

T.C
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**CEVİZDEN ÇEŞİTLİ YOLLARLA ELDE EDİLEN DOĞAL VE MODİFİYE
AKTİF KARBONLAR ÜZERİNDE KATALAZ ENZİM ADSORPSİYONU VE
KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN : Mehtap ERTAN
DANIŞMAN : Yrd. Doç. Dr. Salih ALKAN

VAN-2009

ÖZET

CEVİZDEN ÇEŞİTLİ YOLLARLA ELDE EDİLEN DOĞAL VE MODİFİYE AKTİF KARBONLAR ÜZERİNDE KATALAZ ENZİM ADSORPSİYONU VE KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ

ERTAN, Mehtap

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Salih ALKAN

Şubat 2009, 72 Sayfa

Bu çalışmada aktif karbon üzerine katalaz enziminin (E.C.1.11.1.6) adsorpsiyonu ve sabit pH da (pH=7) inkübasyon süresi araştırıldı.

Adsorpsiyon için optimum şartları belirlemek amacı ile pH, sıcaklık, iyonik şiddet ve enzim kil oranı ve asitle muamele gibi parametrelerin etkileri ayrı ayrı değerlendirildi. Endüstriyel üretimde kullanılacak immobilize enziminin kararlılığını tespit etmek için, adsorbe-enzim (aktif kömür) miktarının aktivitesini, iki ay süresince (60 gün) %76,8 oranında koruduğu belirlendi. Bazı hallerde enzimler, en yüksek etkinliği belirli bir pH aralığında gösterirler. Enzim immobilizasyonundan sonra enzimin optimum pH değerinde kayma gözlemlendi. Serbest enzimin pH'sının 7 olduğu, immobilize enzimin optimum pH'sının 7-8 arasında ve asitle muamele edilmiş aktif kömürün pH'sının 6 civarında olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında serbest ve immobilize enzimler için K_m ve V_{max} değerleri, değişik konsantrasyonlarda substrat çözeltileri kullanılıp, enzim aktivitelerinden $1/S$ ve $1/V$ değerleri bulunarak Lineweaver-Burk grafiklerinden belirlendi.

En son aşama olarak kil asitle muamele edildi. Asitle muamele görmüş kil ile saf enzim immobilize edildikten sonra birinci ve ikinci aşamada yapılan işlemler tekrar edildi.

Bütün aktivite tayinleri 240 nm'de Ultraviyole Spektroskopisi ile yapıldı.

Yapılan bu çalışmada aktif kömürün, iyonik şiddet etkisi altında iyi bir tutucu olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Katalaz enzimi, Aktif Karbon, Adsorpsiyon

ABSTRACT

STUDING CATALAZ ENZYME ADSORPTION AND KINETICS ON NATURAL AND MODIFIED ACTIVE CARBONS THAT OBTAIN FROM WALNUT IN VARIOUS METHODS

ERTAN, Mehtap

Msc. Chemistry Science

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Salih ALKAN

February 2009, 72 pages

In this study, adsorption of catalase enzyme on active carbon and the duration of incubation on stable pH (pH=7) has been searched.

The effects of some parameters such as pH, heat, ionic turbulence, the rate of enzyme-clay and treatment with acid were evaluated separately to determine the optimum condition for adsorption. To find out the determination of immobilized enzyme that will be used in industrial products, it has been designated that the amount of adsorbed enzyme has kept its activity on the rate of %76.8 for 2 months (60 days). It has been seen that after enzyme immobilization, there has been a change on the value of optimum pH. It has been found out that the pH of free enzyme is 7, immobilized enzyme's pH is between 7-8 and observed enzymes which has treated with acid optimum pH is nearly 6.

In the second phase of the study, for the free and immobilized enzymes, K_m and V_{max} values, on different concentrations by using substrate solutions, by finding $1/S$ and $1/V$ values on enzyme activities has been found out that on Lineweaver-Burk graphics.

As the last phase the clay was treated by acid. After, pure enzyme and this clay which has been treated been done in the first and second phases were done once again.

All the determinations of activities were done in 240 nm by ultraviolet spectroscopy.

According to these obtained findings, it has been decided that activated coal can be a good keeper under the effect of ionic turbulence.

Key words: Catalaze enzyme, Active carbon, Adsorbtion

ÖN SÖZ

Çalışmalarım süresince yardım ve yakın ilgisini esirgemeyen hocam Sayın Yrd. Doç.Dr. Salih ALKAN'a, Prof. Dr. Hasan CEYLAN'a, Kimya Bölümü Öğretim Üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Ali SAVRAN'a, Yrd. Doç. Dr. Suat EKİN'e, Yrd. Doç. Dr. Ali Rıza KUL'a, Yrd. Doç. Dr. İbrahim YÖRÜK'e katkılarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca çalışmalarımda beni hep destekleyen eşim Hayati ERTAN çocuklarım Sehla ve Betil'e teşekkür ederim.

Mehtap ERTAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Killerin Genel Yapıları	3
1.1.1. Genel yapılar	3
1.2. Kil Minarellerinin Belirlenmesi	5
1.2.1. Kil minarellerinin sınıflandırılması	5
1.3. Montmorillonit	6
1.3.1. Bentonit	8
1.3.1.1. Bentonitin fiziksel ve kimyasal özellikleri	9
1.3.1.2. Bentonitin mineralojisi	10
1.3.1.3. Aktif karbon	13
1.3.1.4. Aktif karbonun genel özellikleri	13
1.3.1.5. Yüzey alanı	14
1.3.1.6. Gözenek büyüklüğü	15
1.3.1.7. Aktif karbon türleri	16
1.3.1.8. Aktivasyon teknikleri	17
1.3.1.9. Kimyasal aktivasyon	17
1.3.1.10. Gaz aktivasyonu	17
1.4. Enzimler	18
1.4.1. Enzimlerin çalışma mekanizması	22
1.4.1.1. Enzimlerin çalışmasına etki eden faktörler	22
1.4.1.1.1. Çabuk denge durumu	22
1.4.1.1.2. K_m değerinin yararları	23
1.4.1.1.3. Sıcaklık	23
1.4.1.1.4. pH	24
1.4.1.1.5. Enzim / Substrat derişimi	24
1.4.1.1.6. Reaksiyon ürünlerinin enzim aktivitesi üzerine etkisi	24
1.4.1.1.7. Zamanın enzim aktivitesi üzerine etkisi	24
1.4.1.1.8. Hormonlar ve diğer biyokimyasal faktörlerin enzim aktivitesi üzerine etkisi	25
1.4.2. Enzim immobilizasyon yöntemleri	25
1.4.3. Enzim immolizisayonunda kullanılan taşıyıcılar şunlardır:	25

1.4.4. Bağlama yöntemleri	25
1.4.4.2. Kovalent bağlama	26
1.4.5. Tutuklama yöntemleri	26
1.5. Adsorpsiyon	27
1.5.1. Adsorplayıcılarda gözeneklilik	28
1.5.2. Adsorplanan madde	32
1.5.3. Adsorplayıcı katılar	33
1.6. Adsorpsiyon Denklemleri	34
1.7. Ultraviyole Spektroskopisi	39
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	42
3. MATERYAL ve YÖNTEM	46
3.1. Materyal	46
3.1.1. Kullanılan araç ve gereçler	46
3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler	46
3.2. Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	46
3.2.1. Enzim çözeltisi	46
3.2.2. Substrat çözeltisi	46
3.2.3. Aktif karbon süspansiyonu (25 mg/ ml)	47
3.2.4. %30'luk hidrojen peroksit çözeltisi	47
3.2.5. 0,05 Molar sodyum fosfat tamponu (pH=7)	47
3.3. Yöntem	47
4. BULGULAR	50
4.1. Serbest ve İmmobilize Enzim İçin (K_m ve V_{max}) Kinetik Sabit Değerlerinin Belirlenmesi	50
4.2. pH Aktivite Eğrileri	54
4.2.1. Serbest ve immobilize enzimin aktivitesi üzerine pH'ın etkisi	54
4.2.2. Asitle muamele edilmiş aktif karbon üzerine adsorbe ettirilmiş katalaz enziminin aktivitesi üzerine pH'ın etkisi	55
4.3. Serbest ve İmmobilize Enzimin Aktivitesi Üzerine Sıcaklığın Etkisi	56
4.3.1. Aktif karbona adsorbe edilen katalaz enziminin aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi	56
4.3.2. Asitle muamele edilmiş aktif karbon üzerine adsorbe edilen serbest katalaz enziminin aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi	58
4.4. Serbest ve İmmobilize Enzimin Aktivitesi Üzerine İyonik Şiddetin Etkisi	59
4.4.1. Aktif karbona adsorbe edilen katalaz enziminin aktivitesi üzerine iyonik şiddetin etkisi	59
4.4.2. Asitle muamele edilmiş aktif karbon üzerine adsorbe edilen katalaz enziminin aktivitesi üzerine iyonik şiddetin etkisi	61

4.5. Enzim-Aktif Kömür Adsorbsiyonu İle İki Ay Boyunca Aktivite Değerleri	62
4.6. İmmobilize Enzim Aktivitesinin İnkübasyon Süresine Bağlı Değişimi	63
5- TARTIŞMA VE SONUÇ	64
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	72

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Brusit veya alümina yapıtaşları	4
Şekil 1.2. Brusit veya alümina düzgün sekiz yüzlü tabakası	4
Şekil 1.3. Düzgün dört yüzlü yapı taşı	5
Şekil 1.4. Düzgün dört yüzlü silika tabakası	5
Şekil 1.5. Montmorillonit mineralinin strüktürel yapısı	7
Şekil 1.6. Bentonit mineralinin yapısı	12
Şekil 1.7. Aktif karbonun gözenek yapısı	15
Şekil 1.8. Şematik olarak aktif karbon modeli	16
Şekil 1.9. Katılarda gözeneklilik	29
Şekil 1.10. Fiziksel ve kimyasal adsorpsiyonların potansiyel enerjileri	29
Şekil 1.11. Bir spektrofotometrenin temel bileşenleri	39
Şekil 1.12. D ₂ W ₂ H ₂ ve Xe lambalarının yaydıkları ışının spektrumları	40
Şekil 4.1. Serbest enzim için V _{max} ve K _m değerleri grafiği	50
Şekil 4.2. İmmobilize enzim için V _{max} ve K _m değerleri grafiği	51
Şekil 4.3. Asitle muamele edilmiş aktif karbon için K _m ve V _{max} grafiği	52
Şekil 4.4. Serbest ve immobilize enzimin aktivitesi üzerine adsorbe ettirilmiş katalaz enziminin aktivitesi üzerine pH'ın etkisi	53
Şekil 4.5. Asitle muamele edilmiş aktif karbon üzerine adsorbe ettirilmiş katalaz enziminin aktivitesi üzerine pH'ın etkisi	54
Şekil 4.6. Aktivite karbona adsorbe edilen ve serbest katalaz enziminin aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi	56
Şekil 4.7. Asitle muamele edilmiş aktif karbondaki adsorbe edilen katalaz enziminin aktivitesi üzerine sıcaklığı etkisi	57
Şekil 4.8. Aktif karbona adsorbe edilen ve serbest katalaz enziminin aktivitesi üzerine iyonik şiddetin etkisi	59
Şekil 4.9 Asitle muamele edilmiş aktif karbona adsorbe edilen katalaz enziminin aktivitesi üzerine iyonik şiddetin etkisi	60

