canım annem Fatma YALÇINKAYA'ya,

TÜBİTAK-BİDEB (2210-C) Yurtiçi Öncelikli Alanlar Yüksek Lisans Burs Programı'na,

Ve son olarak yanımda olan desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen bana güvenen çok kıymet verdiğim canım ailem ve canım arkadaşlarıma,

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Balıkesir, 2024

Fatma Nur YALÇINKAYA

1. GİRİŞ

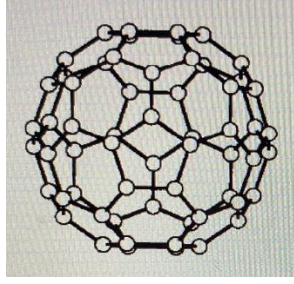
1.1 Nanoteknoloji

Bilinen tarihlerden beri insanlık evrende gerçekleşen olayları anlama, doğayı tanımlama, rahat bir yaşam sürdürmeyi hedeflemiş ve bu gereksinimler sonucunda bilim doğmuştur (Celep, 2007). Bilimin ortaya çıkışı ile bilimsel çalışmalar sonucu çok büyük ölçekli üretimler yapılırken, gittikçe küçülen nanometrik ölçeklerde daha kaliteli, ileri düzeyde ürünler ve moleküler düzeyde çalışmalar yapılmakta olup bunlar teknolojiye aktarılmaktadır (Turhan, 2010). Son yıllarda sıkça söz edilen, geleceğimize yön verecek teknolojilerden biri de ‘nanoteknoloji’dir. Günümüzde maddelere yeni ve farklı özellikler kazandırdığı için en önemli teknolojilerdendir. ‘Nano’ kelimesi fiziksel büyüklüğün bir milyarda biri anlamını ifade etmektedir (Aydoğdu, 2011). Uzunluk olarak nano yapılar yaklaşık 1-100 nm’ye karşılık gelen sistemlerdir (Tütünoğlu, 2007). Nano boyuttaki malzemeleri bilim ve teknoloji ile kapsamlı şekilde tanımlayan, bu boyuttaki yapıların daha işlevsel hale gelmesi, atomik seviyede değiştirilmesi, anlaşılması ve kontrol edilmesi ‘nanoteknoloji’ olarak tanımlanabilir (Aydoğdu, 2011). İlk ortaya çıkışı 1960 yılında fizikçi Richard Feynman tarafından moleküler boyutlarda malzeme ve cihazların üretilebileceği ve nano boyuttaki yapıların önemli özelliklerini vurguladığı ünlü konuşmasına dayanmaktadır (Tütünoğlu, 2007). Nanoteknoloji ile birlikte 100 nm’nin altında daha küçük boyutlara inildiği için daha az yer kaplamasının yanı sıra daha ucuz, daha hafif, daha az enerji ve daha az malzeme kullanımı gibi uygulamada kolaylıklar sağlamaktadır (Öndürücü ve Bilgin, 2008).

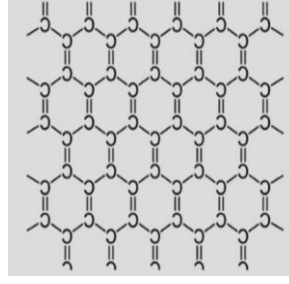
Nüfusun artması ile birlikte ihtiyaçların karşılanması için nanoteknoloji birçok alanda gelişmelere yol açmıştır. Tıp, sağlık sektörü, tarım, kozmetik, tekstil, elektronik, enerji ve biyoteknoloji gibi farklı sektörlerde birçok uygulama alanı bulmaktadır. Sağlık sektöründeki uygulamaları ile moleküler seviyedeki hastalıkların teşhis edilmesine, erken tanı konulmasına ve tedavi sürecinin daha önce başlamasına, elektronik sektöründe güçlü cihazların üretimi için küçük hacimlerde bilgi işleme ve depolama imkanı, tarımda topraktaki besin maddesinin yenilenmesi ve mahsulün artmasına, kozmetikte ultraviyole korumalı güneş kremlerinin üretimine katkı sağlamaktadır (Babatunde vd., 2020). Biyoteknoloji alanında gıda ürünlerinin raf ömrü, paketlenme ve biyoyararlanımda iyileştirmeler, yapı olarak DNA molekülünün kullanılması ile nanomembranlar ve nanokablolar benzeri yapılar nanoteknoloji ile yüksek oranda gerçekleştirilebilecektir (Celep, 2007). Enerji üretiminde çıkan kirliliklerin giderilmesi amacıyla nanoteknoloji daha temiz, verimli enerji kaynaklarının kullanımını sağlaması ve fosil yakıtlara olan ihtiyacın

azaltılması yönünde büyük katkıları bulunmaktadır. Nanoteknoloji enerji alanında ısıtma, aydınlatma, enerji depolama, yakıt hücreleri, hidrojen enerjisi üretimi ve depolamasında rol oynayarak bu alanlarda ciddi enerji kazanımları sağlamaktadır (Babatunde vd., 2020).

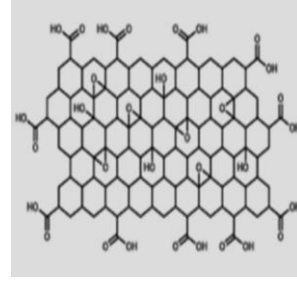
Nanomalzemesler, nanoteknolojinin temel uygulamalarındandır. Nano ölçekli malzemesler küçük boyutta yapılar olmalarına rağmen birim hacim başına yüzey alanları büyüktür bu da çeşitli işlemler için aktif bölge sayısının artmasını sağlar. Bu malzemesler farklı uygulama alanları için katkısı olan geniş yüzey alanları, dayanıklılık, kararlılık, verimli depolama, yüksek katalitik aktivite ve adsorpsiyon kapasitesi gibi önemli özelliklerinden dolayı kendilerini çekici kılmaktadırlar (Khoo vd., 2020). Ayrıca toplu muadillerine kıyasla eşsiz elektriksel, termomekanik, optik, fizikokimyasal özelliklere sahiptirler (Shin vd., 2017). Yapılarına göre; karbon bazlı, metal bazlı, kompozitler ve dendrimerler olarak sınıflandırılabilir. Boyutlarına göre; sıfır boyutlu (0D), tek boyutlu (1D), iki boyutlu (2D) ve üç boyutlu (3D) nanomalzemeslerdir (Saleem ve Zaidi, 2020). Sıfır boyutlu nanomalzemesler, bu gruptaki malzemeslerin tüm boyutları nano ölçektedir. Kuantum noktalar, fullerenler, soy metaller, nanoküreler, çekirdek nanoparçacıkları sıfır boyutludur. Tek boyutlu nanomalzemesler, iki boyutu nano ölçekte olan nanotüpler, nanoteller, nanoçubuklar ve nanolifler bu sınıftadır. Metalik, polimerik ve karbon yapılarıdır. İki boyutlu nanomalzemeslerin tek boyutu nano ölçektedir. Grafen, grafen oksit, metal oksitler, bor nitrür, nano tabakalar ve levha benzeri nanomalzemeslerdir. Üç boyutlu nanomalzemesler, herhangi boyutu nano ölçekte olmayan malzemeslerdir. Nano gözenekli tozlar, nanotüp demetleri, nanotel demetleri, nano katmanlar ve nano yapıli elektrotlar bu grupta yer almaktadır (Harish vd., 2020). Şekil 1.1’de boyutlarına göre sınıflandırılmış bazı nano malzemesler gösterilmektedir.



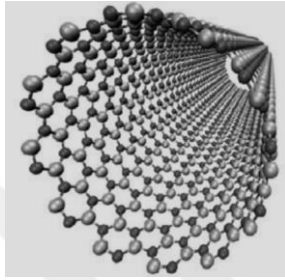
Fulleren



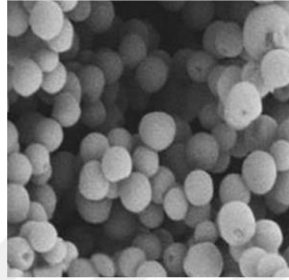
Grafen



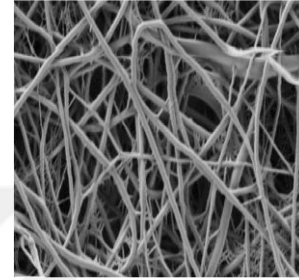
Grafen oksit



Bor nitrür



Nano küreler



Nano lifler

Şekil 1.1: Bazı nano boyutlu malzemeler.

Son yıllarda nanoteknoloji ve nanomalzemelerin kullanım alanlarının gelişmesi ile özellikle göz önünde olan sektörlerden enerji ve biyoteknoloji alanında nano boyutta malzemeler yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

1.2 Enerji

Yaşamın devamı için en temel gereksinimlerden biri olan enerji, nüfusun hızla büyümesi ile birlikte enerjiye yönelik talepte hızla artmaktadır. Enerji genel olarak iş yapabilme kapasitesi veya kabiliyeti olarak açıklanabilir (Sabaz, 2018). 2018 yılında beklenenden daha fazla (%2,3) enerji ihtiyacının olduğu bilinmekte ve 2019 yılındaki Uluslararası Enerji Ajansı (IEA)'nın sunduğu rapora göre, önümüzdeki 20 yıl boyunca enerji talebinin yılda bu rakam yaklaşık bir değer olarak %1,3 oranında artarak yükselmesi beklenmektedir (Bicil, 2021). Dünya üzerinde enerji kaynakları 3 grup şeklinde sınıflandırılabilir; fosil yakıtlar, yenilenebilir enerji kaynakları, nükleer enerji kaynakları. Dünya üzerinde enerjinin %88'i yaklaşık olarak fosil yakıtlardan ve geri kalan yaklaşık %12'lik kısım nükleer enerji kaynakları ve yenilenebilir enerji kaynaklarından temin edilmektedir. (Selek, 2021). Yüksek miktarda hidrokarbon ve karbon içermekte olan fosil yakıtlar, ölen canlı kalıntılarından

milyonlarca yıl boyunca oksijensiz ortamda çözülmesi neticesinde oluşmaktadır. Başlıca petrol, kömür ve doğalgaz fosil yakıtlardır. Bu yakıtların yanması sonucunda enerji elde edildiği için yanma ürünü olarak çeşitli gazlar (CO_x, NO_x, SO_x) açığa çıkar (Amin, 2015). Açığa çıkan bu yanma ürünleri iklim değişikliği, ozon tabakasının incelmesi, asit yağmurları, sera etkisi, hava ve su kirliliği gibi birçok çevresel sorunlara sebebiyet vermektedir (Selek, 2021). Tükenebilir enerji kaynağı olan fosil yakıtların bulunma olasılığının gün geçtikçe azalmakta olması ve çevreye verdiği zararlar nedeniyle yenilenebilir olan alternatif enerji kaynakları üstünde çalışılmaktadır (Salehabadi vd., 2020). Temiz, yenilenebilir olan ve fosil yakıtların yerine geçebilecek enerji kaynakları mevcuttur. Fosil yakıtlara alternatif yenilenebilir enerji kaynakları rüzgar, güneş, jeotermal, hidroelektrik, termonükleer, biyokütle söylenebilir. Bu enerji kaynakları direkt yakıt olarak kullanılamazlar ve kullanım için uygun şartlara gelmeleri için enerji taşıyıcısı olarak elektriğe gereksinim duyulmaktadır (Veziroğlu ve Barbir, 1992). Gelecekteki alternatif ideal bir yakıtta olması gereken başlıca özellikler; rahatça istenilen bir enerji biçimine dönüştürülebilmesi, çevreye, insan sağlığına zararsız, üretimi temiz ve ekonomik, taşınması güvenli ve yüksek ısı enerjisiye sahip çok yönlü bir yakıt olmalıdır. Bütün bunlar göz önüne alındığında alternatif ve geleceğin yakıtı olarak hidrojen umut vaat eden bir enerji taşıyıcısıdır (Bicil, 2021).

Hidrojenin ideal bir enerji taşıyıcısı olmasının belirgin bazı önemli özellikleri vardır. Bunlar;

- Yüksek özgül enerjiye sahiptir. Örneğin; 9,5 kg hidrojenin sahip olduğu enerji içeriği, 25 kg benzin ile eşdeğerdir.
- Hidrojen zararsız, temiz bir enerji taşıyıcısıdır.
- Hidrojen yandığında tek yanma ürünü sudur. Yüksek sıcaklıklarda az miktarda NO_x üretimine yol açabilmekte bunun dışında toksik kirlenici üretmez.
- Güvenli bir şekilde boru hatlarında taşınabilir.
- Bir bölümü fosil yakıtlardan, doğrudan güneş ışığıyla, termokimyasal ayrışma ve suyun elektrolizi gibi çeşitli enerji kaynaklarından üretilmektedir.
- Hidrojen, elektriğe kıyasla uzun süre depolanabilmektedir (Midilli, Ay, Dinçer ve Rosen, 2005).
- Diğer enerji biçimlerine kolaylıkla dönüştürülebilmektedir.

Günümüzde kullanılan enerji kaynaklarına nispeten çevre ile uyumu, maliyet açısından uygunluğu, kullanımının elverişli olması sebebiyle hidrojen enerjisi potansiyel çözüm sunar.

1.3 Hidrojen

Hidrojen evrendeki en az karmaşık, en hafif, en bol bulunan elementtir. Tatsız, kokusuz, renksiz, toksik olmayan bir gazdır. Genellikle yüksek reaktivite sebebiyle saf halde bulunmaz (Zacharia ve Rather, 2015). 1700'lü yıllarda hidrojenin yanma özelliği tespit edilmiş ve oksijen ile yanması sonucunda en yüksek enerji veren molekül olduğu bulunmuştur (Pehlivan, 2020). Yıllardır kullanılmakta olan karbon bazlı fosil yakıtlar birçok çevresel sorunlara neden olmuştur. Hidrojenin yenilenebilir enerji kaynağı olması, yakıldığında çevreye toksik gazlar yaratmaması ve diğer yakıtlara kıyasla birim kütle başına enerji yoğunluğu 120-142 MJ/kg aralığında en yüksek değere sahip olması gibi özelliklerinden dolayı gelecek için avantajlı bir enerji taşıyıcısıdır (Epelle vd., 2022). Günümüzde çoğunlukla fosil yakıtlardan üretilen hidrojen, %48 oranında doğalgaz, %30 oranında petrol, %18 oranında kömürden ve %4'lük kısım ile de suyun elektrolizinden elde edilmektedir (Sabaz, 2018). Hidrojenin en önemli özelliği depolanabilmesidir. Ancak bilinen en hafif gaz olduğu için depolanması büyük bir problem oluşturmaktadır. Hidrojen enerjisi kullanımının yaygınlaşması için küçük hacimde yüksek miktarda depolanması önemlidir (Schlapbach ve Züttel, 2001). Bu sebeple hidrojenin kullanımı için taşınması ve depolanması yönünde ileri düzeyde yüksek performanslı depolama teknolojileri geliştirilmelidir.

1.4 Hidrojen Depolama

Hidrojenin kullanımındaki en büyük engel depolanmasıdır ve bu nedenle kimyagerler, malzeme bilimcileri ve ilgili herkesin önde gelen araştırma konularından biri durumundadır (Yürüm, Taralp ve Veziroğlu, 2009). ABD Enerji Bakanlığı (DOE), otomobillerde yakıt hücrelerinde hidrojenin depolanması için ağırlıkça %6,0'lık bir hedef açıklamıştır (2010). Fakat bilinmekte olan depolama yöntemleri bu hedefi karşılayamamıştır (Ströbel vd., 2006). Bu hedef doğrultusunda hidrojenin depolanması için dünya çapında uygun bir yöntem üzerinde çalışmalara başlanmıştır. Depolama yöntemlerinin maliyeti uygun olmalı, uluslararası çevre ve güvenlik yasalarınca öngörülen koşullar karşılanmalıdır (Yürüm, Taralp ve Veziroğlu, 2009). Hidrojen saf hali ile, hacimsel enerji yoğunluğu düşük ve gravimetrik enerji yoğunluğu yüksektir (Tarhan ve Çil, 2021). Havadan on dört kat hafif olan hidrojen gazı, düşük parlama noktası sebebiyle oldukça yanıcıdır ve kaynama noktası 20,4 K, erime noktası 14,0 K'dir. Bu özellikleri kullanımı açısından güvenlik sorunlarına neden olmaktadır (Sele, 2021).

Hidrojenin depolanma yöntemleri üç şekildedir; (1) sıkıştırılmış gaz halinde, (2) kriyojenik sıvı halinde ve (3) katı maddelerde depolanmasıdır (Aydemir, 1998; Dinçer, 2002; Tezcan, 2003; Mohan, Sharma, Kumar ve Gayathri, 2019; Bicil, 2021).

1.4.1 Gaz Depolama

En eski ve en yaygın kullanılan depolama sistemidir. Sıkıştırılmış gaz halinde depolama hidrojen gazının sıkıştırılmasıyla yüksek basınçlı tanklarda fiziksel olarak depolanması yöntemidir. Sıkıştırılmış gaz deposunda, tankın türüne ve ağırlığına göre ağırlıkça %1-7'lik hidrojen depolanabilmektedir. Tankın türüne ve ağırlığına bağlı olarak daha dayanıklı, hafif ve daha fazla hidrojen depolayabilen tanklar mevcuttur fakat daha pahalıdır. Sıkıştırma işlemi için enerjiye ihtiyaç duyulmaktadır. Dolum esnasında yakıtın enerji içeriğinin yaklaşık %20'si sıkıştırma işlemi sırasında harcanır. Genellikle sıkıştırılan hidrojen gazının doldurmuş olduğu hacim oldukça büyüktür ve bu da benzin depolarına göre düşük enerji yoğunluğuna sahip hidrojen ile neticelenir. Günümüzde çoğunlukla 50 L'lik silindirik tanklarda 200 ila 250 bar basınçta hidrojen depolanmaktadır. Bununla beraber gaz depolama basıncı 600 ila 700 bar'a kadar ulaşabilmektedir. Bir yandan da bu yüksek basınç depolama tanklarının oldukça ağır olmasına sebep olmaktadır (Kayfeci ve Keçebaş, 2019). Yaygın olarak kullanılan yöntemin uygulanması sırasında ve sonrasında yaşanan zorluklar ve güvenlik açısından tehlikeli olması gaz olarak depolamanın eksilerindendir.

1.4.2 Sıvı Depolama

Hidrojenin sıvı olarak depolanmasının temelinde düşük sıcaklıkta (20 K) çalışabilmesidir. Hidrojen sıvı olarak depolandığında yoğunluğu sıkıştırılmış gaz olarak depolama yoğunluğundan daha fazladır bu yüzden birim hacim başına enerji daha fazla depolayabilmektedir. Kaynama noktası düşük olmasından dolayı sıvılaştırılmış hidrojene sürekli soğutma işlemi uygulanır. Soğutma işlemi sırasında kaybedilen enerji, toplam enerjinin yaklaşık %30'una eşdeğerdir. Bu işlem ile hidrojen kaybı en aza indirilir. Eğer soğutma işlemi yapılmazsa sıvı hidrojen buharlaşıp azalır. Sıvılaştırılmış hidrojenin verimliliği için iyi yalıtılmış özel cidarlı kaplara gerek duyulmaktadır (Tarhan ve Çil, 2021). Ayrıca sıvı hidrojenin kaynama noktasının düşük olması sebebiyle sürekli kaynama riski bulunmaktadır (Tarhan ve Çil, 2021). Bu depolama yönteminde sıvılaştırma için gerekli olan büyük miktarda enerji ve kaynama riski bulunduğundan dolayı genellikle maliyetin sorun teşkil etmediği, kısa sürede tüketilen hava ve uzay araçlarında kullanımı ile sınırlıdır (Zhou, 2005). Hidrojenin gaz ve sıvı olarak taşınması ve depolanması mümkün olsa da bu iki

yönteminde ekonomik ve güvenlik açısından birçok risk bulunmaktadır. Bu riskleri ortadan kaldırmak için güvenli, ucuz bir diğer yöntem olarak hidrojenin katı maddeler içerisinde depolanması ve taşınması söz konusudur. Katı maddeler içerisinde hidrojen depolama, birçok sorunu engellediği için hidrojenin patlama riskini ortadan kaldırarak kaza, yangın gibi durumları da engelleyebilir (Sabaz, 2018).

1.4.3 Katı Maddelerde Depolama

1.4.3.1 Hidrürlerde Depolama

Birtakım metaller ve alaşımlar ile hidrojen metal hidrür oluşturabilmektedir ve bu oluşum sırasında hidrojen molekülleri parçalanırlar ve oluşan hidrojen atomları uygun olan metaller ve/veya alaşımların kafesinin içindeki boşluklara girerler (Sherif, Barbir ve Veziroğlu, 2005). Metal hidrürler 2500 °C veya daha yüksek sıcaklıklarda ısıtıldıklarında ancak hidrojen depolama kapasiteleri ağırlıkça %5-7 oranında olmaktadır. Hidrojen metal hidrürlere güçlü bir şekilde bağlanmaktadır bu sebeple hidrojenin serbest bırakılması için yaklaşık 500 °C gibi yüksek sıcaklıklara gereksinim duyulmaktadır (Niaz, Manzoor ve Pandith, 2015). Hidrojen depolama için kullanılan metal hidrürler düşük tersinirlik, yüksek dehidrojenasyon sıcaklıkları ve yavaş reaksiyon kinetiği gibi bir dizi sorunuda beraberinde getirir. Ticari uygulamalar için metal hidrürler pahalı ve ağırdır. Bu sorunu bertaraf etmek için hafif malzemeler üzerinde çalışılmış ve bu malzeme ağırlıkça maksimum %7,6'lık hidrojen depolama kapasitesine ulaşan magnezyum hidrür olmuştur. Ancak reaksiyonun yavaş gerçekleşmesi ve hidrojenin serbest bırakılması işlemi için yüksek sıcaklık değerleri gereklidir. Yakıt hücreli elektrikli araçlarda uygulanan metal hidrür için hidrojen depolama kapasitesi, krom-titanyum-vanadyum alaşımı için ortam basıncının altında ve 40 °C sıcaklıkta bu zamana kadar en yüksek %2,6 olarak tespit edilmiştir. En büyük dezavantajı bu yöntemin metal hidrürün hidrojene oranla ağır malzeme olmasıdır (Sele, 2021). Hidrojen depolama malzemelerinin araştırılmasında kompleks hidrürler yeni bir alan açmıştır. Kompleks hidrürler hafif metal olan birinci, ikinci, üçüncü grupta yer alan Li, Mg, B ve Al gibi metaller hidrojen ile metal-hidrojen kompleksleri oluşturur. Metal atomu başına hidrojen atom sayısı 2 olması ve hafif olmaları gibi özelliklerinden bu yapılar ilgi çekicidirler (Züttel, 2003). Buna rağmen hidrojen depolama malzemesi olarak kompleks hidrürlerin kullanılmasında bazı engeller bulunur. Bunlar yüksek basınç gerekliliği, yüksek hidrojen desorpsiyon sıcaklığı, zayıf tersinirlik gibi özellikleridir (Bicil, 2021). İlk kez 1996 yılında Bogdanovic ve Schwickardi 180 ve 200 °C'de katalizlenen NaAlH_4 için adsorpsiyon ve desorpsiyon basınç-konsantrasyon izotermelerini göstermişlerdir (Züttel, 2003). Kompleks

hidrürler içerisinde bor hidrürler yüksek depolama yoğunluğuna sahiptir. Bunlar içinde LiBH_4 ağırlıkça %18,5 olan yüksek hidrojen depolama kapasitesine sahiptir (Tarhan ve Çil, 2021). Fakat LiBH_4 ile depolamanın dezavantajı kullanım için yüksek ayrışma sıcaklığıdır (Bicil, 2021). Kompleks hidrürlerin kararlılık, sorpsiyon kinetiği, tersinirlik gibi özellikleri hakkında az bir bilgi bilinmektedir çünkü hidrojen bu yapılardan çıkarıldığında intermetalik bileşikler olarak mevcut değildir (Züttel, 2004).

1.4.3.2 Adsorbanlar

1.4.3.2.1 Karbon Türevi Malzemelerde Depolama

Karbon elementi farklı allotrop formları ile çevremizde en fazla bulunan elementtir (Rao, Singh ve Bashambu, 2021). Bilinen en yaygın doğal karbon allotropları; elmas ve grafitir. Zamanla karbon nanomalzemelerinde dahil olduğu yeni ve farklı allotropik formlar bulunmuştur (Zaytseva ve Neumann, 2016).

Karbon türevi malzemeler, çeşitli malzemelerle kıyaslandığında düşük maliyetleri, kolay yenilenebilir olmaları, kimyasal, mekanik ve termal stabilitelerinin iyi olması, düşük yoğunlukları, geniş gözenek yapıları ve yüksek yüzey alanları ile hidrojen depolama için daha avantajlı malzemelerdir (Bader ve Ovederni, 2016). Karbon bazlı nano gözenekli malzemeler olan aktif karbon, fulleren, grafen, karbon nanotüpler hidrojen depolama uygulamalarında kullanım için umut verici adsorbanlar olarak bilim insanları tarafından araştırılmaktadır (Bicil, 2021).

1.4.3.2.1.1 Aktif Karbon

Aktif karbon, $3000 \text{ m}^2/\text{g}^{-1}$ 'a kadar ulaşabilen yüksek yüzey alanlarına ve çeşitli gözenek hacimlerine sahip bir adsorbenttir. 1980'lerde, aktif karbonun düşük sıcaklıklarda hidrojen depolama potansiyelini araştırmak için yapılan ilk çalışmalar aktif karbonun kılcal damarlarında depolama kapasitesinin belirlenmesiyle başlamıştır. 1990 yılının başlarında ise, Chahine ve arkadaşları kömürün kimyasal aktivasyonu ile aktif karbon elde etmiş ve AX21 örneğinde oda sıcaklığı ve kriyojenik sıcaklıklarda ağırlıkça %2 hidrojen depolayabildiğini rapor etmişlerdir. Mobil hidrojen depolama uygulaması için ağırlıkça %6'dan daha az olan hidrojen adsorplama değerleri uygun ve yeterli bulunmamaktadır. Bu sebeple, bu materyallerin sınırlarını belirlemek için daha çok araştırma gerekmektedir (Blackman, 2005).

1.4.3.2.1.2 Fulleren

Fullerenler ilk olarak 1985 yılında Kroto ve arkadaşları tarafından karbonun yeni bir formu ve birbirine yakın moleküler yapıya sahip olarak bulunmuştur. Bu molekül karbonun allotropik modifikasyonudur (Niemann vd., 2008). Genellikle C₆₀ ve C₇₀ gibi futbol topuna benzeyen karbon molekülüdür ve bu molekül reaksiyon yoluyla hidrojenlenebilmektedir. Yapılan hesaplamalara göre hidrojenlenen fullerenin en kararlı yapıları C₆₀H₂₄, C₆₀H₃₆ ve C₆₀H₄₈'dir. Bu bileşiklerden ikincisi adsorbe edilen hidrojenin ağırlıkça %6,3'üne eşittir. Bir deneysel çalışmada Chen ve arkadaşları 180 °C'de ve 25 bar'da fullerenlerin hidrojeni ağırlıkça %6'dan fazla adsorbe edebileceğini göstermektedir. Karbon ve hidrojen atomları arasındaki bağlar çok güçlü oldukları için hidrojenin desorbe edilmesi için 400 °C'nin üzerinde yüksek sıcaklıklar gerekmektedir (David, 2005). Fullerenler geçiş metalleri ile modifiye edilerek bu yüksek dehidrojenasyon sıcaklığı düşürülmüş ve depolama kapasitesi arttırılmıştır. Fulleren titanyum atomları ile modifiye edilmiş ve ağırlıkça %7,5 hidrojen adsorbe edebilmektedir (Bicil, 2021). Fakat titanyum atomları fulleren üzerinde kümelenmeye sebep olur ve hidrojen bağının doğası kümelenmeye uygun değildir. Bu kümelenme hidrojen depolanma ağırlık yüzdesini azaltır (Niaz, Manzoor ve Pandith, 2015).

1.4.3.2.1.3 Grafen

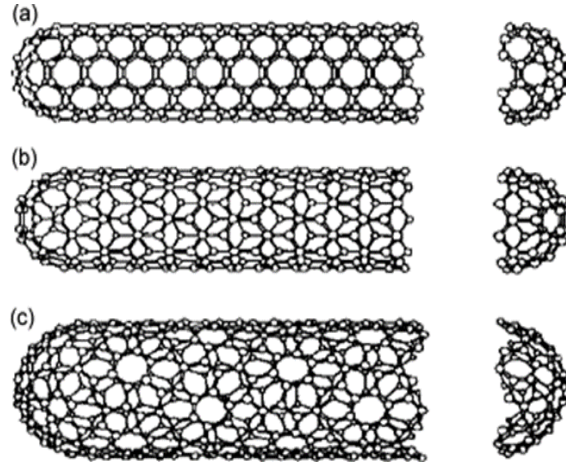
Grafen, sp² hibritleşmesi yapan karbon atomlarının altıgen bir kristal kafes içinde düzenlenmiş tek katmanlı, düz bir karbon levhadan oluşan nano tabakadır (Li vd., 2019). Zayıf van der Waals etkileşimleri ile grafen tabakası birbirine bağlandığında grafen türevi olan grafiti oluşturur. Grafen ve türevlerinin yüzey alanları aktif karbona göre düşük olmasına rağmen yüksek hidrojen depolama potansiyeli gösterebilmektedir (Szcześniak, Choma ve Jaroniec, 2017). Bazı hesaplamalar sonucunda grafenin hidrojen adsorplama kapasitesi 293 K ve 300 bar ile 77 K ve 10 bar'da ağırlıkça sırasıyla %1,5 ve %7 olarak hesaplanmıştır (Lamari ve Levesque, 2011). İndirgenmiş grafen oksitin kimyasal olarak KOH ile aktive edilmesi sonucunda 77 K sıcaklık ve 40 bar basınçta %7,04'lük hidrojen adsorplama kapasitesine sahip olduğu bulunmuştur (Klechikov vd., 2015). Grafenin palladyum ile modifiye edilmesi sonucunda 40 bar basınç ve oda sıcaklığında yapılan uygulaması sonucu %4,83 değerinde hidrojen adsorplanabildiği görülmüştür (Zhou ve Szpunar, 2016). Bu uygulamanın oda sıcaklığında yapılması ile sonuçlar umut verici olmasına rağmen metal nano partiküllerin sebep olduğu bazı sorunlar, kolayca kümelenmeleri ve yüksek maliyetlerinden dolayı dezavantajlar sunmaktadır (Bicil, 2021).

1.4.3.2.1.4 Karbon Nanotüpler

Karbon nanotüpler, karbonun çok yönlü bir allotropudur. Grafen tabakalarının silindirik olarak sarılması ile oluşan uzun tüp şeklinde olan yapılardır (Rao, Singh ve Bashambu, 2021). Yaklaşık olarak i  çapı 1 nm ve uzunluğu 10-100 mikrometre olan bir yapıdır (Mohan, Sharma, Kumar ve Gayathri, 2019). Nanotüpler, tek duvarlı (TDKNT) ve çok duvarlı karbon nanotüp (ÇDKNT) olarak  retilenmektedir. Karbon nanotüp ilk kez 1991 yılında Iijima tarafından karbonun ark fırınında buharlaştırılması sırasında gözlemlenmiştir (Iijima, 1991). Bulunan bu karbon nanotüp ÇDKNT'dir. Daha sonra 1993 yılında Iijima ve arkadaşları tek duvarlı karbon nanotüpü (TDKNT) bulmuşlardır. Bethune ve arkadaşlarında aynı yıl içerisinde TDKNT'yi benzer bir şekilde birbirlerinden bağımsız olarak bulduklarını bildirmiştir (Ravi ve Vadukumpully, 2016). Karbon nanotüplerin çeşitli ve diğer malzemelerde olmayan ileri düzeyde bazı özellikleri mevcuttur.  elikten 100 kat daha çekme dayanımı, en saf elmas dışında diğer malzemelere göre termal iletkenlikleri daha iyi ve bakıra benzer elektriksel iletkenlikte fakat daha fazla akım taşıma kapasitesine sahiptir (Tan vd., 2012).

1.4.3.2.1.4.1 Tek Duvarlı Karbon Nanotüp (TDKNT)

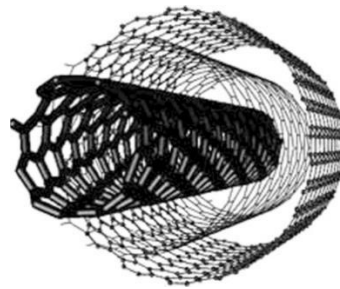
Tek duvarlı karbon nanotüp, bir grafen tabakasının silindirik olarak sarılması ile iki ucu kapalı, i  çapı 0,4-3 nm ve uzunluğu birkaç mikrometre olan nanotüp yapısıdır (Tan vd., 2012). Tek duvarlı karbon nanotüpün farklı şekillerde sarılması ile t p haline getirildiği için 3 farklı türü bulunmaktadır (şekil 1.2). Bunlar koltuk, zikzak ve kiral türleridir. Bu farklı türlerden kiral vektörün yarı-yuvarlanma y n  nanotüplerin elektriksel olarak iletken ya da yarı iletken mi olduğunu belirlemektedir (Ströbel vd., 2006).



Şekil 1.2: Farklı türdeki TDKNT yapılarının şeması a) koltuk, b) zikzak, c) kiral.

1.4.3.2.1.4.2 Çok Duvarlı Karbon Nanotüp (ÇDKNT)

Çok duvarlı karbon nanotüp, çapları 2-20 nm aralığında olan çoklu eş merkezli silindir grafen levhanın sarılması ile oluşan ve tabakalar arası mesafenin yaklaşık 0,34 nm olduğu bir nanotüp şeklindedir (Tan vd., 2012). Şekil 1.3’de ÇDKNT’nin yapısı gösterilmektedir. TDKNT’ye göre termal, sertlik, çekme kuvveti, iletkenlik ve konformasyon gibi açılardan farklılık göstermektedir (Pehlivan, 2020). ÇDKNT’ler çoklu karbon atomuna sahip olduklarından dolayı TDKNT’lere göre mekanik dayanımları daha yüksektir (Rao, Singh ve Bashambu, 2021).

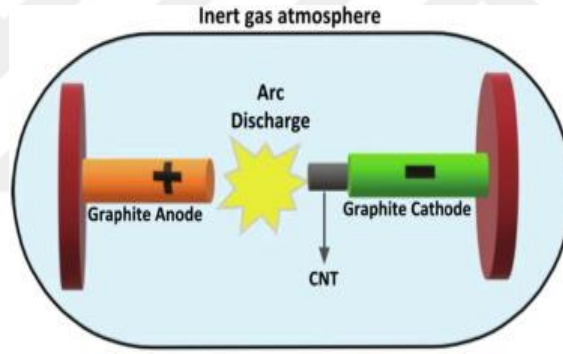


Şekil 1.3: Çok duvarlı karbon nanotüp yapısı (ÇDKNT).

1.4.3.2.1.5 Karbon Nanotüplerin Elde Edilme Yöntemleri

1.4.3.2.1.5.1 Ark Boşaltma Yöntemi

Bilinen en eski yöntem olup ilk Iijima ve arkadaşları tarafından karbon nanotüplerin keşfi bu yöntem ile gözlemlenmiştir. Bu sentez yönteminde inert helyum atmosferinde iki grafit elektrot arasından akım geçirilir ve grafitin buharlaşması ile neticelenir. Katodda ve duvarlarda biriken grafit karbon nanotüpleri oluşturur (Rao, Singh ve Bashambu, 2021). Ark boşaltma ile sentez iki farklı şekilde gerçekleştirilebilir; saf olan grafitin buharlaşması ve grafit ile metalin birlikte buharlaşmasıdır. TDKNT'lerin üretimi için metal katalizörlere ihtiyaç duyulmaktadır. Karbon nanotüplerin eldesinden sonra oksijen ya da karbondioksit ile gazlaştırılıp saflaştırılması gereklidir. Sürecin parametreleri; iki elektrot arasındaki mesafe ($> 1\text{mm}$), yaklaşık 100 A'lık yüksek akım, plazma halinde buharlaşması için elektrotlar arasında 4000 K'de plazma oluşumu ve belirli olan elektrot boyutlarının altında bir voltaj aralığı (30-35V) içermektedir (Paradise ve Goswami, 2007). Şekil 1.4, ark boşaltma yöntemi şemasını göstermektedir.

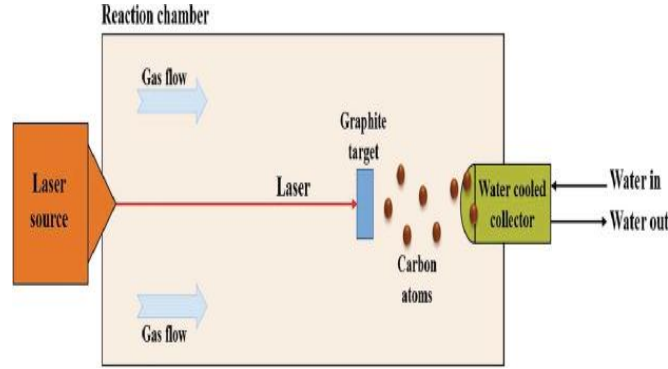


Şekil 1.4: Ark boşaltma yöntemi şeması.

1.4.3.2.1.5.2 Lazer Ablasyon Yöntemi

Lazer ablasyon yöntemi, kullanımı pratik ve güçlü karbon nanotüplerin üretimi için kullanılan tekniklerdendir. Yüksek kalite ve saflıkta tek duvarlı karbon nanotüplerin üretildiği bilinmektedir (Paradise ve Goswami, 2007). Bu proseste yüksek sıcaklıkta (1200°C) ve 500 Torr argon ya da helyum atmosferinde bir fırında tutulan grafit parçasına darbeleri veya sürekli lazer çarptırılır. Grafit parçası inert atmosferde ve yüksek sıcaklıkta lazer ışması ile buharlaştırılır. Kobalt, nikel ya da demir ile karıştırılmış olan grafitin buharlaştırılması ile TDKNT'ler oluşturulur, saf grafit ile ÇDKNT'ler oluşturulabilmektedir. İnter gaz tarafından süpürülen karbon türleri su soğutmalı toplayıcı üzerinde toplanırlar (Mohan, Sharma, Kumar ve Gayathri, 2019). Bu yöntem ile daha yüksek

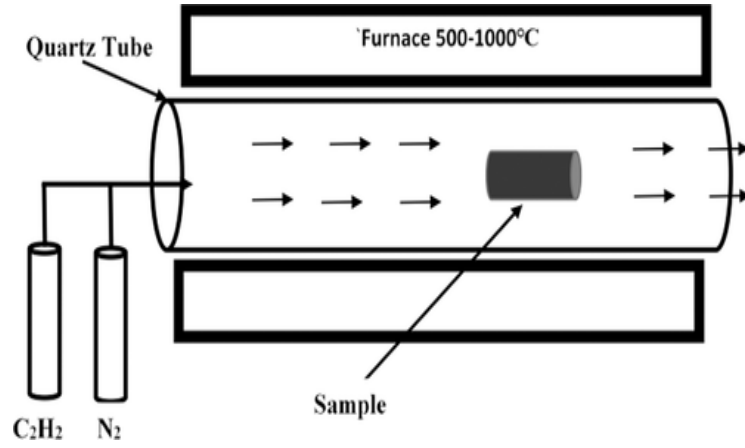
saflıkta (yaklaşık %90) karbon nanotüpler üretilebilmektedir (Szabó vd., 2010). Şekil 1.5, lazer ablasyon yöntemi şemasını göstermektedir.



Şekil 1.5: Lazer ablasyon yöntemi şeması.

1.4.3.2.1.5.3 Kimyasal Buhar Çöktürme Yöntemi (CVD)

CVD yöntemi, bir tüp fırınına katalizör malzemenin yerleştirilmesi ile hidrokarbon gazı kullanılarak bu tüp reaktöründen belirli bir süre yüksek sıcaklıklara (500-1000°C) ısıtılmasını içermektedir. Temel mekanizma geçiş metali ile katalizlenen hidrokarbon moleküllerinin ayrılması ve metal nanoparçacıklı karbon atomlarının doygunluğu şeklindedir. Bu metal parçacıktan karbonun çökmesi ile birlikte sp^2 yapısına sahip karbon nanotüplerin oluşumuna sebep olur. CVD ile üretilen karbon nanotüplerin özelliklerini etkileyen faktörler; sıcaklık, çalışma basıncı, metal katalizörün boyutu ve ön işlemleri ve reaksiyon süresi, metan hacmine ve konsantrasyonuna bağlıdır. Tek duvarlı KNT'ler daha yüksek sıcaklık ve dağılımı iyi olan desteklenmiş metal katalizörle üretilir, çok duvarlı KNT'ler düşük sıcaklıkta ve metal katalizör olmadan üretildiği bulunmuştur (Paradise ve Goswami, 2007). Şekil 1.6, kimyasal buhar çöktürme yöntemi şemasını göstermektedir.



Şekil 1.6: Kimyasal buhar çöktürme yöntemi (CVD) şeması.

1.4.3.2.1.6 Karbon Nanotüplerin Hidrojen Depolamada Kullanımı

Karbon nanotüpler keşfedilmelerinden itibaren eşsiz fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı önemli bir araştırma konusu olmuştur. Karbon nanotüpler hafif yapıları, kimyasal olarak kararlı olmaları, geniş yüzey alanları ve çeşitli gözenek yapıları ile hidrojen depolama için ideal bir malzemedir (Rakhi, Sethupathi ve Ramaprabhu, 2008). Hidrojen depolama kapasitesi şunlara bağlıdır; yapısına, yapılan ön işlemlere, geometriye, yapısal kusurlara, sıcaklığa ve çalışma basıncına. KNT'lerde hidrojenin depolanabileceği yerler; borunun içinde ve dışında, borular arasında ve ÇDKNT'ler için duvarlar arasında depolanabilmektedir (Mohan, Sharma, Kumar ve Gayathri, 2019). Hidrojen depolama uygulamalarında KNT'lerin yüzey alanlarını arttırmak ve mikro gözenekliliğini geliştirmek yüksek kapasiteli hidrojen depolama için büyük öneme sahiptir (Lee ve Park, 2012). KNT'lere fonksiyonel grupların eklenmesi yüzey alanının, duvarların sayısının, gözenek boyutunun, daha fazla kusurun ve daha yüksek hidrojen depolama kapasitesinin oluşmasını etkilediği için fonksiyonel grupların eklenmesinin arttırılmasına fazla önem verilmektedir (Muthu, Rajashabala ve Kannan, 2016). Son yıllarda KNT'lerin hidrojen depolama özelliklerine yönelik deneysel ve teorik olarak birçok çalışma yapılmış ve umut verici sonuçlar elde edilmiştir (Rakhi, Sethupathi ve Ramaprabhu, 2008). KNT'lerin hidrojen depolama kapasitesi ile ilgili ilk çalışma 1997 yılında Dillon ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada saflaştırılmamış TDKNT'lerin sıcaklık programlı desorpsiyon yöntemi kullanılarak 300 Torr basınçta ve oda sıcaklığında ağırlıkça %5-10'luk bir hidrojen depolayabildiği sonucuna ulaşılmıştır (Ioannatos ve Verykios, 2010). Ancak yeniden yapıldığında yüksek hidrojen kapasite değerlerine ulaşamaması deneysel veya ölçüm hatalarından kaynaklandığına yorumlanmıştır. Tekrar yapılan araştırmalar sonucunda

karbon nanotüplerin oda sıcaklığında ağırlıkça %0,6'yı geçmeyen hidrojen depolama kapasitesi gösterdiği bulunmuştur (Hirose, 2010).

Çok sayıda yapılan deneysel ve teorik araştırmalar saf KNT'lerin zayıf bağlanma enerjisi ile (-0,11 eV yada daha az)  ok az miktarda hidrojenin adsorbe edilebileceğini göstermektedir. Bu yüzden KNT'lerin hidrojen depolama kapasitelerini iyileştirmek için genelde modifiye edilirler (Doğan vd., 2021). Chen ve arkadaşları alkali metal ilaveli ÇDKNT'ler üzerinde hidrojen depolama kapasitesi için deneyler yapmıştır. 653 K'de lityum ilaveli ÇDKNT için hidrojen adsorpsiyonunun ağırlıkça %20 ve oda sıcaklığında potasyum ilaveli ÇDKNT için ağırlıkça %14 olarak bulunmuştur (Rakhi, Sethupathi ve Ramaprabhu, 2008). Le ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada karboksilik asit (COOH), amin grubu ve silan grubu gibi bazı organik gruplar ile KNT'lerin yüzey modifikasyonu üzerinde araştırma yapılmıştır. Bu  alışma ile farklı uygulama alanlarında kullanım için çok yönlü bir KNT elde edilmiştir (Le vd., 2013). Farklı bir çalışmada Rao ve arkadaşları ÇDKNT'yi oksijenli gruplar ve metal oksitlerle modifiye ettiler ve bu yüzey modifikasyonu ÇDKNT'lerde Raman ve redoks kabiliyetlerinin değişmesine neden oldu (Rao vd., 2016). Fonksiyonel gruplar ile yapılan yüzey modifikasyonu ÇDKNT'lerin katalitik aktivitesinde etkilemiştir ( akır vd., 2021). Karbon nanotüplerin üzerine uygulanan çeşitli metallerin ve kimyasal bileşiklerin eklenmesi dipol-dipol etkileşimlerini ve gözenekliliği arttırır ve bu sayede hidrojen depolama kapasitesinin yüksek olduğu gözlenir (Pehlivan, 2020).

1.5 Biyoteknoloji

Biyoteknoloji, moleküler biyoloji, mikrobiyoloji, genetik bilimleri, biyokimya ve mühendislik gibi dalları kapsayan çok geniş bir bilim dalıdır (Uymaz, 2017). Biyoteknoloji ihtiyacımız dahilinde doğada bulunmayan ürünlerin biyolojik materyallerden elde edilebilme süreçlerini de incelemektedir (Rustambayov, 2022). Son yıllarda biyoteknolojinin uygulama alanları olan yapay organların geliştirilmesi, insan sağlığı için biyomoleküllerin sentezi, insandaki bazı genetik bozuklukların giderilmesi ve aşı üretimi gibi alanlarda çalışmalar hız kazanmıştır. Ayrıca enzimoloji alanında da, kanser ve birçok hastalığın erken teşhisi için araştırmalar bulunmaktadır.

Biyoteknolojik gelişmeler ile birlikte farklı bitkisel, hücresel ya da mikrobiyal kaynaklardan izole edilmiş antikor, hormon, protein ve enzim gibi moleküller klinik uygulamalarda biyosensör, ilaç ham maddesi, tanı kiti ve terapi ajanı olarak uyumlu bir formda kullanılabilmektedir (Uymaz, 2017).

1.5.1 Enzimler

Enzimler, bitkisel ve hayvansal dokuların bileşiminde eser miktarda bulunan çok yönlü ve önemli görevlere sahip biyokatalizörlerdir (Turan, 2005). Canlı organizmalarda gerçekleşen birçok reaksiyonu ılımlı koşullarda çok hızlı ve spesifik biçimde katalizleyebilmektedirler (Erol, 2012). Enzimler ilgili reaksiyonu katalizlerken yan ürün oluşturmaz ve %100 verim ile çalışırlar (Turan, 2005). Diğer katalizörlere göre enzimleri önemli kılan birçok avantajı bulunmaktadır. Bu avantajlara örnek olarak yüksek üretkenlik, yüksek katalitik etkinlik ve moleküllerde benzer kısımları ayırt edebilen bölgesel özgüllük verilebilir (Rustambayov, 2022). Ayrıca enzimler katalizledikleri reaksiyonlarda aktivasyon enerjisini düşürüp daha kısa sürede reaksiyonun dengeye ulaşmasına yardımcı olurlar (Uymaz, 2017). Enzimler bu sebeple yaygın olarak tıp ve gıda alanında, tarım ve ziraat alanlarında ve kimya endüstrisinde kullanımda önemli bir ilgi kaynağıdır (Erol, 2012). Enzimlerin bitki ve hayvan hücrelerinden, mikrobiyal kaynaklardan kolay ve ekonomik bir şekilde saflaştırılabilmeleri birçok uygulama alanında kullanımını arttırmaktadır (Uymaz, 2017).

Gıda endüstrisinde de enzimler önemli bir yere sahiptirler. Enzimlerin katalizlediği reaksiyonlar gıda endüstrisi için bazen olumlu sonuçlar oluştururken, bazen de olumsuz durumlar oluşturabilmektedir. Buna örnek olarak fenoloksidaz enzimlerinin katalizlediği oksidasyon reaksiyonlarıdır (Turan, 2005). Fenoloksidaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonun meyve ve sebzelerde tat, renk ve besin değerini olumsuz etkilediği için bu istenen bir durum değildir ve önlenmesi istenir. Ancak fenoloksidaz enziminin olumlu sonuçları da bulunmaktadır. Çay, kakao ve kahve üretiminde kalitenin korunmasını sağlar ve farklı endüstrilerde atık sudan fenollerin gideriminde de rol oynar (Panadare ve Rathod, 2018).

1.5.1.1 Polifenol oksidaz Enzimi (PPO)

Substrat özgüllüğüne bağlı olarak enzim adlandırması EC 1.14.18.1 olarak monofenol monooksijenaz, kresolaz veya tirozinaz ve EC 1.10.3.2 olarak difenol oksidaz, katekol oksidaz veya difenol oksijen oksidoredüktaz şeklinde adlandırılmaktadır. Tirozinaz iki işlevli, bakır (Cu^{+2}) içeren bir metalo enzimdir.

Melaninlerin ve diğer polifenolik bileşiklerin biyosentezinde yer aldıkları için bitkilerde, hayvanlarda ve mikroorganizmalarda (bakteri ve mantarlar) yaygın bir şekilde bulunmaktadır. Bitkilerde ve mikroorganizmalarda çok sayıda yapısal olarak farklı monofenoller, difenoller ve polifenoller tirozinaz için substrat olarak görev alırlar. Birçok

bitki polifenol bakımından zengin olduklarından dolayı bu enzim için sıklıkla polifenol oksidaz adı kullanılmaktadır (Mayer, 1987; Lerch, 1995).

Polifenol oksidaz enzimi meyve ve sebzelerin kesilmiş yüzeylerinde kahverengi renk oluşturmak için fenolik bileşiklerin oksidasyonunu katalizleyen enzimdir (Lee ve Whitaker, 1995). Bu enzim iki tür reaksiyonu katalizlemektedir. Birincisi moleküler oksijen varlığında monofenolik bileşiklerin difenollere hidroksilasyonunu (kresolaz aktivitesi) ve ikincisi o-difenollerin o-kinonlara oksidasyonunu (katekolaz aktivitesi) kataliz eder (Güngör, 2008). Meydana gelen kinonlar hızla siyah, kahverengi veya kırmızı pigmentler (polifenoller) üretmek üzere polimerize olur (Hsu, Shieh, Bills ve White, 1988).

Meyvelerde ve sebzelerde enzimatik kararmaya neden olan bu enzim yetiştiriciler için ağır ekonomik kayıplar yaratmaktadır. Bitkilerde polifenol oksidaz aktivitesi, çay, kahve, kakao, kuru erik, siyah incir gibi bazı gıdaların işlenmesinde arzu edilir ve muhtemelen bitkileri böceklerin ve mikroorganizmaların saldırılarına karşı korur. Bununla birlikte polifenol oksidaz enzimi patates, elma, şeftali, muz, çilek, kayısı, üzüm gibi bazı taze meyve ve sebzelerde büyük ekonomik kayıplara neden olur. Ayrıca esmerleşme tatların bozulmasına ve beslenme kalitesinde kayıplara yol açar (Lee ve Whitaker, 1995).

Enzimatik kararmanın meydana gelmesi için PPO, bu enzimin etkilediği polifenolik substratlar ve oksijenin birarada bulunması gerekir. Enzimatik kararmanın durdurulması ya da azaltılması için bu üç maddeden birinin yok edilmesi gereklidir. Meyve ve sebzelerin işlenmesi esnasında oksijen varlığı engellenemez ve bütün bitkilerde fenolik madde belirli ölçütlerde bulunmaktadır. Bu yüzden enzimatik kararmanın önlenmesi için en pratik, geçerli yol PPO aktivitesinin kontrolüdür ve bu sebeple enzim aktivitesini etkileyen parametreler çok iyi bilinmelidir. Sıcaklık ve pH parametreleri enzim aktivitesini direkt olarak etkiledikleri için bunların optimum düzeyde tutulması gerekir (Dedeoğlu, 2009).

1.5.1.1.1 Polifenol oksidaz Enzimi Substratları

Meyve ve sebzeler çok çeşitli fenolik bileşikler içerir ancak sadece bir kısmı PPO enzimi için substrat olabilmektedir (Karabulut, 2017). Fenolik bileşikler bitkilerin büyümesi ve çoğalması için gereklidir ve yaralı bitkileri patojenlere karşı savunmak için bir tepki olarak üretilir. Meyvelerin polifenolik bileşimleri türe, çeşide, olgunlaşma derecesine, çevrenin büyüme ve depolama koşullarına göre değişir. Gıdalarda bulunan fenolik bileşikler basit fenoller, sinamik asit türevleri ve flavonoidler şeklinde üç grupta sınıflandırılabilir. Basit fenoller sırasıyla L-tirozin, katekol ve gallik asit gibi mono-, di- ve trifenollerdir. Katekol

önemli o-hidroksifenol olarak kabul edilebilir. Enzimatik oksidasyon çalışmalarında model substrat olarak son derece önemli hale gelir. Bir monohidroksi fenol olan tirozin ise önemli bir aminoasittir. Tirozinin hidroksilasyonu dihidroksifenilalanin (DOPA) oluşumuna yol açar. Sinamik asit türevleri klorojenik asit, p-kumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, sinarpik asit gibi bileşiklerdir. Gıda maddelerinde bulunan fenolik bileşikler çoğunlukla flavonoid tiptedir. Doğal olarak bulunan tüm flavonoid bileşikleri yapısal olarak flavonla ilişkilidir. Bunlar; katekinler, antosiyaninler, flavonollerdir (Şakiroğlu, 1994).

Bunların dışında Tablo 1.1’de görüldüğü gibi literatürde PPO substratı olarak kullanılan birkaç substrat vardır (Doğan, Doğan ve Arslan, 2009). Bu substratlar farklı bitkilerde bulunur.

Tablo 1.1: PPO’nun bazı substratları.

Monofenoller	Difenoller	Trifenoller
p-kresol	Katekol	Pirogallol
Tirozin	Klorojenik asit	Gallik asit
4-hidroksibenzoik asit	DL-dopa	Floroglisonol
2-hidroksibenzoik asit	Kafeik asit	
4-hidroksisinnamik asit	Hidrokinon	
3-hidroksisinnamik asit	3,4-dihidroksibenzoik asit	
Ferulik asit	2,5-dihidroksibenzoik asit	
Şınga asiti	3,4-dihidroksifenilalanin	
Vanilik asit	Dihidroksikumerik asit	
Kumerik asit	Dopamin	
	Resorsinol	
	4-metilkatekol	
	Protokatekuik asit	
	Epinefrin	
	Norepinefrin	

1.5.1.1.2 Polifenol oksidaz Enziminin Saflaştırılması

Polifenol oksidaz enziminin birçok bitkisel kaynaklardan ve mikroorganizmal kaynaktan izolasyonu ile saflaştırma işlemi yapılmış ve bu sayede yapısı ve mekanizması aydınlatılmaya çalışılmıştır (Erzengin, 2002). PPO’nun saflaştırılması için farklı yöntemler

bulunmaktadır. Bunlar; amonyum sülfat çöktürmesi, diyaliz, iyon değişim, jel ve afinite kromatografisi gibi yöntemlerdir. Biyolojik moleküllerin saflaştırılması işleminde kullanım için afinite kromatografisi güçlü bir yöntemdir (Ergün, 2016). PPO enzimi, aşırı sıcaklık ve pH'larda denatüre olabilen ve orta derecede kararsız olan bir enzimdir. Ayrıca katalitik aktivitelerini hızlıca kaybettikleri için endüstriyel uygulamalarda kullanımlarını kısıtlamaktadır (Vaidya vd., 2007). Serbest enzimlerin çözünürlüklerini çözünmez bir forma dönüştürmek avantajlar sağlar (Ndlovu, Ba ve Malinga, 2020). Bu sebeple kısıtlamaların önüne geçebilmek için en iyi yöntem immobilizasyondur. Immobilizasyon, enzimin katalitik aktivitesini kaybetmeden belirli bir bölgeye fiziksel ve/veya kimyasal olarak tutturulması ya da hapsedilmesi ve bu sayede enzimin tekrar ve sürekli kullanımını sağlamak olarak ifade edilir (Erik, 2016). Enzimlerin immobilizasyonu ile çözünmez forma gelen enzimler daha kararlı hale gelirler ve denatüre olma olasılıkları azalır. Immobilizasyon bir desteğe tutunan enzimlerin yapılarını stabilize ederek aktivitelerini korur. Immobilize enzimler sıcaklık ve pH gibi çevresel değişkenlere karşı daha dirençlidir (Ndlovu, Ba ve Malinga, 2020). Ayrıca immobilizasyon ile enzimler reaksiyon ortamından kolaylıkla uzaklaştırılabilmektedir. Enzimler, fiziksel adsorpsiyon ve kimyasal bağlanma gibi yöntemler ile destekler üzerine immobilize edilir (Vaidya vd.,2007). Enzimler için destek materyal olarak metal oksitler, akrilik polimerler, silika ve karbonlar gibi çeşitli malzemeler enzim immobilizasyonu için incelenmişlerdir (Almulaiky ve Almaghrabi, 2022). Immobilizasyonda kullanılacak olan destek materyalin; hidrofilik özellikte, gözenekli yapıda, kimyasal ve termal kararlı, yüksek yüzey alanına sahip olması beklenir (Erol, 2012). Karbon nanotüpler enzim immobilizasyonu için enzim ile destek arasında iyi bir bağlanma, biyouyumluluk ve mekanik direnç için hidrofobik veya elektrostatik etkileşimin kurulması ile enzim yüklemesi için yüksek yüzey alanı sunmaktadır (Guzik, Hupert-Kocurek ve Wojcieszynska 2014).

1.6 Literatür Özeti

Günümüzde endüstriyel alandaki birçok gelişmeler mevcut durumda kullanılan malzemelerin özelliklerinin iyileştirilmesini ve üstün özellikli yeni malzemelerin üretilmesini zorunlu kılmaktadır. Bu amaçla bilim insanları hayatı kolaylaştıracak ve insanlığın yaşam kalitesini arttıracak yeni malzemeler tasarlamayı, geliştirmeyi, üretmeyi ve bu malzemelere yeni kullanım alanları kazandırmayı amaçlamaktadır. Karbonun bir allotropu olan karbon nanotüpler ilk kez 1991 yılında ark fırınında karbonun buharlaştırılması sırasında Iijima tarafından keşfedilmiştir (Iijima, 1991). Karbon nanotüpler (KNT), grafit levhaların silindirik şekle yuvarlanmış olduğu tahmin edilen karbonun tüp

şekilli allotropudur. Karbon nanotüpler tek duvarlı olarak üretilebileceği gibi çok duvarlı tüpler şeklinde de üretilebilmektedir (Hirscher vd., 2002). Çok duvarlı karbon nanotüpler, çapları 2-20 nanometre aralığında boyları ise yaklaşık 1-10 µm olan eş merkezli nanotüplerden oluşmuştur ve bu tüplerin sayısı 2'den 50'ye kadar çıkabilmektedir. Günümüzde karbon nanotüpler lazer ve kimyasal buharla çöktürme yöntemleri ile de üretilebilmektedirler (Darkrim ve Levesque, 2000; Endo vd., 1993; Ivanov vd., 1994). Karbon nanotüplerin kristal yapısı ve stabilitesi üretim koşullarına bağlıdır. Karbon nanotüplerin keşfinden itibaren kullanım alanını ve kullanım sıklığını kısıtlayan en önemli etken üretim maliyetlerinin oldukça yüksek olması idi. Son yıllarda gelişen teknoloji ile birlikte yukarıdaki yöntemlerle düşük maliyetlerle karbon nanotüpler üretilebilmektedir. Tıp, mühendislik, çevre, enerji, kataliz gibi farklı sektörlerde kullanılan karbon nanotüplerin üretim maliyetleri düşmesine rağmen yapılarında herhangi bir fonksiyonel grup içermemesinden dolayı reaktiviteleri ve dolayısıyla bu alanlarda kullanımları oldukça sınırlıdır (Oyetade, Nyamori, Martincigh ve Jonnalagadda, 2015; Keru, Ndungu ve Nyamori, 2014; Ombaka, Ndungu ve Nyamori, 2014). Bu tür malzemelerin kullanım alanının arttırılması için akıllı moleküllere dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu nedenle bu yapılar farklı fonksiyonel gruplar içeren organik bileşiklerle modifiye edilerek farklı sektörlerde akıllı yapılar olarak kullanılabilir (Doğan vd., 2007). Modifiye edilmiş adsorbentler kimyanın birçok dalında büyük öneme sahiptir. Modifiye edilmiş adsorbentler kimyanın birçok dalında büyük öneme sahiptir. Son yıllarda adsorbent yüzeylerinin modifikasyonu yüksek yüzey alanı, porozite, rijitlik ve mekaniksel direnç gibi özelliklerden dolayı geniş bir şekilde incelenmektedir. Adsorbent yüzeyindeki hidroksil grupları modifikasyon reaksiyonunda aktif noktalar olarak rol oynar. Karbon nanotüpler yüzeylerinde herhangi bir fonksiyonel grup içermemektedirler. Bu malzemelerin reaktivitesi ilk önce yüzeye hidroksil, amin, karboksilik asit gibi fonksiyonel gruplar takılarak ve daha sonra organosilan bileşikleri ve farklı organik moleküller bağlanarak arttırılabilir. Modifiyerler adsorbent yüzeyindeki hidroksil ve/veya diğer gruplarla fiziksel veya kimyasal etkileşime girebilir. Modifiye edilmiş hidrofilik özellikli adsorbentler enerji alanında özellikle hidrojenin depolanmasında ve biyoteknoloji alanında enzimlerin saflaştırılmasında ve immobilizasyonunda büyük bir öneme sahiptir (Doğan vd., 2007). Karbon nanotüplerin hidrofilik özelliği, hidrojenin tüplerin iç kısımlarında ve tüpler arasında depolanmasına ilaveten tüpün yüzeyindeki fonksiyonel gruplarla da etkileşmesini sağlayarak depolama kapasitesini genelde artırır ve enzimlerin saflaştırılmasını da sağlar.

Karbon nanotüplerin hidrojen depolama kapasitelerine yönelik birçok çalışma yapılmıştır ve bunların bazıları Tablo 1.2’de verilmektedir. Tabloda görüldüğü gibi tek ve çok duvarlı karbon nanotüplerin hidrojen depolama kapasiteleri henüz istenen seviyeye ulaşmamıştır. Amerikan Enerji Enstitüsü, bu tür malzemelerin, ağırlıkça % 5,5 civarında hidrojen depolayabilmeleri halinde endüstriyel olarak ekonomik olacağını belirtmektedir. Bu nedenle bu malzemelerin hidrojen depolama kapasitelerini arttırmak için yüzey modifikasyonu, doplama, mekaniksel öğütme, yüzey alanını arttırıcı proseslerin uygulanması gerekmektedir. Bu yöntemler içerisinde karbon nanotüplerin fonksiyonelleştirilmesi ve hidrofilik özelliklerinin arttırılmasına yönelik çalışmalar ve farklı metallerle doplama çalışmaları ön plana çıkmaktadır. Daha önceki çalışmalarımızda çok duvarlı karbon nanotüpün yüzeyini bor nitrür ve açıl klorür ile fonksiyonelize ettiğimizde ağırlıkça hidrojen depolama kapasitesinin %2,02’den sırasıyla %2,71 ve %3,17’ye arttığını belirledik (Doğan vd., 2021). Bu nedenle hidrofobik özelliğe sahip karbon nanotüpler farklı fonksiyonel gruba sahip organik bileşiklerle modifiye edilerek hidrofilik özellik kazandırılmaya çalışılmaktadır. Ayrıca karbon atomundan daha hafif ve maksimum 4 tane hidrojen atomu ile etkileşebilen Lityumun yapıya doplanması da elde edilen malzemenin hidrojen depolama kapasitesinde önemli artışlar sağlayacaktır. Bu şekilde hidrojen moleküllerinin karbon nanotüplerin iç kısımlarına ilaveten yüzeydeki ve tüpün uç kısımlarındaki fonksiyonel gruplarla ve yapıya doplanan lityum atomları ile etkileşmesi sağlanarak hidrojen depolama kapasiteleri arttırılabilir (Cheng, Zhang, Ren ve Tong, 2016; Deniz, Mert ve Baykasoğlu, 2021).

Tablo 1.2: Bazı KNT’lerin hidrojen depolama kapasiteleri.

KNT’ler	Sıcaklık (K)	Basınç (MPa)	H ₂ (% ağırlıkça)	Kaynaklar
ÇDKNT	77	1	0,28	(Çakır vd., 2021)
TDKNT	295	0,1	0,93	(Nishimiya vd., 2002)
TDKNT	Oda	4,8	1,2	(Smith vd., 2003)
ÇDKNT	77	2	0,47	(Çalışır, Çiçek ve Doğan, 2021)
TDKNT	-	3	0,8	(Rashidi vd., 2010)
ÇDKNT	-	0,005	2	(Mosquera vd., 2014)
ÇDKNT	77	0,1	0,54	(Lee, Yoon ve Sun, 2005)
ÇDKNT	298	10	0,2	(Barghi, Tsotsis ve Sahimi, 2014)
ÇDKNT	425	3	3,8	(Lin vd., 2012)
ÇDKNT	Oda	0,5	0,4	(Genh vd., 2010)
ÇDKNT	143	7,5	3,5	(Rakhia vd., 2008)

Literatürde karbon nanotüplerin PPO enziminin immobilizasyonu amacıyla sınırlı bir şekilde kullanıldığı görülmektedir. Örneğin Mohammadi ve arkadaşları (2009) tek duvarlı karbon nanotüp yüzeyinde polifenol oksidazın adsorpsiyon ve elektrokatalitik özelliklerini araştırmışlardır (Mohammadi vd., 2009). Bununla birlikte, bu çalışmalarda KNT'lerin mevcut durumda hiçbir fonksiyonel gruba sahip olmamalarından dolayı arzu edilen sonuçların düşük reaktiviteleri sebebiyle elde edilemediği görülmektedir. Çünkü karbon nanotüpler enzimle fiziksel veya kimyasal etkileşime girecek herhangi bir fonksiyonel gruba sahip değildirler. Yukarıda açıklandığı gibi ÇDKNT'ler yapılarında herhangi bir fonksiyonel grupları yoktur. Bu malzemenin enzim immobilizasyonu alanında kullanılabilmesi için modifiye edilmesi gerekmektedir. Bu şekilde fonksiyonelize ve yüksek yüzey alanına sahip karbon nanotüpler enzim saflaştırma alanında kendine geniş uygulama alanları bulabilir.

1.7 Çalışmanın Amacı

Çok duvarlı karbon nanotüplerden (ÇDKNT) Li-doplanmış ve doplanmamış yeni organo modifiye hidrofilik multifonksiyonlu akıllı yapılar sentezlemek, farklı tekniklerle karakterize etmek ve karakterize edilen bu malzemelere enerji ve biyoteknoloji alanlarında yeni uygulama alanları kazandırmaktır. Sentezlenen Li-doplanmış ve doplanmamış organo-modifiye ÇDKNT'ler FTIR, BET, DTA/TG ve SEM cihazları kullanılarak karakterize edilmiştir. SEM ile fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin morfolojilerinde meydana gelen değişimler ortaya konmuştur. Karakterize edilen örneklerin oda sıcaklığında ve kriyojenik sıcaklıklarda düşük ve yüksek basınçlarda hidrojen depolama kapasiteleri Hiden IMI PSI gaz depolama cihazı ve polifenol oksidaz enzim aktivitesi ise PerkinElmer Lamda 25 UV-Visible spektrofotometre ile ölçülmüştür. Literatürde farklı fonksiyonel gruplarla modifiye edilmiş ÇDKNTlerin sentezi ve karakterizasyonu ile ilgili çalışmaların sayısında son yıllarda artışlar görülmektedir. Ancak Li-doplanmış ve doplanmamış modifiye ÇDKNT'lerin hidrojen depolama ve enzim saflaştırma alanlarındaki uygulamaları oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada ilk kez sentezlenecek yapılar gıda endüstrisinde enzimatik kararmaya neden olan polifenol oksidaz enziminin saflaştırılmasında kullanılacak ve yine hidrojen depolama kapasitesi düşük olan karbon nanotüplerin Li-doplama ve modifikasyonla depolama kapasitelerinde meydana gelen değişimler ilk kez incelenecektir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Materyal

Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar ticari olarak çeşitli markalardan analitik saflıkta satın alınmış ve ÇDKNT örneği hariç saflaştırma işlemi yapılmamıştır. Çok duvarlı karbon nanotüp (ÇDKNT) (>%92 saflıkta) örneği Nanografi (Türkiye) firmasından temin edilmiştir. PPO kaynağı olarak *Salvia aethiopis* L. bitkisi Balıkesir il sınırları içinden 15 Mayıs 2023 tarihinde toplanmış, teşhis edilmiş ve çalışmada kullanılmak üzere -80 °C’de saklanmıştır. Kullanılan kimyasallar aşağıda Tablo 2.1’de verilmektedir.

Tablo 2.1: Deneylerde kullanılan kimyasallar.

Kimyasalın Adı	Formülü	Marka
Demir II klorür tetrahidrat	$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	VWR Chemicals
Sodyum hidroksit	NaOH	Merck
Sodyum bikarbonat	NaHCO_3	Merck
Siyanojen bromür	CNBr	Acros Organics
L-tirozin	$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_3$	Sigma-Aldrich
4-aminobenzoik asit	$\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_2$	Merck
Sodyum nitrit	NaNO_2	Merck
Sodyum asetat	$\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$	Merck
Disodyum hidrojen fosfat	Na_2HPO_4	Merck
4-metilkatekol	$\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_2$	Sigma-Aldrich
Pirogallol	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$	Carlo Erba
Katekol	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$	Sigma-Aldrich
Lityum klorür	LiCl	Merck
Amonyum sülfat	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Sigma-Aldrich
Bovine serum albumin	$\text{C}_8\text{H}_{21}\text{NOSi}_2$	Sigma-Aldrich
Coomassie brilliant blue G-250	$\text{C}_{47}\text{H}_{48}\text{N}_3\text{NaO}_7\text{S}_2$	Merck
Tris(hidroksimetil)aminometan	$\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$	Merck
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Sigma-Aldrich
Hidroklorik asit	HCl	IsoLab Chemicals
Etanol	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	IsoLab Chemicals
Fosforik asit	H_3PO_4	Sigma-Aldrich
Sülfirik asit	H_2SO_4	Sigma-Aldrich

2.2 Metot

2.2.1 ÇDKNT'lerin Saflaştırılması

10 g ÇDKNT ve 5 M 200 mL HCl çözeltisi 500 mL'lik balonun içine eklenerek ultrasonik banyoda 2 saat 30 °C'de tutuldu. Daha sonra bu karışım 48 saat boyunca 70 °C sıcaklıkta geri soğutucu altında reflaks edildi. Reflaks işlemi ardından karışım 1 saat daha ultrasonik banyoda tutuldu. Bu işlemlerden sonra reaksiyon balonuna 500 mL saf su eklenerek seyreltme işlemi yapıldı. Seyreltilen karışım vakumlu süzme düzeneğinde pH 7 olana kadar bol su ile yıkanarak süzüldü. Asitten uzaklaştırılan ÇDKNT örneği 24 saat boyunca 60 °C'de etüvde ve sonrasında 60 °C'de vakumlu etüvde tutulup kurutuldu (Pehlivan, 2020).

2.2.2 ÇDKNT'lerin Hidroksilasyonu

5 g ÇDKNT ve 0,3 M 60 mL $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 500 mL'lik bir reaksiyon balonuna konulup karışım ultrasonik banyoda 1 saat 30 °C'de tutuldu. Bu karışım daha sonra manyetik karıştırıcıya alınarak üzerine damlatma hunisi ile 240 mL %30'luk H_2O_2 damla damla ilave edildi. Daha sonra 1 saat 30 °C'de ultrasonik banyoda karışım tutuldu. Bu işlemden sonra 12 saat boyunca karışım manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. 12 saat sonunda karışım vakumlu süzme düzeneğinde ilk olarak %5'lik HCl çözeltisi ile birkaç defa yıkandı, sonra pH 7 olana kadar saf su ile yıkanarak süzme işlemi yapıldı. Süzme işlemi sonucunda süzüntü 24 saat boyunca 60 °C'de etüvde tutuldu ve ardından 48 saat boyunca 60 °C'de vakumlu etüvde kurutulmaya bırakıldı. Örnek ÇDKNT-OH olarak adlandırıldı. ÇDKNT'den ÇDKNT-OH sentezine ait reaksiyon Şekil 2.1'de verilmektedir (Gao, Yu, Zhou ve Jiang, 2017; Yanmaz, Doğan ve Turhan, 2021).

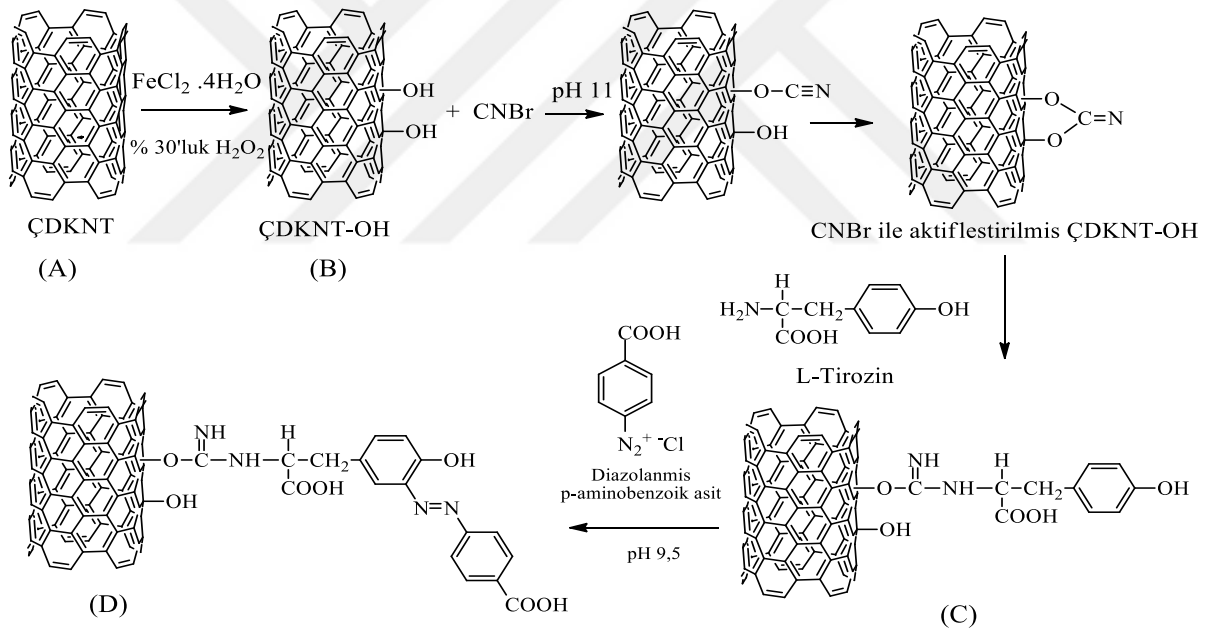
2.2.3 ÇDKNT-O-L-Tirozin Sentezi

5 g ÇDKNT-OH örneği tartılarak 250 mL'lik reaksiyon balonuna konuldu ve üzerine 100 mL saf su eklendi. Daha sonra bu karışıma buz banyosu içerisinde 2 g toz haline getirilmiş CNBr eklenerek ultrasonik banyoda 30 dakika tutuldu. Bu işlemden sonra karışım manyetik karıştırıcı üzerinde 1 saat karıştırılmaya bırakıldı. pH metre ile karışımın pH'sı 4 M NaOH çözeltisi kullanılarak pH 11'e çıkarıldı ve reaksiyon süresince yaklaşık 20 °C'de pH sabit tutuldu. pH ayarlaması yapıldıktan sonra karışım 24 saat boyunca buzdolabında bekletildi. Karışım vakumlu süzme düzeneğinde süzüldü. Süzüntü 0,1 M 250 mL soğuk NaHCO_3 tampon çözeltisi (pH=10) ile defalarca yıkanarak karışım bir beher içerisine alındı. Yıkanan karışım aynı tampon çözeltisi içerisinde saklandı. Aynı tamponun 50 mL'sinde 200 mg L-tirozin çözüldü ve CNBr ile aktive edilmiş örnek beherine eklendi. Karışım 4 °C'de 16 saat boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Reaksiyon sonunda reaksiyona girmeyen L-

tirozin, bol miktarda saf su ile yıkanarak uzaklaştırıldı. Tirozin bağlı filtrat, 40 mL 0,2 M NaHCO_3 tamponuna ilave edildi. ÇDKNT-OH'dan ÇDKNT-O-L-Tirozin sentezine ait reaksiyon Şekil 2.1'de verilmektedir (Whitney, 1974; Doğan vd., 2005).

2.2.4 ÇDKNT-O-L-Tirozin-p-aminobenzoik Asit Sentezi

75 mg 4-aminobenzoik asit, 0 °C'de 30 mL 1 M HCl içerisinde çözüldü. 0 °C'de 15 mL 1 M HCl ve 225 mg NaNO_2 içeren çözelti, inhibitör çözeltisine damla damla ilave edildi. 10 dakikalık reaksiyondan sonra diazolanmış inhibitör, 40 mL ÇDKNT-O-L-Tirozin karışımına eklendi. 1 M NaOH ile pH 9,5'te tutularak oda sıcaklığında 3 saat boyunca yavaşça karıştırıldı. 1 L saf su ve 200 mL 0,05 M Tris- SO_4 (pH=7,4) tamponu ile yıkandı. Daha sonra bir miktar aynı tampon içerisinde buzdolabında muhafaza edildi. ÇDKNT-O-L-Tirozin-p-aminobenzoik asit sentezine ait reaksiyon Şekil 2.1'de verilmektedir (Whitney, 1974; Doğan vd., 2005).