Şekil 4.10. İmmobilize enzimin iki ay süresindeki aktivite değişimi	61
Şekil 4.11. İmmobilize enzim aktivitelerinin inkübasyon süresine bağlı değişimi	62

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 4.1. Serbest enzim için kinetik sabitlerinin (K_m ve V_{max}) belirlenmesinde kullanılan substrar ve enzim değerleri	49
Çizelge 4.2. İmmobilize enzim için kinetik sabitlerinin (K_m ve V_{max}) belirlenmesinde kullanılan substrat ve enzim değerleri	51
Çizelge 4.3. Asitle muamele edilmiş aktif karbon için kinetik sabitlerinin (K_m - V_{max}) belirlenmesinde kullanılan substrat ve enzim değerleri	52
Çizelge 4.4. Serbest enzim için pH değerleri	53
Çizelge 4.5. Asitle muamele edilmiş enzim için pH değerleri	54
Çizelge 4.6. Serbest enzim için bulunan sıcaklık değerleri	55
Çizelge 4.7. İmmobilize enzim için bulunan sıcaklık değerleri	56
Çizelge 4.8. Asitle muamele edilmiş enzim için sıcaklık değerleri	57
Çizelge 4.9. Serbest enzim için bulunan iyonik şiddet değerleri	58
Çizelge 4.10. İmmobilize enzim için bulunan iyonik şiddet değerleri	58
Çizelge 4.11. Asitle muamele edilmiş enzim için iyonik şiddet değerleri	60
Çizelge 4.12. İmmobilize enzim için iki ay süresindeki aktivite değerleri	61
Çizelge 4.13. Enzim-aktif karbon için farklı zamanlarda elde edilen aktivite değerleri	62

SİMGELER DİZİNİ

Simgeler

E	Serbest enzim
S	Substrat
V	Tepkime hızı
K_m	Michaelis Menten sabiti
V_{max}	Enzimin katalitik gücü
ΔH	Çözülme entalpisi
ΔG	Gibbs serbest enerjisi
ΔS	Entropi
T	Adsorpsiyon sıcaklığı
R	İdeal gaz sabiti
k_a	Adsorpsiyon hız sabiti
$(1 - \Phi)$	Adsorplayıcın örtülmemiş yüzey kesri
Φ	Adsorplayıcının örtülü yüzey kesri
m	Moleküllerin kütlesi
p	Gazın basıncı
k	Boltzman sabiti
k_d	Desorpsiyon hız sabiti
V_m	Tek tabaka kapasitesi
P/Po	Rölatif

1. GİRİŞ

Bir reaksiyonu hızlandıran, fakat kendisi reaksiyondan değişmeksizin çıkan maddelere''katalizör''denir.''Enzim'' ise canlı hücreler tarafından yapılan, ancak etki yapabilmesi için hücrenin varlığını gerektirmeyen, ısıya dayanıksız, protein tabiatında organik katalizördür.

Enzimler bazı yönleriyle anorganik katalizörlerden ayrılırlar. Anorganik katalizörler çok çeşitli reaksiyonları katalize ederler, katalize etkileri reaksiyon tarafından değiştirilemezler ve reaksiyon sonunda yeniden kantitatif olarak elde edilebilirler. Enzimler ise ancak belirli maddeler üzerine etki yaparlar, aktiviteleri sırasında az veya çok tahrip olurlar, bunun için de vücutta devamlı sentez edilirler. Çok defa hücre dışında da etkinliklerini korurlar. Solunumun, büyümenin, kas kasılmasının, sindirimdeki iletimin, fotosentezin, azot bağlamasının, determinasyonun, sindirim v.s temelini oluştururlar.

Son yıllarda enzimlerin, invitro aktiviteleri birçok alanda kullanılmaya başlanmıştır. Enzimlerin canlı organizmalarında az miktarda bulunması ve saflaştırma işlemlerinin zorluğu bu moleküllerin son derece pahalı olmasına neden olmaktadır. Bu durum enzimlerin suda çözülmeyen katı bir materyale immobilize edilerek defalarca kullanılmasını gündeme getirmiştir.

Enzimler suda çözülmeyen bir taşıyıcıya fiziksel veya kimyasal olarak bağlanarak, suda çözülmeyen ürün veren bir kopolimerizasyona enzim molekülünün monomer olarak katılmasıyla ve suda çözülmeyen mikro kapsüllerde tutuklamakla immobilize edilirler.

Enzimleri immobilize etmek amacıyla organik materyaller kullanılmaktadır. Bu materyaller özellikle suda çözülmeyen, gözenekli yapı, mekanik stabilize mikroorganizmalara karşı dirençli, ucuz, zehirsiz ve termal stabilize özellikleri gösterebilen katı ve polimer olabilirler.

Taşıyıcıya bağlanmada enzim molekülünden yararlanmaktadır. Molekülün yüzeyindeki fonksiyonel ve iyonik gruplar bu bağlamda önemli rol alırlar suda çözülmeyen taşıyıcılarda enzimi imobileze etmek için adsorpsiyon yöntemi

kullanılır. Bu yöntemin amacı yüzey aktif, suda çözülmeyen bir absorbanın enzim çözeltisiyle karıştırılması ve enzimin yıkanarak uzaklaştırılması temeline dayanır.

Enzim immobilizasyonunda kil, cam, aktif karbon, metaller, metal asitleri gibi anorganik taşıyıcılar, selüloz, nişasta, kollogen, kitin, ipek gibi doğal polimerler; naylon, iyon değiştirici reçineler, vinil ve alil polimerler, bentonit gibi sentetik polimerler, yüksek adsorpsiyon kapasiteli ucuz katı tutucu absorbanlar kullanılmaktadır.

Enzimler hücrelerde biyokimyasal reaksiyonları katalize eden proteinlerdir. Hücreler, gelişli güzel seçilmiş enzim torbaları olarak düşünülemez. Aksine hücreler, içlerinde enzimlerin veya enzim gruplarının özel yerleri, görevleri bulunan, önceden belirlenmiş ve birbirini tanımlayan organizmaların bulunduğu birimlerdir. Hücrelerde çok önemli metabolik görevleri olan enzimler çok çeşitli amaçlar için kullanılmak üzere günlük hayata girmişlerdir.

Reaksiyonları yaşam yönünden çok önemlidir enzimler çoğunlukla hayat olaylarını düzenlediklerinden bunların aktivitelerindeki artış ve azalışlar, normalden sapmalara neden olurlar. Vücut sıvılarında, kanda ve idrarda bulunan enzimlerin konsantrasyonları bazı hastalıkların teşhisine imkân verirler. Enzimler, tedavi amacıyla da kullanılabilir.

Enzimlerin etkinlikleri de son derece önemli ve şaşırtıcıdır; örneğin sığır karaciğerinden elde edilen katalaz enzimi bir dakikada, 0 °C 5.000.000 hidrojen peroksit H_2O_2 molekülünü H_2O ve O_2 'ye parçalayabilir. Enzimin etki ettiği bileşiğe''substrat'' denir. Bu durumda hidrojen peroksit katalazın substratıdır. Enzimin saniyede etki ettiği substrat molekül sayısına''Enzimin Etkinlik Değeri''denir. Bu 0°C de katalaz enzimi için 5.000.000 dur.

Reaksiyon hızı substrat ile doğru orantılıdır. Bu artış, bir noktaya kadar birlikte ve aynı oranda olur fakat substrat artmaya devam ettikçe, reaksiyon hızı sonuna kadar artmaz ve mutlak bir maksimuma ulaşır. Bu noktadan itibaren substrat artışı, artık hızı etkilemez ve hız sabit devam eder. Çünkü bu noktada enzim substratla tam doymuş hale gelmiştir.

Enzimlerin teknik kimya ve biyoteknolojide çeşitli amaçlarla kullanılmaya

başlanması, bilim adamlarını bu katalizörlerin daha ekonomik ve kullanışlı hale getirilme olanaklarının araştırılmasına yöneltmiştir. Enzimlerin mikrobiyal kaynaklardan izolasyon ve saflaştırılması oldukça masraflı bir iştir. Endüstriyel uygulamaların çoğu sulu çözeltilerde gerçekleşir. Enzimler suda çözülür ve aktivitesini kaybeder. Serbest enzimler reaksiyon ortamında istenilen zamanlarda uzaklaştırılamazlar. Bu ve benzeri birçok sorunun çözümü immobilizasyon üzerine yapılan araştırmaları her geçen gün arttırmaktadır. Çünkü bu sorunlar immobilizasyon sayesinde azalmakta veya yok olmaktadır. Immobilizasyon ise hareketi sınırlandırma anlamına gelmektedir.

Katalaz (CAT: EC 1.11.1.6) protein yapısında bol miktarda bulunan karakteristik bir enzimdir. Bu enzim yaygın bir şekilde hayvan, bitki ve mikroorganizmada mevcuttur.

Katalaz, kanda, kemik iliğinde, mukoz, membranlarda, böbrek ve karaciğerde bulunur. Görevi hidrojen peroksidi yıkıma uğratmaktır. Bazı enzimler tepkimelerde yan ürün olarak vücutta H_2O_2 meydana getirdiğinden vücut için zehirli olurlar. Katalaz enzimi onları sürekli parçalayarak hücreleri korur. H_2O_2 , dokularda ve özellikle karaciğerde bulunan katalaz tarafından O_2 ve H_2O 'ya parçalanır.

Katalaz enzimi (hidrojen-peroksit; hidrojen peroksit oksidoredüktaz E.C.1.11.1.6.) organizmada hidrojen peroksit metabolizmasında önemli fizyolojik fonksiyonu yerine getirmektedir. Bu özelliği nedeniyle cevizden elde edilen ve modifiye ve aktif karbonlara adsorbe edilerek, uzun süre kullanılıp kullanılmayacağını ortaya koymak amacıyla bu çalışma planlanmış ve yapılmıştır.

1.1. Killerin Genel Yapıları

1.1.1. Genel yapılar

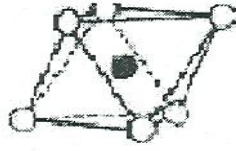
Sekonder minareller, toprak içerisindeki primer minarellerin parçalanma ve ayrışma ile meydana gelmişlerdir. Sekonder minareller arasında en önemli grubu kil minarelleri teşkil eder. Kil minarelleri toprakta su, anyon ve bilhassa katyonların tutumlarıyla ilgilidir. Killerin fiziksel kimyasal aktiflikleri parçacıkların küçüklüğü ile ilgili olarak spesifik yüzeylerin büyüklüğü ve taşıdıkları negatif elektrik yükü ile

alakalıdır.

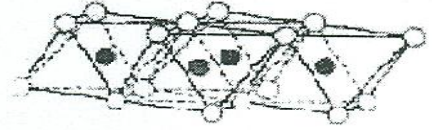
Killer hidratlaşmış alüminyum silikatlarıdır. Killer üzerinde yapılan çalışmalar sonucu, birbirinden farklı iki yapısal birimin varlığı ortaya çıkmıştır. Bu iki birimin farklı oran ve doğrultularda birbirine geçmesi sonucu veya üst üste gelmesi ile kil minarelleri oluşmuştur.