Şekil 2.1: ÇDKNT'den ÇDKNT-O-L-tirozin-p-aminobenzoik asit sentezi.

2.2.5 Çözücü Yöntemi ile ÇDKNT örneklerinin Li-doplanması

ÇDKNT örneklerinin Li-doplama işlemi çözücü yöntemi ile gerçekleştirildi. Li-doplamak için ÇDKNT (A) ve modifiye ÇDKNT örnekleri (B, C, D) 1 g tartıldı. Tartılmış olan örneklerin içerisine 0,1 M 50 mL LiCl çözeltisinden ilave edildi. Daha sonra bu karışımlar 24 saat manyetik karıştırıcıda tutuldu. 24 saat reaksiyon sonunda karışımlar vakumlu süzme

düzeneginde 5 kez saf su ile yıkandı. Yıkama işleminden sonra vakumlu etüvde 100 °C’de 24 saat kurutuldu (Turhan vd., 2010, 2013a ve b).

2.2.6 Hidrotermal Yöntemle ÇDKNT örneklerinin Li-doplanması

ÇDKNT örneklerinin Li-doplama işlemi hidrotermal yöntem ile teflon ve/veya paslanmaz çelik reaktörlerde gerçekleştirildi. Li-doplamak için ÇDKNT (A) ve modifiye ÇDKNT örnekleri (B, C ve D) 105 °C’de 24 saat kurutuldu. Kurutulan ÇDKNT örnekleri reaktör içerisindeki 0,1 M 50 mL LiCl sulu çözeltisine ilave edildi. Doplama işlemi 160 °C’de 6 saat süreyle reaktör içerisinde kendiliğinden oluşan basınç altında gerçekleştirildi. Doplama işleminden sonra reaktörün oda sıcaklığına gelmesi için beklenildi. Reaktörden alınan doplanmış ÇDKNT örnekleri süzme işleminden sonra birkaç kez saf su ve etanol ile yıkandıktan sonra 24 saat 60 °C’de kurutuldu (Sun vd., 2017; Minoda, Oshima, Iki, Akiba, 2014).

2.3 Karakterizasyon İçin Kullanılan Cihazlar

ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış modifiye ÇDKNT’lerin karakterizasyonu BET, FTIR, DTA/TG ve SEM cihazları kullanılarak karakterize edilmiştir. Örneklerin hidrojen depolama özellikleri Hiden IMI PSI gaz depolama cihazı ve enzim aktiviteleri PerkinElmer Lamda 25 UV-Visible spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir.

2.3.1 BET Yüzey Alanı Tayin Cihazı

ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin BET yüzey alanı ölçümleri ve gözenek boyutu dağılımları Quantachrome Nova 2200e serisi BET yüzey alanı tayin cihazı kullanılarak sıvı azot ortamında (77 K) saf azot gazının adsorbat olarak kullanılması ile gerçekleştirilmiştir. Örnekler analiz öncesi 105 °C’de 20 saat degaz edilmiştir.

2.3.2 FTIR Cihazı

ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin FTIR spektrum analizleri PerkinElmer Spektrum 100 cihazı ile KBr pellet hazırlanarak 4000-450 cm^{-1} dalga boyu aralığında alınmıştır.

2.3.3 DTA/TG Analizi

ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin termal özellikleri PerkinElmer Diamond DTA/TG cihazı ile 20 °C/dk sıcaklık artış hızında ve azot atmosferinde 30-1200 °C sıcaklık aralığında gerçekleştirilmiştir.

2.3.4 SEM Analizi

ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin SEM görüntüleri ZEISS EVO LS 10 model taramalı elektron mikroskobu cihazı ile alınmıştır.

2.3.5 Hidrojen Depolama Analizi

ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasiteleri Hiden IMI PSI cihazı kullanılarak basıncın bir fonksiyonu olarak oda ve kriyojenik sıcaklıklarda ölçülmüştür.

2.3.6 Enzim Aktivite Ölçüm Analizi

Enzim aktivite ölçümleri PerkinElmer Lamda 25 UV-Visible spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür.

2.4 Polifenol oksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Aktivite Ölçümleri

2.4.1 Ham Ekstraktın Hazırlanması

Salvia aethiopis L. bitkisinin yaprak ve çiçek kısmı ham ekstrakt için -80 °C'de bekletildi. Bitki örnekleri ekstraksiyon işleminden önce selüloz liflerini parçalamak amacıyla sıvı azot ile muamele edildi. Ham ekstraktı hazırlamak için, 10 g bitki örnekleri sıvı azot ile muamele edildi. Daha sonra pH'sı 6,5 olan 0,1 M 50 mL fosfat tamponu içinde bir Warning Blender kullanılarak 2 dakika süre ile homojenize edildi. Homojenize edilen ham ekstrakt bir tülbent yardımıyla süzüldü. Süzüntü +4 °C'de 15 000 x g'de 10 dakika santrifüj edildi ve ham ekstrakt hazırlanmış oldu (Doğan vd., 2005).

2.4.2 Amonyum Sülfat Çöktürmesi

Ham bitki ekstraktı aşağıdaki formül kullanılarak amonyum sülfat ile % 70'lik doygunluğa getirmek için ilave edilmesi gereken katı amonyum sülfat miktarı hesaplandı.

$$g [(NH_4)_2SO_4] = \frac{1.77 \cdot V \cdot (S_2 - S_1)}{3.54 - S_2} \quad (2.1)$$

Burada V, süpernatantın hacmi; S₁, 1'in kesri şeklinde mevcut amonyum sülfat doygunluğu ve S₂, 1'in kesri şeklinde istenilen amonyum sülfat doygunluğudur. Eşitlik 2.1'de verilen denklemden amonyum sülfat miktarı belirlendikten sonra manyetik karıştırıcı üzerinde ham ekstrakta yavaş yavaş ve azar azar amonyum sülfat eklenerek çözüldü. % 70 doygunluğa getirilen süspansiyon +4 °C'de 15 000 x g'de 1 saat santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra tüplerin üzerindeki sıvı kısımlar atılarak katı çökelek elde edildi (Arslan vd., 2004).

2.4.3 Diyaliz

Amonyum sülfat çöktürmesi ile elde edilen katı çökelek 0,1 M fosfat tamponunun (pH=6,5) küçük miktarında çözüldü ve daha sonra tampon çözeltisinin 3 kez değiştirilmesi ile 24 saat süre için 0,05 M fosfat tamponuna karşı (pH=6,5) diyaliz edildi. Diyaliz işlemi +4 °C’de manyetik karıştırıcı üzerinde gerçekleştirildi (Doğan ve Doğan, 2004).

2.4.4 Afinite Kromatografisi

Polifenol oksidaz enziminin saflaştırılması için uygulanan metotlardan birisi de afinite kromatografisidir. Bu kromatografi, bir çeşit adsorpsiyon kromatografisidir. Ayrıca saflaştırılması istenen molekülün veya biyolojik ünitenin matriks adı verilen ve çözünmeyen bir kolon maddesine kovalent olarak immobilize edilmiş bir liganda spesifik ve tersinir olarak bağlandığı bir tekniktir. Afinite kromatografisi tekniği sayesinde, zor ve bazı hallerde imkansız olan bir çok ayırma işlemleri kısa zamanda gerçekleşmektedir (Cuatrecasas, 1970). Şekil 2.1’deki gibi sentezlenen D bileşiği afinite kromatografisinde dolgu matriksi olarak kullanılmıştır. Bu matrikste tirozin afinite jelinin uzantı kolunu oluştururken, p-aminobenzoik asit ise enzimi spesifik bağlayan kısmını oluşturmaktadır. PPO enziminin spesifik bir inhibitörü olan p-aminobenzoik asit, afinite jelinin yapısına girerek PPO’nun yüksek oranda saflaştırılmasında kullanılmıştır (Arslan vd., 2004). Afinite matriksi sıcaklığı sabit tutmak için Sigma marka çift jeketli bir kolona paketlenmiştir. pH’sı 5 olan 0,05 M fosfat tamponu ile üstten ilave edilen ve alttan toplanan tamponun 280 nm’de absorbansları 0,002 oluncaya kadar yıkanarak dengeleme sağlanmıştır. Dengeleme işlemi bittikten sonra diyalizden alınan enzim çözeltisi kolona yüklenmiş ve 0,05 M fosfat tamponu (pH:5) ile yıkanarak polifenol oksidaz enziminin büyük bir kısmının afinite matriksine bağlanması sağlanırken diğer safsızlıklar da ortamdan uzaklaştırılmıştır. Son olarak 0,05 M pH:7 tamponu ile enzim elüsyonu yapılarak 2 mL’lik epondorflara toplanmıştır. Toplanan elüatlarda protein tayini ve enzim aktivitesi ölçülerek spesifik aktivite, verim ve saflaştırma oranı belirlenmiştir.

Yukarıdaki yöntemlerle saflaştırılmış enzimin spesifik aktivitesi, verimi ve saflaştırma oranları aşağıdaki denklemler kullanılarak belirlenmiştir.

$$\text{Spesifik aktivite} = \frac{\text{Konsantre enzimin toplam aktivitesi (EU)}}{\text{Toplam protein (mg)}} \quad (2.2)$$

$$\text{Saflaştırma oranı} = \frac{\text{Konsantre enzimin spesifik aktivitesi (EU/mg)}}{\text{Ham enzimin spesifik aktivitesi (EU/mg)}} \quad (2.3)$$

2.4.5 Polifenol oksidaz Enziminin Aktivite Ölçümü

Enzim aktivitesi, spektrofotometre yardımıyla ilgili ürünün absorbansındaki artma ölçülerek belirlenmektedir. Bir enzim ünitesi dakikada absorbansta meydana gelen 0,001'lik artış olarak tanımlanmıştır. Safılaştırılmış ve immobilize edilmiş enzimler için K_m (Michaelis sabitleri) ve V_{max} değerleri optimum pH ve sıcaklık değerlerinde farklı konsantrasyonlarda katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratlarının kullanılmasıyla Lineweaver-Burk denkleminden hesaplanmıştır (Doğan, Turan ve Doğan, 2006).

2.4.6 Enzim Aktivitesine pH'ın Etkisi

PPO'nun aktivite gösterdiği optimum pH değerlerini belirlemek amacıyla katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratları kullanıldı. Optimum pH değerlerini belirlerken farklı pH'larda tamponlar hazırlandı. pH 4 ila 6 aralığında 0,1 M asetat tamponu ve pH 6 ila 9 aralığında 0,1 M fosfat tamponu kullanılarak incelendi. Tampon çözeltiler hazırlanırken pH'ları 0,1 M NaOH ve HCl çözeltileri ile ayarlandı. Enzim aktivite ölçümleri katekol ve 4-metilkatekol substratları için 420 nm'de, pirogallol için 320 nm'de 2 dakika süre ile absorbanstaki artış ölçüldü. Reaksiyon 1 cm ışık yollu bir kuvartz küvetin içinde gerçekleştirildi. Kuvartz küvet içerisinde her ölçüm için toplam hacim 3 mL olarak sabit tutuldu. Her substrat için optimum aktivite gösteren pH bulunduğundan sonra bulunan pH'lar ile optimum aktivite gösteren sıcaklıklar belirlenmeye çalışıldı (Doğan, Arslan ve Doğan, 2002).

2.4.7 Enzim Aktivitesine Sıcaklığın Etkisi

PPO'nun aktivite gösterdiği optimum sıcaklığı belirlemek için 10-50 °C sıcaklık aralığında UV-Visible spektrofotometreye sıcaklığı sabit tutmak için peltier sistemi bağlayarak ve substrat olarak katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol kullanılarak ölçüldü. Reaksiyonun gerçekleştirilmesi için kullanılan kuvartz küvetin sıcaklığı ayarlanılan sıcaklığa geldikten sonra enzim çözeltisi eklendi. Her ölçüm için kuvartz küvete konulan enzim, tampon ve substratın toplam hacmi 3 mL olacak şekilde sabit tutuldu (Turan, 2005).

2.4.8 Enzim Kinetiği

PPO enzimi için optimum pH ve sıcaklıklar bulunduğundan sonra bu pH ve sıcaklıkta katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratları için enzimin kinetik parametreleri Lineweaver-Burk denkleminden belirlendi (Doğan vd., 2008).

2.4.9 Salvia aethiopsis L. Bitkisinin Protein Tayini

Salvia aethiopsis L. bitki ekstraktının protein içeriği, standart olarak bovin serum albumin kullanılarak Bradford yöntemine göre tayin edildi. Bu yöntem esas olarak fosforik asitli ortamda proteinlerin Coomassie Brilliant-Blue G-250 reaktifi ile kompleks oluşturmaya dayanır. Oluşan bu kompleks maksimum absorbanı değeri 595 nm’de göstermektedir. Diğer protein yöntemlerine kıyasla avantajı, çok kısa zamanda uygulanabilmesi, bozucu etkenlerin olmaması ve protein-boya kompleksinin uzun zaman çözeltiilerde kalmasıdır. Yöntemin hassasiyeti 1 ila 100 µg arasındadır. Deneyde kullanılmak üzere 1 mL’inde 1 mg protein içeren standart sığır albumin çözeltisinden farklı tüplere 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 µL alındı. Bu tüplerin içine 5 mM fosfat tamponu (pH=6,5) eklenerek bütün tüplerin hacimleri 0,1 mL’ye tamamlandı ve ardından her bir tüpe 5 mL Coomassie Brilliant-Blue G-250 reaktifinden eklendi. Tüpler vorteks ile karıştırılıp 30 dakika boyunca bekletildi. 30 dakikanın sonunda 595 nm’de 3 mL’lik küvetlerde köre karşı absorbanı değeri ölçüldü. Kör olarak 0.1 mL fosfat tamponu içeren tüp kullanıldı. Hazırlanan enzim çözeltisi 3 farklı tüpe 0,1 mL alınarak üzerlerine 5 mL Coomassie Brilliant-Blue reaktifi eklenip vorteks ile karıştırıldı. 30 dakika boyunca bekletilip 595 nm’de absorbanı ölçümleri alındı. Üç ölçüm sonucunun ortalaması alınarak, bu absorbanı değerine karşılık gelen protein miktarı standart grafik yardımı ile hesaplandı (Şakiroğlu, 1994).

3. BULGULAR

Bu bölümde ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT'lerin karakterizasyonu, hidrojen depolama kapasiteleri ve *Salvia aethiopis* L. bitkisinden elde edilen PPO enziminin saflaştırılmasına ait deneysel bulgular verilmektedir.

3.1 Karakterizasyon

3.1.1 BET Yüzey Alanı Analizleri

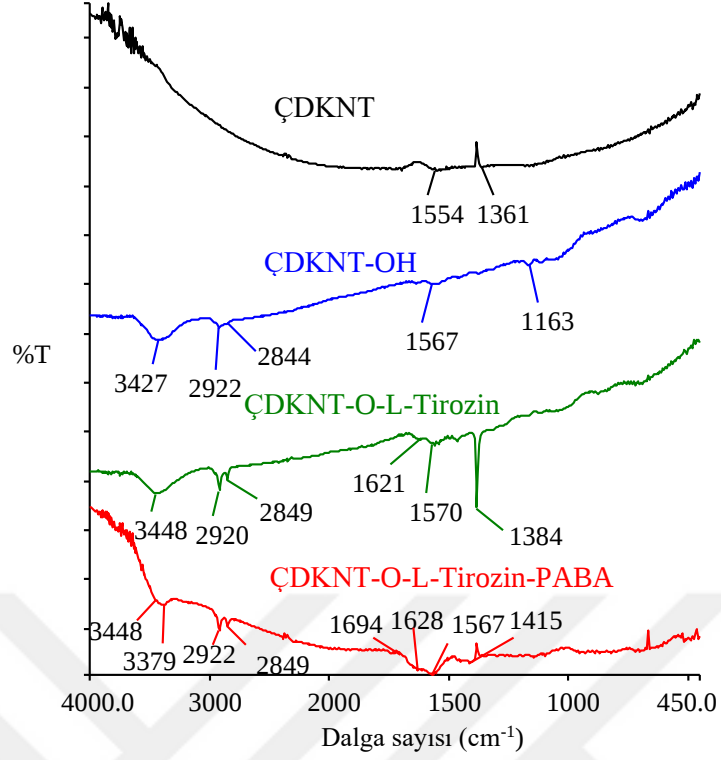
ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış modifiye ÇDKNT'lerin BET yüzey alanı sonuçları, Tablo 3.1'de verilmiştir. Sonuçlar, fonksiyonelizasyon ve doplama ile ÇDKNT'nin BET yüzey alanının azaldığını göstermektedir. Yine tablodan örneklerin mikro gözenek hacmine sahip olmadıkları, makro ve mezo gözenek hacmine sahip oldukları görülmektedir.

3.1.2 FTIR Analizleri

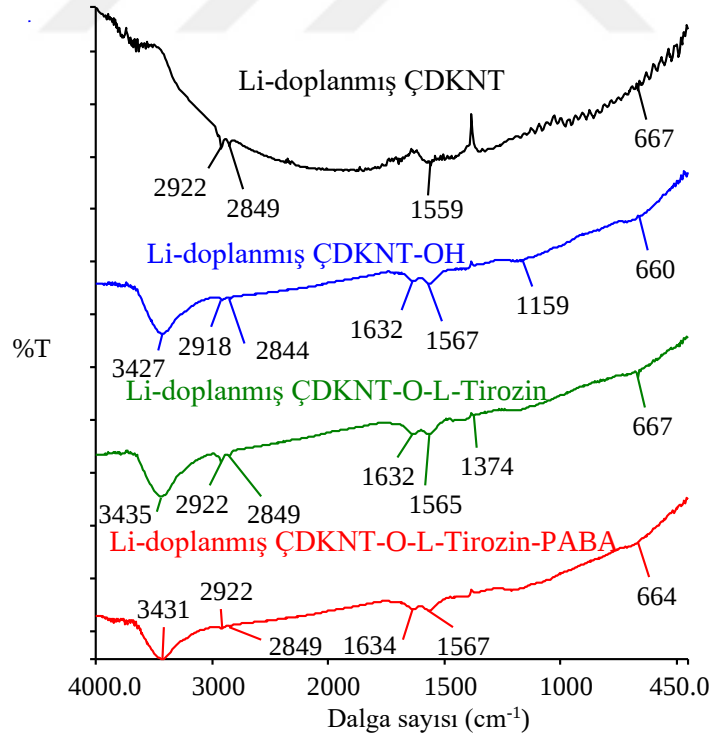
ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT'lerin PerkinElmer spektrum 100 cihazı ile FTIR analizleri KBr pelleti hazırlanarak $4000-450\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında ölçülmüştür. Örneklerin FTIR spektrumları Şekil 3.1, 3.2 ve 3.3'te verilmektedir. FTIR spektrumlarına ait sonuçlar incelendiğinde fonksiyonelizasyonla ÇDKNT örneklerinin bandlarında kaymaların ve yeni fonksiyonel gruplara ait bandların meydana geldiği görülmektedir. Ayrıca Li-doplama ile de Lityuma ait karakteristik pike rastlanmıştır.

Tablo 3.1: ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin BET ve gözenek boyut analiz sonuçları.

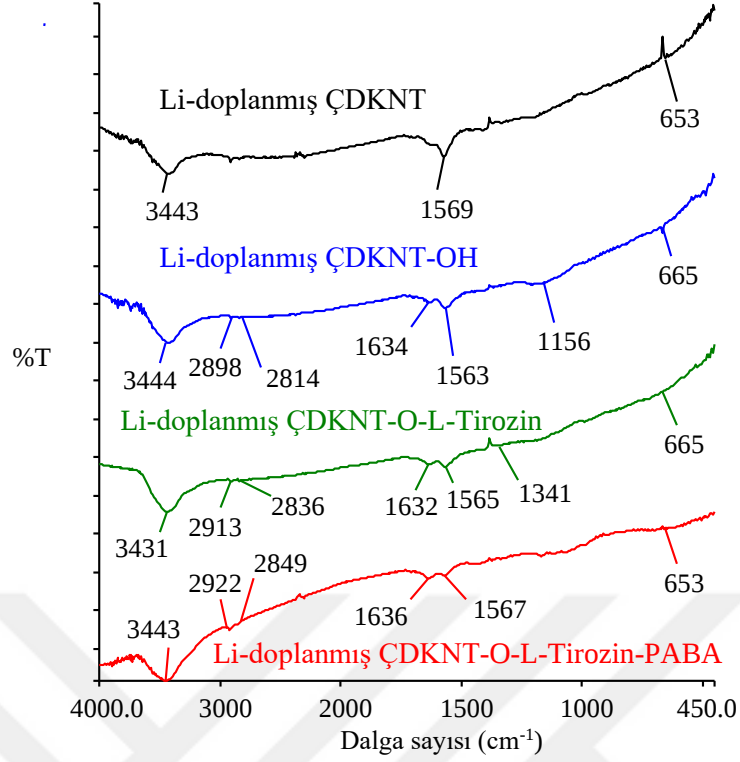
Örnekler	BET yüzey alanı (m ² /g)	Mikro gözenek hacmi (cc/g)	Makro gözenek hacmi (cc/g)	Mezo gözenek hacmi (cc/g)	Toplam gözenek hacmi (cc/g)
ÇDKNT	278	-	0,338	1,114	1,452
ÇDKNT-OH	251	-	0,386	1,220	1,605
ÇDKNT-O-L-Tirozin	214	-	0,237	0,921	1,158
ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA	200	-	0,184	0,715	0,898
Li-doplanmış ÇDKNT (Çözücü)	266	-	0,211	0,920	1,131
Li-doplanmış ÇDKNT-OH (Çözücü)	248	-	0,338	1,001	1,338
Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin (Çözücü)	239	-	0,221	0,870	1,091
Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA (Çözücü)	241	-	0,307	0,931	1,238
Li-doplanmış ÇDKNT (Hidrotermal)	256	-	0,515	1,113	1,628
Li-doplanmış ÇDKNT-OH (Hidrotermal)	239	-	0,561	1,159	1,720
Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin (Hidrotermal)	228	-	0,360	0,987	1,347
Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA (Hidrotermal)	235	-	0,318	0,961	1,280



Şekil 3.1: ÇDKNT, ÇDKNT-OH, ÇDKNT-O-L-Tirozin ve ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA ait KBr içinde alınmış FTIR spektrumları.



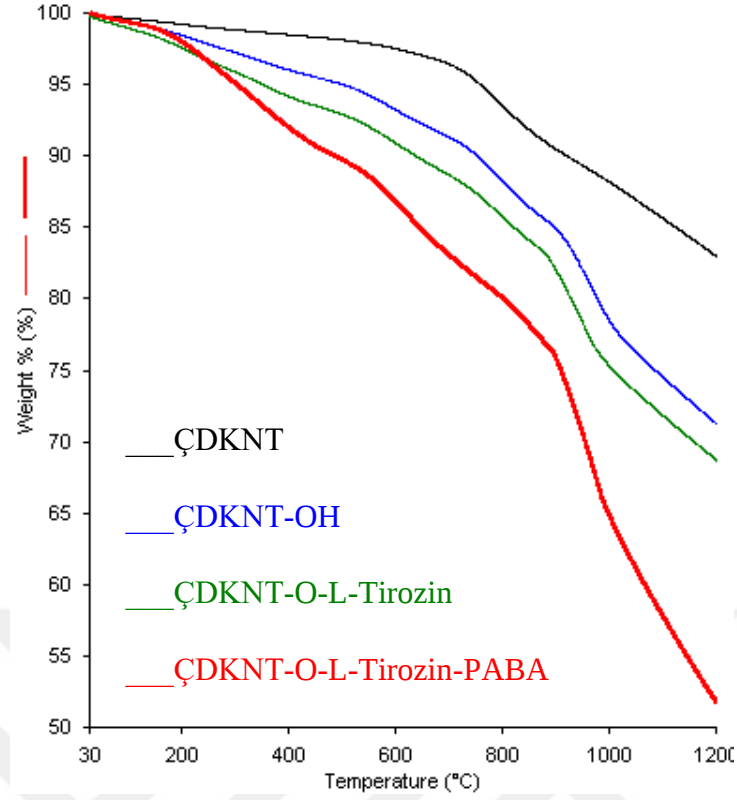
Şekil 3.2: Çözücü yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT, Li-doplanmış ÇDKNT-OH, Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA ait KBr içinde alınmış FTIR spektrumları.



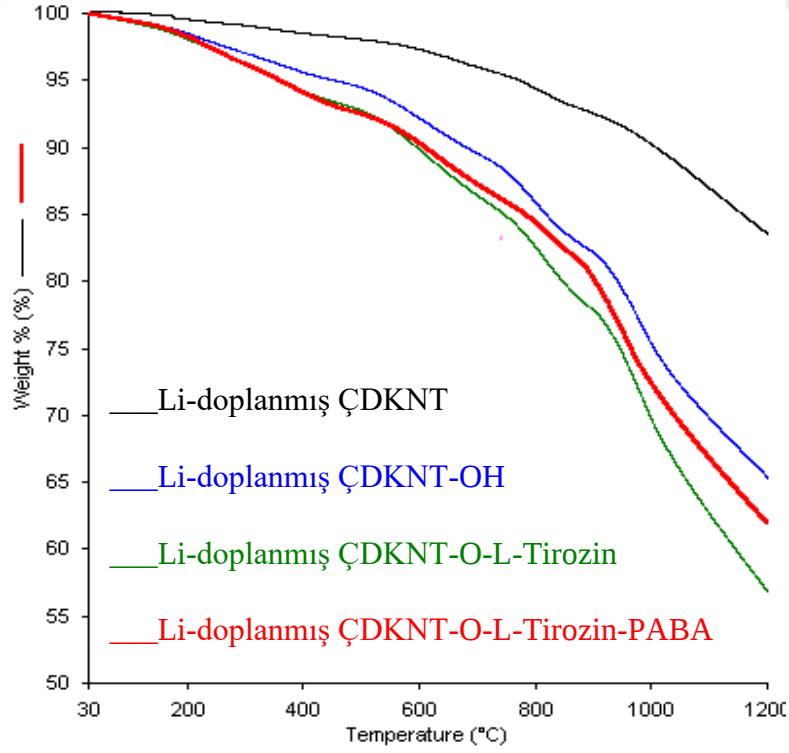
Şekil 3.3: Hidrotermal yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT, Li-doplanmış ÇDKNT-OH, Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA ait KBr içinde alınmış FTIR spektrumları.

3.1.3 DTA/TG Analizleri

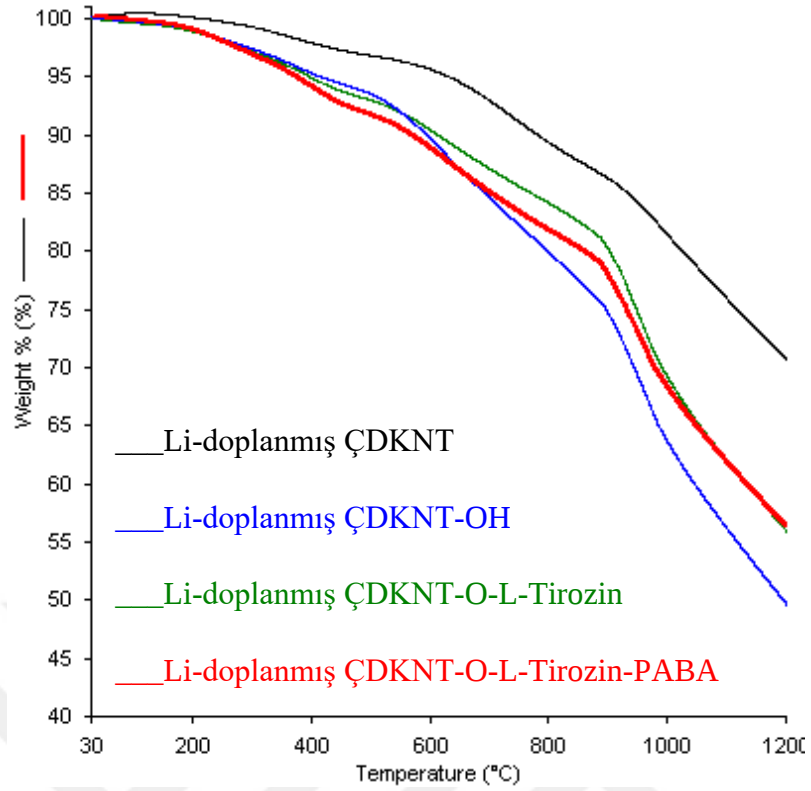
ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT'lerin termal kararlılıkları Perkin Elmer Diamond DTA/TG cihazı kullanılarak 20 °C/dk sıcaklık artış hızında ve azot atmosferinde 30-1200 °C sıcaklık aralığında gerçekleştirilmiştir. Şekil 3.4, 3.5 ve 3.6'da sırasıyla ÇDKNT, fonksiyonelize ÇDKNT, çözücü yöntemi ile Li-doplanmış modifiye ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT ve hidrotermal yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin TG eğrileri verilmektedir. Sonuçlar fonksiyonelizasyon ile ÇDKNT'nin bozunma basamaklarının değiştiğini ve rezidü miktarının azaldığını göstermektedir.



Şekil 3.4: ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lere ait TG eğrileri.



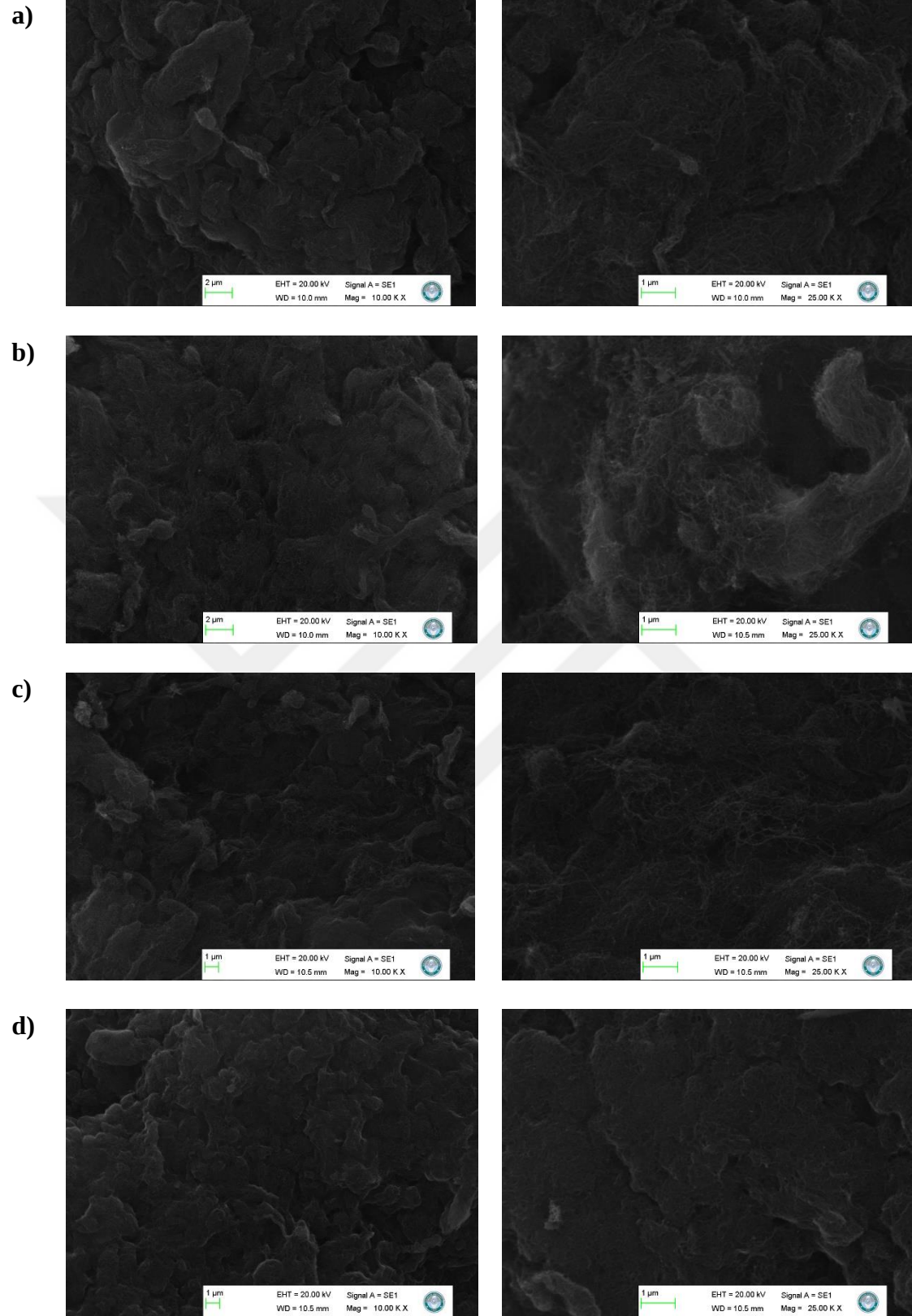
Şekil 3.5: Çözücü yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lere ait TG eğrileri.



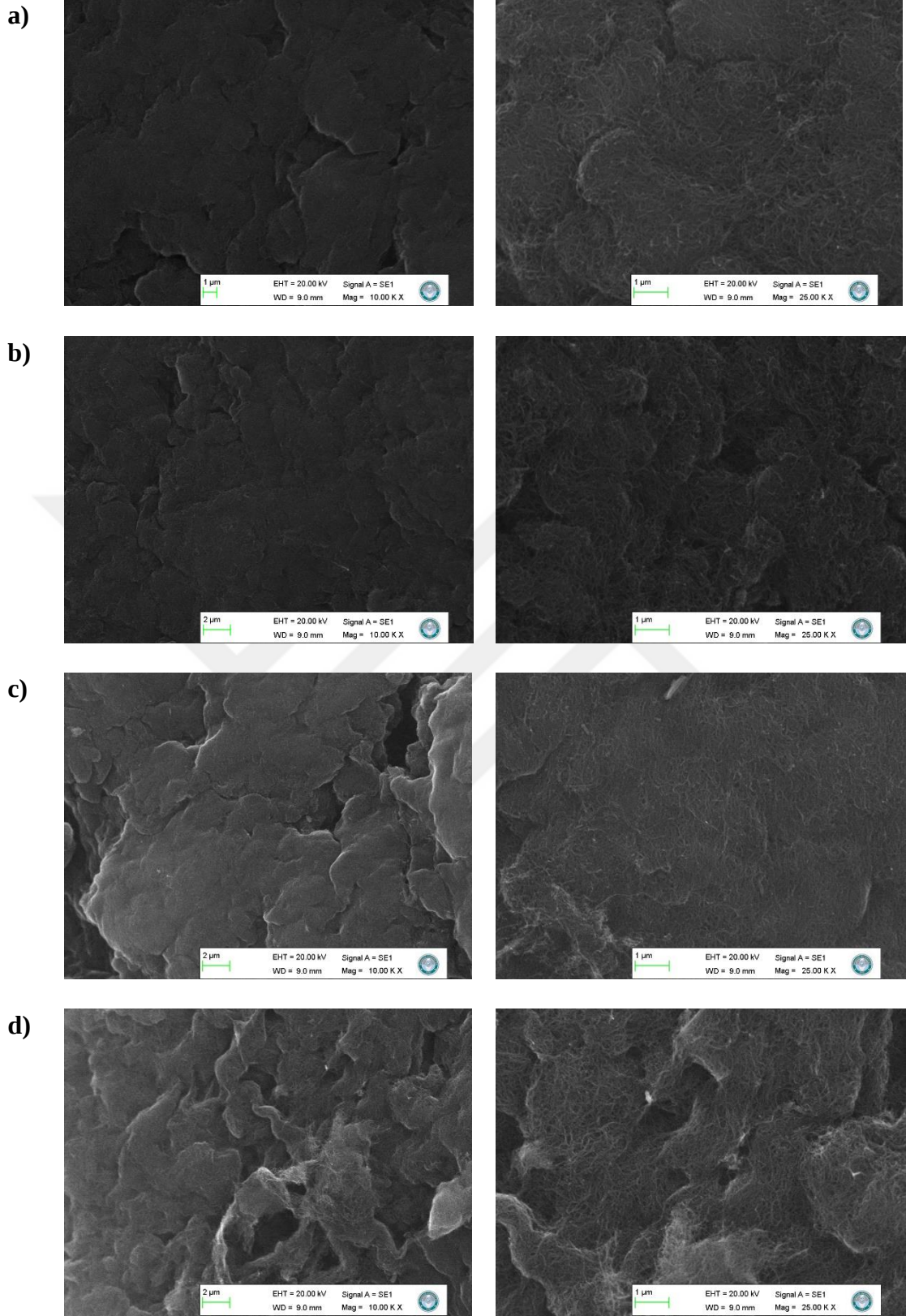
Şekil 3.6: Hidrotermal yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lere ait TG eğrileri.