Birçok kil minarellerin esas yapısını iki strüktürel ünite meydana getirir. Bunlardan birincisi Silisyum tetrahedron diğeri ise Alüminyum oktahedron ‘dur.

Aşağıda oktahedronlar tek ve toplu olarak gösterilmiştir (Grim,1968).



Şekil 1.1. Brusid veya Alümina yapıtaşı.

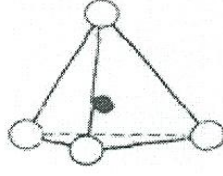


Şekil 1.2. Brüsüd veya Alümina

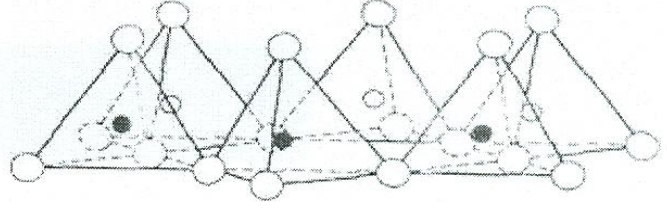
Düzgün sekizyüzlü tabakası.

Şekil 1.1. de görülen yapıtaşlarından birincisi, brüsüd veya alümina olarak değerlendirilir. Merkezde Mg veya Al atomlardan birisi, köşelerde ise oksijen veya OH iyonlarını bulunduran bu yapı düzgün sekizyüzlü (Oktahedran) dür. Bu düzgün sekizyüzlüler bir araya gelerek (Şekil 1.2.’de görüldüğü gibi) merkez atomu Al ise $\text{Al}(\text{OH})_3$ formülü ile gösterilen ‘Brüsüd’ tabakasını oluştururlar (Russel ve Farmer, 1964).

Diğer yapı birimini ise, merkezde Si atomu, köşelerde oksijen veya OH iyonları içeren düzgün dörtyüzlü (Tetrahedral) dür. Bu düzgün dörtyüzlüler, altıgen biçiminde sıralanarak ‘Silika’ adı verilen ve birleşimi $\text{SiO}(\text{OH})$ olan bir tabaka oluştururlar. Şekil 1.3’de düzgün dörtyüzlü ve şekil 1.4.’te silika tabakası gösterimi;



Şekil 1.3. Düzgün dörtyüzlü yapı taşı.



Şekil 1.4. Düzgün dörtyüzlü silika

tabakası

Yukarda bahsettiğimiz dörtyüzlü ve sekizyüzlülerin oluşturduğu düzlemden farklı şekillerde üst üste gelerek kil minarellerini oluştururlar (Serna,1975).

1.2. Kil minarellerinin belirlenmesi

Toprakta mevcut olan kil çeşitlerinin belirlenmesi için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir.

Bu yöntemlerinden birini kullanarak kilin tipini belirlemek çok güçtür. Ancak en uygun yol, birkaç metodu uygulamak ve daha sonra kil mineral, hakkında karar vermektir. Toprakta mevcut olan kil minarellerinin belirlenmesi için aşağıdaki yöntemler verilmiştir.

- i.Elektron mikroskop metodu
- ii. Kimyasal analiz metodu
- iii. Etilen glikol tutulması metodu
- İv. X- ışınları kırınım tekniği metodu

1.2.1. Kil minarellerinin sınıflandırılması

Kil minarelleri aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadır;

- I. Kristal olmayan (Amor) kil minarelleri. Allafon grubu.
- II. Kristal kil minarelleri
 - A. İki tabaklı olanlar (1 Si tetrahedron ve 1 Al oktahedron)
 - 1. Kaolinit grubu (Kaolinit, Nakrit)

2. Hallosit grubu (Hallosut)

B. Üç tabakalı olanlar (2 Si tetrahedron 1 Al oktahedron)

1. Genişleyen kafes yapısına sahip olanlar (Montmorillonit. Vermiküllit, Nandronit. Saponit)

2. Genişlemeyen kafes yapısına sahip olanlar-İllit grubu (İllit)

C. Karışık tabakalı olanlar (farklı tipteki tabakaların üst üste dizilmesi) Klorit grubu (Klorit)

D. Zincir strüktürüne sahip olanlar. (Attapulkit, Sepiolit)

Toprak parçacıklarının yüzey sahası, bazı bakımlardan toprak fraksiyonlarını yüzdesine oranla daha fazla bir anlam ifade edebilir. Zira fiziksel ve kimyasal reaksiyonlar toprak parçacıklarının yüzeyinde meydana gelir. Ancak, fiziksel ve kimyasal olayların sadece dış yüzeylerde değil iç yüzeylerde de meydana geldiği hatırd tutulmalı ve sadece spesifik yüzeye bakarak bir toprak hakkında fikir yürütülmemelidir.

1.3. Montmorillonit

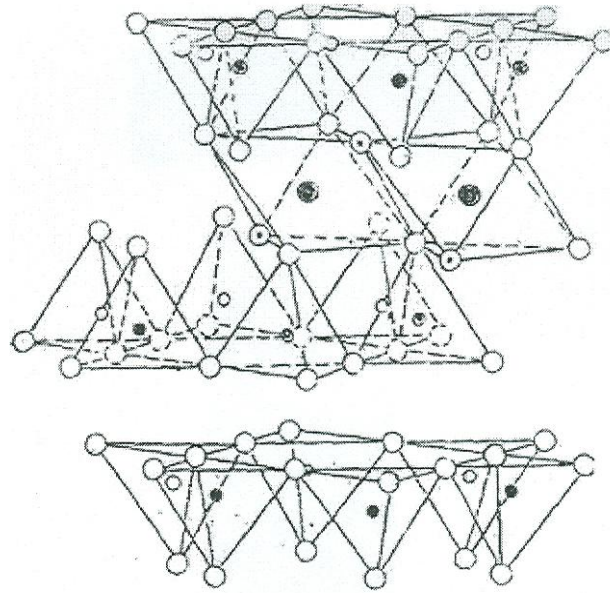
Montmorillonit ismi, hidrate olabilen kil minarellerini belirlemek üzere kullanıldığı gibi, bu grup içersindeki montmorilloniti ifade etmek üzere de kullanılmaktadır. Son yıllarda bu grubu ifade etmek üzere ‘Smektit’in kullanılması benimsenmiştir. Smektit, aşağıda özellikleri bir grup kil minarellerini ifade etmektedir. Bu özellikler;

1. Hidrate olabildiklerinden bünyelerinde muhtelif miktarlarda su taşırlar.
2. Oktahedronlardaki Al’un bir kısmının yerini Mg almıştır.
3. Parçacıkları çok küçüktür.
4. Minarel, c eksen yönünde genişleyebilir.

Montmorillonit: genel formülü $\text{Si}_8\text{Al}_4\text{O}_{20}(\text{OH})_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ olan Montmorillonit minarelleri de bir strüktürel ünite üç tabakadan meydana gelir. Bu ünite de iki silisyum tetrahedron tabakası arasında bir Alüminyum oktahedron tabakası vardır. Bu bakımdan Montmorillonit grubu kil minarelleri 2:1 tipi kil minarelleri adı da verilir. Bütün tetrahedronların uçları aynı istikamette ve ünitenin merkezine doğrudur. Her bir

silistum tetrahedronun yönünün uç atomu ve oktahedron tabakasındaki hidroksiller ortak bir tabaka meydana getirir. Oktahedron ve tetrahedron tabakalarına ait müşterek atom oksijen atomu olur.

Silisyum-Alüminyum-Silisyum'dan meydana gelen ünitelerin üst üste yığılmaları esnasında bu üniteler arasındaki oksijen-oksijen bağının oldukça zayıf olması dolayısıyla montmorillonit tipi kil minarellerinde ünitelerinde bir birinden ayrılması oldukça kolaydır. Bu sebeple su ve diğer moleküller ve katyonlar kristal ünitelerin arasına girerek minarellerin c istikametinde gelişmesini sağlarlar. Üniteler arasındaki mesafe araya giren katyonun veya organik moleküllerin cinsine göre gelişir. Örneğin; tabakalar arasındaki mesafe Mg saturasyonunda $14\text{\AA}$ ve K saturasyonunda da $12.5\text{\AA}$ 'dır. Dioktahedral bir yapıda olan bu mineralin katyon değişimi kapasitesi 80-150 me./1000 g. dır. Oktahedron tabakasındaki Al'un bir kısmı Mg ile yer değiştirebilir ve bu şekilde izomorfik yer değiştirmenin oranı, %15'e kadar çıkabilir. Strüktürel ünite elektriği yük bakımından dengeleyicidir. Montmorillonit parçacıkları $0.1\ \mu$ 'dan daha küçüktür. Şişme, büzülme ve su tutma özelliği oldukça fazladır.



Şekil 1.5. Montmorillonit minarellerinin strüktüel yapısı (Grim,1968)

Semektit (montmorillonit) grubu içerisinde minareller iki grup halinde aşağıda verilmiştir. Bu minareller, strüktürel yapı bakımından montmorillonite benzemekle beraber, kimyasal yapı bakımından ayrıcalık gösterirler.

Baydellit (Beidolite)in strüktürel yapısı montmorillonite benzerdir. Bu minarellerin montmorillonitten farkı, negatif yüklerin silisyun tetrahedron tabakasında ortaya çıkmasıdır.

Nantronit ve Saponit; Oktahedral pozisyonların tümü Fe^{+3} iyonları tarafından doldurulduğu takdirde, nantronit strüktürü ortaya çıkar. Saponit minarellerinde ise, oktahedral pozisyonların tümü Mg ile dondurulmuş ve Si'nun bir kısmı Al ile yer değiştirmiştir.

Bentonit bir minarel olmayıp bir kaya kütesine verilen isimdir. Kütlenin en önemli özelliği, yüksek oranda koloidal bir yapı göstermesi ve şişme özelliğinin çok fazla olmasıdır. Bentonit içerisindeki hâkim kil minareli montmorillonittir. Ayrıca, bir miktar ilit ve kaolinit ve bir miktarda kil olmayan materyal (volkanik materyal) bentonit içersinde yer alır. Bazı bentonitlerin montmorillonit oranı % 90'a kadar çıkabilmektedir.

1.3.1. Bentonit

Büyük bir kısmını, montmorillonit veya montmorillonitten türemiş olan baydelinit, saponit, haktorit ve nontronit gibi kil minarellerini içeren maddelere bentonit adı verilir.

Bentonit, smektit grubu kil minarellerinden olup % 80'den fazla montmorillonit içerir ve üç tabakalı (tetrahedral silika-oktahedral alümina-tetrahedral silika) bir kristal yapısına sahip olup şişme özelliğine sahiptir. Volkanik kil veya tuf camsı volkanik malzemenin kimyasal ayrışması ve bozulması ile ortaya çıkan 2 mikron gibi oldukça küçük kristaller halindeki kil minarellerinden (başlıca montmorillonit) oluşan ve büyük oranda koloidal silisten meydana gelen bentonit yumuşak, şekillenebilir, gözenekli ve açık renkli bir kildir. Feldspatların asidik ortamda bozulmasından kaolinit minareli, bazik ortamda bozulmasından ise bentonitin minareli olan montmorillonit oluşturmaktadır.