3.1.4 SEM Analizleri

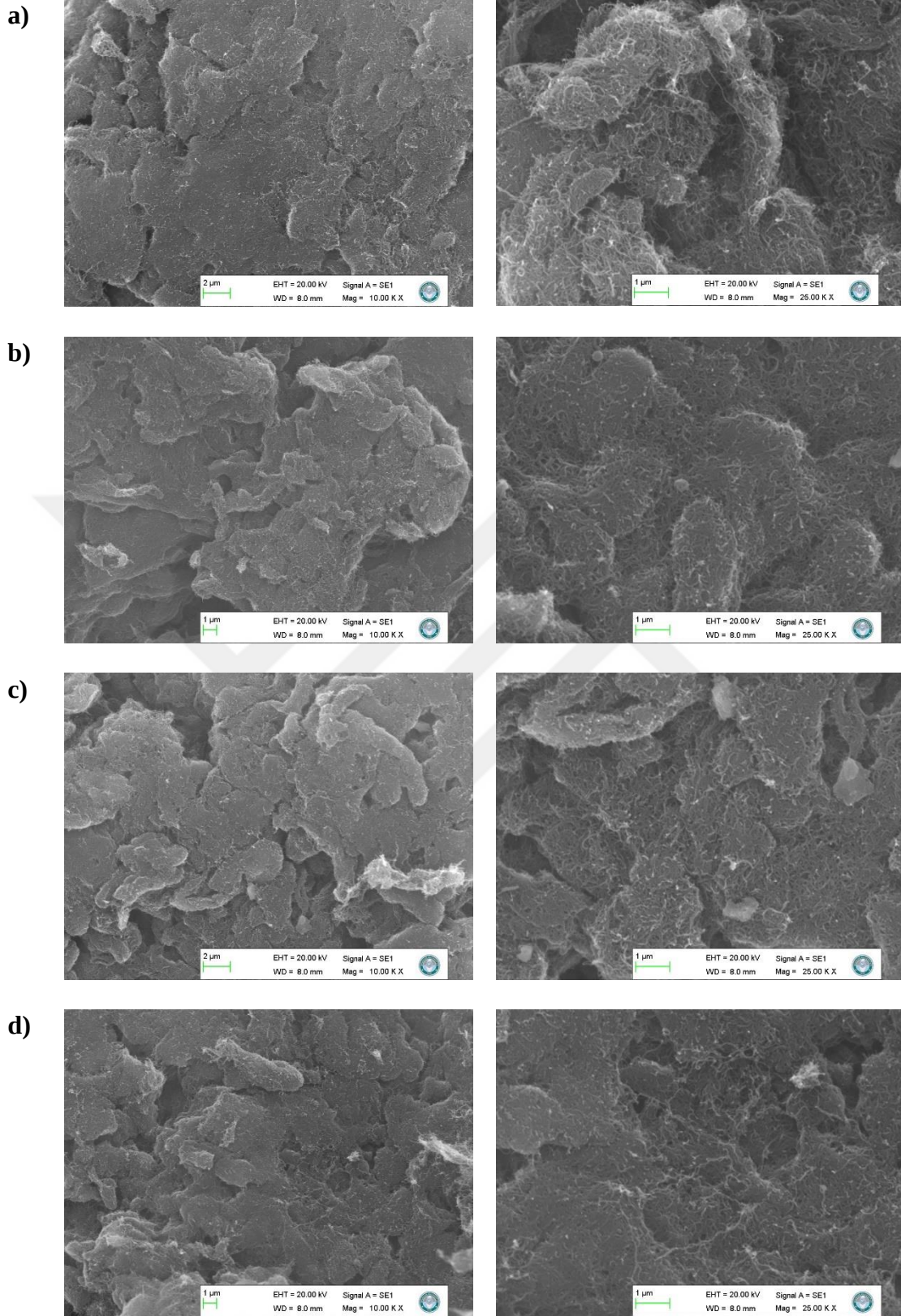
ÇDKNT, fonksiyonelize ÇDKNT, çözücü yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT ve hidrotermal yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin SEM mikrografları Zeiss EVO LS 10 cihazı ile görüntülenmiş ve sırasıyla Şekil 3.7, 3.8 ve 3.9'da verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında fonksiyonelizasyon ve Li-doplama ile ÇDKNT'nin morfolojisinde değişimlerin meydana geldiği görülmektedir.



Şekil 3.7: a) ÇDKNT, b) ÇDKNT-OH, c) ÇDKNT-O-L-Tirozin ve d) ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA ait SEM görüntüleri.



Şekil 3.8: Çözücü yöntemi ile a) Li-doplanmış ÇDKNT, b) Li-doplanmış ÇDKNT-OH, c) Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve d) Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA ait SEM görüntüleri.



Şekil 3.9: Hidrotermal yöntemi ile a) Li-doplanmış ÇDKNT, b) Li-doplanmış ÇDKNT-OH, c) Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve d) Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA ait SEM görüntüleri.

3.1.5 Hidrojen Gazı Depolama Kapasitesi Analizleri

ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin hidrojen depolama kapasiteleri farklı basınç değerlerinde oda ve kriyojenik sıcaklıklarda ölçülmüş ve Tablo 3.2-3.13’de analiz sonuçları verilmiştir. Şekil 3.10-3.12a-b’de farklı basınçlarda ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin oda ve kriyojenik sıcaklıklarda hidrojen depolama kapasiteleri grafik edilmiştir. Şekillerden ÇDKNT’nin hidrojen depolama kapasitesinin fonksiyonelizasyon ve Li-doplama ile genel olarak arttığı görülmektedir.

Tablo 3.2: ÇDKNT’nin hidrojen depolama verileri.

Oda sıcaklığı		Kriyojenik sıcaklık	
Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)
0,01	0	0,01	0
0,06	0	0,02	0,024
0,35	0	0,18	0,096
0,80	0,002	0,47	0,177
1,28	0,003	0,85	0,242
1,78	0,005	1,28	0,293
2,28	0,01	1,73	0,336
3,05	0,013	2,37	0,382
3,93	0,019	3,12	0,42
4,88	0,023	3,96	0,459
5,86	0,032	4,84	0,491
6,84	0,037	5,77	0,522
7,83	0,045	6,72	0,547
8,82	0,052	7,68	0,569
10,35	0,062	8,97	0,596
12,12	0,075	10,50	0,625
14,02	0,088	12,17	0,651
15,96	0,101	13,93	0,671
17,94	0,113	15,78	0,688
21,53	0,137	18,61	0,703
25,86	0,163	22,12	0,711
30,55	0,191	26,07	0,709
35,40	0,221	30,34	0,694
40,33	0,254	34,83	0,683
45,29	0,285	39,46	0,669
52,91	0,328	45,74	0,639
61,77	0,381	53,18	0,647
71,24	0,432	61,47	0,685
80,99	0,48	70,39	0,782
90,85	0,53	79,80	0,971

Tablo 3.3: ÇDKNT-OH'ın hidrojen depolama verileri.

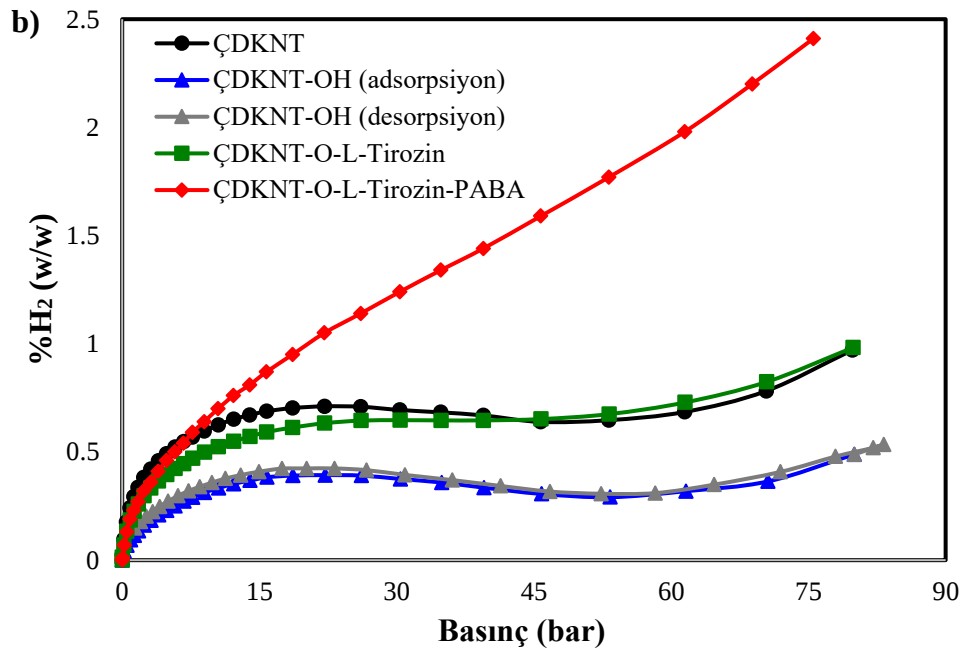
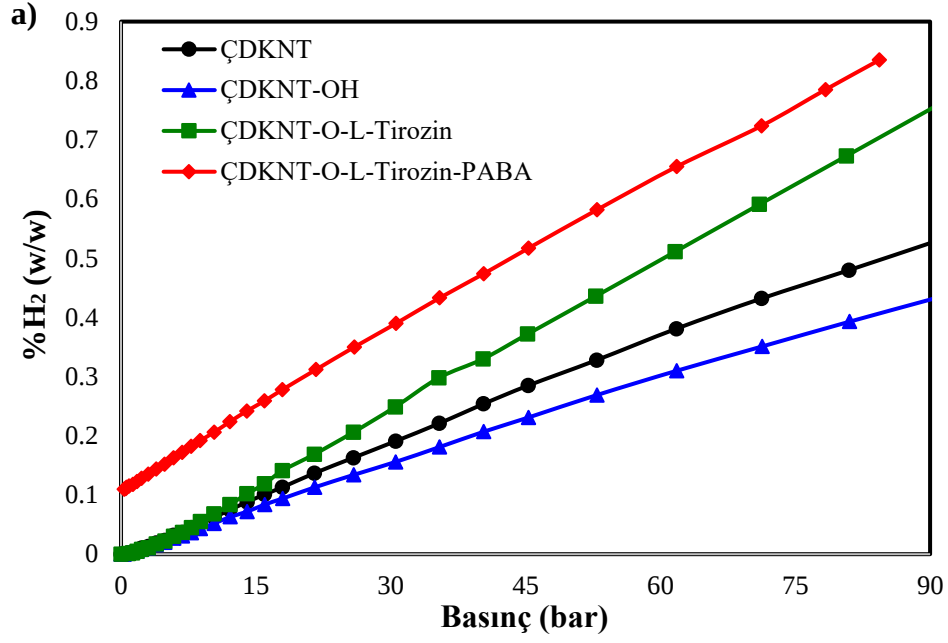
Oda sıcaklığı		Kriyojenik sıcaklık		Desorpsiyon	
Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)
0,01	0	0,01	0	80,03	0,489
0,06	0	0,02	0,019	83,24	0,535
0,35	0	0,21	0,041	82,07	0,519
0,81	0,002	0,53	0,068	77,96	0,479
1,30	0,003	0,92	0,093	71,95	0,408
1,78	0,005	1,34	0,114	64,70	0,349
2,28	0,008	1,79	0,135	58,27	0,31
3,04	0,011	2,42	0,161	52,35	0,307
3,93	0,016	3,17	0,184	46,75	0,317
4,88	0,02	4,00	0,209	41,35	0,343
5,86	0,027	4,88	0,23	36,09	0,37
6,85	0,031	5,80	0,251	30,90	0,394
7,84	0,036	6,74	0,272	26,71	0,416
8,84	0,043	7,71	0,29	23,20	0,424
10,37	0,052	9,00	0,313	20,17	0,424
12,15	0,063	10,53	0,333	17,46	0,423
14,04	0,072	12,20	0,353	14,96	0,409
15,99	0,084	13,97	0,368	12,95	0,393
17,97	0,094	15,82	0,383	11,26	0,377
21,55	0,113	18,66	0,391	9,79	0,358
25,88	0,134	22,17	0,393	8,47	0,339
30,57	0,156	26,14	0,391	7,25	0,32
35,42	0,181	30,42	0,375	6,10	0,297
40,35	0,207	34,91	0,359	5,00	0,272
45,32	0,231	39,56	0,335	4,09	0,248
52,95	0,269	45,85	0,306	3,32	0,224
61,83	0,31	53,32	0,291	2,64	0,203
71,31	0,351	61,64	0,319	1,99	0,178
81,06	0,393	70,58	0,364	1,39	0,148
90,92	0,434	80,03	0,489	-	-

Tablo 3.4: ÇDKNT-O-L-Tirozin'nin hidrojen depolama verileri.

Oda sıcaklığı		Kriyojenik sıcaklık	
Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)
0,01	0	0,01	0
0,06	0	0,02	0,013
0,35	0	0,19	0,07
0,81	0,001	0,49	0,134
1,29	0,002	0,87	0,185
1,79	0,005	1,29	0,225
2,29	0,008	1,74	0,259
3,03	0,011	2,37	0,297
3,92	0,017	3,13	0,333
4,87	0,022	3,97	0,366
5,85	0,03	4,86	0,395
6,84	0,037	5,78	0,423
7,83	0,045	6,73	0,445
8,82	0,055	7,70	0,471
10,34	0,068	8,99	0,499
12,12	0,084	10,51	0,524
14,01	0,102	12,18	0,549
15,97	0,119	13,95	0,571
17,94	0,141	15,80	0,592
21,52	0,169	18,63	0,613
25,84	0,206	22,13	0,633
30,51	0,249	26,09	0,645
35,35	0,298	30,36	0,647
40,28	0,330	34,85	0,646
45,23	0,372	39,48	0,646
52,82	0,436	45,77	0,652
61,62	0,511	53,22	0,675
71,02	0,591	61,52	0,729
80,70	0,673	70,45	0,824
90,50	0,756	79,87	0,982

Tablo 3.5: ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA'nın hidrojen depolama verileri.

Oda sıcaklığı		Kriyojenik sıcaklık	
Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)
0,60	0,113	0,01	0
0,34	0,11	0,03	0,01
0,52	0,111	0,21	0,07
0,88	0,115	0,50	0,13
1,31	0,118	0,86	0,19
1,79	0,123	1,28	0,23
2,27	0,128	1,73	0,27
3,03	0,135	2,36	0,32
3,91	0,144	3,11	0,36
4,86	0,152	3,94	0,41
5,84	0,163	4,82	0,46
6,82	0,172	5,74	0,5
7,81	0,182	6,70	0,54
8,81	0,192	7,66	0,59
10,35	0,206	8,96	0,64
12,13	0,224	10,48	0,7
14,00	0,242	12,15	0,76
15,96	0,259	13,93	0,81
17,95	0,278	15,77	0,87
21,70	0,312	18,60	0,95
25,95	0,35	22,10	1,05
30,60	0,39	26,07	1,14
35,43	0,433	30,33	1,24
40,36	0,474	34,82	1,34
45,32	0,517	39,46	1,44
52,95	0,582	45,75	1,59
61,82	0,655	53,20	1,77
71,27	0,724	61,49	1,98
78,36	0,785	68,84	2,2
84,35	0,835	75,54	2,41



Şekil 3.10: ÇDKNT ve fonksiyonelle ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasiteleri a) oda sıcaklığı ve b) kriyojenik sıcaklık.

Tablo 3.6: Li-doplanmış ÇDKNT (Çözücü)'nin hidrojen depolama verileri.

Oda sıcaklığı		Kriyojenik sıcaklık	
Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)
0,01	0	0,01	0
0,05	0	0,03	0,02
0,39	0	0,20	0,08
0,82	0,003	0,49	0,15
1,29	0,004	0,85	0,21
1,79	0,007	1,28	0,26
2,27	0,011	1,73	0,3
3,04	0,014	2,36	0,35
3,93	0,021	3,11	0,39
4,86	0,026	3,95	0,43
5,84	0,035	4,84	0,46
6,83	0,042	5,76	0,5
7,83	0,049	6,72	0,53
8,82	0,06	7,68	0,56
10,35	0,072	8,97	0,59
12,13	0,088	10,49	0,63
14,02	0,105	12,16	0,66
15,98	0,122	13,93	0,69
17,95	0,141	15,77	0,72
21,53	0,171	18,60	0,76
25,86	0,206	22,11	0,8
30,54	0,243	26,07	0,84
35,39	0,287	30,34	0,86
40,30	0,336	34,82	0,89
45,27	0,366	39,45	0,91
52,89	0,429	45,74	0,95
61,71	0,503	53,18	1,03
71,16	0,581	61,44	1,15
80,87	0,662	70,30	1,38
90,69	0,743	79,63	1,73

Tablo 3.7: Li-doplanmış ÇDKNT-OH (Çözücü)'nin hidrojen depolama verileri.

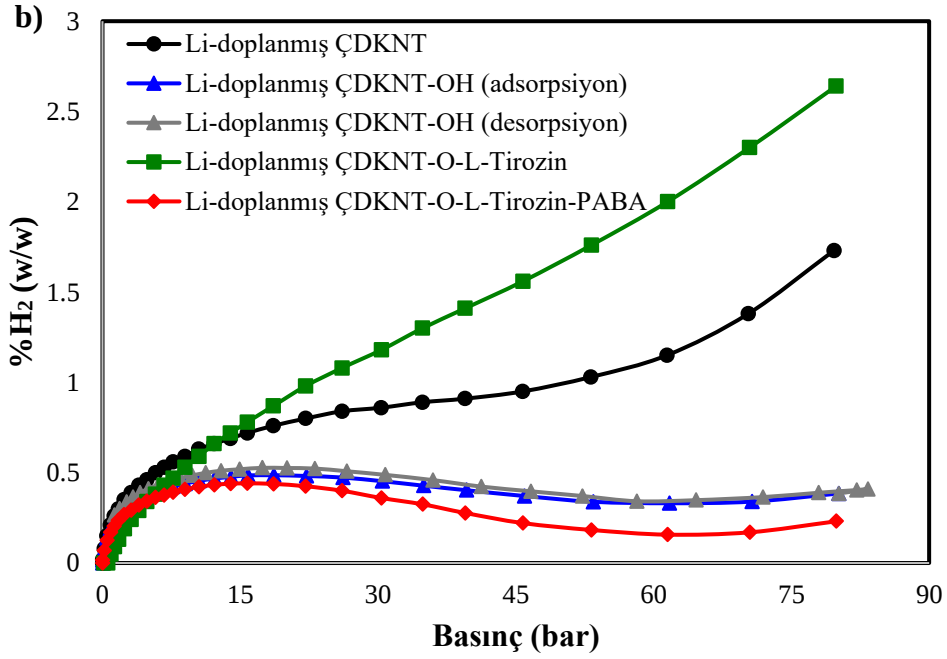
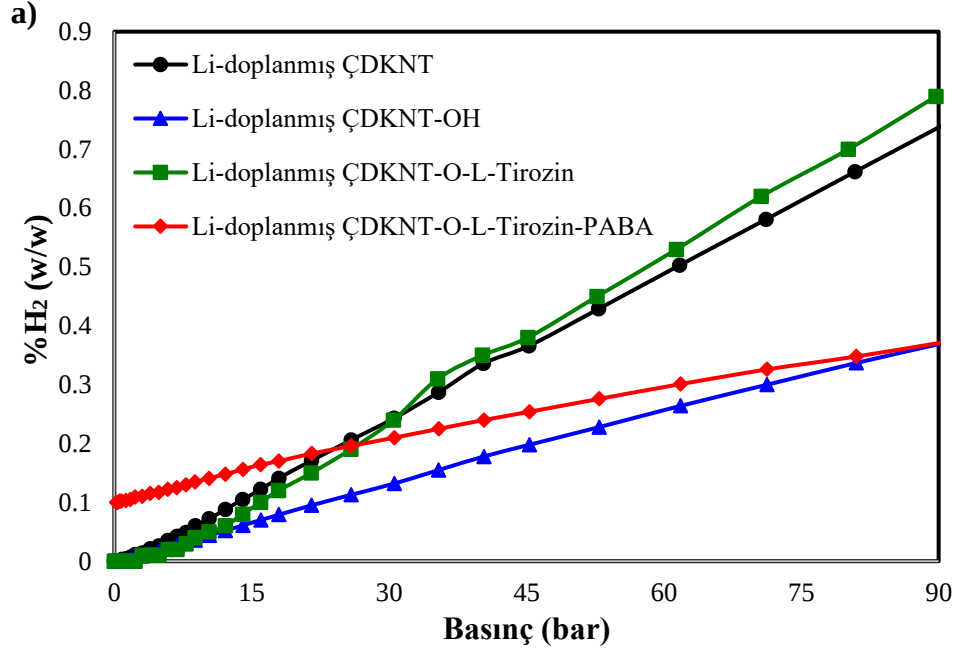
Oda sıcaklığı		Kriyojenik sıcaklık		Desorpsiyon	
Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)
0,01	0	0,01	0	80,17	0,385
0,06	0	0,02	0,015	83,35	0,409
0,11	0	0,18	0,074	82,12	0,404
0,70	0	0,48	0,138	77,96	0,389
1,25	0,002	0,84	0,19	71,91	0,365
1,77	0,004	1,26	0,229	64,62	0,348
2,28	0,007	1,71	0,261	58,18	0,342
3,05	0,009	2,35	0,295	52,25	0,371
3,92	0,013	3,11	0,323	46,65	0,397
4,88	0,017	3,94	0,35	41,26	0,423
5,85	0,022	4,85	0,372	35,99	0,459
6,85	0,026	5,77	0,393	30,79	0,488
7,84	0,03	6,72	0,407	26,62	0,508
8,84	0,036	7,69	0,424	23,12	0,523
10,36	0,044	8,99	0,44	20,10	0,526
12,14	0,052	10,52	0,455	17,40	0,527
14,03	0,061	12,20	0,468	14,92	0,519
15,99	0,07	13,97	0,477	12,91	0,511
17,97	0,079	15,82	0,485	11,23	0,499
21,54	0,095	18,67	0,486	9,76	0,485
25,87	0,113	22,20	0,482	8,45	0,47
30,57	0,132	26,17	0,473	7,23	0,454
35,41	0,155	30,47	0,453	6,08	0,434
40,35	0,178	34,97	0,428	4,99	0,411
45,33	0,198	39,63	0,403	4,09	0,389
52,95	0,228	45,95	0,371	3,32	0,364
61,82	0,264	53,42	0,339	2,64	0,339
71,27	0,3	61,75	0,331	1,85	0,301
81,02	0,337	70,71	0,34	1,32	0,265
90,89	0,372	80,17	0,385	-	-

Tablo 3.8: Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin (Çözücü)'nin hidrojen depolama verileri.

Oda sıcaklığı		Kriyojenik sıcaklık	
Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)
0,01	0	0,11	0
0,06	0	0,12	-0,1
0,11	0	0,28	-0,06
0,70	0	0,56	0
1,23	0	0,91	0,05
1,75	0	1,31	0,09
2,26	0	1,75	0,13
3,03	0,01	2,37	0,19
3,92	0,01	3,13	0,24
4,87	0,01	3,95	0,29
5,85	0,02	4,84	0,34
6,83	0,02	5,76	0,38
7,83	0,03	6,72	0,43
8,82	0,04	7,68	0,47
10,34	0,05	8,97	0,53
12,12	0,06	10,49	0,59
14,00	0,08	12,16	0,66
15,95	0,10	13,93	0,72
17,92	0,12	15,77	0,78
21,50	0,15	18,61	0,87
25,81	0,19	22,12	0,98
30,48	0,24	26,08	1,08
35,30	0,31	30,36	1,18
40,21	0,35	34,84	1,3
45,14	0,38	39,48	1,41
52,70	0,45	45,78	1,56
61,37	0,53	53,23	1,76
70,63	0,62	61,52	2
80,14	0,70	70,45	2,3
89,72	0,79	79,85	2,64

Tablo 3.9: Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA (Çözücü)'nin hidrojen depolama verileri.

Oda sıcaklığı		Kriyojenik sıcaklık	
Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)
0,60	0,102	0,01	0
0,35	0,1	0,03	0,016
0,25	0,1	0,20	0,069
0,75	0,102	0,50	0,126
1,25	0,103	0,87	0,169
1,76	0,105	1,28	0,203
2,26	0,109	1,73	0,235
3,03	0,11	2,36	0,267
3,92	0,115	3,12	0,293
4,87	0,117	3,95	0,32
5,85	0,122	4,84	0,341
6,83	0,125	5,75	0,363
7,82	0,13	6,71	0,376
8,82	0,135	7,68	0,392
10,35	0,141	8,98	0,408
12,13	0,148	10,50	0,421
14,03	0,156	12,16	0,433
15,97	0,164	13,94	0,439
17,95	0,17	15,78	0,441
21,54	0,183	18,61	0,438
25,87	0,196	22,13	0,425
30,57	0,21	26,09	0,4
35,43	0,225	30,36	0,36
40,36	0,24	34,85	0,325
45,33	0,254	39,49	0,277
52,95	0,276	45,79	0,221
61,83	0,301	53,24	0,183
71,28	0,326	61,54	0,157
81,01	0,348	70,47	0,17
90,87	0,373	79,89	0,231



Şekil 3.11: Çözücü yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasiteleri a) oda sıcaklığı ve b) kriyojenik sıcaklık.

Tablo 3.10: Li-doplanmış ÇDKNT (Hidrotermal)'nin hidrojen depolama verileri.

Oda sıcaklığı		Kriyojenik sıcaklık	
Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)
0,01	0	0,01	0
0,06	0	0,03	0,01
0,37	0	0,24	0,04
0,82	0,002	0,56	0,08
1,30	0,002	0,93	0,12
1,78	0,012	1,34	0,16
2,28	0,02	1,79	0,21
3,04	0,026	2,41	0,27
3,92	0,04	3,15	0,32
4,87	0,05	3,98	0,38
5,84	0,064	4,87	0,44
6,84	0,079	5,78	0,5
7,83	0,09	6,72	0,55
8,83	0,109	7,68	0,62
10,35	0,132	8,96	0,69
12,13	0,161	10,49	0,75
14,02	0,189	12,16	0,83
15,97	0,222	13,92	0,89
17,96	0,253	15,76	0,96
21,54	0,302	18,58	1,04
25,87	0,362	22,08	1,12
30,56	0,426	26,03	1,19
35,42	0,499	30,29	1,25
40,35	0,572	34,76	1,31
45,32	0,641	39,39	1,37
52,95	0,75	45,66	1,46
61,81	0,881	53,08	1,61
71,26	1,024	61,33	1,87
81,00	1,173	70,23	2,29
90,86	1,34	79,60	2,85

Tablo 3.11: Li-doplanmış ÇDKNT-OH (Hidrotermal)'nin hidrojen depolama verileri.

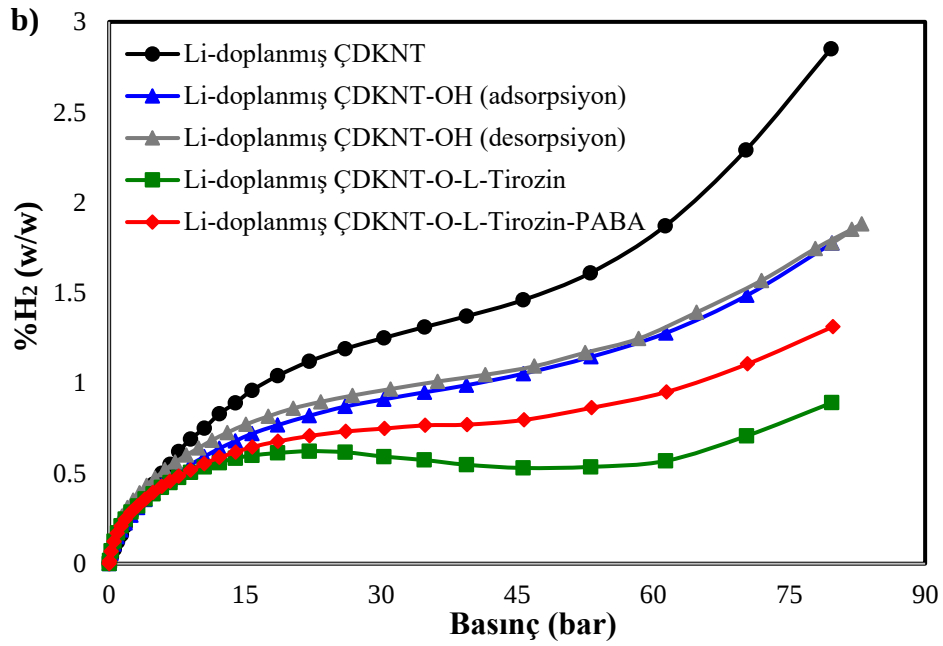
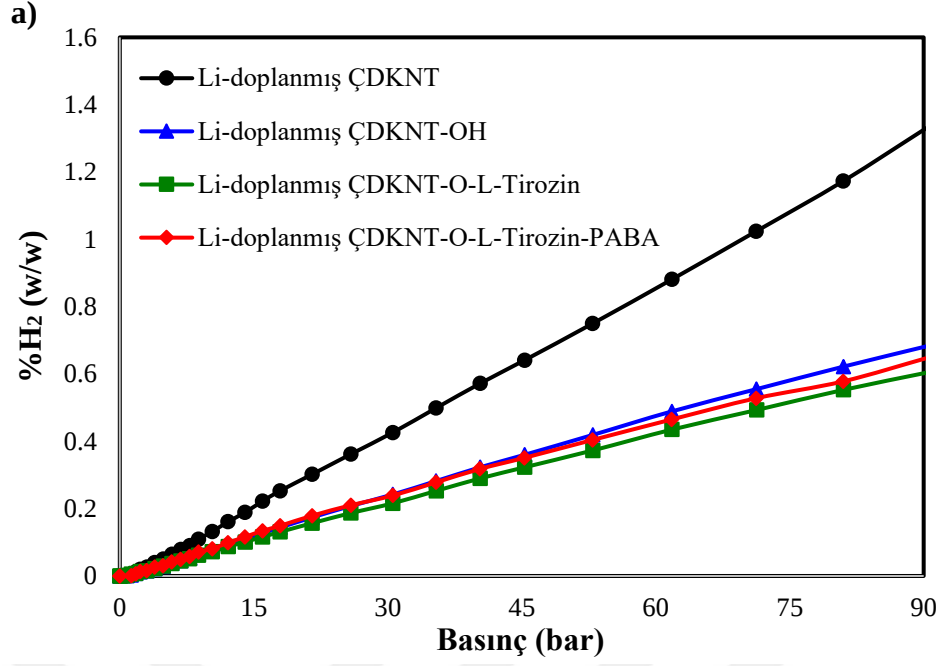
Oda sıcaklığı		Kriyojenik sıcaklık		Desorpsiyon	
Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)
0,01	0	0,01	0	79,74	1,774
0,06	0	0,03	0,014	83,01	1,881
0,38	0	0,23	0,057	81,92	1,851
0,83	0,001	0,53	0,109	77,90	1,745
1,30	0,003	0,90	0,149	71,97	1,568
1,78	0,007	1,32	0,187	64,79	1,391
2,28	0,012	1,77	0,225	58,40	1,246
3,04	0,015	2,40	0,268	52,49	1,168
3,93	0,022	3,15	0,31	46,90	1,093
4,86	0,028	3,97	0,355	41,50	1,046
5,84	0,038	4,86	0,392	36,24	1,009
6,84	0,045	5,77	0,433	31,05	0,967
7,83	0,053	6,71	0,467	26,85	0,931
8,82	0,064	7,68	0,505	23,34	0,896
10,35	0,077	8,97	0,548	20,29	0,86
12,13	0,094	10,49	0,592	17,56	0,816
14,03	0,11	12,16	0,638	15,06	0,771
15,98	0,127	13,92	0,679	13,04	0,726
17,96	0,144	15,76	0,72	11,33	0,683
21,54	0,174	18,59	0,767	9,84	0,64
25,88	0,208	22,09	0,819	8,52	0,601
30,56	0,242	26,04	0,87	7,29	0,562
35,42	0,282	30,31	0,91	6,14	0,519
40,36	0,323	34,79	0,949	5,04	0,473
45,32	0,36	39,42	0,988	4,13	0,432
52,95	0,419	45,70	1,052	3,35	0,392
61,82	0,489	53,13	1,145	2,66	0,352
71,29	0,555	61,41	1,277	2,01	0,311
81,03	0,622	70,33	1,485	1,42	0,263
90,90	0,686	79,74	1,774	-	-

Tablo 3.12: Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin (Hidrotermal)'nin hidrojen depolama verileri.

Oda sıcaklığı		Kriyojenik sıcaklık	
Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)
0,01	0	0,01	0
0,06	0	0,03	0,018
0,39	0	0,23	0,071
0,84	0,002	0,54	0,125
1,30	0,005	0,91	0,17
1,79	0,007	1,32	0,209
2,28	0,013	1,77	0,246
3,05	0,015	2,39	0,286
3,94	0,022	3,14	0,32
4,89	0,029	3,97	0,358
5,85	0,037	4,86	0,387
6,84	0,044	5,77	0,422
7,82	0,051	6,71	0,449
8,82	0,062	7,67	0,477
10,34	0,072	8,96	0,506
12,13	0,087	10,48	0,535
14,03	0,101	12,15	0,559
15,99	0,116	13,92	0,584
17,97	0,131	15,75	0,599
21,55	0,157	18,57	0,613
25,89	0,187	22,07	0,623
30,58	0,216	26,02	0,617
35,44	0,253	30,29	0,593
40,37	0,29	34,76	0,574
45,34	0,323	39,39	0,548
52,97	0,373	45,67	0,53
61,83	0,435	53,10	0,536
71,30	0,493	61,37	0,569
81,04	0,553	70,29	0,707
90,91	0,607	79,70	0,891

Tablo 3.13: Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA (Hidrotermal)'nin hidrojen depolama verileri.

Oda sıcaklığı		Kriyojenik sıcaklık	
Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)	Basınç (mbar)	%H ₂ (w/w)
0,01	0	0,01	0
0,06	0	0,03	0,014
0,38	0	0,22	0,067
0,81	0	0,53	0,122
1,28	0,001	0,90	0,168
1,78	0,006	1,32	0,208
2,28	0,013	1,76	0,244
3,02	0,016	2,39	0,283
3,91	0,026	3,14	0,32
4,85	0,03	3,97	0,357
5,82	0,042	4,85	0,393
6,81	0,049	5,78	0,427
7,81	0,058	6,72	0,456
8,81	0,071	7,68	0,485
10,35	0,081	8,98	0,518
12,13	0,099	10,50	0,554
14,02	0,116	12,17	0,588
15,97	0,134	13,94	0,617
17,95	0,149	15,78	0,646
21,52	0,179	18,62	0,677
25,86	0,21	22,12	0,707
30,55	0,239	26,08	0,732
35,39	0,278	30,35	0,748
40,32	0,318	34,84	0,766
45,30	0,351	39,47	0,77
52,92	0,404	45,76	0,796
61,79	0,465	53,20	0,863
71,25	0,528	61,49	0,951
80,98	0,578	70,41	1,106
90,82	0,651	79,82	1,312



Şekil 3.12: Hidrotermal yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasiteleri a) oda sıcaklığı ve b) kriyojenik sıcaklık.

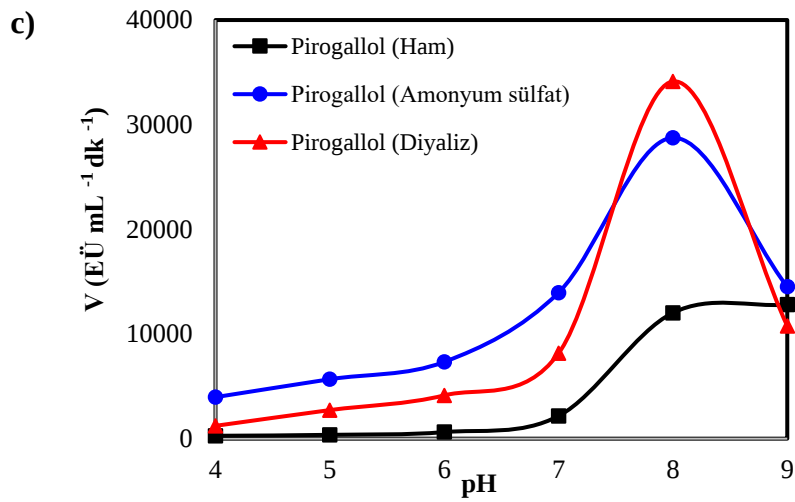
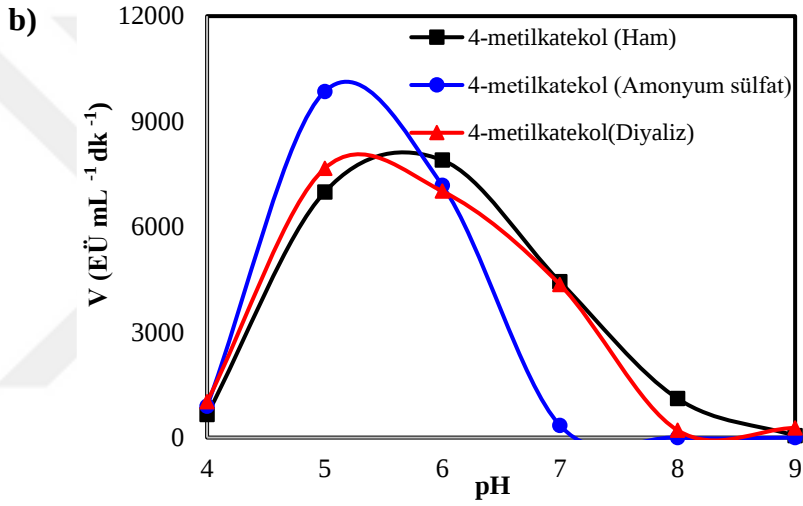
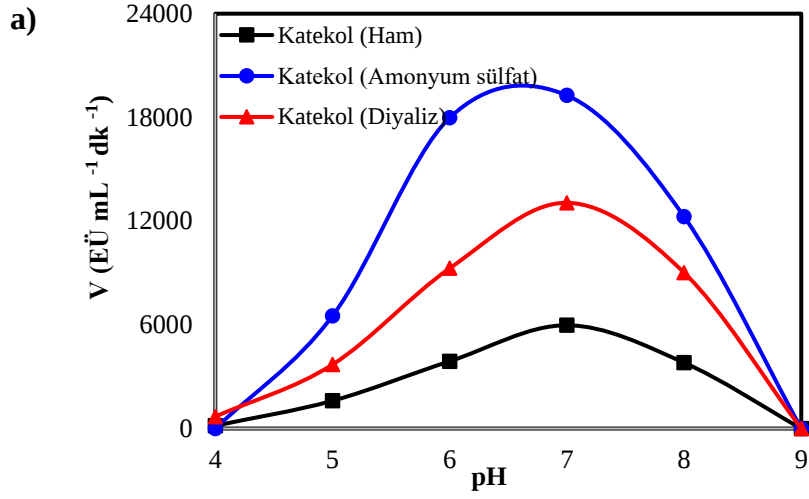
3.2 PPO Karakterizasyonu ve Saflaştırması

3.2.1 Optimum pH

Salvia aethiopis L. bitkisinin yaprak ve çiçek kısımlarından farklı saflaştırma prosesleri ile elde edilen polifenol oksidaz enziminin optimum pH değerleri katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratları kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen deneysel veriler Tablo 3.14-3.15’de verilmiştir. Şekil 3.13a-c’de *Salvia aethiopis* L. bitkisinin yaprağından ekstrakte edilen ham enzim, amonyum sülfatla saflaştırılmış enzim ve diyalizle saflaştırılmış enzim çözeltilerinin katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratları için aktivite-pH değişim grafiklerini göstermektedir. Şekil 3.14a-c ise çiçeğinden elde edilen enzim çözeltilerinin aktivite-pH grafiklerini göstermektedir.

Tablo 3.14: *Salvia aethiopis* L.’nin yaprak kısmından farklı saflaştırma prosesleri ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin pH ile değişimine ait deneysel veriler.

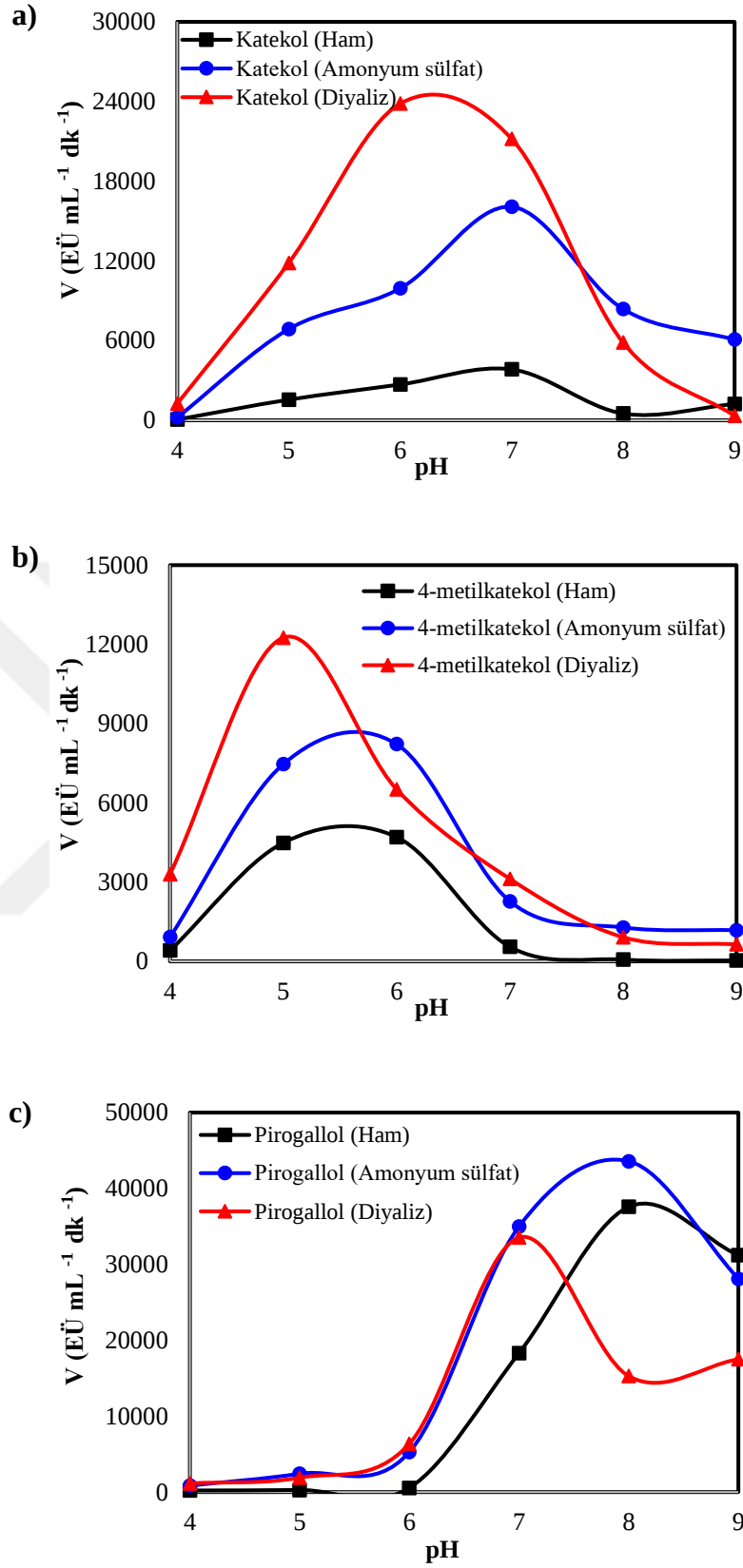
Saflaştırma basamakları	pH	Katekol	4-metilkatekol	Pirogallol
Ham ekstrat	4	162	652	276
	5	1606	6990	365
	6	3891	7900	628
	7	5973	4442	2169
	8	3809	1112	12026
	9	0	50	12797
Amonyum sülfat çöktürmesi	4	0	896	3968
	5	6514	9854	5680
	6	17980	7180	7332
	7	19270	348	13954
	8	12258	0	28748
	9	0	0	14508
Diyaliz	4	688	1022	1228
	5	3700	7662	2730
	6	9270	7016	4138
	7	13060	4358	8150
	8	9018	210	34134
	9	0	276	10774



Şekil 3.13: *Salvia aethiopis* L.'nin yaprak kısmından a) ham ektrat, b) amonyum sülfat çöktürmesi ve c) diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin pH ile değişimi.

Tablo 3.15: *Salvia aethiopis* L.'nin çiçek kısmından farklı saflaştırma prosesleri ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin pH ile değişimine ait deneysel veriler.

Saflaştırma basamakları	pH	Katekol	4-metilkatekol	Pirogallol
Ham ekstrat	4	57	411	214
	5	1549	4487	280
	6	2693	4704	556
	7	3830	548	18306
	8	507	67	37582
	9	1222	31	31208
Amonyum sülfat çöktürmesi	4	208	916	854
	5	6864	7464	2428
	6	9930	8222	5270
	7	16072	2270	34984
	8	8370	1282	43584
	9	6074	1178	28098
Diyaliz	4	1256	3298	1146
	5	11846	12254	1900
	6	23842	6512	6352
	7	21190	3120	33540
	8	5844	912	15282
	9	334	640	17492



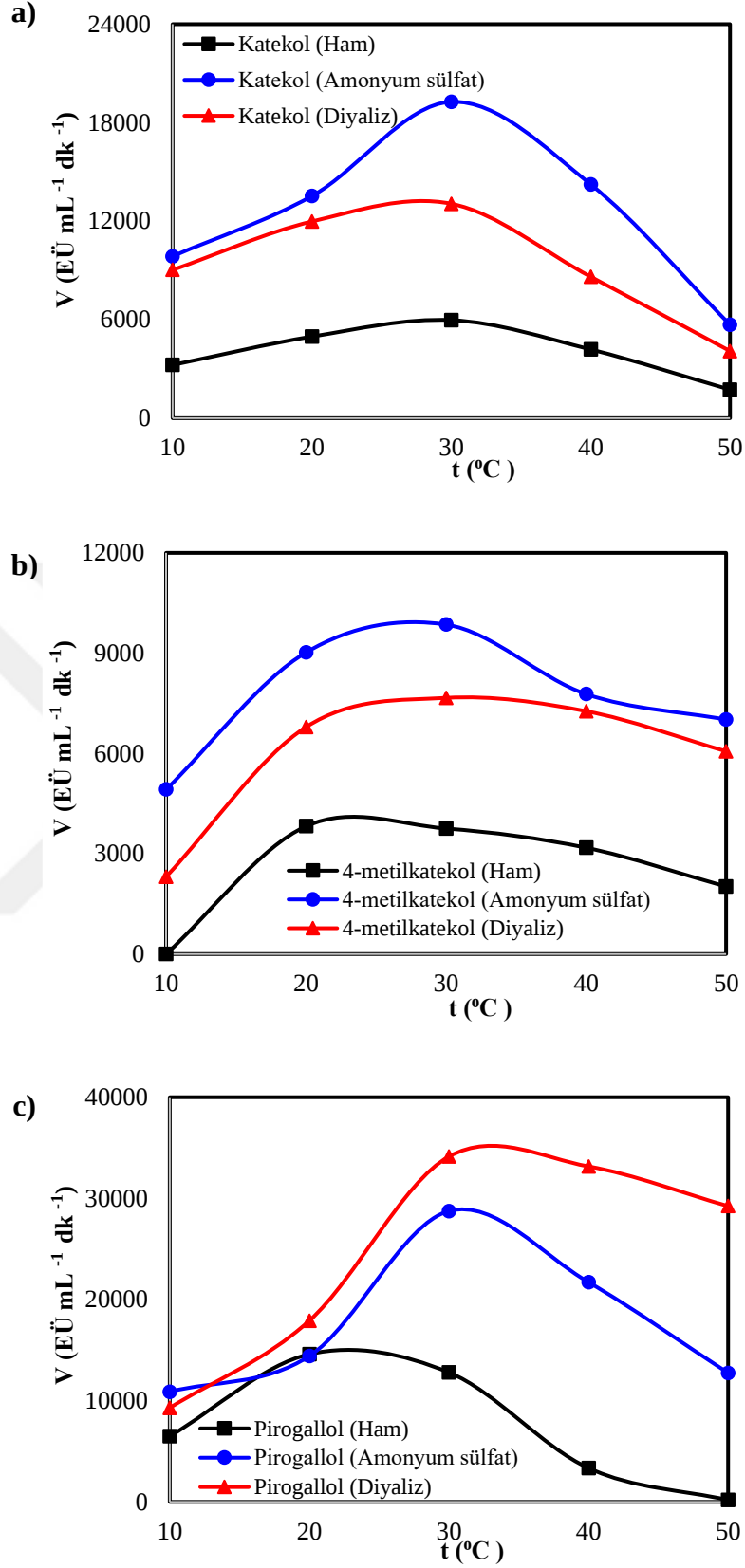
Şekil 3.14: *Salvia aethiopis* L.'nin çiçek kısmından a) ham ekstrat, b) amonyum sülfat çöktürmesi ve c) diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin pH ile değişimi.

3.2.2 Optimum Sıcaklık

Salvia aethiopis L. bitkisinin yaprak ve çiçek kısımlarından farklı saflaştırma prosesleri ile elde edilen polifenol oksidaz enziminin optimum sıcaklık değerleri katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratları kullanılarak incelenmiştir. Elde edilen deneysel veriler Tablo 3.16-3.17’de verilmiştir. Şekil 3.15a-c’de *Salvia aethiopis* bitkisinin yaprağından ekstrakte edilen ham enzim, amonyum sülfat ve diyalizle saflaştırılmış enzim çözeltilerinin katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratları için aktivite-sıcaklık grafiklerini gösterirken Şekil 3.16a-c ise çiçeğinden elde edilen enzim çözeltilerinin aktivite-sıcaklık grafiklerini göstermektedir.

Tablo 3.16: *Salvia aethiopis* L.’nin yaprak kısmından farklı saflaştırma prosesleri ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin sıcaklık ile değişimine ait deneysel veriler.

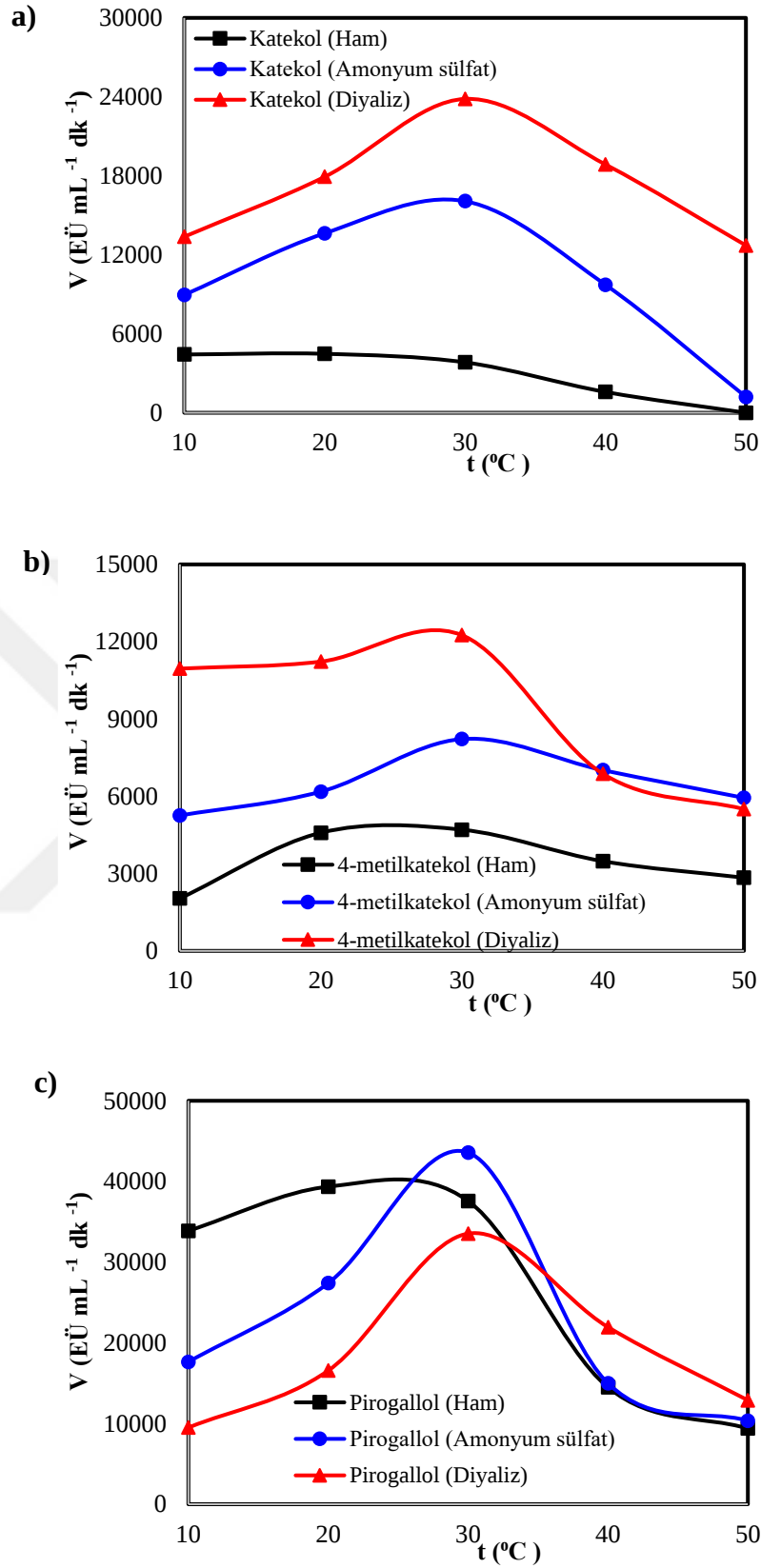
Saflaştırma basamakları	Sıcaklık(°C)	Katekol	4-metilkatekol	Pirogallol
Ham ekstrat	10	3241	0	6494
	20	4971	3822	14600
	30	5973	3754	12797
	40	4188	3180	3346
	50	1737	2018	183
Amonyum sülfat çöktürmesi	10	9860	4922	10888
	20	13530	9022	14420
	30	19270	9854	28748
	40	14242	7776	21712
	50	5698	7012	12746
Diyaliz	10	9030	2310	9298
	20	11980	6790	17912
	30	13060	7662	34134
	40	8616	7264	33160
	50	4090	6064	29236



Şekil 3.15: *Salvia aethiopis* L.'nin yaprak kısmından a) ham ekstrat, b) amonyum sülfat çöktürmesi ve c) diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin sıcaklık ile değişimi.

Tablo 3.17: *Salvia aethiopis* L.'nin çiçek kısmından farklı saflaştırma prosesleri ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin sıcaklık ile değişimine ait deneysel veriler.

Saflaştırma basamakları	Sıcaklık(° C)	Katekol	4-metilkatekol	Pirogallol
Ham ekstrat	10	4427	2038	33890
	20	4479	4586	39354
	30	3830	4704	37582
	40	1580	3481	14486
	50	0	2841	9380
Amonyum sülfat çöktürmesi	10	8958	5256	17640
	20	13634	6182	27398
	30	16072	8222	43584
	40	9720	7014	14984
	50	1204	5940	10360
Diyaliz	10	13374	10956	9494
	20	17924	11228	16558
	30	23842	12254	33540
	40	18860	6872	21948
	50	12712	5502	12886



Şekil 3.16: *Salvia aethiopis* L.'nin çiçek kısmından a) ham ekstrat, b) amonyum sülfat çöktürmesi ve c) diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesinin sıcaklık ile değişimi.

3.2.3 Enzim Kinetiği

Salvia aethiopis L. bitkisinin yaprak ve çiçek kısımlarından farklı saflaştırma prosesleri ile elde edilen polifenol oksidaz enzimi özeltilerinin Michaelis sabitleri (K_m ve V_{max}) katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratlarının farklı konsantrasyonlarında optimum pH ve sıcaklık değerlerinde incelendi. Deneysel veriler sonucunda Lineweaver Burk denkleminde göre grafikler çizildi. şekil 3.17a-c ve 3.18a-c’de grafikler verilirken Tablo 3.18-3.23’de elde edilen deneysel veriler verilmektedir.



Tablo 3.18: *Salvia aethiopsis* L.'nin yaprak kısmından ham ekstrat ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.

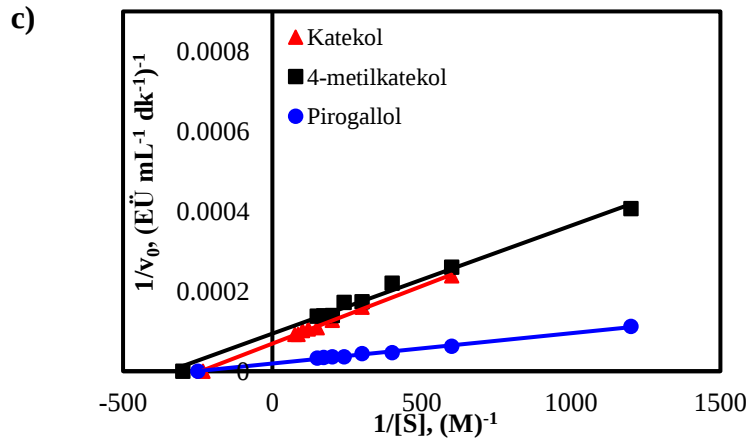
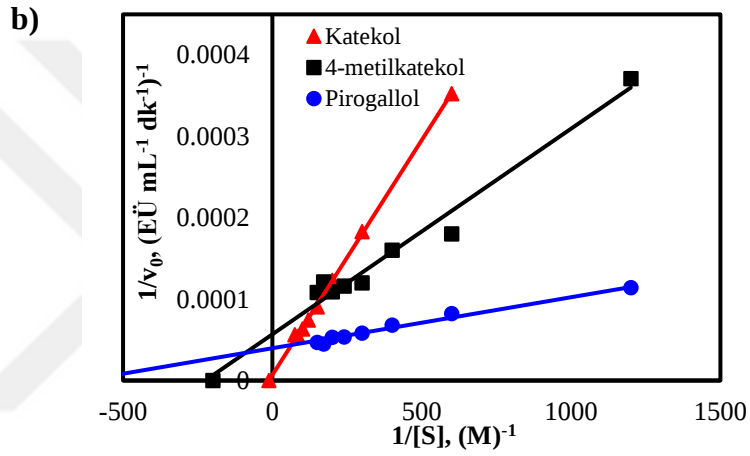
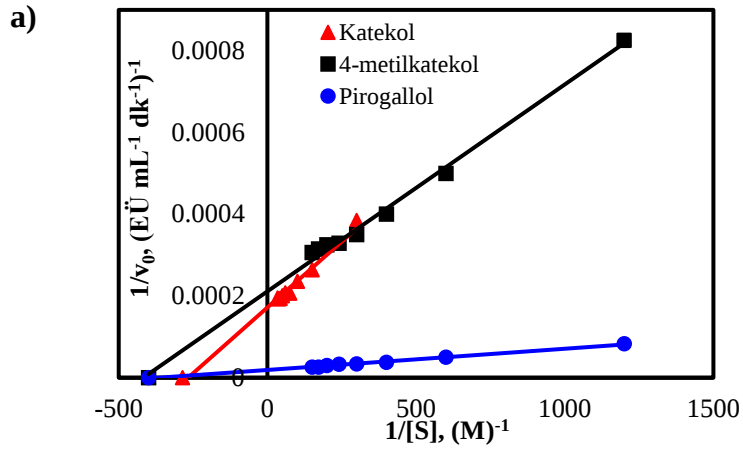
Substratlar	[S] (mM)	v_0 (EÜ mL ⁻¹ dk ⁻¹)	1/[S] (M) ⁻¹	1/ v_0 (EÜ mL ⁻¹ dk ⁻¹) ⁻¹ x10 ⁺⁴	V_{max} (EÜ dk ⁻¹)	K_M (mM)	V_{max}/K_M (EÜ dk ⁻¹ mM ⁻¹)	R^2
Katekol	0,003	2600	300	3,85	5000	3,50x10 ⁻³	1,43x10 ⁺⁶	0,9917
	0,007	3784	150	2,64				
	0,010	4249	100	2,35				
	0,013	4828	75	2,07				
	0,017	4822	60	2,07				
	0,020	5830	50	2,00				
	0,023	5157	42,86	1,94				
	0,027	5178	37,50	1,93				
	0,030	5134	33,33	1,95				
4-metilkatekol	0,001	1212	1200	8,25	5000	2,50x10 ⁻³	2,00x10 ⁺⁶	0,9937
	0,002	2000	600	5,00				
	0,003	2706	400	4,00				
	0,003	2982	300	3,50				
	0,004	3036	240	3,29				
	0,005	3080	200	3,25				
	0,006	3170	171,43	3,15				
	0,007	3270	150	3,06				
Pirogallol	0,001	12094	1200	0,83	50000	2,50x10 ⁻³	2,00x10 ⁺⁷	0,9958
	0,002	21708	600	0,50				
	0,003	26424	400	0,38				
	0,003	29492	300	0,34				
	0,004	30346	240	0,33				
	0,005	33328	200	0,30				
	0,006	38650	171,43	0,26				
	0,007	38370	150	0,26				

Tablo 3.19: *Salvia aethiopsis* L.'nin yaprak kısmından amonyum sülfat çöktürmesi ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.

Substratlar	[S] (mM)	v_0 (EÜ mL ⁻¹ dk ⁻¹)	1/[S] (M) ⁻¹	1/ v_0 (EÜ mL ⁻¹ dk ⁻¹) ⁻¹ x10 ⁺⁴	V_{max} (EÜ dk ⁻¹)	K_M (mM)	V_{max}/K_M (EÜ dk ⁻¹ mM ⁻¹)	R ²
Katekol	0,002	2838	600	3,52	142857	0,0857	1,67x10 ⁺⁶	0,9991
	0,003	6800	300	1,83				
	0,005	9950	200	1,23				
	0,007	11068	150	0,90				
	0,008	13500	120	0,74				
	0,010	15778	100	0,63				
	0,012	18396	85,71	0,54				
	0,013	17788	75	0,56				
4-metilkatekol	0,001	2696	1200	3,71	16667	3,33x10 ⁻³	5,01x10 ⁺⁶	0,9690
	0,002	6858	600	1,46				
	0,003	6238	400	1,60				
	0,003	8810	300	1,14				
	0,004	8630	240	1,16				
	0,005	9210	200	1,09				
	0,006	8234	171,43	1,21				
	0,007	9218	150	1,09				
Pirogallol	0,001	8738	1200	1,14	25000	1,75x10 ⁻³	1,43x10 ⁺⁷	0,9831
	0,002	11704	600	0,85				
	0,003	17856	400	0,56				
	0,003	17174	300	0,58				
	0,004	18716	240	0,53				
	0,005	18874	200	0,53				
	0,006	22268	171,43	0,45				
	0,007	21468	150	0,47				

Tablo 3.20: *Salvia aethiopis* L.'nin yaprak kısmından diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.

Substratlar	[S] (mM)	v_0 (EÜ mL ⁻¹ dk ⁻¹)	1/[S] (M) ⁻¹	1/ v_0 (EÜ mL ⁻¹ dk ⁻¹) ⁻¹ x10 ⁺⁴	V_{max} (EÜ dk ⁻¹)	K_M (mM)	V_{max}/K_M (EÜ dk ⁻¹ mM ⁻¹)	R ²
Katekol	0,002	4190	600	2,39	14286	4,30x10 ⁻³	3,32x10 ⁺⁶	0,9967
	0,003	7612	300	1,60				
	0,005	7880	200	1,27				
	0,007	9184	150	1,09				
	0,008	9514	120	1,05				
	0,010	9874	100	1,01				
	0,012	10946	85,71	0,91				
	0,013	10916	75	0,92				
4-metilkatekol	0,001	2462	1200	4,06	10000	3,00x10 ⁻³	3,33x10 ⁺⁶	0,9894
	0,002	3848	600	2,60				
	0,003	4696	400	2,13				
	0,003	5768	300	1,73				
	0,004	5862	240	1,71				
	0,005	7198	200	1,39				
	0,006	7222	171,43	1,38				
	0,007	7276	150	1,37				
Pirogallol	0,001	8926	1200	1,12	5000	4,00x10 ⁻³	1,25x10 ⁺⁷	0,9919
	0,002	16198	600	0,62				
	0,003	21614	400	0,46				
	0,003	26214	300	0,44				
	0,004	28222	240	0,35				
	0,005	28138	200	0,36				
	0,006	29422	171,43	0,34				
	0,007	30722	150	0,33				



Şekil 3.17: *Salvia aethiopis* L.'nin yaprak kısmından a) ham ekstrat, b) amonyum sülfat çöktürmesi ve c) diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.

Tablo 3.21: *Salvia aethiopsis* L.'nin çiçek kısmından ham ekstrat ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.

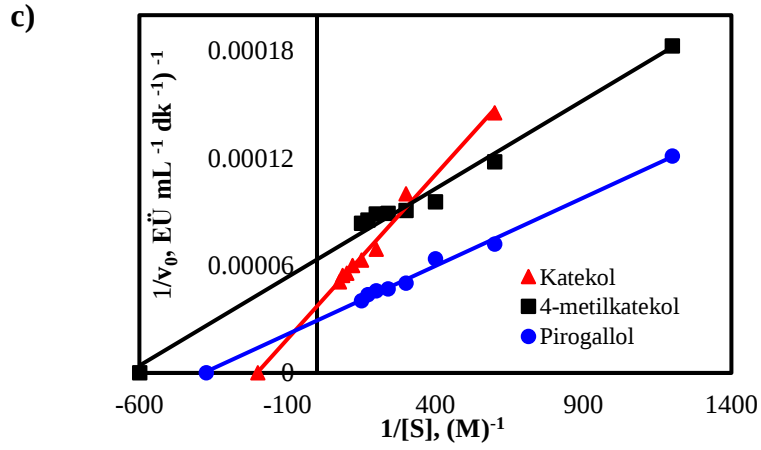
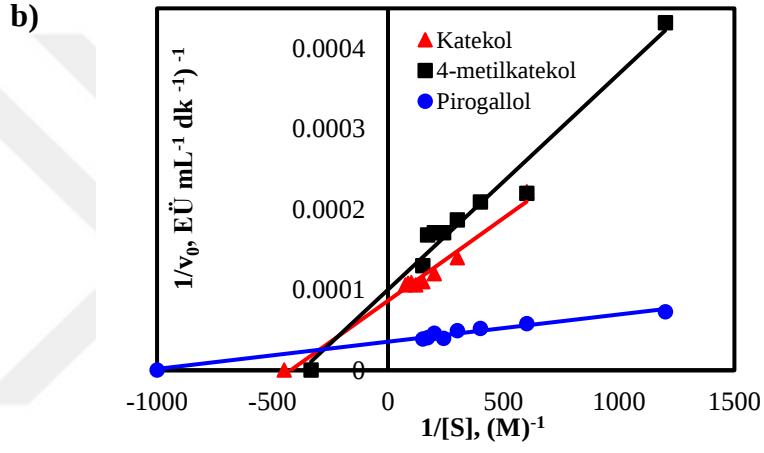
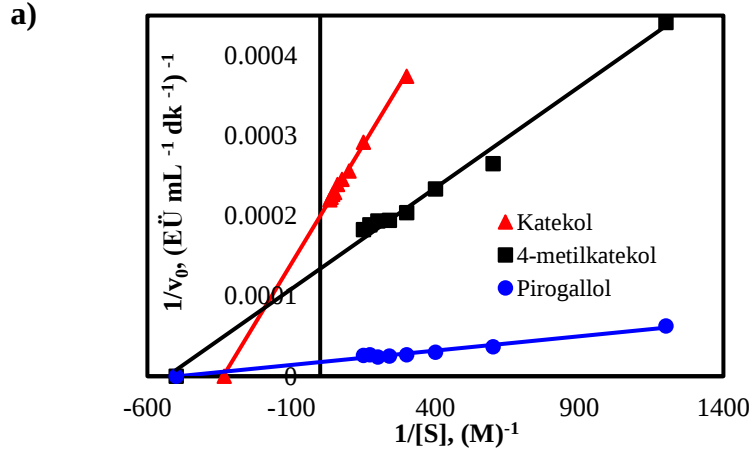
Substratlar	[S] (mM)	v_0 (EÜ mL ⁻¹ dk ⁻¹)	1/[S] (M) ⁻¹	1/ v_0 (EÜ mL ⁻¹ dk ⁻¹) ⁻¹ x10 ⁺⁴	V_{max} (EÜ dk ⁻¹)	K_M (mM)	V_{max}/K_M (EÜ dk ⁻¹ mM ⁻¹)	R^2
Katekol	0,003	2674	300	3,74	5000	3,00x10 ⁻³	1,67x10 ⁺⁶	0,9980
	0,007	3427	150	2,92				
	0,010	3909	100	2,56				
	0,013	4072	75	2,46				
	0,017	4180	60	2,39				
	0,020	4363	50	2,29				
	0,023	4410	42,86	2,27				
	0,027	4373	37,50	2,23				
	0,030	4287	33,33	2,20				
4-metilkatekol	0,001	2266	1200	4,41	10000	2,00x10 ⁻³	5,00x10 ⁺⁶	0,9859
	0,002	3772	600	2,65				
	0,003	4284	400	2,33				
	0,003	4900	300	2,04				
	0,004	5148	240	1,94				
	0,005	5160	200	1,94				
	0,006	5294	171,43	1,89				
	0,007	5470	150	1,83				
Pirogallol	0,001	15978	1200	0,63	50000	2,00x10 ⁻³	2,50x10 ⁺⁷	0,9681
	0,002	27184	600	0,37				
	0,003	33426	400	0,30				
	0,003	37598	300	0,27				
	0,004	40058	240	0,25				
	0,005	41504	200	0,24				
	0,006	37888	171,43	0,27				
	0,007	39974	150	0,26				

Tablo 3.22: *Salvia aethiopis* L.'nin çiçek kısmından amonyum sülfat çöktürmesi ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.

Substratlar	[S] (mM)	v_0 (EÜ mL ⁻¹ dk ⁻¹)	1/[S] (M) ⁻¹	1/ v_0 (EÜ mL ⁻¹ dk ⁻¹) ⁻¹ x10 ⁺⁴	V_{max} (EÜ dk ⁻¹)	K_M (mM)	V_{max}/K_M (EÜ dk ⁻¹ mM ⁻¹)	R ²
Katekol	0,002	4503	600	2,22	12500	2,50x10 ⁻³	5,00x10 ⁺⁶	0,9701
	0,003	8048	300	1,24				
	0,005	8648	200	1,16				
	0,007	9010	150	1,11				
	0,008	9426	120	1,06				
	0,010	9150	100	1,09				
	0,012	9232	85,71	1,08				
	0,013	9402	75	1,06				
4-metilkatekol	0,001	2316	1200	4,32	10000	3,00x10 ⁻³	3,33x10 ⁺⁶	0,9567
	0,002	4612	600	2,20				
	0,003	4790	400	2,09				
	0,003	5346	300	1,87				
	0,004	5864	240	1,71				
	0,005	5856	200	1,71				
	0,006	5956	171,43	1,68				
	0,007	5670	150	1,30				
Pirogallol	0,001	13796	1200	0,72	25000	7,50x10 ⁻⁴	3,33x10 ⁺⁷	0,9285
	0,002	15482	600	0,65				
	0,003	19242	400	0,52				
	0,003	19738	300	0,51				
	0,004	25264	240	0,40				
	0,005	18650	200	0,54				
	0,006	24696	171,43	0,40				
	0,007	25728	150	0,39				

Tablo 3.23: *Salvia aethiopis* L.'nin çiçek kısmından diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.

Substratlar	[S] (mM)	v_0 (EÜ mL ⁻¹ dk ⁻¹)	1/[S] (M) ⁻¹	1/ v_0 (EÜ mL ⁻¹ dk ⁻¹) ⁻¹ x10 ⁺⁴	V_{max} (EÜ dk ⁻¹)	K_M (mM)	V_{max}/K_M (EÜ dk ⁻¹ mM ⁻¹)	R ²
Katekol	0,002	6880	600	1,45	25000	5,00x10 ⁻³	5,00x10 ⁺⁶	0,9874
	0,003	12272	300	1,00				
	0,005	14476	200	0,69				
	0,007	15888	150	0,63				
	0,008	16676	120	0,60				
	0,010	17976	100	0,56				
	0,012	18358	85,71	0,54				
	0,013	19666	75	0,51				
4-metilkatekol	0,001	5472	1200	1,83	14286	1,29x10 ⁻³	1,11x10 ⁺⁷	0,9810
	0,002	9410	600	1,06				
	0,003	10458	400	0,96				
	0,003	11020	300	0,91				
	0,004	11232	240	0,89				
	0,005	11262	200	0,89				
	0,006	10060	171,43	0,99				
	0,007	9974	150	1,00				
Pirogallol	0,001	8256	1200	1,21	33333	2,70x10 ⁻³	1,23x10 ⁺⁷	0,9934
	0,002	15092	600	0,72				
	0,003	15692	400	0,64				
	0,003	19948	300	0,50				
	0,004	21300	240	0,47				
	0,005	21824	200	0,46				
	0,006	22868	171,43	0,44				
	0,007	24874	150	0,40				



Şekil 3.18: *Salvia aethiopis* L.'nin çiçek kısmından a) ham ekstrat, b) amonyum sülfat çöktürmesi ve c) diyaliz ile elde edilen polifenol oksidaz aktivitesi için kinetik veriler.

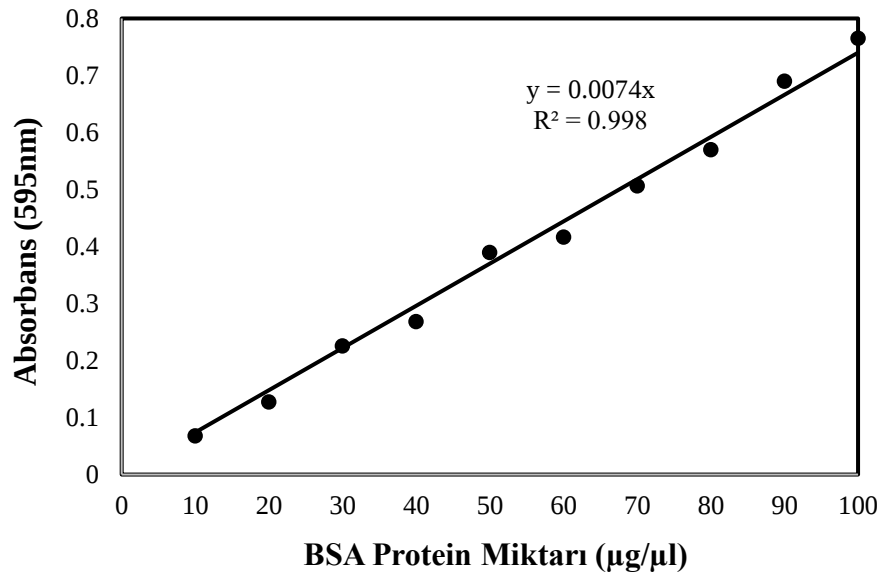
3.3 Enzim Saflaştırma

3.3.1 Protein Tayini

Salvia aethiopis L. bitki ekstratının protein içeriği, standart olarak bovin serum albumin kullanılarak Bradford yöntemine göre tayin edildi. Enzimin ekstrasyonu sonucunda elde edilen ham ekstrat ve saflaştırma basamakları sonucu elde edilen enzim çözeltilerinin protein içerikleri bu grafik yardımıyla hesaplandı. Standart kalibrasyona ait deneysel veriler Tablo 3.24'te verilmiş olup Şekil 3.19'da grafik edilmiştir.

Tablo 3.24: Bradford yöntemi ile protein tayini için konsantrasyon-absorbans verileri.

Protein miktarı (µg/µl)	Absorbans
10	0,0681
20	0,1274
30	0,2256
40	0,2683
50	0,3899
60	0,4164
70	0,5065
80	0,5702
90	0,6899
100	0,7655



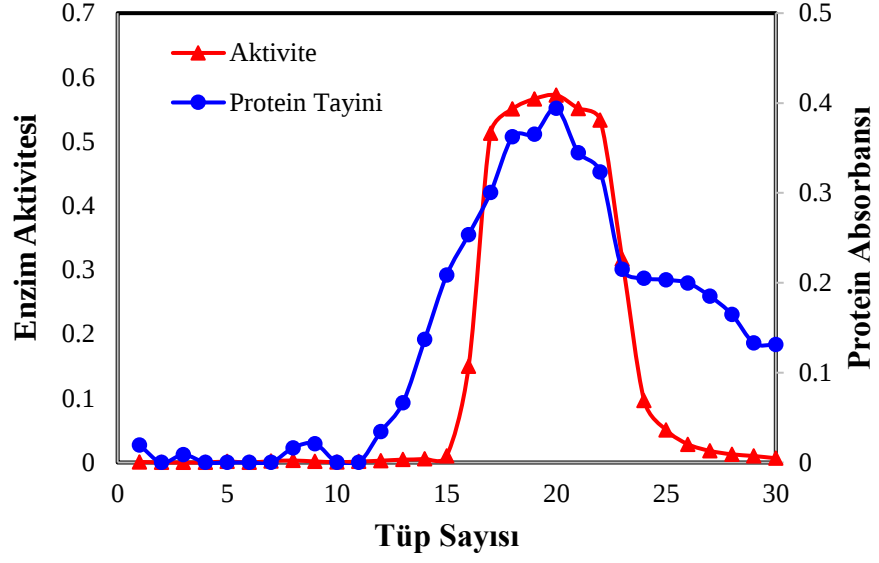
Şekil 3.19: Bradford yöntemine göre protein tayini için kalibrasyon eğrisi.

3.3.2 Afinite Kromatografisi

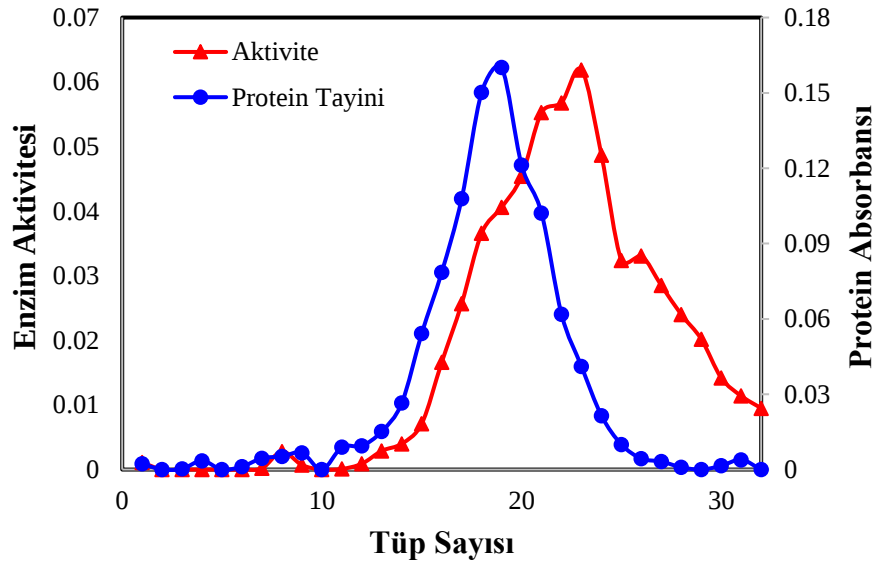
Afinite kromatografisi için Şekil 2.1’de sentezlenen D bileşiği dolgu matriksi olarak kullanıldı ve *Salvia aethiopis* L. bitkisinin yaprak ve çiçeğinden diyaliz prosesi ile elde edilen enzim çözeltisi kolona yüklenmiştir. Kolona yüklenen enzim çözeltisinden alınan elüat çözeltilerinde protein tayini ve aktivite tayinleri yapılarak spesifik aktiviteler ve saflaştırma oranları hesaplanmıştır. Tablo 3.25’te deneysel veriler, Şekil 3.20-3.21’de ise tüp sayısına karşılık enzim aktivitesi ve protein miktarları (absorbans değerleri) grafik edilmiştir.