Bentonitler, içerdikleri değişebilir nitelikteki sodyum ve kalsiyum iyonlarına göre; yüksek şişme özelliğine sahip sodyum bentonit, karışık bentonit (sodyum ve kalsiyumlu) ve düşük şişme kapasiteli kalsiyum bentonit olmak üzere üç ana gruba ayrılmaktadır.

Sahip oldukları doğal özelliklerine bağlı olarak yukarıdaki gibi sınıflandırılan bentonitler niteliklerini arttırmak için asit, soda, organik ve inorganik gibi katı maddeleri iyon değiştirme reaksiyonlarına sokularak “katkılı bentonit” veya “aktif bentonit” olarak adlandırılırlar.

Başlangıçta Wyoming’de (USA) Ford-Benton yakınlarında bulunmuştur. Kolloidal özellik gösteren plastisitesi yüksek olan bir kil çeşididir. Amerika’da bentonit adı verilmiştir. Daha sonra Fransa’nın montmorillon bölgesinde de aynı kil bulunduğu için montmorillonit adı verilmiştir. Bentonitle birlikte kuvars, mika, feldispat, prit ve diğer bazı minareller bulunur. Kil minarellerinin bir çeşidi olan bentonitin genel kimyasal formülü; $(\text{Na}, \text{Ca}) (\text{Al}, \text{Mg})_6 (\text{Si}_4\text{O})_3 (\text{OH})_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ’dur (Dökmeci,1988).

1.3.1.1. Bentonitin fiziksel ve kimyasal özellikleri

Spesifik özgül ağırlığı kuru bazda $1.7-2.8 \text{ g/cm}^3$ arasında değişen bentonitlerin öğütülmüş bulk sıkıştırılmış yığın yoğunlukları $0.8-1.1 \text{ g/cm}^3$ ’e kadar inmekte, hafif sarı, bej, yeşilimtrak veya beyaz renkte olabilmektedir. Bentonitin su içersine konduğunda şişmesi ve jelleşme göstermesi suyu adsorbe etmesinden kaynaklanmakta olup, bentonitler şişen bentonit (Na-bentonit), şişmeyen bentonit (Ca-bentonit), karışık bentonit olarak üçe ayrılmaktadır.

Birim kristal yapıda meydana gelen yer almalar nedeniyle montmorillonit içerisindeki farklı değerleri atomlar yer değiştirmektedir. Tetrahedral katmanındaki silisyum alüminyum tarafından yer değiştirebilir. Yer değiştirme artı yük eksikliğine neden olur ki bu eksiklik birimler arasına girmiş değişebilir iyonlarla giderilmektedir (Genellikle Na^+ ve Ca^{+2}).

Birim tabakalar arasındaki bağların zayıf olması nedeni ile tabaka aralarına değişik iyonlar, organik moleküller ve su girerek bentonitlere adsorpsiyon,

absorpsiyon özelliği kazandırır (Güngör,1981; MTA.1989).

1.3.1.2. Bentonitin mineralojisi

Bentonitler içersisinde bol camsı malzeme bulunan volkanik kül, tuf ve lavların kimyasal yolla ayrışması sonucu meydana gelirler. Bentonit içerisinde montmorillonit minareli hâkim olup camsı malzemenin duyarsız oluşu onun hidroliz yoluyla montmorillonite dönüşmesine neden olmaktadır. Dönüşüm aşamaları kalan silis - alüminyum yapısının ayrışması, yapının montmorillonit minareli halinde yeniden oluşması, kanyonca zengin eriyiklerin gözeneklerde zeolit oluşturmaları ve fazla silisin atılması veya çöktürülmesidir.

Bentoniti oluşturan montmorillonit iki tetrahedral tabaka arasında yer alan oktahedral tabakada meydana gelmektedir. Si-O tetrahedral yaprağında oksijen atomları aralarında bir silis atomu bulunan düzgün dörtyüzlünün dört köşesine yerleştirilmiştir. Her tetrahedral dizilişte dört oksijen atomundan üçü komşu tetrahedral tarafından paylaşılır. Dördüncü oksijen atomu aşağıya ve yukarıya doğru yönelmiştir. Bir yapraktaki tetrahedrallerin tabanları aynı yöne yönelmiştir. Tetrahedraller üstten bakıldığında, hegzagonal bir ağ oluşturacak şekilde birbirine bağlanmıştır. Al-O-OH (Gibst) oktahedral yapraklarında ağ bir merkezde olmak üzere düzgün bir sekizyüzlünün köşelerinde oksijen atomları veya OH grupları vardır.

Silika ve alümina tabakaları arasında kuvvetli bir iyonik bağ olmasına karşın birim tabakalar birbirine zayıf Van der Waals kuvveti ile bağlanmıştır. Aralarında su moleküllü veya yapılarında pozitif yük noksanlığını karşılayan değişebilen kanyonlar bulunur. Su ve organik maddeler bu birim tabakalar arasına girerek yapının genişletilmesine neden olur.

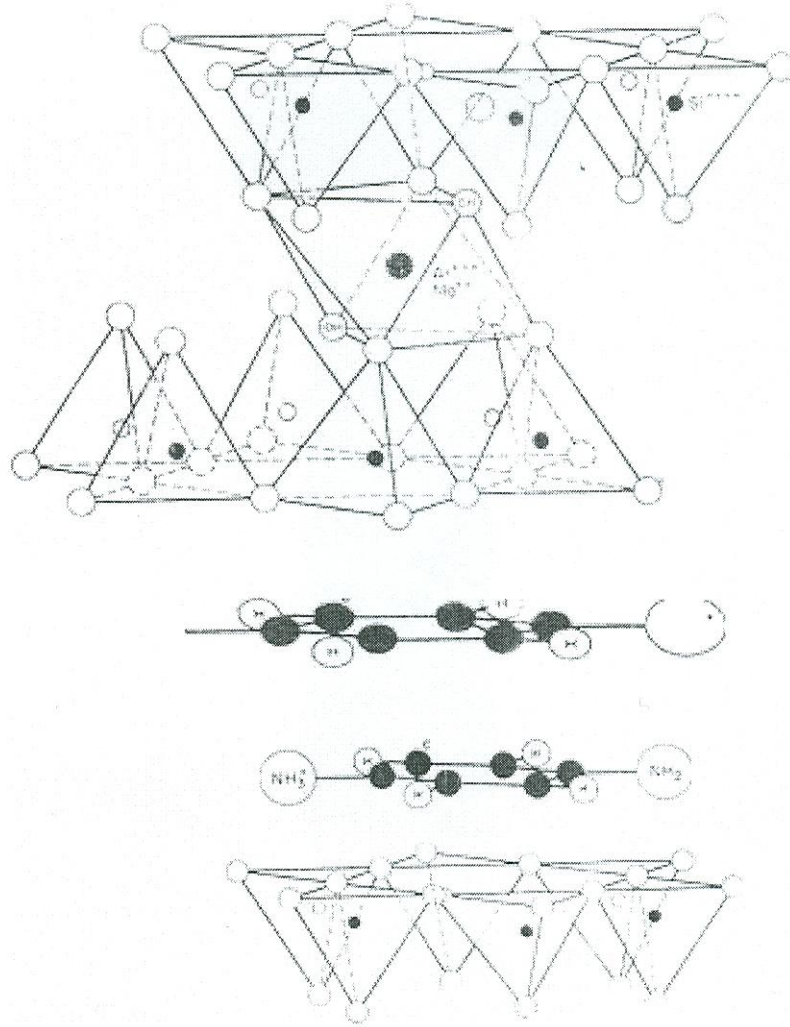
Montmorillonit'in kristal yapısına göre smektit grubundaki killerin teorik formülü $[Al_4Si_8O_{20}(OH)].nH_2O$ şeklindedir. Jeolojik zaman içersisinde smektit grubu killerin yapısında bulunan Si ve Al iyonları diğer iyonlarla yer değiştirir.

Tetrahedral yapraktaki Si yerine Al ve oktahedral yapraktaki Al yerine Mg, Fe, Zn veya Li iyonları gelebilir. İyon değişimleri yapının elektriksel dengesinin bozulmasına ve pozitif yük noksanlığına neden olmaktadır ki bu pozitif yük

noksanlığı birim tabakalar arasına alkali veya toprak alkali iyonların girmesi ile giderilmektedir.

Negatif yüklü durumda olan bentonit kil mineralleri, yapılarını elektriksel bakımdan nötr duruma getirebilmek amacıyla katyon adsorplarlar. Killerde görülen değişebilir katyonların başlıcaları; H^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , NH_4^+ , Al^{3+} olup kilin temel Si-Al yapı ünitesinin dışında bulunurlar, zayıf elektriksel kuvvetlerle tutunurlar ve kil minarelinin bir çözelti içerisinde bulunması halinde çözeltideki diğer bazı katyonlarla yer değiştirebilirler.

Bentonit başlıca; sondaj sıvısı, sıvı yağların ağartılması, döküm kumu bağlayıcısı, şarap ve meyve sularının berraklaştırılması, ilaç, kâğıt, lastik sanayilerinde dolgu, petrol rafinasyonu, atık suların temizlenmesi, boyada reolojik katkı, nükleer atıkların depolanması gibi alanlarda kullanılmaktadır.



Şekil 1.6. Bentonit mineralinin yapısı.

Bentonitin % 75'ini şekil 1.6'da gösterilen yapılar oluşturmaktadır

Montmorillonitin genel formülü $\text{Si}_8 \text{Al}_4 \text{O}_{20}(\text{OH})_4\text{H}_2\text{O}$. Bentonitler içinde doğala katkı olarak kaolin ve illit gibi diğer kil mineralleri ile jips, kuars, rutil, kalsit, dolomit ve volkanik kül gibi kil minerali olmayan maddelerde bulunmaktadır.

Bentonitler diğer plastik killerden daha fazla su içerirler. Bentonitler içerdikleri su miktarına göre iki türe ayrılırlar. Birinci tür bentonitler şişen montmorillonit minarelleri içerirler. Bu bentonitlere su eklendiğinde şişerek jel haine gelirler. Su mikarı attırılırsa süspansiyon haline geçerek uzun süre bu halde kalabilirler. İkinci tür bentonitler şişmeyen montmorillonit minerali içerirler. Bu tür

bentonitler su ile çok az şişerler ve su da süspansiyonları hemen çöker.

Şişen bentonitlerin sulu süspansiyonlarındaki pH değeri 8.5–9.5 arasında olduğu halde, şişmeyen bentonitlerin pH değeri 4–7 arasındadır. Şişen bentonitler kuru iken yeşil, gri ve krem renginde, ıslak iken tan ışığı rengindedir. Şişmeyenler ise gri, mavi, yeşil, kırmızı ve kahverenginin farklı tonlarındadırlar. Beyaz renkteki bentonitlere çok az rastlanır.

1.3.1.3. Aktif karbon

Yaygın olarak kullanılan endüstriyel adsorbanlar arasında çevre kirliliğini kontrol amacıyla, şu anda kullanılan adsorbanların en önemlisi, yüksek gözenekliliğe sahip aktif karbonlardır. Ticari olarak aktif karbonlar, odun, turba, linyit, kömür, mangal kömürü, kemik, Hindistan cevizi kabuğu, pirinç kabuğu, fındikkabuğu ve yağ ürünlerinden elde edilen karbonların çeşitli işlemlerden geçirilerek aktive edilmesiyle elde edilirler.