Tablo 3.25: Afinite kromatografisinde elde edilen tüp sayısına karşılık enzim aktivitesi ve protein miktarları.

Tüp sayısı	Yaprak		Çiçek	
	Enzim aktivitesi (EÜ/mLdk)	Protein absorbansı	Enzim aktivitesi (EÜ/mLdk)	Protein absorbansı
1	0,0009	0,0193	0,0011	0,0023
2	0	0	0	0
3	0	0,0086	0	0,0003
4	0	0	0	0,0035
5	0,0015	0	0	0
6	0	0	0	0,0012
7	0,0021	0	0,0002	0,0045
8	0,0031	0,0163	0,0028	0,0052
9	0,0016	0,0209	0,0007	0,0067
10	0,0005	0	0	0
11	0,0015	0	0,0001	0,0089
12	0,0028	0,0345	0,0009	0,0095
13	0,0045	0,0664	0,0029	0,0152
14	0,0055	0,1368	0,004	0,0265
15	0,0103	0,2084	0,0071	0,0542
16	0,1497	0,2536	0,0166	0,0785
17	0,513	0,3004	0,0257	0,1079
18	0,5506	0,3623	0,0366	0,1502
19	0,5664	0,3653	0,0406	0,1601
20	0,5721	0,394	0,0454	0,1213
21	0,5514	0,3446	0,0553	0,1021
22	0,5333	0,3232	0,0121	0,0619
23	0,3168	0,215	0,0619	0,0411
24	0,0965	0,2051	0,0487	0,0215
25	0,0508	0,2033	0,0324	0,01
26	0,0284	0,1997	0,0331	0,0044
27	0,0181	0,185	0,0285	0,0032
28	0,0127	0,1648	0,024	0,0009
29	0,0101	0,1329	0,0202	0
30	0,0066	0,1313	0,0142	0,0015
31	-		0,0114	0,0039
32	-		0,0095	0



Şekil 3.20: Yaprak için afinite kromatografisinde elde edilen tüp sayısına karşılık enzim aktivitesi ve protein eğrisi.



Şekil 3.21: Çiçek için afinite kromatografisinde elde edilen tüp sayısına karşılık enzim aktivitesi ve protein eğrisi.

4. SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu bölümde ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT'lerin karakterizasyonu, hidrojen depolama kapasiteleri ve *Salvia aethiopis* L. bitkisinden elde edilen PPO enziminin saflaştırılmasına ait deneysel sonuçlar tartışılmaktadır.

4.1 Karakterizasyon

4.1.1 FTIR Analizleri

Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi, temel olarak fonksiyonel grupların değerlendirilmesinde kalitatif bir teknik olarak kullanılmaktadır (Yudianti vd., 2011). Şekil 3.1'de ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lere ait 4000 ile 450 cm^{-1} arasındaki FTIR spektrumları gösterilmektedir. Saflaştırılmış ÇDKNT örneğinin FTIR spektrumunda 1554 ve 1361 cm^{-1} 'de bantlar gözlenmiştir. 1554 cm^{-1} 'de görülen C=C bandı karbon nanotüpün altıgen yapısının korunduğunu göstermektedir (Vesali vd., 2009). Hidroksillenmiş ÇDKNT örneğinin FTIR spektrumu incelendiğinde, saflaştırılmış ÇDKNT'ten farklı olarak 3427, 2922, 2844, 1567 ve 1163 cm^{-1} 'de bantlar gözlenmiştir. ~3400 cm^{-1} 'de gözlenen bant hidroksilasyon sonrası –OH gruplarının varlığını göstermektedir. 2922 ve 2844 cm^{-1} 'de gözlenen bantlar alifatik C–C gerilme titreşimlerine ve 1163 cm^{-1} 'de gözlenen bant ise adsorbe edilen suyun veya nemin –OH eğilme titreşimlerine atfedilmektedir (Tiwari ve Singh, 2007). Ayrıca 1567 cm^{-1} 'de gözlenen bant yine karbon nanotüpün yapısını oluşturan C=C çift bağını belirtmektedir. L-Tirozin ile modifiye edilmiş ÇDKNT örneğinin FTIR spektrumu incelendiğinde, ~3400 ve 1621 cm^{-1} 'de gözlenen bantların sırasıyla yapıda bulunan ikincil amin gerilmesi ve amin karbonil gerilmesine ait olduğu söylenebilir. 1384 cm^{-1} 'de gözlenen bantın ise –OH– düzlem içi bükülme titreşimine ait olduğu düşünülmektedir (Peng vd., 2018). p-aminobenzoik asit ile modifiye edilmiş ÇDKNT-O-L-Tirozin örneğinin FTIR spektrumu değerlendirildiğinde, 3448 ve 3379 cm^{-1} 'de varolan bantlar p-aminobenzoik ile gerçekleştirilen modifikasyona ait birincil amin N–H bağlarına ve 1694, 1628 ve 1415 cm^{-1} 'de gözlenen bantlar karboksilat gruplarının C–O bağlarına atfedilebilir (Gomez, Maruyama, Leuteritz ve Wypych, 2019). Tüm bu sonuçlara göre, ÇDKNT örneğinin FTIR spektrumunda meydana gelen bant farklılıkları fonksiyonelizasyon işlemlerinin gerçekleştiğinin işareti olarak kabul edilmektedir.

Şekil 3.2 ve Şekil 3.3'de sırasıyla çözücü yöntemi ve hidrotermal yöntem ile Li-doplanmış ÇDKNT, Li-doplanmış ÇDKNT-OH, Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA örneklerinin FTIR spektrumları verilmektedir. Bu örneklerle ait spektrumlarda, ~2920 ve ~2850 cm^{-1} 'de gözlenen bantların C–H gerilme titreşimlerine

karşılık geldiği düşünülmektedir. ~ 1630 ve ~ 1560 cm^{-1} 'de gözlenen bantlar ise sırasıyla C=O ve C=C çift bağlarının gerilme titreşimlerine atfedilebilir. Ayrıca çözücü yöntemi ve hidrotermal yöntem ile Li-doplanmış ÇDKNT, Li-doplanmış ÇDKNT-OH, Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA örneklerinde ~ 650 cm^{-1} 'de gözlenen bant doplama işlemi sonrasında varolan Li-O bağına temsil etmektedir (Konni, Kumar Karnena ve Babu Mukkamala, 2020). Bu karakteristik dalga sayısındaki bant şiddetinin doplanan Li ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir.

4.1.2 DTA/TG Analizleri

Malzemelerin termal bozunma basamaklarının ve termal kararlılığının incelenmesi ve safsızlığının değerlendirilmesi için önemli ve pratik bir termal analiz tekniğidir. Ayrıca, fonksiyonelizasyon sonrasında malzemelerin termogravimetrik analizleri fonksiyonel grupların belirlenmesi için de önemli bir yöntemdir. Bu amaçla, termogravimetrik analiz (TGA) bir malzemenin kademeli olarak artan sıcaklığa karşı kütle kaybı verileri ile elde edilen basit bir termogram tarafından sağlanan bilgi nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir tekniktir (Abuilaui, Laoui, Al-Harthi ve Atieh, 2010; Ling, Wei, Zou ve Xu, 2013). Termogramlardan elde edilen verilen Tablo 4.1'de özetlenmiştir. Tablodan verilen Tmax ve Delta Y değerleri sırasıyla, bozunma sıcaklığını ve o sıcaklıkta meydana gelen % kütle kaybı miktarını; rezidü ise analiz son sıcaklığı olan 1200 °C'de % kalan madde miktarını belirtmektedir.

Şekil 3.4'te verilen ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lere ait TG eğrileri incelendiğinde, ÇDKNT örneğinin literatür ile uyumlu olarak 2 basamakta bozunduğu görülmektedir. Birinci bozunma basamağı 385 °C'dir ve bu sıcaklıkta maddenin %2,03'ü bozunmuştur ve bu bozunma ÇDKNT'lerin yüzeyindeki organik fonksiyonel gruplara atfedilebilir (Marega vd., 2009; Scheibe, Borowiak-Palen ve Kalenczuk, 2010). Termal oksidasyon basamağı olan ikinci bozunma basamağı ise 756 °C'dir ve bu sıcaklıkta maddenin %14,86'sı bozunmuştur (Edwards vd., 2011). ÇDKNT örneğinin 1200 °C'de kalan madde miktarı %83'tür. 150 °C ile 500 °C arasında gerçekleşen birinci bozunma basamağında, ÇDKNT-OH, ÇDKNT, L-Tirozin ve ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA örneklerinin kütle kaybı yüzdesi sırasıyla %4,51, %3,41 ve %9,30'dur. Bu durum literatürde, fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin daha fazla oksijen içeren fonksiyonel gruplar içermesine atfedilmektedir (Ling, Wei, Zou ve Xu, 2013). ÇDKNT'-OH örneğinin bozunma mekanizması incelendiğinde, termal bozunmanın 4 basamakta gerçekleştiği görülmektedir. Birinci bozunma basamağı 235 °C'de gerçekleşmektedir ve bu basamakta maddenin %4,51'i bozunmuştur; ikinci bozunma

basamağı 597 °C’de gerçekleşmektedir ve bu basamakta maddenin %3,80’i bozunmuştur; üçüncü bozunma basamağı 797 °C’de gerçekleşmektedir ve bu basamakta maddenin %5,86’sı bozunmuştur ve son basamakta ise 970 °C’de maddenin %13,94’ü bozunmuştur. Fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin bozunma basamaklarının sayısı ve bu basamaklardaki bozunma sıcaklıklarının farklılığı modifikasyonların gerçekleştiğinin de bir göstergesidir. Tablo 4.1’te verilen veriler incelendiğinde, ÇDKNT-O-L-Tirozin örneğinin 5 basamakta ve ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA örneğinin ise 4 basamakta bozunduğu anlaşılmıştır. ÇDKNT-OH, ÇDKNT-O-L-Tirozin ve ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA örneklerinin 1200 °C’deki toplam rezidü miktarları ise sırasıyla %71,27, %68,73 ve %51,83 olarak belirlenmiştir.

Şekil 3.5 ve Şekil 3.6’da sırasıyla çözücü yöntemi ve hidrotermal yöntem ile Li-doplanmış ÇDKNT, Li-doplanmış ÇDKNT-OH, Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA örneklerine ait TG termogramları verilmektedir. Hidrotermal yöntem ile Li-doplanmış örneklerin TG termogramları incelendiğinde, Li-doplanmamış örnekler ile benzer bozunma mekanizmalarına sahip olduğu görülmektedir. Çözücü yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT, Li-doplanmış ÇDKNT-OH, Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA örneklerinin ise farklı olarak 5 basamakta termal olarak bozunduğu anlaşılmıştır. Ayrıca, çözücü yöntemi ve hidrotermal yöntem ile Li-doplanmış örneklerin 1200 °C’deki kalan madde miktarları kıyaslandığında, hidrotermal yöntem ile Li-doplanmış örneklerin toplam rezidü miktarları, çözücü yöntemi ile Li-doplanmış örneklerin toplam rezidü miktarlarından daha azdır.

Tablo 4.1: ÇDKNT, Li-doplanmış ve doplanmamış fonksiyonelize ÇDKNT örneklerine ait TG verileri.

Örnekler	T _{max1} (°C)	Delta Y1 (%)	T _{max2} (°C)	Delta Y2 (%)	T _{max3} (°C)	Delta Y3 (%)	T _{max4} (°C)	Delta Y4 (%)	T _{max5} (°C)	Delta Y5 (%)	Rezidü (%) 1200°C
ÇDKNT	385	2,03	756	14,86	-	-	-	-	-	-	82,96
ÇDKNT-OH	235	4,51	597	3,80	797	5,86	970	13,94	-	-	71,27
ÇDKNT-O-L-Tirozin	216	3,41	349	2,70	611	5,01	791	4,32	966	14,24	68,73
ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA	330	9,30	621	9,20	875	4,38	986	22,61	-	-	51,83
Li-doplanmış ÇDKNT (Çözücü)	175	0,86	288	1,08	641	2,39	808	2,95	1109	6,86	83,54
Li-doplanmış ÇDKNT-OH (Çözücü)	226	2,88	356	2,01	615	5,59	800	6,84	994	16,15	65,40
Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin (Çözücü)	225	3,33	354	3,21	615	7,39	817	7,63	996	18,57	56,88
Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA (Çözücü)	240	3,85	382	3,32	624	6,77	839	4,54	973	17,82	61,97
Li-doplanmış ÇDKNT (Hidrotermal)	362	3,38	745	9,60	997	16,04	-	-	-	-	70,71
Li-doplanmış ÇDKNT-OH (Hidrotermal)	39	2,55	375	3,22	629	16,53	980	27,64	-	-	49,73
Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin (Hidrotermal)	258	2,64	390	3,86	624	8,61	973	25,77	-	-	56,00
Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA (Hidrotermal)	40	3,50	396	4,57	621	10,32	976	22,50	-	-	56,38

4.1.3 SEM Analizleri

Taramalı elektron mikroskobu, saflaştırma, grafitleştirme ve işlevselleştirme işlemlerinden sonra karbon nanotüplerin yapısını, yapısal değişikliklerini, morfolojisini ve homojenliğini incelemek için kullanılan bir görüntüleme tekniğidir. Geliştirilmiş çözünürlüğe sahip bu mikroskopi analizi, ayrıca tüplerin çapı ve uzunluğu, karbon nanotüplerin eğriliği ve dolaşık yapısı ve amorf karbon veya diğer istenmeyen karbon formlarının varlığı gibi spesifik özellikleri de gösterebilir (Ferreira vd., 2019). Şekil 3.7, ÇDKNT, ÇDKNT-OH ve ÇDKNT-O-L-Tirozin ve ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA örneklerinin 10 KX ve 25 KX büyütme oranlarında alınan SEM görüntülerini göstermektedir. Şekil 3.7 (a)'da verilen SEM görüntüsünden ÇDKNT'nin Van der Waals etkileşimleri nedeniyle dolaşık, sarmaşık bir yapıya sahip olduğu ve güçlü bir şekilde birbirine karıştığı görülmektedir. Bu durumda ÇDKNT'nin düzenli olarak hizalanması mümkün değildir. Şekil 3.7(b)'de verilen SEM görüntüsünden hidroksillenmiş ÇDKNT'nin ÇDKNT'ye göre daha az karmaşık bir yapıda olduğu görülmektedir. Literatürde bu durum, hidroksillenme ile yapılara eklenen fonksiyonel grupların hem topaklanma eğilimini azaltması hem de nanotüplerin kısalması etkisi ile açıklanmaktadır (Jin, Park ve Yoon, 2007; Ayanoğlu ve Doğan, 2020). Şekil 3.7(c) ve 3.7(d)'de verilen sırasıyla ÇDKNT-O-L-Tirozin ve ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA örneklerinin aynı büyütme oranlarındaki SEM görüntüleri incelendiğinde, fonksiyonelleştirilmiş karbon nanotüplerin daha düşük topaklanma gösterdiği ve uzunluklarının kıaldığı görülmektedir (Jin, Park ve Yoon, 2007).

Şekil 3.8 ve 3.9, sırasıyla çözücü yöntemi ve hidrotermal yöntem ile Li-doplanmış ÇDKNT, Li-doplanmış ÇDKNT-OH, Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA örneklerinin SEM görüntülerini göstermektedir. Bu örneklerin SEM görüntüleri incelendiğinde, öncelikle Li-doplanmış karbon nanotüp örneklerinin doplama işleminden sonra hala yapısal bütünlüğünü koruduğu görülmektedir (Wang vd., 2010). SEM görüntülerinden, yine Li-doplanmış ÇDKNT örneklerinin yüksek derecede topaklanma gösterdiği, ÇDKNT örneğinin farklı organik bileşikler ile fonksiyonelizasyonu ile elde edilen örneklerinin ise karışık ve toplanmış morfolojilerinin kısmen azalarak kısaltılmış nanotüp uzunlukları nedeniyle daha düşük derecede dolaşma gösterdiği anlaşılmaktadır.

4.2 Hidrojen Depolama

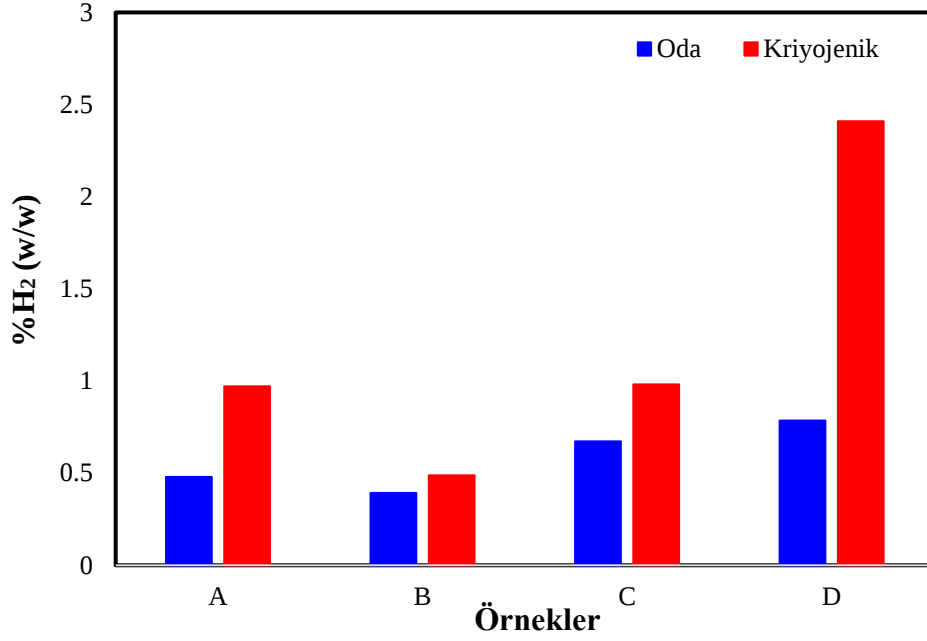
4.2.1 ÇDKNT ve Fonksiyonelize ÇDKNT Örneklerinin Hidrojen Depolaması

Farklı kimyasal reaksiyonlarla fonksiyonelize edilen ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasiteleri oda ve kriyojenik sıcaklıklarda basıncın bir fonksiyonu olarak ölçülmüş ve Şekil 3.10a-b'de verilmektedir. Şekil 3.10a-b'de genel olarak fonksiyonelizasyonla karbon nanotüplerin depolama kapasiteleri artmaktadır. Karbon nanotüplerin hidrojen depolama kapasitesi tüp morfolojisi, yüzey alanı, gözenek boyutu ve yapıdaki kusurlu noktaların yoğunluğuna bağlı olarak değişir (Mosquera-Vargas vd., 2021). ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lerin BET yüzey alanları ve gözenek hacimleri Tablo 3.1'de verilmiştir. Tablodan fonksiyonelizasyonla ÇDKNT'lerin BET yüzey alanlarının azaldığı görülmektedir. Adsorbentlerin hidrojen depolama kapasiteleri artan BET yüzey alanı ve özellikle de mikrogözenek hacmi ile genelde artar (Lee ve Park, 2012). Tablodan görüldüğü gibi ÇDKNT'ler mikro gözenek hacmine sahip değildirler. Makro ve mezo gözeneklerden oluşmaktadır. Fonksiyonelizasyonla ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasitesindeki artış, hidrojen moleküllerinin fonksiyonel gruplarla daha fazla etkileşime girmesinden dolayı olabilir. Hidrojen -239.8°C ve 13 barda bir kritik noktaya sahiptir (Langohr, 2004). Kritik noktanın üzerindeki bir sıcaklıkta basınca bağlı olmaksızın hidrojen gaz halinde bulunur. Çalışmamızı 298 ve 77 K de gerçekleştirdik. Bu sıcaklıklar kritik sıcaklığın üzerindedir. Düşük sıcaklıklarda hidrojen molekülü ve fonksiyonelize ÇDKNT örnekleri arasında van der Waals çekim kuvvetleri daha etkin olur. Bunun sonucunda kriyojenik sıcaklıklarda ÇDKNT ve fonksiyonelize örneklerin hidrojen depolama kapasitelerinin daha yüksek olduğu söylenebilir. Yine her iki şekilden de görüldüğü gibi sabit sıcaklıkta artan basınçla örneklerin hidrojen depolama kapasiteleri artmaktadır. Bunun nedeni artan basınçla hidrojen gazının yoğunluğunun artması sonucunda ÇDKNT ve fonksiyonelize örneklerle daha fazla etkileşmesidir. Oda ve kriyojenik sıcaklıklardaki izoterm eğrileri incelendiğinde birbirlerinden farklı olduğu görülmektedir. Her iki sıcaklıkta da adsorplanmış hidrojen miktarı artan basınç ile birlikte artarken, oda sıcaklığında bir denge durumunun sağlanmadığı gözlenmiştir. Oda sıcaklığında görülen bu durum, fonksiyonelize örneklerde tutunan hidrojen miktarının artan basınç ile doğrusal olarak Henry yasasıyla uyumlu bir şekilde artmasıyla açıklanabilir (Doğan vd., 2021). Kriyojenik sıcaklıkta ise başlangıçta artan basınçla hidrojenin adsorplanan miktarının hızlı bir şekilde arttığı ve artan basınçla bu artışın azaldığı görülmektedir. Bu durumda, fonksiyonelize örnek yüzeyinin sadece kısmen hidrojen molekülleri ile kaplandığını ve adsorbe olan moleküllerin ideal bir iki boyutlu gaz gibi davrandığı söylenebilir (Bader and Abdelmottaleb, 2017, Bicil and Doğan, 2021).

Örneklere verilen gaz miktarı arttırıldıkça, hidrojen depolama miktarlarında daha fazla bir artışın gözlemlenmediği anlaşılmıştır, hatta bazı ÇDKNT örneklerinin hidrojen depolama miktarlarında basınç arttıkça hafif bir azalma söz konusudur. Literatürde, gözenekli malzemelerde gaz adsorpsiyon kapasitesinin incelendiği durumlarda bazen gaz basıncı arttıkça gözeneklerin dolduğu ve dış gaz yoğunluğunun da aynı anda artmaya devam ettiği görülmektedir. Belirli bir sıcaklık ve basınçta adsorplanan gaz miktarındaki fark “aşırı adsorpsiyon kapasitesi” olarak ifade edilir. Bu durumda, adsorpsiyon izotermelerinde de yüksek basınçlarda bir maksimum görülür ancak bir düzlük gözlenmez. Sonuç olarak yüksek basınçlarda karbon nanotüpün gözeneklerindeki hidrojenin yoğunluğunun artmasından dolayı depolama kapasitesi azalır (Züttel ve Schlapbach, 2008; Grzech, 2013). Bu noktadan itibaren basınç arttırılmaya devam edilirse artan gaz yoğunluğundan dolayı karbon nanotüp yüzeyinde ikinci tabaka oluşur. Böylece çok tabakalı adsorpsiyon gerçekleşir.

ÇDKNT ve fonksiyonelize örnekler içerisinde en fazla hidrojen depolama kapasitesine sahip örnek ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA’dır. Şekil 2.1’deki reaksiyon incelendiğinde ÇDKNT’nin yapısında herhangi bir fonksiyonel grup söz konusu değil iken ÇDKNT-OH’nin yapısında hidrojen moleküllerinin etkileşebileceği –OH; ÇDKNT-O-L-tirozinin yapısında –NH-, –COOH ve OH; ve ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA’nin yapısında ise –NH-, –N=N-, –COOH ve OH gibi fonksiyonel gruplar bulunmaktadır. Tablo 3.1’de fonksiyonelizasyonla ÇDKNT örneklerinin hem BET yüzey alanları hem de mezo gözenek hacimleri azalmaktadır. Karbon nanotüplerde hidrojen hem tüp içerisinde hem de tüpler arasında depolanabilmektedir. Teorik olarak bir hidrojen molekülünün bir karbon atomu ile etkileştiği bulunmuştur (Du, Zhu ve Smith, 2010). Fonksiyonelizasyonla hidrojen moleküllerinin etkileşebileceği atomların türlerinde farklılıklarının olduğu ve bu atomlarla farklı sayılarda etkileşebileceği literatürde belirtilmektedir. ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA’nin hem oda hem de kriyojenik sıcaklıklarda en yüksek hidrojen depolama kapasitesine sahip olmasının nedeni farklı ve fazla fonksiyonel gruplara sahip olmasından dolayı olabilir.

Şekil 4.1, 80 barda oda ve kriyojenik sıcaklıklarda ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin hidrojen depolama kapasitesi değerlerini göstermektedir. ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA, oda ve kriyojenik sıcaklıklarda diğer numunelere göre daha yüksek hidrojen depolama kapasitesine sahiptir. Bunun bir nedeni, artan basınçla birlikte hidrojen gazı yoğunluğunun artması ve bunun sonucunda fonksiyonel gruplarla daha fazla etkileşime girmesi olabilir.



Şekil 4.1: 80 barda oda ve kriyojenik sıcaklıklarda ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT'lerin hidrojen depolama değerleri.

Adsorpsiyon sırasında farklı gözenek boyutlarına, yüzey alanlarına ve fonksiyonel gruplara sahip hidrojen ve karbon nanotüpler arasında farklı etkileşimler mevcut olabilir. Hidrojenin fiziksel adsorpsiyonu için gereken aktivasyon enerjisi (~ 3.5 eV), kimyasal adsorpsiyonunkinden (~ 30 meV) çok daha düşüktür (Oral, 2005). Bu nedenle yüksek aktivasyon enerjisi gerektiren kimyasal adsorpsiyonun oluşma olasılığı oldukça düşüktür. Ayrıca adsorbente kimyasal olarak bağlanan hidrojen desorpsiyonu 500 °C'den yüksek sıcaklıklar gerektirir (Banerjee, Murad ve Puri, 2006; Cabria Lopez ve Alonso, 2006). Teorik çalışmalar, özellikle oda sıcaklığında ve atmosferik basınçlarda kemisorpsiyonun meydana gelme ihtimalinin çok düşük olduğunu göstermektedir (Yoo vd., 2004). Dolayısıyla karbon nanotüpler ile hidrojen arasındaki etkileşimlerin fiziksel etkileşimler olduğu söylenebilir. Bu durumda hidrojen herhangi bir ayrışma reaksiyonuna katılmadan moleküler formunu korur. (Geylan, 2016).

IUPAC tarafından sınıflandırılan altı farklı izoterm türü vardır. Bu izoterm eğrileri adsorpsiyon prosesi ve adsorbentin özellikleri hakkında önemli bilgiler sağlar. Deneysel sonuçlar, ÇDKNT örneklerinin mikro gözenek hacmine sahip olmadığını, mezo ve makro gözeneklerden oluştuğunu göstermektedir. Bu sonuç izoterm tipinin, Tip I olamayacağını göstermektedir. Örnekler en yüksek mezo gözenek hacmine sahiptir. Bu durum adsorpsiyon izoterm eğrisinin Tip II veya Tip IV olabileceğini göstermektedir. ÇDKNT-OH (Şekil

3.10b), Li-doplanmış ÇDKNT-OH (çözücü) (Şekil 3.11b) ve Li-doplanmış ÇDKNT-OH (hidrotermal) (Şekil 3.12b) örneklerinin kriyojenik sıcaklıkta izoterm eğrileri incelendiğinde, histerezeye sahiptirler. Bu özellik genellikle mezo ve makro gözenek hacimli adsorbentlerde görülür. Bu sonuç, kriyojenik sıcaklıktaki izoterm eğrilerinin Tip IV ile iyi uyum içinde olduğunu göstermektedir (Doğan vd., 2021). Ayrıca, tüm örneklerde hidrojen adsorpsiyonu basınca bağımlılık gösterdi. Hidrojen izoterm eğrileri, desorpsiyon prosesi süresince tamamen tersinirdir; bu, prosesin zayıf van der Waals etkileşimli fiziksel etkileşimler üzerinden yürüdüğünü gösterir (Pinjari, Bera, Kapur ve Kjeang, 2023). Bu sonuçlar, ÇDKNT numuneleri ile hidrojen arasındaki etkileşimlerin kimyasal adsorpsiyondan ziyade fiziksel adsorpsiyon olduğunu göstermektedir. Çünkü adsorbe edilmiş hidrojenin desorpsiyonu için proseste yüksek sıcaklık gerekli değildir.

4.2.2 Çözücü ve Hidrotermal Yöntemi ile Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT Örneklerinin Hidrojen Depolaması

Şekil 3.11a-b ve 3.12a-b, sırasıyla çözücü ve hidrotermal yöntemlerle Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin oda ve kriyojenik sıcaklıklarda basıncın fonksiyonu olarak hidrojen depolama kapasitelerini göstermektedir. Her iki şekilden de görüldüğü gibi farklı yöntemlerle Li-doplanan örneklerin hidrojen depolama kapasitelerinin birbirlerinden farklı olduğu görülmektedir. Hidrotermal yöntemle üretilmiş Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize örneklerin hidrojen depolama kapasiteleri daha yüksektir. Bunun bir nedeni hidrotermal yöntemle doplama sırasında reaktör içerisinde oluşan basınçla Li iyonlarının ÇDKNT örneklerinin iç kısımlarına, iç içe geçmiş tüplerin duvarları arasına ve tüpler arasına girmiş olması olabilir. Bunun sonucunda depolama sırasında hidrojen molekülleri tüpün iç kısımlarında, iç içe geçmiş tüplerin duvarları arasında ve tüpler arasında bulunan Li atomları ile etkileşerek örneklerin depolama kapasitesini artırır. Çözücü ortamında doplama yönteminde ise Li atomlarının tüpler arasına giremediğini söylenebilir.

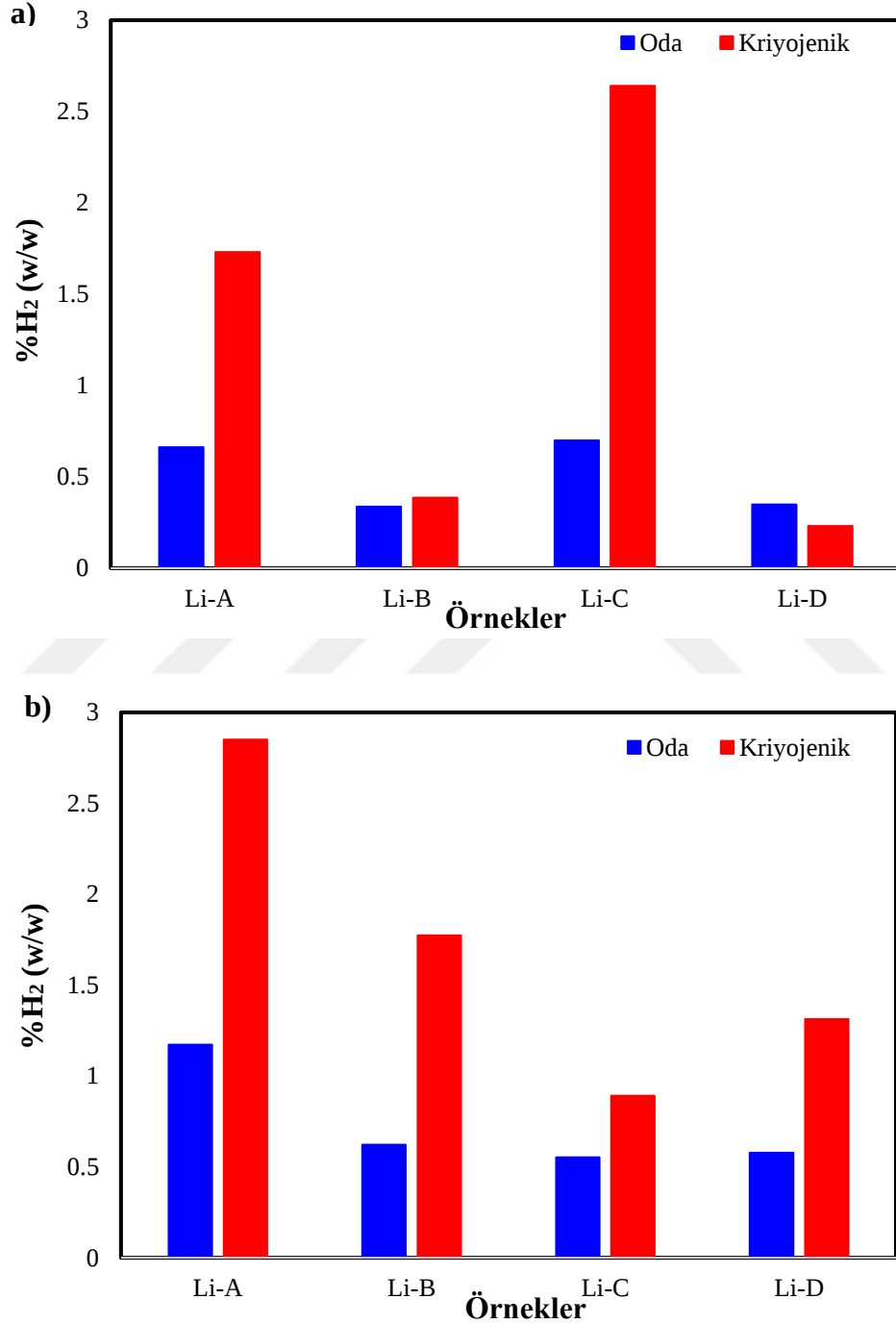
Yine her iki şekil incelendiğinde en yüksek hidrojen depolama kapasitesine sahip örnek Li-doplanmış ÇDKNT örneğidir. Tablo 3.1 incelendiğinde ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin mikro gözeneklere sahip olmadığı görülmektedir. Tüm örnekler mezo ve makro gözeneklere sahiptir. Yine tablo incelendiğinde mezo gözenek hacimlerinin makro gözeneklerden daha fazla olduğu söylenebilir. Li-doplanmış fonksiyonelize örneklerin BET yüzey alanları ÇDKNT ve Li-doplanmış ÇDKNT örneklerinkinden daha düşüktür. Genelde örneklerin hidrojen depolama kapasitesini belirleyen en önemli parametreler BET yüzey alanı ve mikro gözenek hacmidir (Elyassi, Rashidi, Hantehzadeh ve Elahi, 2017). Tablodan

hem ÇDKNT hem de fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin mikro gözenek hacmine sahip olmadığı görülmektedir. Bu durumda en önemli parametrenin BET yüzey alanı olduğu söylenebilir. Fonksiyonelize ve Li-doplanmış fonksiyonelize örneklerinin BET yüzey alanları ÇDKNT ve Li-doplanmış ÇDKNT örneklerinkinden daha düşüktür. Bu sonuç BET yüzey alanının azalması ile hidrojen molekülleri ile karbon nanotüp örneklerinin etkileşimlerinin azalacağını göstermektedir. Bir başka neden ise doplama sırasında Li atomlarının sterik etkilerden dolayı fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin iç kısımlarına nüfuz edememiş olması olabilir.

Her iki şekil incelendiğinde tüm örneklerin kriyojenik sıcaklıklardaki hidrojen depolama kapasiteleri artan van der Waals etkileşimlerinden dolayı oda sıcaklığındakinden daha yüksektir. Yine oda sıcaklığındaki izoterm eğrileri incelendiğinde artan basınçla depolama kapasiteleri Henry yasasına uyumlu olarak artan basınçla doğrusal bir şekilde artmaktadır. 77 K’de ise başlangıçta basınç arttıkça artmakta, daha sonra azalmakta ve tekrar artmaktadır. Sonuçta çok tabakalı adsorpsiyon izotermi elde edilmektedir. Örneklerin artan basınçla depolama kapasitelerinin başlangıçta artıp daha sonra azalmasının nedeni aşırı adsorpsiyon kapasitesinden dolayıdır.

Yine 80 bar oda ve kriyojenik sıcaklıklarda sırasıyla çözücü ve hidrotermal yöntemlerle üretilmiş Li-doplanmış ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin hidrojen depolama kapasiteleri Şekil 4.2a ve b sütun grafikleri şeklinde verilmiştir. Çözücü yöntemi ile üretilen doplanmış örnekler içerisinde en yüksek hidrojen depolama kapasitesine sahip örnek Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin iken hidrotermal yöntemle doplanmış örnekler içerisinde en yüksek hidrojen depolama kapasitesine sahip örnek ise Li-doplanmış ÇDKNT’dir. Hidrotermal prosese tabi tutulan örneklerde Li atomlarının tüpün iç kısımlarına, iç içe geçmiş tüplerin duvarları arasına ve tüpler arasına girerek örneklerini hidrojen depolama kapasitesini arttırdığı söylenebilir. Teorik çalışmalar bir karbon atomunun bir hidrojen molekülü ile etkileştiğini ancak bir Li atomunun ise dört hidrojen molekülü ile etkileştiğini göstermektedir. Yapıya karbon atomunda hem daha hafif hem de daha fazla hidrojen molekülleri ile etkileşen Li atomunun girmesi sonucu doplanmış örneklerin hidrojen depolama kapasitesinin arttığı söylenebilir. Çözücü yöntemi ile üretilen doplanmış örneklerde Li atomunun tüpün iç kısımlarına ve iç içe geçmiş tüplerin duvarları arasına giremediğini sadece tüp yüzeyleri ve fonksiyonel gruplarla etkileştiği söylenebilir. Çünkü hidrotermal yöntemin aksine çözücü yönteminde Li atomlarının tüpün iç kısımlarına ve tüpler arasına girmesini sağlayacak basınç gibi bir parametre söz konusu değildir. Bunun

sonucunda Li atomları tüp yüzeyi ve yüzeydeki fonksiyonel gruplarla etkileşerek yapıya girecektir. Bu nedenle çözücü yönteminde üretilen Li-doplanmış fonksiyonelize yapıların hidrojen depolama kapasitesi genelde ÇDKNT'kinden daha yüksektir.