1900'lü yılların başında, şu anki aktif karbon üretiminin temelini oluşturan patentler yayınlanmıştır. Bu patentler, bugün bile hala geçerli olan aktif karbon üretiminin iki temel prensibini açıklamaktadır. Bunlar kimyasal aktivasyon ve gaz aktivasyonudur. 1920 yılından sonra, ilk olarak, aktif kömür su arıtılmasında kullanılmaya başlanmış, fakat yaygın bir kullanım sağlanamamıştır. Ancak, 1927 yılında Almanya'da içme suyundaki klorofenol kokusu büyük problem yarattığından, şehir suyunun hazırlanması sırasında aktif karbon kullanımı da büyük önem kazanmıştır. Aktif karbon, 1929 yılında Hamm Water Works'da granüler formda, bundan bağımsız olarak 1930'da Harrison tarafından Michigan Bay City'de, yine 1929 yılında Spalding tarafından içme suyundaki kokuların uzaklaştırılması amacıyla toz halinde kullanılmıştır. 1932 yılına gelindiğinde Amerika'da 400 fabrika, 1943 yılında ise yaklaşık 1200 fabrika istenmeyen kokuların kontrolünde aktif karbonu kullanmıştır.

1.3.1.4. Aktif karbonun genel özellikleri

Aktif karbon, büyük kristal formu ve oldukça geniş iç gözenek yapısı ile karbonlu adsorbanlar ailesini tanımlamada kullanılan genel bir terimdir. Aktif

karbonlar, insan sağığına zararsız, kullanışlı ürünler olup, oldukça yüksek bir gözenekliliğı ve iç yüzey alanına sahiptirler. Aktif karbonlar, çözeltideki molekül ve iyonları gözenekleri vasıtasıyla iç yüzeylerine doğru çekebilirler ve bu yüzden adsorban olarak adlandırılırlar.

1.3.1.5. Yüzey alanı

Aktif karbonun iç yüzeyi (aktifleştirilmiş yüzey) çoğunlukla BET yüzeyi olarak (m^2/g) ifade edilir. Yüzey alanı azot (N_2) gazı kullanılarak ölçülür. Su arıtımında kullanılan aktif karbon taneciklerinin iç yüzey alanının yaklaşık $1000 \text{ m}^2/\text{g}$ olması istenmektedir. Kirlilik oluşturan maddeler, aktif karbonun yüzeyinde tutulacağından, yüzey alanının büyüklüğü kirliliklerin giderilmesinde oldukça etkili bir faktördür. Prensip olarak, yüzey alanı ne kadar büyükse, adsorpsiyon merkezlerinin sayısının da o kadar büyük olduğu düşünülür. Literatürde bulunan aktif karbonun yüzey alanı ve gözenek sistemi ile ilgili sayısal değerler aşağıda verilmiştir;

Aktif karbonun yüzey alanı ve gözenek sistemi ile ilgili sayısal değerler.

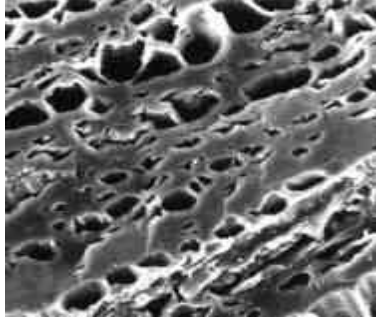
Yüzey alanı:	400-1600 m^2/g (BET N_2)
Gözenek hacmi:	$>30 \text{ m}^3/100\text{g}$
Gözenek genişliği:	0,3 nm-1000 nm

Karbon taneciğinin yüzeyi gaz, sıvı ve katı maddeleri çeker ve yüzeyde ince bir film tabakası oluşturur, yani adsorbe eder. Aktif karbonun adsorban olarak tercih edilmesinin başlıca iki nedeni vardır. Bunlar;

1. Belirli maddeleri çekebilmesi için çekici bir yüzeye,
2. Fazla miktarda maddeyi tutabilmesi için geniş bir yüzeye sahip olmasıdır.

1.3.1.6. Gözenek büyüklüğü

Kirliliğin giderilmesinde etkili olan diğer bir parametre de gözenek büyüklüğüdür. Gözenek büyüklüğünün belirlenmesi, karbonun özelliklerinin anlaşılmasında oldukça kullanışlı bir yöntemdir. Gözenekler silindirik veya konik şeklinde olabilir. Aktif karbonun gözenek yapısını gösteren ve Taramalı Elektron Mikroskobu ile çekilen fotoğraf aşağıda verilmiştir.

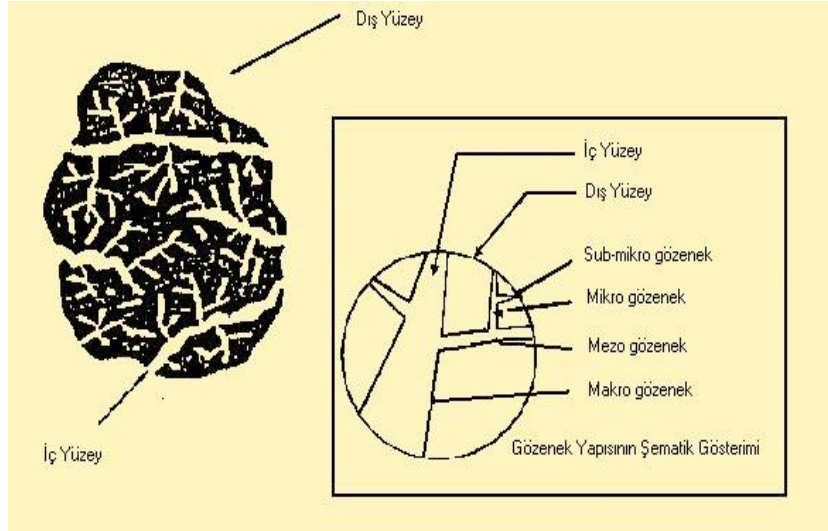


Şekil 1.7. : Aktif karbonun gözenek yapısı.

Adsorpsiyon için gözenek yapısı, toplam iç yüzeyden daha önemli bir parametredir. Gözeneklerin büyüklükleri, uzaklaştırılacak olan kirliliklerin tanecik çaplarına uygun olmalıdır. Çünkü karbon ve adsorplanan moleküller arasındaki çekim kuvveti, molekül büyüklüğü gözeneklere yakın olan moleküller arasında daha büyüktür.

The International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) adsorbanlar için gözenek büyüklüğünü yarıçaplarına göre dörde ayırmıştır;

1. Makro gözenekler($r > 25$ nm)
2. Mezo gözenekler ($1 < r < 25$ nm)
3. Mikro gözenekler($0,4 < r < 1$ nm)
4. Submikro gözenekler($r < 0,4$ nm) olarak sınıflandırılabilirler.



Şekil 1.8.: Şematik olarak aktif karbon modeli

Adsorpsiyon ve desorpsiyon için önemli olan aktif karbon gözenek sistemi, Şekil 1.8’de şematik olarak gösterilmiştir. Mikro gözenekler iç yüzeyin önemli bir kısmını teşkil ederler (~% 95). Makro gözenekler ise adsorpsiyon için nispeten önemli olmamakla birlikte, ancak mikro gözeneklere doğru difüzyonun hızlı olması için iletici olarak gereklidirler. Makro gözenekler molekülün aktif karbon içerisine girmesini, mezo gözenekler daha iç bölgelere doğru taşınmasını sağlarken, mikro gözenekler ise adsorpsiyon olayı için kullanılırlar.

1.3.1.7. Aktif karbon türleri

Atık su işlemleri için günümüzde kullanılan en iyi aktif karbonlar çeşitli kömürlerden ve doğal materyallerden elde edilir. Bunlar: taş kömürü, mangal kömürü, turba, linyit, odun, kemik; Hindistan cevizi, fındık ve pirinç kabuğu; meyve çekirdekleri ve yağ ürünleridir. Bu materyallerden elde edilen aktif karbonlar genellikle sert ve yoğundur. Suda bozunmadan uzun süre kullanılabilirler. Aktif karbonlar değişik özelliklere sahip şekillerde üretilirler. Bunlar;

1. Toz halindeki aktif karbonlar,
2. Granüle aktif karbonlar,
3. Pelet halindeki aktif karbonlardır.,

Karbonun kimyasal aktivasyonu sonucu, toz haldeki aktif karbonlar elde edilirler. Bu karbonlar, günümüzde atık suların temizlenmesi işlemlerinde en çok

kullanılan aktif karbonlardır. Gaz aktivasyonu ile yapılan granüle ürünler ve peletler daha ziyade gazların saflaştırılmasında kullanılırlar. Ancak granüle haldeki aktif karbonların da atık su işleme sistemlerinde oldukça iyi sonuçlar verdiği belirtilmektedir. Granüle ve toz haldeki aktif karbonlar organik ve inorganik maddelerin uzaklaştırılmasında mükemmel sonuçlar vermektedir. Bu aktif karbonlar biyolojik olarak işlem görmüş atık suları ve organik kaynaklı endüstriyel atıklar içeren atık suları temizlemek için de yıllardır kullanılmaktadır.

1.3.1.8. Aktivasyon teknikleri

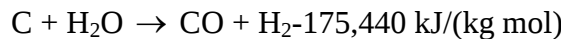
Aktif karbon üretimi için, karbonca fakir olmayan tüm maddeler, çeşitli aktifleştirme yöntemleriyle aktifleştirilerek kullanılabilirler. Bu aktifleştirme yöntemleri kimyasal aktivasyon ve gaz aktivasyonu olmak üzere ikiye ayrılır.

1.3.1.9. Kimyasal aktivasyon

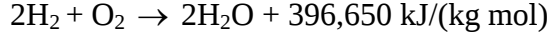
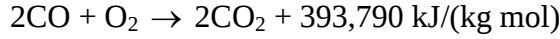
Bu teknik genellikle turba ve odun temel kaynaklı çığ materyallerin aktivasyonu için kullanılır. Çığ materyal çinko klorür, fosforik asit veya potasyum hidroksit ile doyurulur. Daha sonra karbonu aktive etmek için 500-800 °C sıcaklığa kadar ısıtılır. Aktive edilen karbon yıkanır, kurutulur ve öğütülerek toz haline getirilir. Kimyasal aktivasyon sonucu oluşturulan aktif karbonlar, genellikle büyük moleküllerin adsorpsiyonu için kullanılırlar ve oldukça geniş gözenek yapısı sergilerler.

1.3.1.10. Gaz aktivasyonu

Bu aktivasyon tekniği genellikle kömür ve meyve kabuklarının aktivasyonunda kullanılır. Çığ materyal öncelikle karbonizasyon olarak adlandırılan ısıl bir işleme tabi tutulur. Bu işlem gözenekleri küçük olan karbonlu bir ürün oluşmasına yardımcı olur. Daha sonra bir inert gaz atmosferinde ve 800-1100°C sıcaklık aralığında aktivasyon işlemi gerçekleştirilir. Böylece, başlangıçta karbonizasyon ile oluşturulan ara materyal, aşağıda verilen su-gaz reaksiyonu ile gaz fazına dönüştürülerek mevcut gözenekler genişletilir ve sayıları artırılır.



Bu reaksiyon endotermiktir ve reaksiyon için gereken ısı, kısmen oluşan CO ve H₂'nin yanması ile korunur.



Elde edilen aktif karbon sınıflandırılır ve elenip tozu giderilerek kullanıma hazır hale getirilir. Gaz aktivasyonu ile elde edilen aktif karbonlar da kimyasal aktivasyondan elde edilenler gibi iyi bir gözenek yapısı sergilerler. Hem sıvı hem de gaz fazdan molekül ve iyonların adsorpsiyonu için etkin bir şekilde kullanılırlar.

1.4. Enzimler

1878 yılında Willy Kühne biyolojik reaksiyonları hızlandıran biyokatalizatörler için “hücrede bulunan” anlamına gelmek üzere ilk kez “enzim” değini kullanmıştır. Mikroorganizmalar gibi enzim özütlerinin (ekstraktlarının) de besin ve fermantasyon endüstrisinde kullanılmaları oldukça eskidir. Örneğin, arpadan elde edilen malt özütünün nişastayı çözünürleştirdiğı çok eskiden beri biliniyor ve besin endüstrisinde kullanılıyordu. 1883 yılında Payen ve Persoz; nişastanın çözünürleştirilmesinde, malt özütü içerisinde bulunan diastazın etken olduğunu bulmuşlar ve malt özütünün kaynatılması ile bu etkinliğin ortadan kalktığını özüt içerisindeki diastazın alkolle çöktürölmesi sonucunda ise geri kalan karışımının aynı etkinliğı göstermediğini gözlemişlerdir.

Malt diastazın kalsiyum sülfat ile kararlı duruma getirilebileceğı ve endüstriyel amaçlarda kullanılmasının daha kolaylaşacağı kanıtlanmıştır. Lipaz ve Proteaz enzimlerinin çamaşır yıkama sularına katılarak çok etken bir temizleyici olarak kullanılabileceğini saptanmıştır.

1926 yılında ilk kez üreaz enzimi kristalleri elde edilerek molekülün büyük bir kısmının proteinden oluştuğı bulunmuştur. Böylece enzim türlerinin bulunması sonucu enzim bilimi (enzimoloji) adı verilen büyük bir bilim dalı doğmuştur. Yeni enzimlerin bulunması; enzimleri ayırma, saflaştırma ve tanıma yöntemlerinin gelişmesine bağılı olarak yıldan yıla giderek büyük oranda artmıştır. Örneğin, 1930

yılına değin 80 enzim bilinirken bu sayı 1947 yılında 200, 1968 yılında ise birden bire 1300'e yükselmiştir. Bugün 2000'e yakın enzim bilinmekte ve bunların pek çoğunda biyolojik ortamlardan ayrılarak izole edilerek saf halde satışa sunulmuş bulunmaktadır.

Enzimlerin hücre ve canlı metabolizmadaki önemi inanılmayacak kadar fazladır. Bunun içinde tıp, biyokimya ve biyolojide çok geniş ve yaygın araştırma alanı bulunmuştur. Enzimlerin bazı hasatlıklar ile çok yakın ilgileri vardır. Bu nedenle kanda ve öteki biyolojik ortamlardaki enzim aktivitelerinin ölçülmesi, tıpta tanı yönünden büyük kolaylıklar sağlamaktadır.

Endüstriyel önemi bulunan pek çok reaksiyon, biyolojik ortamda çok daha kolay ve ılımlı koşullarda oluşabilmektedir. Öyle ise enzimlerin endüstride kullanılması, çok yüksek basınç ve sıcaklık gibi fazla enerjiye gereksinme gösteren koşulları gerektirmeyeceği için, büyük ekonomik ve pratik yararlar sağlayacağı açıktır. Bugün yüz yirminin üstünde enzim, endüstriyel amaçla kullanılmaktadır.

Enzimlerin elde edilmesinde kullanılan üç kaynak vardır. Bunlar; hayvansal, bitkisel ve mikropsal kaynaklardır. Bu üç kaynak arasında en önemlisi, üretimi ve uygulanmasındaki kolaylık bakımından mikroorganizmalardır. İşte bu nedenle, endüstriyel mikrobiyolojinin en önemli alanlarından biri de enzim üretimidir, örneğin 1972 yılında Amerika'da fermantasyon yolu ile üretilen tüm ürünlerin parasal değeri 2 milyar dolar olup bunun 64 milyon dolarını enzimler oluşturmuştur. Enzimlerin ayrılma ve saflaştırma işlemlerinin bugünkü ölçülerde değişmediği dönemlerde fermantasyon ve benzeri reaksiyonlarda yalnızca mikro organizmalardan ya da saf olmayan kaba enzim özütlerinden (Ekstraktlarından;) yararlanılmıştır. Oysa sonradan, özellikle çok saf olması gereken bazı ilaçların ve biyokimyasal bileşiklerin elde edilmesinde enzimlerin kullanılmasının birçok yararı olduğu görülmüştür. Ancak, bu amaçla enzimlerin biyolojik sistemlerden ayırma yöntemlerinin geliştirmesi; enzim kinetiği ve mekanizmalarının da daha iyi anlaşılması; kimi zaman, endüstriyel koşullarda aktivitelerini uzun süre koruyabilecek özel enzim sistemlerini hazırlama tekniklerinin bulunması gerekmiştir. İşte, son yıllarda gelişen enzim bilimi bu sorunları çözümleyebilmiş ve enzimlerin endüstride kullanılabilme koşullarını

araştırarak uygulama alanına koymak üzere biyokimya mühendisliği içerisinde enzim mühendisliği adı altında yeni bir uzmanlık dalı ortaya çıkmıştır. Çok yeni bir bilim dalı olan “enzim mühendisliği”, enzim teknolojisi ve biyoteknoloji için önemli olan şu sorunları çözmeye uğraşmaktadır:

1. Doğal kaynaklardan saf enzim elde etme yöntemlerinin geliştirilmesini ve enzim üretimine ilişkin maliyetlerin düşürülmesi.
2. Aynı enzimi birçok kez kullanabilme yönteminin geliştirilmesi;
3. Enzimlerin kararlılıklarının artırılması;
4. Bol enzim üretimi için uygun biyolojik kaynakların seçilmesi ve geliştirilmesi;
5. Enzimlerin ya da doğrudan doğruya mikroorganizmaların suda çözülmeyen bazı özel tutucularda immobilize edilerek (yakalanarak) daha kararlı duruma getirilmesi ve sürekli reaktörlerde kullanılabilme olanaklarının sağlanması;
6. Endüstride kullanılmak amacı ile en uygun enzim reaktörlerinin yapılması;
7. Enzim teknolojisinde üç uygulanan proses (süreç) kontrol sistemlerinin geliştirilmesi;
8. Enzim reaktörlerinden çıkan karışımlarda ürünleri ayırma ve saflaştırma işlemlerinin düzenlenmesi (Pekin, 1979).

Enzimler, canlı organizmadaki kimyasal reaksiyonları hızlandıran ve hiçbir yan ürün oluşmasına fırsat vermeden % 100 lük bir ürün verimi sağlayan protein yapısındaki biyolojik katalizörlerdir. Bu katalizörlerin en önemli özellikleri, katalizleme güçleri ve spesifikleridir.

Bazı enzimler katalizleme fonksiyonlarını yalnız protein yapılarıyla yerine getirebilirken bazıları da protein yapısında olmayan kofaktör adı verilen gruplara ihtiyaç duyarlar. Kofaktör bir metal iyonu olabildiği gibi koenzim denilen kompleks bir organik bileşikte olabilir. Bazen aktivite için ikisi de gerekebilir. Kofaktörlere sahip enzimlere holloenzim denilmektedir. Kofaktörler enzimlere ligand bağlara farklı kuvvetlerde tutulmuş olup diyaliz yoluyla enzimlerden uzaklaştırabilirler. Kofaktörü

kendisinden uzaklaştırılmış olan enzim, aktivitesini kaybeder. Enzimin yalnız protein kısmına apoenzim denilmektedir.

Günümüzde yaklaşık 2000 kadar enzimin varlığı bilinmektedir. Bunlardan 250 kadarı saflaştırılıp kinetiği incelenmiştir. Yapılan genetik çalışmalar ve hücre içerisindeki kimyasal reaksiyonların çeşitliliği daha birçok enzimin keşfedilmediğini göstermektedir.

Enzimlerin miktarı, aktiviteleri esas alınarak belirlenir ve enzim ünitesi (E.Ü) cinsinden verilir. Kapsamlı bir ünite tarif olmamasına rağmen, 25 °C’de ve optimum şartlarda 1 mikromol substrat bir dakikada ürüne dönüştüren enzim miktarına bir enzim ünitesi denilmesi kabul edilmiştir. 1 mg protein başına düşen enzim ünitesi spesifik aktivite olarak tanımlanır ve buna da enzim saflığının ölçüsü denir.

Enzim üretiminde ham madde sorunu mikrobiyal kaynaklar sayesinde büyük ölçüde çözülmüş görünmektedir. Bununla birlikte enzimlerin mikrobiyal kaynaklardan izolasyon ve saflaştırılması oldukça masraflı bir iştir. Bilindiği gibi enzimler su da çözülen, spesifik katalizörlerdir. Endüstriyel uygulamaları çoğu sulu çözeltilerde gerçekleştirildiğinden katalizör olarak kullanılan serbest enzimi aktivitesini yitirmeden geri kazanılması olanak dışıdır. Serbest enzim, reaksiyon ortamının da istenildiği anda uzaklaştırılmadığından reaksiyonun kontrolü çok güçtür. Reaksiyonun istenilen anda durdurulması için inhibitör katılması düşünülebilir. Ancak serbest enzim tarafından kirletilmiş olan reaksiyon ürünlerine böylece yeni bir kirlilik unsuru eklenmiş olacaktır. Ürün veya ürünlerin bu kirlilik unsurlarının da arıtılması maliyeti çok arttırmaktadır. Katalizör olarak kullanılan serbest enzimi reaksiyon ortamından aktivitesini yitirmeden çıkarabilmek olanaksız olduğundan enzimin yeniden kullanılması da söz konusu değildir. Bu ise enzimlerin çok spesifik ama o ölçüde pahalı katalizörler olmaları nedeniyle maliyeti yükselten önemli bir etmendir.

Katalaz enzimi (EC1.11.1.6) hidrojen peroksidin su ve oksijen molekülüne ayrışması sonucu doğada bol miktarda bulunmaktadır. Katalaz enziminin reaksiyon hızı oldukça yüksektir ve optimum şartlar altında bir mol katalaz enzimi bir dakika içerisinde 5 milyon mol hidrojen peroksidi ayrıştırabilir.

1.4.1. Enzimlerin çalışma mekanizması

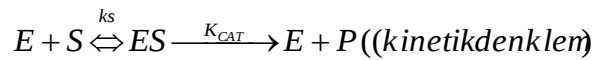
Daha öncede değindiğimiz gibi enzimin hangi substratla çalışacağını saptayan kısmı apoenzim kısmıdır. Demek ki apoenzim kısmıyla substrat arasında bir ilişki vardır. Koenzim kısmı daha çok kimyasal bağa yakın olarak işlev gösterir, örneğin ester bağlarını parçalar. Öyle anlaşıyor ki enzim apoenzim kısmı bir ya da birkaç yerinden aktif bölgelerden substrat molekülüne yapışıyor ya da bağlanıyor (yani bir enzim-substrat kompleksi oluşturuyor) ve bu arada koenzim kısmı substrat üzerindeki bağlara geçerek gerçek anlamda birleşmeye veya bağlamaya giderek onu parçalıyor.