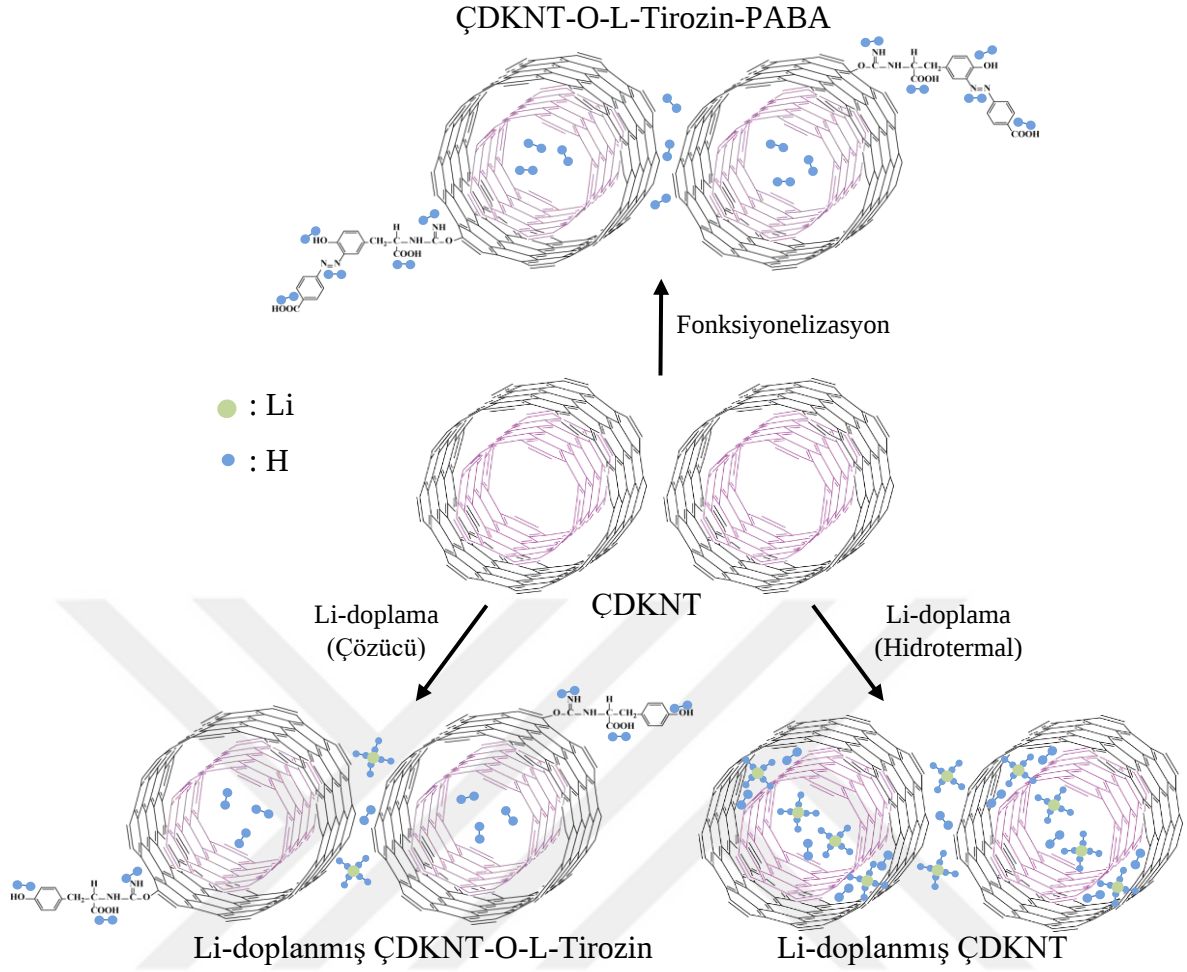
Şekil 4.2: 80 barda oda ve kriyojenik sıcaklıklarda Li-doplanmış ÇDKNT ve Li-doplanmış fonksiyonelize ÇDKNT'lerin hidrojen depolama değerleri a) çözücü yöntemi ve b) hidrotermal yöntemi.

Yukarıdaki sonuçlar ÇDKNT ve fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin hidrojen depolama kapasitesini arttırmada basıncın, sıcaklığın, doplamanın ve fonksiyonelizasyonun önemli parametreler olduğunu göstermektedir. Benzer sonuçlar farklı adsorbentler için literatürde bulunmuştur. Vellingiri ve arkadaşları (2019), tek duvarlı karbon nanotüp/lityum bor hidrür kompozitlerinin hidrojen depolama kapasitelerinin sıcaklık ve basınca bağlı olduğunu bulmuşlardır (Vellingiri, Annamalai, Kandasamy ve Kombiah, 2019). Gao ve arkadaşları (2010), ÇDKNT'lerin 573 K ve ortam basıncında hidrojen depolama kapasitesilerini incelemiş ve ağırlıkça %0,1 olarak bulmuşlardır. Aynı örneğin yüzeyinde kusurlu noktalar oluşturmak için oksidasyon prosesine ve daha sonra da Pd-Ni doplama işlemine tabi tutmuşlardır. Bu proseslerden sonra ÇDKNT örneklerinin hidrojen depolama kapasitesini ağırlıkça %6,6 olarak bulmuşlardır (Gao vd., 2010). Mosquera-Vargas ve arkadaşları (2021), ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasitesinin morfolojiye ve spesifik yüzey alanına bağlı olduğunu gösterdiler. 729 m²/g spesifik yüzey alanına sahip ÇDKNT örneğinin 12,79 kPa'da maksimum hidrojen depolama kapasitesini ağırlıkça %3,46 olarak belirlemişlerdir (Mosquera-Vargas vd., 2021). Luxembourg ve arkadaşlar (2007), güneş reaktörü ile tek duvarlı karbon nanotüpler ürettirler ve farklı yöntemlerle saflaştırdılar. Saflaştırılmış örneklerin hidrojen depolama kapasitesini 6 MPa basınç altında 253 K'de volumetrik olarak ağırlıkça %0,7 olarak ölçtüler (Luxembourg vd., 2007). Lee ve arkadaşları (2010), ÇDKNT örneklerinin morfolojik ve hidrojen depolama kapasitelerine kriyojenik öğütmenin etkisini araştırdılar. 700 rpm'de ÇDKNT'nin kriyojenik öğütülmesi sonucunda BET yüzey alanı ve gözenek hacmi sırasıyla %17,4 ve 34,9 oranında arttı. Genel olarak örneklerin hidrojen depolama kapasitesi yüzey alanı ve gözenek hacmine bağlı olarak artmaktadır. Bu açıklamaya paralel olarak ÇDKNT'nin hidrojen depolama kapasitesi de %22 oranında artmıştır (Lee, Rhee ve Park, 2010). Lee ve Park (2012), kimyasal aktivasyon metodu ile aktifleştirilmiş ÇDKNT örnekleri hazırladılar ve 77 K ve 1 barda hidrojen depolama kapasitesini ölçtüler. 900 °C'de aktifleştirilmiş ÇDKNT örneğinin en yüksek hidrojen depolama kapasitesine (ağırlıkça %0,54) sahip olduğunu belirlediler. Bu değeri adsorbentin mikro gözenek hacmi ile ilişkilendirmişlerdir (Lee ve Park 2012). Silambarasan ve arkadaşları (2011), BH₃ ile fonksiyonelize edilmiş tek duvarlı karbon nanotüplerin 50 °C'deki hidrojen depolama kapasitesini elementel analiz yöntemi ile ağırlıkça %1,5 olarak ölçmüştür (Silambarasan, Surya, Vasu ve Iyakutti, 2011). Chen ve Huang (2007), KOH ile modifiye edilmiş ÇDKNT örnekleri hazırladı. DeneySEL sonuçlar, karbon nanotüplerin (KNT'ler) H₂ atmosferinde 823 K'de KOH tarafından aktive edildikten sonra yapısında bozunmaların olduğunu belirledi. Modifiye edilmiş ve edilmemiş ÇDKNT örneklerinin

ortam basıncında ve sıcaklıklarda hidrojen depolama kapasitelerini sırasıyla ağırlıkça %4,47 ve 0,71 olarak ölçmüşlerdir (Chen ve Huang 2007).

Literatürdeki sonuçlardan görüldüğü gibi ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasitesini arttırmak için farklı parametrelerin etkili olduğu görülmektedir. Bu çalışmalarda ÇDKNT örneklerinin hidrojen depolama kapasitelerinin ağırlıkça %0,1-6,6 aralığında değiştiği ve bazı sonuçların tekrarlanabilirliği konusunda da tartışmalar olduğu söz konusudur. Çalışmamızda ÇDKNT'nin hidrojen depolama kapasitesinin fonksiyonelleştirme ve Li-doplama sonucunda sırasıyla ağırlıkça yaklaşık %150 ve %200 oranında arttığı görülmektedir. 80 barda fonksiyonelleştirilmiş, çözücü yöntemiyle doplanmış ve hidrotermal yöntemle doplanmış malzemeler arasında en yüksek hidrojen depolama kapasitesine sahip numuneler sırasıyla ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA, Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve Li-doplanmış ÇDKNT'dir. Bu sonuçlar, fonksiyonelleştirme ve Li-doplamanın ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasitesinin artırılmasında önemli parametreler olduğunu göstermektedir. Deneysel sonuçlardan 80 barda en yüksek hidrojen depolama kapasitesine sahip örneğin Li-doplanmış ÇDKNT olduğu görülmektedir.

Bu açıklamalar kapsamında i. ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA ve hidrojen, ii. Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin (çözücü) ve hidrojen ve iii. Li-doplanmış ÇDKNT (hidrotermal) ve hidrojen arasındaki etkileşimler aşağıdaki gibi yazılabilir.



Şekil 4.3: En yüksek depolama kapasitesine sahip örneklerde hidrojenin adsorpsiyon mekanizması.

Literatürdeki bazı karbon türevi örneklerin ve bu çalışmada elde edilen bazı örneklerin hidrojen depolama kapasiteleri Tablo 4.2'de verilmiştir. Fonksiyonelleştirilmiş ve doplanmış örneklerin hidrojen depolama kapasiteleri, literatürdeki bazı karbon türevi adsorbentlerin depolama kapasitelerinden daha yüksektir. Bu sonuçlar, karbon türevi malzemelerin hidrojen depolama kapasitesinin artırılmasında fonksiyonelleştirmenin ve özellikle Li-doplamanın çok önemli olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak hidrotermal yöntemle Li-doplanmış ÇDKNT'nin endüstride hidrojen depolama amaçlı kullanılabilecek bir ürün olduğu söylenebilir.

Tablo 4.2: Bazı karbon numunelerinin hidrojen depolama kapasitelerinin karşılaştırılması.

Örnekler	Basınç (bar)	Sıcaklık (K)	%H ₂ (w/w)	Kaynaklar
Aktifleştirilmiş ÇDKNT	1	77	0,54	Lee ve Park, 2012
ÇDKNT	10	77	0,28	Çakır vd., 2021
ÇDKNT	1	77	0,54	Lee ve Park, 2012
ÇDKNT	100	298	0,2	Barghi vd., 2014
Karbon küre	30	77	1,1	Kızılduman vd., 2021
ÇDKNT-TiO ₂	25	-----	2,5	Muthu vd., 2016
ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA	80	77	2,41	In this study
Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin (Çözücü)	80	77	2,64	In this study
Li-doplanmış ÇDKNT (Hidrotermal)	80	77	2,85	In this study

4.3 PPO Karakterizasyonu ve Saflaştırılması

Enzim kinetiği optimum pH ve sıcaklık değerlerinde çalışıldı. Bu nedenle ilk önce enzim optimum aktivite gösterdiği pH ve sıcaklık değerleri belirlendi.

4.3.1 Optimum pH

Enzim aktivitesini etkileyen en önemli parametrelerden birisi pH'dır. Genelde enzim aktivitesi artan pH ile artar, bir maksimuma erişir ve pH'daki daha fazla artmayla azalarak sıfıra doğru gider. *Salvia aethiopis* L. bitkisinin yaprak ve çiçeklerinden fosfat tamponu ekstraksiyonu, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz prosesleri ile saflaştırılan PPO enziminin optimum pH değerleri pH 4-9 aralığında katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratları kullanılarak üç tekrarlı olarak incelenmiştir. Şekil 3.13a-c, *Salvia aethiopis* L. bitkisinin yaprağından ekstrakte edilen ham enzim, amonyum sülfatla saflaştırılmış enzim ve diyalizle saflaştırılmış enzim çözeltilerinin katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratları için aktivite-pH değişim grafiklerini gösterirken Şekil 3.14a-c ise çiçeğinden elde edilen enzim çözeltilerinin aktivite-pH değişim grafiklerini göstermektedir. Şekiller incelendiğinde hem çiçekten hem de yapraktan farklı saflaştırma prosesleri ile elde edilen ekstraktların optimum pH değerlerinin substratlara bağlı olarak değiştiği görülmektedir. *Salvia aethiopis* L. bitkisinin yaprağından fosfat tamponu ile ekstrakte edilen ham enzim, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz sonucu elde edilen çözeltilerin i. katekol substratı için optimum pH değerlerinin sırasıyla 7, 7 ve 7, ii. 4-metilkatekol substratı için optimum pH değerlerinin sırasıyla 6, 5 ve 5, ve iii. pirogallol substratı için optimum pH değerlerinin

sırasıyla 9, 8 ve 8 olduğu bulundu. Benzer şekilde *Salvia aethiopis* L. bitkisinin çiçeğinden fosfat tamponu ile ekstrakte edilen ham enzim, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz sonucu elde edilen enzim çözeltilerinin i. katekol substratı için optimum pH değerlerinin sırasıyla 7, 7 ve 6, ii. 4-metilkatekol substratı için optimum pH değerlerinin sırasıyla 6, 6 ve 5, iii. pirogallol substratı için optimum pH değerlerinin sırasıyla 8, 8 ve 7 olduğu belirlendi. Saflaştırma prosesleri ile enzimlerin optimum pH'larının substratlara bağlı olarak sola doğru yani asidik bölgelere doğru kaydığı görülmektedir. Yaprak ve çiçekten farklı proseslerle elde edilen enzim çözeltilerinin optimum pH değerleri karşılaştırıldığında önemli bir değişimin olmadığı görülmektedir. Saflaştırma prosesleri ile optimum pH değerlerinin genel olarak sola doğru kayması zayıf asidik karakter gösteren fenolik bileşenlerden kaynaklanıyor olabilir. Fenolik bileşikler genellikle bir veya birden fazla hidroksil grup içeren bir aromatik halkaya sahip bitkinin normal gelişimi sırasında sentez edilen ikincil metabolitlerdir. Fenolik bileşikler çok zayıf asitler ve seyreltik sulu çözeltilerinin pH'sı konsantrasyona bağlı olarak 5-6 aralığındadır. Bitkinin yapısında çok sayıda farklı organik bileşikler bulunmaktadır. Bu organik bileşiklerin bazılarının saflaştırma basamakları ile giderilmesi sonucunda fenolik bileşikçe zengin kısmen saflaştırılmış bir enzim çözeltisinin elde edildiği söylenebilir. Literatürde farklı kaynaklardan saflaştırılan PPO enziminin optimum pH değerleri farklı substratlar kullanılarak belirlenmiştir. Katekol substratının kullanıldığı çalışmalarda optimum pH'lar *Buriti* (*Mauritia flexuosa*, Linnaeus, f.) için 7 (Carvalho ve Orlando, 2017), kayısı (*Prunus armeniaca* L.) için 4,5 (Derardja, 2017), semizotu (*Portulaca oleracea*) için 7 (Güven, 2017), Guankou üzümü (*Vitis vinifera* x *Vitis labrus*) için 4.6 (Wang, 2021), Yaban Mersini (*Vaccinium corymbosum* L.) için 6,1-6,3 (Siddiq ve Dolan, 2017), mantar (*Volvariella bombycina*) için 6,5 (Sarsenova vd., 2023), trüf mantarı (*Terfezia arenaria*) için 7 (Benaceur vd., 2020), acı yaprak (*Vernonia amygdalina*) için 5,5 (Ilesanmi vd., 2023), Mersin meyvesi (*Myrtus communis* L.) için 6,5 (Çınar ve Aksay, 2022), avokado (*Persea americana*) için 7,2 (Alishah, Yıldız, Bilen ve Karakuş, 2023), *Opuntia ficus-india* meyvesi için 7,5 (Demir, Kabak ve Çağlayan, 2023), erik (*Prunus domestica*) için 6 (Ioniță vd., 2017), rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) için 6 (Karakuş, Yıldırım ve Acemi, 2021), Elma (*Malus domestica*) meyvesi için 6,5 (Sajjad vd., 2023), Jonagold elması (*Malus* x *domestica*) için 7 (Çesko, 2023), Armut (*Pyrus communis* L. 'Rocha') için 5 (Gomes, Vieira, Fundo ve Almeida, 2014), yılan meyvesi [*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss] için 6,5 (Zaini vd., 2013), Türk çayı yaprağı (*Camellia Sinensis* L.) için 6 (Altunkaya, 2014), mürdüm eriği (*Prunus insititia*) için 7,2 (Yıldız, Bilen ve Karakuş, 2022), Musa *Acuminata* meyvesi için 6,5 (Sajjad vd., 2021), *Prunus spinosa* L. subsp. *Dasyphylla* eriği için 7 (Baltas vd., 2017),

fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) için 8 (Doğan vd., 2005), patlıcan I (*Solanum melongena* var. *insanum*) için 7 (Doğan, Arslan ve Doğan, 2002), Thymus (*Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii*) için 6,5 (Doğan ve Doğan, 2004), marul (*Lactuca sativa* L.) için 8 (Doğan ve Salman, 2007), melisa (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) için 6,5 (Doğan vd., 2013) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) için 8 (Doğan vd., 2011) olarak bulunmuştur. 4-metilkatekol substratının kullanıldığı çalışmalarda optimum pH'lar mantar (*Volvariella bombycina*) için 9 (Sarsenova vd., 2023), Trüf mantarı (*Terfezia arenaria*) için 4 (Benaceur vd., 2020), rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) için 5 (Karakuş, Yıldırım ve Acemi, 2021), kırmızı kısmış üzümü (*Vitis vinifera* L.) için 5 (Kaya ve Bağcı, 2021), erik hurması (*Diospyros lotus* L.) için 7 (Faiz ve Baltas, 2017), Jonagold elması (*Malus x domestica*) için 7 (Çesko, 2023), Avokado (*Persea americana*) için 6 (Alishah vd., 2023), Opuntia ficus-india meyvesi için 7.5 (Demir, Kabak ve Çağlayan, 2023), Armut (*Pyrus communis* L. 'Rocha') için 5 (Gomes, Vieira, Fundo ve Almeida, 2014), mürdüm eriği (*Prunus insititia*) için 4.5 (Yıldız, Bilen ve Karakuş, 2022), Yaban armutu (*Pyrus elaeagnifolia* subsp. *Elaeagnifolia* Pallas) için 7 (Baltas, 2017), Prunus spinosa L. subsp. *Dasyphylla* eriği için 7 (Baltas vd., 2017), fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) için 6, patlıcan (I) (*Solanum melongena* var. *insanum*) için 6, patlıcan (II) (*Solanum melongena* var. *falcatum*) için 6,5, patlıcan (III) (*Solanum melongena* var. *zhukovskyi*) için 6,5 (Doğan, Arslan ve Doğan, 2002), Thymus (*Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii*) için 5,5 (Doğan ve Doğan, 2004), marul (*Lactuca sativa* L.) için 6,5 (Doğan ve Salman, 2007), melisa (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) için 4 (Doğan vd., 2013) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) için 7 (Doğan vd., 2011) olarak bulunmuştur. Pirogallol substratının kullanıldığı çalışmalarda optimum pH'lar mantar (*Volvariella bombycina*) için 8 (Sarsenova vd., 2023), Trüf mantarı (*Terfezia arenaria*) için 6.5 (Benaceur vd., 2020), avokado (*Persea americana*) için 8.5 (Alishah vd., 2023), Opuntia ficus-india meyvesi için 9 (Demir, Kabak ve Çağlayan, 2023), rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) için 7 (Karakuş, Yıldırım ve Acemi, 2021), Jonagold elması (*Malus x domestica*) için 7.5 (Çesko vd., 2023), Armut (*Pyrus communis* L. 'Rocha') için 8 (Gomes, Vieira, Fundo ve Almeida, 2014), Mürdüm eriği (*Prunus insititia*) için 6.8 (Yıldız, Bilen ve Karakuş, 2022), fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) için 9 (Doğan vd., 2005), Thymus (*Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii*) için 6,5 (Doğan ve Doğan, 2004), marul (*Lactuca sativa* L.) için 7,5 (Doğan ve Salman, 2007), melisa (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) için 8,5 (Doğan vd., 2013) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) için 8 (Doğan vd., 2011) olarak bulunmuştur. Yukarıdaki sonuçlardan görüldüğü gibi farklı kaynaklardan elde edilen enzimlerin optimum

pH değerleri ekstraksiyon metotlarına, enzimin saflık derecesine, enzimi ekstrakte etmek ve saflaştırmak için kullanılan tamponun türüne, ölçüm için kullanılmış substrata ve enzimin bitki hücresindeki lokalizasyonuna bağlı olarak değişmektedir.

4.3.2 Optimum Sıcaklık

Enzim katalizli reaksiyonlarda genelde sıcaklığın 10 °C artmasıyla reaksiyon hızının da yaklaşık iki kat arttığı bulunmuştur. Enzimin kaynağına bağlı olarak optimum sıcaklık değerleri değişkenlik gösterebilmektedir. Örneęin hayvansal kaynaklı enzimler 40-50 °C aralığında optimum sıcaklık değerleri sergilerken bitkisel kaynaklı enzimler biraz daha yüksek sıcaklıklarda optimum aktivite sergilemektedirler. Şekil 3.15a-c, *Salvia aethiopis* L. bitkisinin yaprağından fosfat tamponu ile ekstrakte edilen ham enzim çözeltisinin, amonyum sülfat çöktürmesi ile elde edilen enzim çözeltisinin ve diyaliz edilen enzim çözeltisinin sırasıyla katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratları için elde edilen aktivite-optimum sıcaklık eğrilerini gösterirken Şekil 3.16a-c ise *Salvia aethiopis* L. bitkisinin çiçeği için elde edilen aktivite-optimum sıcaklık eğrilerini göstermektedir. Şekillerden optimum sıcaklığın hem yapraktan hem de çiçekten elde edilen ham enzim çözeltisinin kısmen saflaştırılması ile hafif bir şekilde arttığı, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyalizle saflaştırılmış enzim çözeltilerinin optimum sıcaklıklarının ise substrata bağlı olmaksızın 30 °C olduğu bulunmuştur. Bu sıcaklığın üzerinde enzim aktivitesinin azaldığı görölmektedir. Bunun nedeni artan sıcaklıkla enzimin denatüre olma hızının reaksiyon hızından daha yüksek olması olabilir. Bunun sonucunda protein yapılı enzimin üç boyutlu yapısı bozulur ve reaksiyonu katalizleme hızı düşer ve daha yüksek sıcaklıklarda reaksiyonu katalizleme gücünü kaybeder. Literatürde farklı kaynaklardan elde edilen enzimlerin optimum sıcaklıkları farklı substratlar kullanılarak incelenmiştir. Örneęin katekol substratı kullanılarak PPO enzimi için optimum sıcaklığın *Buriti* (*Mauritia flexuosa*, Linnaeus, f.) meyvesi için 35 °C (Carvalho ve Orlando, 2017), kayısı (*Prunus armeniaca* L.) için 45 °C (Derardja vd., 2017), semizotu (*Portulaca oleracea*) için 50 °C (Güven vd., 2017), Guankou üzümü (*Vitis vinifera* x *Vitis labrus*) için 30 °C, (Wang vd., 2021) Yaban Mersini (*Vaccinium corymbosum* L.) için 35 °C (Siddiq ve Dolan, 2017), Mantar (*Volvariella bombycina*) için 15 °C (Sarsenova vd., 2023), Trüf Mantarı (*Terfezia arenaria*) için 45 °C (Benaceur vd., 2020), Acı yaprak (*Vernonia amygdalina*) için 50 °C (Ilesanmi vd., 2023), Mersin meyvesi (*Myrtus communis* L.) için 30 °C (Çınar ve Aksay, 2022), Avokado (*Persea americana*) için 37 °C (Alishah vd., 2023), *Opuntia ficus-india* için 20 °C (Demir, Kabak ve Çaęlayan, 2023), erik (*Prunus domestica*) için 25 °C (Ioniță vd., 2017), rezene (*Foeniculum*

vulgare Mill.) için 30 °C (Karakuş, Yıldırım ve Acemi, 2021), elma (*Malus domestica*) meyvesi için 40 °C (Sajjad vd., 2023), Jonagold elması (*Malus x domestica*) için 30 °C (Çesko vd., 2023), yılan meyvesi [*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss] için 30 °C (Zaini vd., 2013), Türk çayı yaprağı (*Camellia Sinensis* L.) için 30 °C (Altunkaya, 2014), Mürdüm eriği (*Prunus insititia*) için 25 °C (Yıldız, Bilen ve Karakuş, 2022), Musa Acuminata meyvesi için 40 °C (Sajjad vd., 2021), *Prunus spinosa* L. subsp. *Dasyphylla* eriği için 30 °C (Baltas vd., 2017), fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) için 40 °C (Doğan vd., 2005), patlıcan I (*Solanum melongane* var. *insanum*) için 30 °C (Doğan, Arslan ve Doğan, 2002), Thymus (*Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii*) için 25 °C (Doğan ve Doğan, 2004), marul (*Lactuca sativa* L.) için 40 °C (Doğan ve Salman, 2007), melisa (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) için 40 °C (Doğan vd., 2013) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) için 30 °C (Doğan vd., 2011) olarak bulunmuştur. 4-metilkatekol substratı kullanılarak PPO enzimi için optimum sıcaklığın mantar (*Volvariella bombycina*) için 20 °C (Sarsenova vd., 2023), Trüf mantarı (*Terfezia arenaria*) için 30 °C (Benaceur vd., 2020), rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) için 30 °C (Karakuş, Yıldırım ve Acemi, 2021), Kırmızı kısmış üzümü (*Vitis vinifera* L.) için 30 °C (Kaya ve Bağcı, 2021), erik hurması (*Diospyros lotus* L.) için 60 °C (Faiz ve Baltas, 2017), Jonagold elması (*Malus x domestica*) için 50 °C (Çesko vd., 2023), Avokado (*Persea americana*) için 37 °C (Alishah vd., 2023), *Opuntia ficus-india* meyvesi için 30 °C (Demir, Kabak ve Çağlayan, 2023), Mürdüm eriği (*Prunus insititia*) için 10 °C (Yıldız, Bilen ve Karakuş, 2022), Yaban armutu (*Pyrus elaeagnifolia* subsp. *Elaeagnifolia* Pallas) için 30 °C (Baltas, 2017), *Prunus spinosa* L. subsp. *Dasyphylla* eriği için 40 °C (Baltas vd., 2017), fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) için 20 °C (Doğan vd., 2005), patlıcan I (*Solanum melongane* var. *insanum*) için 20 °C (Doğan, Arslan ve Doğan, 2002), Thymus (*Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii*) için 25 °C (Doğan ve Doğan, 2004), marul (*Lactuca sativa* L.) için 30 °C (Doğan ve Salman, 2007), melisa (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) için 50 °C (Doğan vd., 2013) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) için 20 °C (Doğan vd., 2011) olarak bulunmuştur. Pirogallol substratı kullanılarak PPO enzimi için optimum sıcaklığın mantar (*Volvariella bombycina*) için 15 °C (Sarsenova vd., 2023), Trüf mantarı (*Terfezia arenaria*) için 40 °C (Benaceur vd., 2020), Avokado (*Persea americana*) için 5 °C (Alishah vd., 2023), *Opuntia ficus-india* meyvesi için 20 °C (Demir, Kabak ve Çağlayan, 2023), rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) için 30 °C (Karakuş, Yıldırım ve Acemi, 2021), Jonagold elması (*Malus x domestica*) için 40 °C (Çesko vd., 2023), Mürdüm eriği (*Prunus insititia*) için 5 °C (Yıldız, Bilen ve Karakuş, 2022), fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) için 50 °C (Doğan vd., 2005), Thymus (*Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var.

chaubardii) için 35 °C (Doğan ve Doğan, 2004), marul (*Lactuca sativa* L.) için 30 °C (Doğan ve Salman, 2007), melisa (*Melissa officinalis* L. subsp *officinalis*) için 60 °C (Doğan vd., 2013) ve biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) için 30 °C (Doğan vd., 2011) olarak bulunmuştur. Yukarıdaki sonuçlardan en dikkat çekici olanı pirogallol substratı ile avokado ve mürdüm eriği için optimum sıcaklıkların 5 °C civarında olmasıdır. Diğer sonuçlar ise bitkisel kaynaklı PPO enzimleri için beklenen aralıktadır. Yine sonuçlar incelendiğinde optimum sıcaklığın enzim kaynağına ve substrata bağlı olarak değiştiği de görülmektedir.

4.3.3 Enzim Kinetiği

Enzim çözeltilerinin Michaelis sabitleri (K_m ve V_{max}) katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratlarının farklı konsantrasyonlarında optimum pH ve sıcaklık değerlerinde belirlendi. Bu amaçla elde edilen deneysel verilerden Lineweaver-Burk denkleminde göre grafikler çizildi. Enzimin substrat spesifikliğini test etmek için di- ve tri-fenolik bileşikler kullanıldı. *Salvia aethiopis* L. bitkisinin yaprak ve çiçeğinden farklı yöntemlerle elde edilen PPO enzim çözeltilerinin katekol, 4-metilkatekol ve pirogallol substratları için aktivite-konsantrasyon eğrileri basit Michaelis-Menten eğrisi sergilemektedir (eğriler gösterilmemiştir.). Michaelis-Menten eğrilerinin verilerinin Lineweaver-Burk denkleminde uygulanmasıyla V_{max} ve K_m değerleri elde edildi. Lineweaver-Burk denkleminin eğim ve ekstrapolasyonundan hesaplanan V_{max} , K_m ve V_{max}/K_m değerleri Tablo 3.18-3.23'de verilmektedir. Enzimin katalizleme gücü olarak bilinen V_{max}/K_m değerinden substrat spesifikliğı belirlenmiştir. *Salvia aethiopis* L. bitkisinin yaprağından fosfat tamponu ekstraksiyonu, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyalizle elde edilen PPO enzimlerinin katekol substratı için elde edilen V_{max}/K_m değerleri sırasıyla $1,43 \times 10^6$, $1,67 \times 10^6$ ve $3,32 \times 10^6$, 4-metilkatekol substratı için $2,00 \times 10^6$, $5,01 \times 10^6$ ve $3,33 \times 10^6$; ve pirogallol substratı için $2,00 \times 10^7$, $1,43 \times 10^7$ ve $1,25 \times 10^7$ olarak bulunmuştur. Bu sonuçlardan en yüksek V_{max}/K_m değeri pirogallol substratı için bulunmuştur. Bu durumda enzimin pirogallol substratına spesifikliğinin daha yüksek olduğu söylenebilir. Yine sonuçlardan saflaştırma ile katekol ve 4-metilkatekol substratları için V_{max}/K_m değerlerinin arttığı pirogallol substratı için azaldığı görülmektedir. *Salvia aethiopis* L. bitkisinin çiçeğinden fosfat tamponu ekstraksiyonu, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyalizle elde edilen PPO enzimlerinin katekol substratı için elde edilen V_{max}/K_m değerleri sırasıyla $1,67 \times 10^6$, $5,00 \times 10^6$ ve $5,00 \times 10^6$, 4-metilkatekol substratı için $5,00 \times 10^6$, $3,33 \times 10^6$ ve $1,11 \times 10^7$; ve pirogallol substratı için $2,50 \times 10^7$, $3,33 \times 10^7$ ve $1,23 \times 10^7$ olarak bulunmuştur. Yaprğa benzer şekilde çiçekten elde edilen PPO enziminin de en fazla pirogallol'a karşı spesifiklik gösterdiği söylenebilir. Yukarıdaki sonuçlar bir bütün olarak

değerlendirildiğinde genel olarak saflaştırma prosesi ile V_{max}/K_m değerinin arttığı ve enzimin en fazla pirogallol'da spesifiklik gösterdiği ve bunu 4-metilkatekol ve katekolün izlediği görülmektedir.

4.4 Enzim Saflaştırma

Salvia aethiopis L. bitkisinden PPO, amonyum sülfat, diyaliz ve afinite kromatografisi ile saflaştırıldı. Her saflaştırma basamağı için ilk önce enzim aktivitesi ve protein miktarları belirlendi. Bu değerler kullanılarak da spesifik aktivite ve saflaştırma oranları hesaplandı. Tablo 4.3, PPO'nun her saflaştırma basamağı için enzim aktivitesi, protein miktarı, spesifik aktivite ve saflaştırma oranını göstermektedir. Tablodan görüldüğü gibi yapraktan ve çiçekten farklı tekniklerle saflaştırılan PPO'nun saflaştırma oranlarının birbirlerinden farklı olduğu görülmektedir. Yapraktan elde edilen enzim 8,4 kat saflaştırılırken çiçekten elde edilen enzim 3 kat saflaştırılmıştır. Bu yaprak ve çiçekteki fenolik bileşiklerin yoğunluğundan ve enzimle olan etkileşimlerinden kaynaklanabilir. Bir başka olasılık yapraktaki fenolik bileşiklerin küçük molekül ağırlıklı oldukları ve diyaliz torbasının gözeneklerinden geçerek enzimin daha fazla saflaştırılmasına sebep olduğu söylenebilir. Üçüncü olasılık enzimin afinite kromatografisinde proteinlerle farklı hızlarda yürüyerek uzaklaşmasından dolayı olabilir. Yine saflaştırma basamakları için hesaplanan saflaştırma oranı değerlerine bakıldığında en yüksek oran afinite kromatografisi ile saflaştırmış enzim için elde edildiğini göstermektedir. Bu da hazırlanan afinite matrisinin enzimi saflaştırmada diğer saflaştırma yöntemlerinden daha etkili olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlar karbon nanotüp esaslı fonksiyonelize afinite matrislerinin PPO enziminin saflaştırılmasında kullanılabileceğini ancak tek başına yüksek saflıkta enzimlerin elde edilemeyeceğini göstermektedir.

Tablo 4.3: PPO enziminin farklı tekniklerle saflaştırma verileri.

Enzim kaynağı	Saflaştırma basamağı	Enzim aktivitesi (EÜ/mLdk)	Protein miktarı (µg/µl)	Spesifik aktivite	Saflaştırma oranı
Yaprak	Ham ekstrat	1139	1,779	640	-
	Amonyum sülfat çöktürmesi	1572	2,023	777	1,2
	Diyaliz	4320	1,218	3546	5,5
	Afinite kromatografisi	5721	1,065	5371	8,4
Çiçek	Ham ekstrat	1849	0,839	1849	-
	Amonyum sülfat çöktürmesi	2073	1,067	1942	1,1
	Diyaliz	2212	1,042	2122	1,2
	Afinite kromatografisi	619	0,111	5576	3

4.5 Sonuçlar

Bu çalışmada fonksiyonelleştirilmiş ÇDKNT örnekleri, farklı kimyasal reaksiyonlarla ÇDKNT'den sentezlendi. Daha sonra ÇDKNT ve fonksiyonelleştirilmiş ÇDKNT örnekleri, çözücü ve hidrotermal yöntemler kullanılarak Li-doplandı. Üretilen örnekler BET, FTIR, DTA/TG ve SEM teknikleriyle karakterize edildikten sonra ilk önce oda ve kriyojenik sıcaklıklarda basıncın bir fonksiyonu olarak hidrojen depolama kapasiteleri ölçüldü. Daha sonra ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA yapısının PPO enziminin afinite matrisi ile saflaştırılmasında kullanılabiliirliliği araştırıldı.

Fonksiyonelizasyonla ÇDKNT'nin BET yüzey alanı ve gözenek hacmi azaldı. ÇDKNT, fonksiyonelleştirilmiş ÇDKNT, Li-doplanmış ÇDKNT ve Li-doplanmış fonksiyonelize ÇDKNT örneklerinin mezo ve makro gözenek hacimlerine sahip olduğu belirlendi. ÇDKNT'nin fonksiyonelizasyonu ile FTIR spektrumunda -NH-, -COOH, OH, -N=N- gruplarına ve doplama ile Lityuma ait bantlara rastlandı. DTA/TG termogramı ÇDKNT'nin iki basamakta bozunduğunu fonksiyonelize örneklerin ise daha fazla basamakta bozunduğunu gösterdi. Fonksiyonelizasyon ve doplama ile ÇDKNTlerin morfolojilerinde önemli değişimler meydana geldi.

Fonksiyonel grubun ÇDKNT'nin hidrojen depolama kapasitesinin artırılmasında önemli olduğu bulundu. Örneklerin hidrojen depolama kapasiteleri basınç ve sıcaklığa bağlı olup, artan basınç ve azalan sıcaklıkla artış gösterdi. Hidrotermal yöntemle Li-doplama, ÇDKNT'lerin ve fonksiyonelleştirilmiş ÇDKNT'lerin hidrojen depolama kapasitesinin artırılmasında daha etkilidir. Hidrojen depolama kapasitesi en yüksek örnek, hidrotermal yöntemle Li-doplanmış ÇDKNT'dir. Bunu, sırasıyla çözücü yöntemiyle Li-doplanmış ÇDKNT-O-L-Tirozin ve ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA izledi. ÇDKNT, fonksiyonelize ÇDKNT, Li-doplanmış ÇDKNT ve Li-doplanmış fonksiyonelize ÇDKNT örnekleri ile hidrojen arasındaki etkileşimler zayıf fiziksel etkileşimlerdir. Kriyojenik sıcaklıkta adsorpsiyon-desorpsiyon izotermelerinin histerizeye sahip olması deneysel sonuçların Tip IV ile uyumlu ve adsorpsiyonun çok tabakalı olduğunu göstermektedir. Oda sıcaklığındaki izoterm eğrileri ise Henry yasası ile uyumludur.

ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA yapısı PPO enzimini saflaştırmada afinite matrisi olarak kullanılmıştır. İlk önce *Salvia aethiopis* L. bitkisinden PPO amonyum sülfat, diyaliz ve afinite teknikleri ile saflaştırıldı. Her saflaştıma basamağı için katekol, 4-metil katekol ve priggallol substratları kullanılarak optimum pHlar ve belirlenen optimum pH'da da optimum

sıcaklıklar belirlendi. Daha sonra optimum şartlarda enzimin kinetik sabitleri hesaplandı. Diyalizden elde edilen enzim çözeltisini afinite kromatografisine yükleyerek sentezlenen matrisin saflaştırma gücü araştırıldı. *Salvia aethiopis* L. bitkisinin yaprağından fosfat tamponu ile ekstrakte edilen ham enzim, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz sonucu elde edilen çözeltilerin i. katekol substratı için optimum pH değerlerinin sırasıyla 7, 7 ve 7, ii. 4-metilkatekol substratı için optimum pH değerlerinin sırasıyla 6, 5 ve 5, ve iii. pirogallol substratı için optimum pH değerlerinin sırasıyla 9, 8 ve 8 olduğu bulundu. Benzer şekilde *Salvia aethiopis* L. bitkisinin çiçeğinden fosfat tamponu ile ekstrakte edilen ham enzim, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz sonucu elde edilen enzim çözeltilerinin i. katekol substratı için optimum pH değerlerinin sırasıyla 7, 7 ve 6, ii. 4-metilkatekol substratı için optimum pH değerlerinin sırasıyla 6, 6 ve 5, iii. pirogallol substratı için optimum pH değerlerinin sırasıyla 8, 8 ve 7 olduğu belirlendi. Optimum sıcaklığın hem yapraktan hem de çiçekten elde edilen ham enzim çözeltisinin kısmen saflaştırılması ile hafif bir şekilde arttığı, amonyum sülfat çöktürmesi ve diyalizle saflaştırılmış enzim çözeltilerinin optimum sıcaklıklarının ise substrata bağlı olmaksızın 30 °C olduğu bulunmuştur. Saflaştırma prosesi ile V_{max}/K_m değerinin arttığı ve enzimin en fazla pirogallola spesifiklik gösterdiği ve bunu 4-metilkatekol ve katekolün izlediği bulunmuştur. ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA yapısının afinite matrisi olarak kullanılmasıyla yapraktan elde edilen ham enzim çözeltisinin 8,4 kat ve çiçekten elde edilen ham enzim çözeltisinin 3 kat saflaştırılabileceği belirlenmiştir.

Tez çalışması bir bütün olarak değerlendirildiğinde ÇDKNT'den üretilen Li-doplanmış ÇDKNT'nin hidrojen depolama amacıyla ve ÇDKNT-O-L-Tirozin-PABA'nin ise afinite tekniği ile enzim saflaştırmada kullanılabilecek adsorbentler olduğu söylenebilir. Tez çalışmasında üretilen yapıların farklı metallerle doplama işlemlerinin gerçekleştirilmesi ile hidrojen depolama özellikleri daha da iyileştirilebilir. Aynı zamanda üretilen fonksiyonelize yapılar atık sulardan metallerin seçimli gideriminde de kullanılabilir. Yine üretilen bu yapılar farklı polimerlerin termal ve mekaniksel özelliklerini iyileştirmek için nanokompozit üretiminde de kullanılabilir.

5. KAYNAKLAR

- Abuilaui, F.A., Laoui, T., Al-Harhi, M. and Atieh, M.A. (2010). Modification and functionalization of multiwalled carbon nanotube (MWCNT) via fischer esterification. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 35(1 C), 37–48.
- Alishah, M.M., Yıldız, S., Bilen, Ç. and Karakuş, E. (2023). Purification and characterization of avokado (*Persea americana*) polyphenol oxidase by affinity chromatography. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 53(1), 40-53.
- Almulaiky, Y.Q. and Almaghrabi, O. (2022). Polyphenol Oxidase from *Coleus forskohlii*: Purification, Characterization, and Immobilization Onto Alginate/ZnO Nanocomposite Materials. *Catalysis Letters*, 152, 3089-3099.
- Altunkaya, A. (2014). Partial Purification And Characterization Of Polyphenoloxidase From Turkish Tea Leaf (*Camellia Sinensis* L.). *International Journal of Food Properties*, 17(7), 1490-1497.
- Amin, N.K. (2015). Enerji Depolamasında Nanoteknoloji Uygulamaları: Tekstil örneği (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 392864).
- Arslan, O., Erzengin, M., Sinan, S. and Özensoy, O. (2004). Purification of mulberry (*Morus alba* L.) polyphenol oxidase by affinity chromatography and investigation of its kinetic and electrophoretic properties. *Food Chemistry*, 88(3), 479-484.
- Ayanoğlu, Z.G. and Doğan, M. (2020). Characterization and thermal kinetic analysis of PMMA/modified-MWCNT nanocomposites. *Diamond and Related Materials*, 108, 107950.
- Aydemir, S. (1998). Enerji Kaynağı Olarak Hidrojen Üretim Yöntemlerinin İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 78911).
- Aydoğdu, E. (2011). Nanoteknoloji, Nanobilim ve Analitik Kimyadaki Kullanım Alanları (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 292549).

- Babatunde, D.E., Denwigwe, I.H., Babatunde, O.M., Gbadamosi, S.L., Babalola, I.P. and Agboola, O. (2020). Environmental and Societal Impact of Nnaotechnology. IEEE Access, 8, 4640-4667.
- Bader, N. and Ovederni, A. (2016). Optimization of biomass-based carbon materials for hydrogen storage. Journal of Energy Storage, 5, 77-84.
- Bader, N., Abdelmottaleb, O. (2017). CO₂ activation of olive bagasse for hydrogen storage. Environmental Progress & Sustainable Energy, 36(1), 315-324.
- Baltas, N. (2017). Investigation of a wild pear species (*Pyrus elaeagnifolia* subsp. *Elaeagnifolia* Pallas) from Antalya, Turkey: polyphenol oxidase properties and anti-xanthine oxidase, anti-urease, and antioxidant activity. International Journal of Food Properties, 20(3), 585-595.
- Baltas, N., Pakyıldız, S., Can, Z., Dinçer, B. and Kolaylı, S. (2017). Biochemical properties of partially purified polyphenol oxidase and phenolic compounds of *Prunus spinosa* L. subsp. *Dasyphylla* as measured by HPLC-UV. International Journal of Food Properties, 20:sup2, 1377-1391.
- Barghi, S.H., Tsotsis, T.T. and Sahimi, M. (2014). Chemisorption, physisorption and hysteresis during hydrogen storage in carbon nanotubes”, International Journal of Hydrogen Energy, 39, 1390-7.
- Benaceur, F., Chaibi, R., Berrabah, F., Neifar, A., Leboukh, M., Benaceur, K., et al. (2020). Purification and characterization of latent polyphenol oxidase from truffles (*Terfezia arenaria*). International Journal of Biology Macromolecules, 145, 885-893.
- Banerjee, S., Murad, S. and Puri, I.K. (2006). Hydrogen storage in carbon nanostructures: possibilities and challenges for fundamental molecular simulations. Proc. IEEE 294(10), 1806-18014.
- Bicil, Z. (2021). Karbon İçerikli Malzemelerin Hazırlanması ve Gaz Depolama Özelliklerinin İncelenmesi (Doktora Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 676168).
- Bicil, Z., Doğan, M. (2021). Characterization of Activated Carbons Prepared from Almond Shells and Their Hydrogen Storage Properties. Energy & Fuels, 35(12), 10227-10240.

- Blackman, J.M. (2005). High Pressure Hydrogen Storage on Carbon Materials for Mobile Applications. PhD thesis, University of Nottingham (Item ID: 10117).
- Cabria, I., Lopez, M.J. and Alonso, J.A. (2006). Density functional calculations of hydrogen adsorption on boron nanotubes and boron sheets. *Comput. Mater. Sci.*, 238e242.
- Carvalho, J.O. and Orlando, J.F.F. (2017). Heat stability and effect of pH on enzyme activity of polyphenol oxidase in buriti (*Mauritia flexuosa* Linnaeus f.) fruit extract. *Food Chemistry*, 233, 159-163.
- Celep, Ş. (2007). Nanoteknoloji ve Tekstilde Uygulama Alanları (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 178583).
- Chen, C.H. and Huang, C.C. (2007). Hydrogen storage by KOH-modified multi-walled carbon nanotubes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32(2), 237-246.
- Cheng, Y.H., Zhang, C.Y., Ren, J. and Tong, K.Y. (2016). Hydrogen storage in Li-doped fullerene-intercalated hexagonal boron nitrogen layers. *Frontiers of Physics*, 11(5), 1-8.
- Cuatrecasas, P. (1970). Protein Purification by Affinity Chromatography: Derivatizations of Agarose and Polyacrylamide Beads. *Journal of Biological Chemistry*, 245(12), 3059-3065.
- Çakır, Ü., Kestel, F., Koçer Kızılduman, B., Bicil, Z. and Doğan, M. (2021). Multi walled carbon nanotubes functionalized by hydroxyl and Schiff base and their hydrogen storage properties. *Diamond and Related Materials*, 120, 108604.
- Çalışır, Ü., Çiçek, B. and Doğan, M. (2021). Microwave-assisted cross-coupling synthesis of aryl functionalized MWCNTs and investigation of hydrogen storage properties. *Fullerenes Nanotubes and Carbon Nanostructures*, 29(11), 899-906.
- Çesko, C., Gashi, S., Arabacı, G., Palüzar, H., Durmishi, B., Bruçi, E., et al. (2023). Investigation of the effects of pesticides on ‘Jonagold’ apple (*Malus x domestica*) polyphenol oxidase enzyme activity. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 47(1), Article 7.

- Çınar, F. and Aksay, S. (2022). Purification and characterization of polyphenol oxidase from myrtle berries (*Myrtus communis* L.). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16, 2282-2291.
- Darkrim, F. and Levesque, D. (2000). High adsorptive property of opened carbon nanotubes at 77 K. *The Journal of Physical Chemistry B*, 104(29), 6773-6776.
- David, E. (2005). An overview of advanced materials for hydrogen storage. *Journal of Materials Processing Technology*, 169-177.
- Dedeoğlu, N. (2009). Yenilebilir Mantar Türlerinden Polifenol Oksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 245519)
- Demir, D., Kabak, S. and Çağlayan, K. (2023). Purification and Characterization of Polyphenol Oxidase in the Fruits of *Opuntia ficus-india*. *Biology*, 12(10), 1339.
- Deniz, C.U., Mert, H. and Baykasoğlu, C. (2021). Li-doped fullerene pillared graphene nanocomposites for enhancing hydrogen storage: A computational study. *Computational Materials Science*, 186, 110023.
- Derardja, A.E., Pretzler, M., Kampatsikas, I., Barkat, M. and Rompel, A. (2017). Purification and Characterization of Latent Polyphenol Oxidase from Apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(37), 8203-8212.
- Dinçer, İ. (2002). Technical, environmental and exergetic aspects of hydrogen energy systems. *International Journal of Hydrogen Energy*, 27, 265-285.
- Doğan, S. and Doğan, M. (2004). Determination of kinetic properties of polyphenol oxidase from *Thymus* (*Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii*). *Food Chemistry*, 88(1), 69-77.
- Doğan, S., Diken, M.E., Turhan, Y., Alan, Ü., Doğan, M. and Alkan, M. (2011). Characterization and inhibition of *Rosmarinus officinalis* L. polyphenoloxidase. *European Food Research and Technology*, 233, 293-301.
- Doğan, M., Alkan, M., Namlı, H., Demirbaş, Ö., Turhan, Y., Turan, P., et al. (2007). Modifiye edilmiş sepiyolit örnekleri ile sulu çözeltilerden metal iyonlarının giderimi. TUBİTAK104T0067.

- Doğan, M., Arslan, O. and Doğan, S. (2002). Substrate spesificity heat inactivation and inhibition of polyphenoloxidase from different aubergine cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 415-423.
- Doğan, S., Ayyıldız, Y., Doğan, M., Alan, Ü. and Diken, M.E. (2013). Characterisation of polyphenol oxidase from *Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis* (lemon balm). *Czech Journal of Food Sciences*, 31(2), 156-165.
- Doğan, M., Selek, A., Turhan, O., Koçer Kızılduman, B. and Bicil, Z. (2021). Different functional groups functionalized hexagonal boron nitride (h-BN) nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) for hydrogen storage. *Fuel*, 303, 121335.
- Doğan, S. and Salman, Ü. (2007). Partial characterization of lettuce (*Lactuca sativa* L.) polyphenol oxidase. *European Food Research and Technology*, 226, 93-103.
- Doğan, S., Turan, P. and Doğan, M. (2006). Some kinetic properties of polyphenol oxidase from *Thymbra spicata* L. var. *spicata*. *Process Biochemistry*, 41(12), 2379-2385.
- Doğan, S., Turan, P., Doğan, M., Alkan, M. and Arslan, O. (2008). Inhibition kinetic and mechanism of polyphenol oxidase from various sources by diethyldithiocarbamic acid. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 1316-1322.
- Doğan, S., Turan, P., Doğan, M., Arslan, O. and Alkan, M. (2005). Purification and Characterization of *Ocimum basilicum* L. Polyphenol Oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26), 10224-10230.
- Doğan, S., Doğan, M. and Arslan, O. (2009). Prevention of Enzymatic Browning and Its Inhibition. *Food Processing: Methods, Techniques and Trends*. Novapublishers, NY.
- Du, A., Zhu, Z. and Smith S.C. (2010). Multifunctional porous graphene for nanoelectronics and hydrogen storage: New properties revealed by first principle calculations. *Journal of the American Chemical Society*, 132(9), 2876–2877.
- Edwards, E.R., Antunes, E.F., Botelho, E.C., Baldan, M.R. and Corat, E.J. (2011). Evaluation of residual iron in carbon nanotubes purified by acid treatments. *Applied Surface Science*, 258(2), 641–648.

- Elyassi, M., Rashidi, A., Hantehzadeh, M.R. and Elahi, S.M. (2017). Hydrogen storage behaviors by adsorption on multi-walled carbon nanotubes. *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, 27(1), 285–295.
- Endo, M., Takeuchi, K., Igarashi, S., Kobori, K., Shiraishi, M. and Kroto, H.W. (1993). The production and structure of pyrolytic carbon nanotubes (PCNTs). *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 54(12), 1841-1848.
- Epelle, E.I., Desongu, K.S., Obande, W., Adeleke, A.A., Ikubanni, P.P., Okolie, J.A., et al. (2022). A comprehensive review of hydrogen production and storage: A focus on the role of nanomaterials. *International Journal of Hydrogen Energy*, 47(47), 20398-20431.
- Ergün, A. (2016). Polifenol Oksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Bazı Bileşiklerin Bu Enzim Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması (Doktora Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 432810).
- Erik, Ş. (2016). Muz Polifenol Oksidaz Enziminin İmmobilizasyonu ve Bazı Özelliklerinin İncelenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 432271).
- Erol, N. (2012). Polifenol Oksidaz Enziminin (E.C.1.14.18.1) Fındık Kabuğundan Elde Edilen Aktif Karbon Üzerine Adsorpsiyonu ve Kinetiğinin İncelenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 387669).
- Erzengin, M. (2002). Farklı Kaynaklardan Afinite Kromatografisi ile Polifenol Oksidaz Enziminin Saflaştırılması, Kinetik ve Elektroforetik Özelliklerinin İncelenmesi (Doktora Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 123505).
- Faiz, Ö. and Baltas, N. (2017). Polyphenol oxidase properties, anti-urease, and anti-acetylcholinesterase activity of Diospyros Lotus L. (Plum Persimmon). *International Journal of Food Properties*, 20(5), 1186-1196.
- Ferreira, F.V., Franceschi, W., Menezes, B.R.C., Biagioni, A.F., Coutinho, A.R. and Cividanes, L.S. (2019). Synthesis, Characterization, and Applications of Carbon Nanotubes. *Carbon-Based Nanofillers and Their Rubber Nanocomposites*, 1–45.

- Gao, L., Yoo, E., Nakamura, J., Zhang, W. and Chua, H.T. (2010). Hydrogen storage in Pd-Ni doped defective carbon nanotubes through the formation of CH_x (x=1, 2). *Carbon*, 48(11), 3250-3255.
- Gao, T., Yu, J., Zhou, Y. and Jiang, X. (2017). Performance of xanthate-modified multi-walled carbon nanotubes on adsorption of lead ions. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(5), 172.
- Genh, H., Hyung, T., Lim, S.C., Jeong, H., Jin, M.H., Jo, Y.W., et al. (2010). Hydrogen storage in microwave-treated multi-walled carbon nanotubes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35, 2073-2082.
- Geylan, F.M. (2016). Production of Nanoactivated Carbone from Olive Leaf and Determination of its Some Physical Properties, MSc Thesis, Balikesir University.
- Gomes, M.H., Vieira, T., Fundo, J.F. and Almeida, D.P.F. (2014). Polyphenoloxidase activity and browning in fresh-cut ‘Rocha’ pear as affected by pH, phenolic substrates, and antibrowning additives. *Postharvest Biology and Technology*, 91, 32-38.
- Gomez, N.A.G., Maruyama, S.A., Leuteritz, A. and Wypych F. (2019). Composites of polyethylene and layered cobalt hydroxide salts as potential ultraviolet radiation absorbers. *Polymer Bulletin*, 77, 255–273.
- Grzech, A. (2013). Hydrogen Storage in Porous Materials and Magnesium Hydrides, MSc Thesis. Poznan University of Technology, Czarnkow, Poland.
- Guzik, U., Hupert-Kocurek, K. and Wojcieszynska, D. (2014). Immobilization as a Strategy for Improving Enzyme Properties-Application to Oxidoreductases. *Molecules*, 19(7), 8995-9018.
- Güngör, K. (2008). Çağla Badem (*Prunus dulcis*) Bitkisinden Polifenol Oksidaz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 214016).
- Güven, R.G., Güven, K., Bekler, F.M., Acer, Ö., Alkan, H. and Doğru, M. (2017). Purification and characterization of polyphenol oxidase from purslane. *Food Science and Technology*, 37(3), 356-362.

- Harish, V., Ansari, M.M., Tewari, D., Gaur, M., Yadav, A.B., García-Betancourt, M.L., et al. (2022). Nanoparticle and Nanostructure Synthesis and Controlled Growth Methods. *Nanomaterials*, 12(18), 3226.
- Hirose, K. (2010). *Handbook of hydrogen storage: new materials for future energy storage*. John Wiley ve Sons.
- Hirscher, M., Becher, M., Haluska, M., Quintel, A., Skakalova, V., Choi, Y.M., et al. (2002). Hydrogen storage in carbon nanostructures. *Journal of Alloys and Compounds*, 330-332, 654-658.
- Hsu, A.F., Shieh, J.J., Bills, D. and White, K. (1988). Inhibition, par des dérivés de l'acide ascorbique, des polyphénols oxydases de champignons. *Journal of Food Science*, 53(3), 765-771.
- Iijima, S. (1991). Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*, 354(6348), 56-58.
- Ilesanmi, O.S., Adedugbe, O.F., Oyegoke, D.A., Adebayo, R.F. and Agboola, E. (2023). Biochemical properties of purified polyphenol oxidase from bitter leaf (*Vernonia amygdalina*). *Heliyon*, 9(6), e17365.
- Ioannatos, G.E. and Verykios, X.E. (2010). H₂ storage on single-and multi-walled carbon nanotubes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(2), 622-628.
- Ioniță, E., Gurgu, L., Aprodu, I., Stănciuc, N., Dalmadi, I., Bahrim, G., et al. (2017). Characterization, purification, and temperature/pressure stability of polyphenol oxidase extracted from plums (*Prunus domestica*). *Process Biochemistry*, 56, 177-185.
- Ivanov, V., Nagy, J.B., Lambin, P., Lucas, A., Zhang, X.F., Bernaerts, D., et al. (1994). The study of carbon nanotubes produced by catalytic method. *Chemical Physics Letters*, 223(4), 329-335.
- Jin, S.H., Park, Y.B. and Yoon K.H. (2007). Rheological and mechanical properties of surface modified multi-walled carbon nanotube-filled PET composite. *Composites Science and Technology*, 67(15-16), 3434–3441.

- Karabulut, Ş. (2017). Tortum Elmasından (*Malus sylvestris*.) Polifenol Oksidaz Enziminin Afinite Kromatografisi ile Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Bazı Kimyasalların Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 483665).
- Karakuş, Y.Y., Yıldırım, B. and Acemi, A. (2021). Characterization of polyphenol oxidase from fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds as a promising source. *International Journal of Biological Macromolecules*, 170, 261-271.
- Kaya, E.D. and Bağcı, O. (2021). Purification and biochemical characterization of polyphenol oxidase extracted from Kirmizi Kismis grape (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Food Biochemistry*, 45(8), e13627.
- Kayfeci, M. and Keçebaş, A. (2019). Hydrogen Storage. *Solar Hydrogen Production*, 85-110.
- Keru, G., Ndungu, P.G. and Nyamori, V.O. (2014). A review on carbon nanotube /polymer composites for organic solar cells. *International Journal of Energy Research*, 38, 1635-1653.
- Khoo, K.S., Chia, W.Y., Tang, D.Y.Y., Show, P.L., Chew, K.W. and Chen, W.H. (2020). Nanomaterials Utilization in Biomass for Biofuel and Bioenergy Production. *Energies*, 13(4), 892.
- Klechikov, A., Mercier, G., Sharifi, T., Baburin, I.A., Seifert, G. and Talyzin, A.V. (2015). Hydrogen storage in high surface area graphene scaffolds. *Chemical Communications*, 51(83), 15280-15283.
- Kızılduman, B.K., Turhan, Y. and Doğan M. (2021). Mesoporous carbon spheres produced by hydrothermal carbonization from rice husk: Optimization, characterization and hydrogen storage. *Advanced Powder Technology*, 32(11), 4222-4234
- Konni, M., Kumar Karnena, M. and Babu Mukkamala, S. (2020). Enhanced Room-Temperature Synthesis of Li@f-MWCNTs for Hydrogen Storage Application. *Chemistry Select*, 5(14), 4292-4296.
- Lamari, F.D. and Levesque, D. (2011). Hydrogen adsorption on functionalized graphene. *Carbon*, 49(15), 5196-5200.

- Langohr, D. (2004). A study on hydrogen storage through adsorption in nanostructured carbons. PhD Thesis, École Nationale Supérieure des Mines de Paris.
- Le, V.T., Ngo, C.L., Le, Q.T., Ngo, T.T., Nguyen, D.N. and Vu, M.T. (2013). Surface modification and functionalization of carbon nanotube with some organic compounds. *Adv. Nat. Sci: Nanosci. Nanotechnol.*, 4(3), 035017
- Lee, C.Y. and Whitaker, J.R. (1995). Enzymatic browning and its prevention. American Chemical Society, Washington, DC.
- Lee, J.H., Rhee, K.Y. and Park, S.J. (2010). Effects of cryomilling on the structures and hydrogen storage characteristic of multi-walled carbon nanotubes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(15), 7850-7857.
- Lee, S.Y. and Park, S.J. (2012). Influence of the pore size in multi-walled carbon nanotubes on the hydrogen storage behaviors. *Journal of Solid State Chemistry*, 194, 307-312.
- Lee, Y. T., Yoon, C. S. and Sun, Y. K. (2005). Improved electrochemical performance of Li-doped natural graphite anode for lithium secondary batteries. *Journal of Power Sources*, 139(1-2), 230-234.
- Lerch, K. (1995). Tyrosinase: Molecular and Active-Site Structure. *Enzymatic Browning and Its Prevention*, Lee, C.Y. and Whitaker, J.R.(Eds.), ACS Symposium Series 600(pp. 64-80), Washington DC.
- Li, Z., Wang, L., Li, Y., Feng, Y. and Feng, W. (2019). Carbon-based functional nanomaterials: Preparation, properties and applications. *Composites Science and Technology*, 179, 10-40.
- Lin, K., Mai, Y., Li, S., Shu, C. and Wang, C. (2012). Characterization and hydrogen storage of surface-modified multiwalled carbon nanotubes for fuel cell application. *Journal of Nanomaterials*, 2012, 13.
- Ling, X.L., Wei, Y.Z., Zou, L.M. and Xu, S. (2013). Preparation and characterization of hydroxylated multi-walled carbon nanotubes. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 421, 9-15.

- Luxembourg, D., Flamant, G., Bêche, E., Sans, J.L., Giral, J. and Goetz, V. (2007). Hydrogen storage capacity at high pressure of raw and purified single wall carbon nanotubes produced with a solar reactor. *International Journal of Hydrogen Energy*, 32(8), 1016-1023.
- Marega, R., Accorsi, G., Meneghetti, M., Parisini, A., Prato, M. and Bonifazi, D. (2009). Cap removal and shortening of double-walled and very-thin multi-walled carbon nanotubes under mild oxidative conditions. *Carbon*, 47(3), 675–682.
- Mayer, A.M. (1986). Polyphenol oxidases in plants-recent progress. *Phytochemistry*, 26, 11-20.
- Midilli, A., Ay, M., Dincer, I. and Rosen, M.A. (2005). On hydrogen and hydrogen energy strategies I: current status and needs. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 9(3), 255-271.
- Minoda, A., Oshima, S., Iki, H. and Akiba, E. (2014). Hydrogen storage capacity of lithium-doped KOH activated carbons. *Journal of Alloys and Compounds*, 606, 112–116.
- Mohammadi, A., Moghaddam, A.B., Dinarvand, R. and Rezaei-Zarchi, S. (2009). Direct electron transfer of polyphenol oxidase on carbon nanotube surfaces: application in biosensing. *International Journal of Electrochemical Science*, 4(7), 895-905.
- Mohan, M., Sharma, V.K., Kumar, E.A. and Gayathri, V. (2019). Hydrogen storage in carbon materials—A review. *Energy Storage*, 1(2), e35.
- Mosquera-Vargas, E., Tamayo, R., Morel, M., Roble, M. and Diaz-Droguett, D.E. (2021). Hydrogen storage in purified multi-walled carbon nanotubes: gas hydrogenation cycles effect on the adsorption kinetics and their performance. *Heliyon*, 7(12), e08494.
- Mosquera, E., Diaz-Droguett, D.E., Carvajal, N., Roble, M., Morel, M. and Espinoza, R. (2014). Characterization and hydrogen storage in multi-walled carbon nanotubes grown by aerosol-assisted CVD method. *Diamond and Related Materials*, 43, 66-71.
- Muthu, R.N., Rajashabala, S. and Kannan, R. (2016). Hexagonal boron nitride (h-BN) nanoparticles decorated multi-walled carbon nanotubes (MWCNT) for hydrogen storage. *Renewable Energy*, 85, 387-394.

- Ndlovu, T., Ba, S. and Malinga, S.P. (2020). Overview of Recent Advances in Immobilization Techniques for Phenol Oxidases in Solution. *Catalysts*, 10(5), 467.
- Niaz, S., Manzoor, T. and Pandith, A.H. (2015). Hydrogen storage: Materials, methods and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50, 457-469.
- Niemann, M.U., Srinivasan, S.S., Phani, A.R., Kumar, A., Goswami, D.Y. and Stefanakos, E.K. (2008). Nanomaterials for Hydrogen Storage Applications: A Review. *Journal of Nanomaterials*, Volume 2008, Article ID 950967, 1-9.
- Nishimiya, N., Ishigaki, K., Takikawa, H., Ikeda, M., Hibi, Y., Sakakibara, T., et al. (2002). Hydrogen sorption by single-walled carbon nanotubes prepared by a torch arc method. *Journal of Alloys and Compounds*, 339(1-2), 275-282.
- Ombaka, L.M., Ndungu, P.G. and Nyamori, V.O. (2014). Pyrrolic nitrogen-doped carbon nanotubes: physicochemical properties, interactions with Pd and their role in the selective hydrogenation of nitrobenzophenone. *RSC Advances*, 5, 109-122.
- Oral, A. (2005). Scanning end microscope: imaging to magnetic vortices in atoms, *Sci. Tech.*
- Oyetade, O.A., Nyamori, V.O., Martincigh, B.S. and Jonnalagadda, S.B. (2015). Effectiveness of carbon nanotube-cobalt ferrite nanocomposites for the adsorption of rhodamine B from aqueous solutions. *RSC Advances*, 5, 22724-22739.
- Öndürücü, A. ve Bilgin, E. (2008). Nanoteknoloji. *Mühendis ve Makina*, 49(586), 9-20.
- Panadare, D. and Rathod, V.K. (2018). Extraction and purification of polyphenol oxidase: A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14, 431-437.
- Paradise, M. and Goswami, T. (2007). Carbon nanotubes-Production and industrial applications. *Materials&Design*, 28(5), 1477-1489.
- Pehlivan, F. (2020). Çok Duvarlı Karbon Nanotüplerin Modifikasyonu, Karakterizasyonu ve Hidrojen Depolama Kapasitelerinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 629580).
- Peng, W., Yao, F., Hu, J., Liu, Y., Lu, Z., Liu, Y., et al. (2018). Renewable protein-based monomer for thermosets: a case study on phthalonitrile resin. *Green Chemistry*, 20, 5158.

- Pinjari, S., Bera, T., Kapur, G.S. and Kjeang, E. (2023). The mechanism and sorption kinetic analysis of hydrogen storage at room temperature using acid functionalized carbon nanotubes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 48(5), 1930-1942.
- Rakhi, R.B., Sethupathi, K. and Ramaprabhu, S. (2008). Synthesis and hydrogen storage properties of carbon nanotubes. *International Journal of Hydrogen Energy*, 33(1), 381-386.
- Rao, N., Singh, R. and Bashambu, L. (2021). Carbon-based nanomaterials: Synthesis and prospective applications. *Materials today: Proceedings*, 44(1), 608-614.
- Rao, R., Ling, Q., Dong, H., Dong, X., Li, N. and Zhang, A. (2016). Effect of surface modification on multi-walled carbon nanotubes for catalytic oxidative dehydrogenation using CO₂ as oxidant. *Chemical Engineering Journal*, 301, 115-122.
- Rashidi, A.M., Nouralishahi, A., Khodadadi, A.A., Mortazavi, Y., Karimi, A. and Kashefi, K. (2010). Modification of single wall carbon nanotubes (SWNT) for hydrogen storage. *International of Hydrogen Energy*, 35, 9489-9495.
- Ravi, S. and Vadakumpully, S. (2016). Sustainable carbon nanomaterials: Recent advances and its applications in energy and environmental remediation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(1), 835-856.
- Rustambayov, A. (2022). Lizil Oksidaz Enzimi Saflastırılması ve Biyoteknolojik Uygulamaları (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 716042).
- Sabaz, P. (2018). Hidrojen Depolama İçin Mandalina Kabuğundan Aktif Karbon Üretimi (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 529696).
- Sajjad, N., Ahmad, M.S., Mahmood, R.T., Tariq, M., Asad, M.J., Irum, S., et al. (2023). Purification and characterization of novel isoforms of the polyphenol oxidase from *Malus domestica* fruit pulp. *PLOS ONE*, 18(8), e0276041.

- Sajjad, N., Naqvi, S.M.S., Asad, M.J., Raja, N.I., Pusztai-Carey, M. and Ahmad, M.S. (2021). Biochemical, Purification, Sequencing and Alignment studies of the novel polyphenol oxidase isoforms from *Musa acuminata* fruit pulp. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 31(2), 542-555.
- Saleem, H. and Zaidi, S.J. (2020). Recent Developments in the Application of Nanomaterials in Agroecosystems. *Nanomaterials*, 10(12), 2411.
- Salehabadi, A., Umar, M.F., Ahmad, A., Ahmad, M.I., Ismail, N. and Rafatullah, M. (2020). Carbon-based nanocomposites in solid-state hydrogen storage technology: An overview. *International Journal of Energy Research*, 44, 11044-11058.
- Sarsenova, A., Demir, D., Çağlayan, K., Abiyev, S., Darbayeva, T. and Eken, C. (2023). Purification and Properties of Polyphenol Oxidase of Dried *Volvariella bombycina*. *Biology*, 12(1), 53.
- Schlapbach, L. and Züttel, A. (2001). Hydrogen-storage materials for mobile applications. *Nature*, 414, 353-358.
- Scheibe, B., Borowiak-Palen, E. And Kalenczuk, R.J. (2010). Oxidation and reduction of multiwalled carbon nanotubes — preparation and characterization. *Materials Characterization*, 61(2), 185–191.
- Selek Özbudak, A. (2021). Bor Nitrür-Karbon Nanotüp Yapılarının Sentezi, Karakterizasyonu ve Hidrojen Depolamada Kullanımı (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 683626).
- Sherif, S.A., Barbir, F. and Veziroğlu, T.N. (2005). Wind energy and the hydrogen economy-review of the technology. *Solar Energy*, 78(5), 647-660.
- Shin, Y.C., Song, S.J., Hong, S.W., Jeong, S.J., Chrzanowski, W., Lee, J.C., et al. (2017). Multifaceted Biomedical Applications of Functional Graphene Nanomaterials to Coated Substrates, Patterned Arrays and Hybrid Scaffolds. *Nanomaterials*, 7(11), 369.
- Siddiq, M. and Dolan, K.D. (2017). Characterization of polyphenol oxidase from blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Food Chemistry*, 218, 216-220.

- Silambarasan, D., Surya, V.J., Vasu, V. and Iyakutti, K. (2011). Experimental investigation of hydrogen storage in single walled carbon nanotubes functionalized with borane. *International Journal of Hydrogen Energy*, 36(5), 3574-3579.
- Smith, M.R., Bittner E.W., Shi, W., Johnson, J.K. and Bockrath, B.C. (2003). Chemical activation of single-walled carbon nanotubes for hydrogen adsorption. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(16), 3752-3760.
- Ströbel, R., Garche, J., Moseley, P.T., Jörisen, L. and Wolf, G. (2006). Hydrogen storage by carbon materials. *Journal of Power Sources*, 159(2), 781-801.
- Sun, X., Deng, S., Yang, Y., Xu, G., Zhao, R., Shen, G., et al. (2017). Hydrothermal synthesis and photocatalytic activity of Li-doped PbTiO₃ perovskite cubic particles. *Surface and Coatings Technology*, 320(3), 527–530.
- Szabó, A., Perri, C., Csató, A., Giordano, G., Vuono, D. and Nagy, J.B. (2010). Synthesis Methods of Carbon Nanotubes and Related Materials. *Materials* 2010, 3, 3092-3140
- Szcześniak, B., Choma, J. and Jaroniec, M. (2017). Gas adsorption properties of graphene-based materials. *Advances in colloid and interface science*, 243, 46-59.
- Şakiroğlu, H. (1994). Kuşburnu meyvasından izole edilen polifenoloksidaz enziminin kinetik ve elektroforetik özelliklerinin incelenmesi (Doktora Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 35145).
- Tan, C.W., Tan, K.H., Ong, Y.T., Mohamed, A.R., Zein, S.H.S. and Tan, S.H. (2012). Energy and environmental applications of carbon nanotubes. *Environmental Chemistry Letters*, 10, 265-273.
- Tarhan, C. and Çil, M.A. (2021). A study on hydrogen, the clean energy of the future: Hydrogen storage methods. *Journal of Energy Storage*, 40, 102676.
- Tezcan, Ü. (2003). Hidrojen Enerjisi: Depolanması, Güvenliği, Çevresel Etkisi ve Dünyadaki Durumu. *Makine ve Mühendis Dergisi*, 525, 37-45.
- Tiwari, A. and Singh, V. (2007). Synthesis and characterization of electrical conducting chitosan-graft-polyaniline. *eXPRESS Polymer Letters*, 5, 308–317.

- Turan, P. (2005). Ocimum basilicum L.'den Elde Edilen Polifenol Oksidaz Enziminin Saflaştırılması, Kinetik ve Elektroforetik Özelliklerinin İncelenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 169050).
- Turhan, Y. (2010). Kil/Polivinil Türevleri Nanokompozitlerinin Sentezi ve Karakterizasyonu (Doktora Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 275232).
- Turhan, Y., Doğan, M. and Alkan, M. (2010). Poly(vinyl chloride)/kaolinite nanocomposites: Characterization, Thermal and Optical Properties. Industrial & Engineering Chemistry Research, 49, 1503-1513.
- Turhan, Y., Alp, Z.G., Alkan, M. and Doğan, M. (2013a). Preparation and characterization of poly(vinylalcohol)/modified bentonite nanocomposites. Microporous and Mesoporous Materials, 174, 144–153.
- Turhan, Y., Doğan, M. and Alkan, M. (2013b). Characterization and Some Properties of Poly(vinyl chloride)/Sepiolite Nanocomposites. Advances in Polymer Technology, 32(1), E65-E82.
- Tütünoğlu, Ç. (2007). Nanoteknolojik Prosesler ile Nikel Tozu Üretimi (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 216268).
- Uymaz, Y. (2017). Karbonik Anhidraz Enziminin Afinite Kromatografisi ile Saflaştırılması ve Biyoteknolojik Uygulamaları (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi veri tabanından erişildi (Tez No. 479936).
- Vaidya, B.K., Karale, A.J., Suthar, H.K., Ingavle, G., Pathak, T.S., Ponrathnam, S., et al. (2007). Immobilization of mushroom polyphenol oxidase on poly(allyl glycidyl ether-co-ethylene glycol dimethacrylate) macroporous beaded copolymers. Reactive and Functional Polymers, 67(10), 905-915.
- Vellingiri, L., Annamalai, K., Kandasamy, R. and Kombiah, I. (2019). Single-walled carbon nanotubes/lithium borohydride composites for hydrogen storage: role of in situ formed LiB(OH)₄, Li₂CO₃ and LiBO₂ by oxidation and nitrogen annealing. RSC Advances, 9, 31483-31496.

- Vesali Naseh, M., Khodadadi, A.A., Mortazavi, Y., Alizadeh Sahraei, O., Pourfayaz, F. and Mosadegh Sedghi, S. (2009). Functionalization of Carbon Nanotubes Using Nitric Acid Oxidation and DBD Plasma. *International Journal of Chemical and Biological Engineering*, 2(2), 66–68.
- Veziroğlu, T.N. and Barbir, F. (1992). Hydrogen: the wonder fuel. *International Journal of Hydrogen Energy*, 17(6), 391-404.
- Wang, Z., Yuan, J., Yang, J., Dong, Z., Yan, X., Yuan, C., et al. (2021). Effects of Guankou grape polyphenol oxidase on enzymatic browning. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(1).
- Wang, Y., Li, A., Wang, K., Guan, C., Deng, W., et al (2010). Reversible hydrogen storage of multi-wall carbon nanotubes doped with atomically dispersed lithium. *Journal of Materials Chemistry*, 20(31), 6490.
- Whitney, P.L. (1974). Affinity chromatography of carbonic anhydrase. *Analytical Biochemistry*, 57(2), 467-476.
- Yanmaz, E., Doğan, M. and Turhan Y. (2021). Effect of sodium dodecyl sulfate on thermal properties of polyvinyl alcohol (PVA)/modified single-walled carbon nanotube (SWCNT) nanocomposites. *Diamond and Related Materials*, 115, 108359.
- Yıldız, S., Bilen, Ç. and Karakuş, E. (2022). Purification of damson plum polyphenol oxidase by affinity chromatography and investigation of metal effects on enzyme activity. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 52(9), 1019-1034.
- Yoo, E., Gao, L., Komatsu, T., Yagai, N., Arai, K., Yamazaki, T., et al. (2004). Atomic hydrogen storage in carbon nanotubes promoted by metal catalysts. *J. Phys. Chem. B*, 108(49), 18903-18307.
- Yudianti, R., Onggo, H., Yukie Saito, S., Iwata, T. and Azuma, J. (2011). Analysis of Functional Group Sited on Multi-Wall Carbon Nanotube Surface. *The Open Materials Science Journal*, 5, 242–247.
- Yürüm, Y., Taralp, A. and Veziroğlu, T.N. (2009). Storage of hydrogen in nanostructured carbon materials. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(9), 3784-3798.

- Zacharia, R. and Rather, S.U. (2015). Review of Solid State Hydrogen Storage Methods Adopting Different Kinds of Novel Materials. *Journal of Nanomaterials*, Volume 2015, Article ID 914845, 1-19.
- Zaini, N.A.M., Osman, A., Hamid, A.A., Ebrahimpour, A. and Saari, N. (2013). Purification and characterization of membrane-bound polyphenoloxidase (mPPO) from Snake fruit [*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss]. *Food Chemistry*, 136(2), 407-414.
- Zaytseva, O. and Neumann, G. (2016). Carbon nanomaterials: production, impact on plant development, agricultural and environmental applications. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 3(17).
- Zhou, L. (2005). Progress and problems in hydrogen storage methods. *Renewable and Sustainable Energy Review*, 9(4), 395-408.
- Zhou, C. and Szpunar, J.A. (2016). Hydrogen storage performance in Pd/graphene nanocomposites. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(39), 25933-25940.
- Züttel, A. (2003). Materials for hydrogen storage. *Materials Today*, 6(9), 24-33.
- Züttel, A. (2004). Hydrogen storage methods. *Naturwissenschaften*, 91, 157-172.
- Züttel, A.B. and Schlapbach, L. (2008). *Hydrogen as a Future Energy Carrier*, Wiley-VCH, Weinheim.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Fatma Nur YALÇINKAYA

Doğum tarihi ve yeri :

e-posta :

Öğrenim Bilgileri

Derece	Okul/Program	Yıl
Y. Lisans	Balıkesir Üniversitesi/Kimya	2024
Lisans	Balıkesir Üniversitesi/Kimya	2020
Lise	Sındırgı Makbule Efe Anadolu Lisesi	2016

Yayın Listesi

Yalçinkaya, F., Doğan, M., Bicil, Z. and Kızılduman, B.K. (2024). Effect of functionalization and Li-doping methods to hydrogen storage capacities of MWCNTs. Fuel, 372, 132274. [Tezden türetilmiştir]