Enzimlerin kimyasal yapıları, özellikle üçüncül yapıları tam olarak bilinmediğinden (ilk yapısı açıklanan enzim ribonukleaz, 124 amino asitten meydana gelmiştir) çalışma mekanizmaları daha hala tam anlamıyla açıklığa kavuşturulmamıştır.

1.4.1.1. Enzimlerin çalışmasına etki eden faktörler

1.4.1.1.1. Çabuk denge durumu

Michaelis-Menten'in kinetik denklemine göre, reaksiyonda önce hızla bir enzim-substrat kompleksi (ES) oluşur, sonra bu ara ürün yavaş yavaş ürüne dönüşür ve enzim ayrılır.



$$K_S = \frac{[E] \cdot [S]}{[ES]}$$

K_s, ES kompleksinin disosiasyon olup buna “**Michaelis kompleksi**” denir.

Genellikle enzim reaksiyonlarında [E]<[S] dır. O zaman da V, [E] ile orantılıdır. Reaksiyonun hızı, “**katalitik hız sabiti**” (k_{cat}) büyüklüğüne ve [ES] ye bağlıdır.

$$V = k_{cat} [ES]$$

Total enzim konsantrasyonu [E]_t, serbest [E] ve [ES] ile ilişkilidir.

$$[E]_t = [E] + [ES]$$

$[E] = [E]_t - [ES]$ Bu değer K_s eşitliğinde yerine konulursa:

$$[ES] = \frac{[E]_t \cdot [S]}{K_s + [S]} \text{ Bu değeri de } V \text{ eşitliğinde yerine koyarsak:}$$

$$V = \frac{K_{cat} [E]_t [S]}{K_s + [S]} \text{ elde edilir.}$$

1.4.1.1.2. K_m değerinin yararları

— K_m değeri, bir enzimin karakteristiğidir. Birka enzim birden aynı K_m değerine sahip olabilir.

— Enzimin substrata affinitesi hakkında bilgi verir. K_m dūřuk ise affinite yūksektir. ūnkū, enzim dūřuk $[S]$ da maksimuma hızla doyar.

— K_m deęeri dūřuk olan enzimlerin metabolizmadaki ōnemleri būyūktūr. Dūřuk deęer denilince 10^{-8} - 10^{-6} M. anlařılır. Yūksekk K_m deęerleri ise 10^{-2} - 10^{-1} M. dūzeyindedir.

— Enzim aktivitesinin IU ile ifade edilmesi, ōlūm řartlarının standart řartlar (opt. pH ve 25 °C) olduęunu gōsterir. ūnkū ōlūmler, Michaelis-Menten eęrisinin farklı kısımlarında yapılmıřsa farklı deęerler elde edilir.

— Enzimi, bir inhibitōr etkiliyorsa bu etki ve şekli hakkında bilgi verir.

1.4.1.1.3. Sıcaklık

Sıcaklık 10 °C yūkseklilięinde tepkime hızı iki misli artar; yani tepkime hızının eksilmesi, sıcaklıkla doęru orantılıdır. Fakat belirli bir noktadan itibaren dūřmeye bařlar ve tamamen durur. En iyi alıřabileceęi sıcaklıęı optimum sıcaklık denir. Fakat bu sıcaklıęın devamı ya da sıcaklıęın biraz daha yūkselmesi enzimlerin etkinlięini sonsuz olarak ortadan kaldırır. Enzimlerin etkisiz hale gemeleri ile proteinlerin koagüle olması arasında būyūkk bir iliřkinin olması, onların būyūkk bir kısmının proteinlerden yapıldıęını kanıtlar. Doęal olarak enzimler, proteinlerin bir kısmı gibi bütūncūl yapıya sahiptir veya en azından molekūllerinin bir kısmı bu yapıdadır. Dūřukk sıcaklıklar enzimim etkinlięini azaltır. 0°C’de enzim ya hi ya da pek az iřlev gōsterir. Fakat soęuęun enzimin yapısını bozduęu gōrūlmemiřtir sıcaklık eski hale

döndüğünde etkinlik yine başlar. Daha yüksek sıcaklıklarda (çocuklarda 42, yetişkinlerde 45 °C) enzimler etkisizleşirler çok defa koagüle olurlar.

1.4.1.1.4. pH

Enzimler pH değişimine karşı çok duyarlıdır. Genellikle çok fazla asidik ve alkali ortamda etkisizdirler. Bu pH derecesine “Optimum” pH’ denir. örneğin proteinin parçalayan pepsin, midenin iki pH’lık asidik ortamında max çalışır: Buna zıt olarak pankreastan salgılanan veya yine protein sindiriminde rol alan tripsin, ancak 8.5 pH da optimum olarak çalışabilir. Belki de bu elektrik yüklenmesi enzim-substrat arasındaki çekiciliği arttırmaktadır. Kuvvetli asitler ve bazlar enzimleri koagüle ederler.

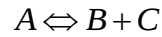
1.4.1.1.5. Enzim / Substrat derişimi

Reaksiyon hızı, [S] ile doğru orantılıdır. Bu artış, bir noktaya kadar birlikte ve aynı oranda olur. Fakat [S] artmaya devam ettikçe, reaksiyon hızı sonuna kadar artmaz ve mutlak bir maksimuma ulaşır. Bu noktadan itibaren [S] artışı, artık hızı etkilemez ve hız sabit devam eder. Çünkü bu noktada enzim substratla tam doymun hale gelmiştir. (Bayşu ve Çamaş, 1995).

1.4.1.1.6. Reaksiyon ürünlerinin enzim aktivitesi üzerine etkisi

Zamanla ürün artışı nediniyle, reaksiyon hızı azalır. Çünkü reaksiyon reverzibldir.

enzim



1.4.1.1.7. Zamanın enzim aktivitesi üzerine etkisi

Enzim reaksiyonunun hızı, zamanla azalır. Çünkü, reaksiyon ürünleri, zamanla kendi aralarında birleşerek ters yönde bir reaksiyon getirir. Keza, enzim zamanla denature olur ve substrat azalır veya tükenir. Bunun için enzim ölçümleri, genellikle substratın yaklaşık %10’unun kullanıldığı, reaksiyonun başlangıç zamanına rastlanılır.

1.4.1.1.8. Hormonlar ve diğer biyokimyasal faktörlerin enzim aktivitesi üzerine etkisi

GIDH enziminin yapısındaki 4 alt ünite, disosiyasyon olarak zamanla bu enzimin aktivitesini yok eder. Bu etkiye sebep, östrojenik, androjenik ve steroid bazı gebelik hormonlarıdır. NAD, enzimi steroidlerin etkisine daha duyarlı hale getirir. Örnekler çoğaltılabilir.

1.4.2. Enzim immobilizasyon yöntemleri

Kelime olarak immobilizasyon hareketi sınırlandırma demektir.

Kalın taşıyıcı: Enzim immobilizasyonunda doğal ve sentetik birçok organik ve inorganik materyal kullanılmaktadır. Bir taşıyıcıda hidrofilik karakter, suda çözünmeme, gözenekli (poröz) yapı, mekanik stabilite ve uygun partikül formu, kimyasal ve termal stabilite, mikroorganizmalara karşı dirençlilik, ucuzluk, zehirsizlik, dejenere olabilme gibi özellikler aranır.

1.4.3. Enzim immobilizasyonunda kullanılan taşıyıcılar şunlardır:

Anorganik: Kil, cam, silikajel, bentonit, hidroksiapatit, titandioksit, zirkonyumdioksit, nikeloksit, pomza taşı, aktif karbon, metaller, metal oksitler.

Doğal polimerler: Selüloz, nişasta, dextran, agur ve agaroz, karagenan, kallogen, kitin ve kitozan, jelatin ve albumin ve ipek.

Sentetik polimerler: Polisten türevleri, poliakrilamid, naylon, vinil ve alil polimerler, iyon değiştirici reçineler, maleik anhidrit polimerleri.

1.4.4. Bağlama yöntemleri

1.4.4.1. Taşıyıcıya bağlama

Enzim immobilizasyonunda doğal ve sentetik birçok organik materyal kullanılmaktadır. Taşıyıcı membran, suda çözünmeyen katı veya polimer olabilir.

Enzim immobilizasyonunda yaygın olarak kullanılan taşıyıcıları kil, cam, silikajel, bentonit, titandioksit, pomza taşı, aktif karbon, metaller, metal oksitler, selüloz nişasta, kollagen, kitin, jelatin, albumin, ipek, iyon değiştirici reçineler ve metarilat olarak belirtebiliriz.

1.4.4.2. Kovalent bağlama

Enzimlerin reaktif taşıyıcılara kovalent bağlanması genelde sulu ortamda gerçekleşir. Burada dikkat edilecek en önemli nokta, bağlanmanın enzim zincirindeki amino asitlerin taşıdığı fonksiyonel gruplar üzerinde gerçekleşir. Bu tür taşıyıcıların seçiminde enzim-taşıyıcı bağının aktivite için zorunlu gruplar üzerinden olmaması yanında taşıyıcının enzim tarafından parçalanmaması, mikroorganizmalara olanak vermemesi, pH ve çözümlere dayanıklı olması gibi özellikler taşımasına dikkat edilir (Telefoncu,1986).

1.4.5. Tutuklama yöntemleri

Tutuklama, enzim molekülünü belirli bir mekânda durmada zorlamaktır. Enzim bulunduğu çevreden dışarı çıkamaz. Bu işlem polimer matriks içersindeki kafeslerde gerçekleştirilebileceği gibi yan geçirgen membranlar içinde mikrokapsüller ve miseller ile gerçekleştirilebilir.

A. Polimer matrikste tutuklama: Polimerizasyon ve çapraz bağlamanın oluşturduğu ortamda enzimde bulunduğu takdirde enzim, çapraz bağlama sonucu oluşana dek odacıklarda tutuklanmaktadır. Molekül ağırlığı 15.000'den fazla olan enzimlerin bu yöntemle immobilizasyonlar oldukça kolaydır. Bu tür immobilizasyon işleminde kullanılan taşıyıcılar hidrofilik temele dayalı poliakrilamit jeli ve jel oluşturan polisakaritlerdir (Kawashima,1987).

B. Mikro kapsülleme: Bu yöntem enzim melekülllerini yarı geçirgen bir membran içinde tutuklanmasından ibarettir (Chang,1976).

C. Faz ayrılması yöntemi: Suda ve tamponda hazırlanmış enzim çözeltisi uygun bir organik çözümlerde iyice karıştırılarak emülsiyon haline getirilir.

D. Yüzeyler arası polimerizasyon: Bu yöntem, emülsiyon halindeki çözeltide enzim mikro damlacıklarının çevresinde suda çözülmeyen kopolimerlerin sentez edilmesine dayanmaktadır. Böylece çözelti içerisinde yalnız enzim çözeltisi mikro damlacıklarının çevresinde oluşmasını sağlamak önemlidir.

Mikro kapsüllerin büyüklüğü emülsiyon hazırlanması sırasındaki karıştırma hızına, organik sıvının viskozitesine ve yüzey yapıcı maddelerin konsantrasyonlarına

bağımlıdır.

E. Sıvı kurutma yöntemi: Bu yöntem, enzimin suda çözölen organik bir çözögende çözölmüş polimerde dispersiyonu, sulu çözeltide dispersiyonu ve kurutmaya dayanır. Daha sonra bu emilsiyon jelatin, polivinilalkol ve yüzey aktif maddeler gibi kolloid koruyucu maddeler içeren ortamda yeniden emilsiyon haline getirilir. Son aşamada ise sürekli karıştırılarak vakum altında organik çözögen uzaklaştırılır.

1.5. Adsorpsiyon

Atom, iyon ya da moleköllerin bir katı yüzeyine tutunmasına adsorpsiyon, tutunan taneciklerin yüzeyinden ayrılmasına desorpsiyon, katıya adsorplayıcı, katı yüzeyinde tutunan maddeye ise adsorplanan adı verilir.

Sabit sıcaklık ve sabit basınçda kendiliğinden olduğundan dolayı adsorpsiyon sırasındaki serbest entalpi değışimi yani adsorpsiyon serbest entalpisi, ΔG daima eksi işaretlidir. Diğer taraftan, gaz ya da sıvı ortamında daha düzensiz olan tanecikler katı yüzeyinde tutunarak daha düzenli hale geldiğinden dolayı adsorpsiyon sırasındaki entropi değışimi yani adsorpsiyon entropisi ΔS de daima eksi işaretlidir. Adsorpsiyon serbest entalpisi ve adsorpsiyon entropsinin daima eksi işaretli olması

$$\Delta H = \Delta G + T \Delta S$$

eşitliği uyarınca adsorpsiyon sırasındaki entalpi değışiminin yani adsorpsiyon entalpisi ΔH 'nin daima eksi işaretli olmasını gerektirmektedir. Adsorpsiyon ısısı da denilen adsorpsiyon entalpisinin eksi işaretli olması adsorpsiyon olayının daima ısı salan yani ekzotermik olduğunu göstermektedir. Adsorpsiyon ısısı katı yüzeyindeki doymamış kuvvetlerle adsorplanan tanecikler arasındaki etkileşmelerden doğmaktadır.

Adsorpsiyon ısısı -20 kJmol^{-1} civarında olan etkileşmeler sonundaki tutunmalara fiziksel adsorpsiyon, -200 kJmol^{-1} civarında olan etkileşmeler sonundaki tutunmalara ise kimsayal adsorpsiyon denir. Fiziksel adsorpsiyon sırasında atom, molekül ya da iyon şeklinde olabilen adsorplanan tanecikler ile katı yüzeyi arasında uzun mesafeli fakat zayıf olan van der Waals çekim kuvvetleri etkindir. Kimyasal adsorpsiyon sırasında ise tanecikler ile yüzey arasında bir kimyasal bağ ve genellikle de kovalent bağ oluşmaktadır. Tüm fiziksel adsorpsiyonlar ve çoğu kimyasal

adsorpsiyonlar ekzotermik olduğu halde hidrojen gazının cam üzerinde tutunması gibi bazı kimyasal adsorpsiyonlar endotermik olabilmektedir. Bu duruma, hidrojenin cam üzerinde atomlar halinde tutunması ve $H_2(g) \rightarrow 2H(cam)$ ayrışması için tepkime entropisinin büyük ölçüde artı işaretli olması yol açmaktadır. Kimyasal adsorpsiyon yalnızca bir tabakalı yani monomoleküler olabildiği halde, fiziksel adsorpsiyon bir tabakalı ya da çok tabakalı yani multimoleküler olabilir. Diğer taraftan çoğu fiziksel adsorpsiyonlar tersinir olarak yürütülebildiği halde kimyasal adsorpsiyon tersinmezdir.

Gözeneklilik: Bir gr katı içindeki boşlukları toplam hacminin adsorplananın görünür hacmine oranına denir. Gözenek hacmi ve gözeneklilik değişik yöntemlerle belirlenebilmektedir (Grangusit ve Amero, 1948).

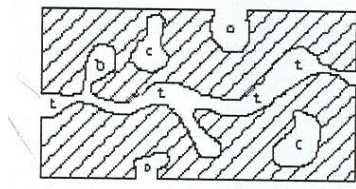
1.5.1. Adsorplayıcılarda gözeneklilik

Adsorplayıcılar içindeki boşluklara gözenek denir. Moleküler elek adı verilen sentetik zeolitlerde gözenek büyüklükleri birbirine çok yakındır. Fakat çeşitli adsorplayıcılarda gözenekler farklı boyutlara sahiptirler. Sınırlar kesin olmamakla beraber boyutlarına göre gözenekler üç e ayrılır.

1) Mikro (çok küçük gözenek): Bunların yarıçapları 15 Å^0 dan daha küçüktür. Bu tür gözenekleri içeren adsorplayıcılarda adsorpsiyon bir tabaka oluşumu şeklinde değil bir hacim doldurma şeklindedir

2) Yarı mikro (küçük) gözenekler: Bu gözeneklerin ayrı çapı $15-150 \text{ Å}^0$ arasındadır. Bu adsorplayıcılarda gözeneklerin içyüzeyleri önce tek tabaka sonra çok tabakalı olarak kaplanır.

3) Makro (büyük) gözenekler: Yarı çapları 150 Å^0 dan büyük olan gözeneklerdir. Yalnız bu tür gözenekleri içeren adsorplayıcıların yüzey alanları çok küçüktür.

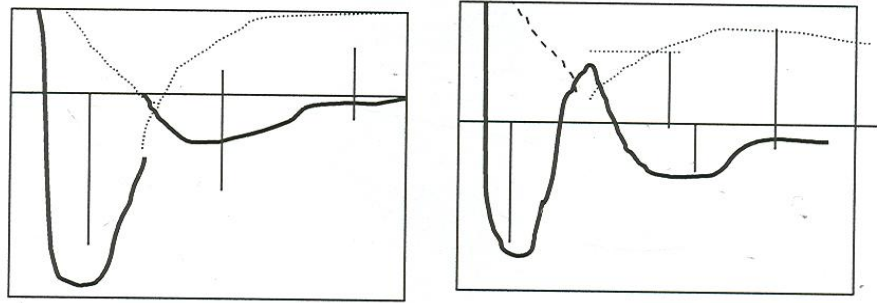


- o: Açık Gözenekler
c: Kapalı Gözenekler
t: Nakliye Gözenekleri
b: Çıkmaz Gözenekler

Şekil 1.9. Katılarda gözeneklilik

Kimyasal adsorpsiyonda ise; katı ile adsorplananın molekülleri arasında kimyasal reaksiyondaki kuvvetler etkindir. Aktivasyon enerjisi gerektirdiğinden dolayı kimyasal adsorpsiyon ancak yüksek sıcaklıklarda olabilir. Bir tabakalı olan bu adsorpsiyonun ısısı, kimyasal reaksiyon ısısına yakın ve genellikle 10-150 Kcal/mol arasındadır (Sarıkaya, 2000).

Bir molekülün potansiyel enerjisinin adsorplayıcı yüzeyine olan uzaklığı ile değişimi şekil 1.a ve b de şematik olarak çizilmiştir. Fiziksel olarak adsorplanmış moleküller yüzeye daha da yakınlaştığında adsorpsiyon potansiyel enerjisi büyük ölçüde düşmektedir. Şekil 1.a aktivasyon enerjisinin gerekmediği bir kimyasal adsorpsiyon şekil 1.b ise E kadar bir aktivasyon enerjisinin gerekli olduğu kimyasal reaksiyon için verilmiştir (Sarıkaya, 2000).



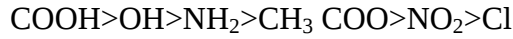
a) Aktiflenmemiş Kimyasal Adsorpsiyon. b) Aktiflenmiş Kimyasal Adsorpsiyon

Şekil 1.10. Fiziksel ve kimyasal adsorpsiyonların potansiyel enerjileri

Fiziksel olarak adsorplanmış moleküller yüzeye daha da yakınlaştığında kimyasal adsorpsiyon olduğundan potansiyel enerji büyük ölçüde düşmektedir.

Adsorpsiyon çeşitli faktörlerden etkilenir. Adsorbanın kimyasal yapısı ve

aktivite derecesi çok önemlidir. Adsorpsiyon kromatografisi hareketli fazda çözünmüş halde bulunan madde ile adsorbanın yüzeyinde tutulmuş olan maddelerin molekülleri arasında bir dengenin sağlanması esasına göre işler. Maddelerin polariteleri hem hareketli fazdaki sürüklenme hızını hem de adsorbanın yüzeyinde tutunma derecesini tayin eder. Genel kural olarak polar maddeler polar çözücülerde, apolar maddeler ise apolar çözücülerde iyi sürüklenir. Bu molekülün polaritesi yapısında bulunan fonksiyonel grupların cinsi, sayısı ve pozisyonuna bağlıdır. Cl, NH₂ ve OH grupları poleriteyi artırır, CH₂ ise azaltır. Adsorptivite genellikle şu sırayı takip eder:



İdeal bir adsorban şöyle olmalıdır:

1. Hareketli fazda çözünmemelidir.
2. Sistemdeki maddelerle reaksiyona girmemelidir, yani inert olmalıdır.
3. Partikülleri (parçacıkları) eşit büyüklükte olmalıdır.
4. Ayrılması istenen maddeler ve hareketli faza bağlı olarak aktivitesi istenen düzeyde olmalıdır. Eğer adsorban çok aktif ise (yani çok az su ihtiva ediyorsa veya kuvvetli adsorbansa) maddenin sürüklenmesi çok yavaş olur, yani madde adsorban yüzeyine sıkıca tutunur. Az aktif adsorbanlarda ise tutunma hemen hiç olmaz.

5. Beyaz renkli olmalıdır.

En çok kullanılan adsorbanlar şunlardır:

Zayıf olanlar: Şeker, nişasta, selüloz, talk, kieselguhr ve selit.

Orta kuvvette olanlar: Kalsiyum karbonat, kalsiyum fosfat, magnezyum fosfat, magnezyum hidroksit, kalsiyum hidroksit.

Kuvvetli olanlar: Magnezyum silikat, alumina (Al₂O₃), silikajel (SiO₂.nH₂O), aktif kömür, aktif magnezyum oksit, kaolin, bentonit, alüminyum silikat.

Alumina içinde taşıdığı su oranına göre 5 dereceye ayrılır:

1. derecede aktif (% 0) ,5. derecede ise en az aktif (% 15 su) olanıdır. Bir maddenin sürüklenme oranı belli bir adsorban için, kullanılan çözücüye (solvan) bağlı olacağından çözücüler elüsyon kuvvetlerine göre elüotropik seri adı altında

sınıflandırılırlar: Petrol eteri, hekzan, karbontetraklorür, toluen, benzen, diklorometan, kloroform, eter, etilasetat, aseton, izo- propanol, etanol, metanol, su (apolardan polara doğru) (Gregg ve Sing, 1982).

Adsorbanlar çok değişik türde olmakla birlikte iyi bir adsorpsiyon sağlayabilmek için genellikle adsorbanın bir ön işleminden geçirilmesi gerekmektedir. Enzim immobilizasyonun da en çok kullanılan adsorbanlar; aktif karbon, gözenekli cam, diatome toprağı, CaCO_3 , kül, kolodyum, silika jel, bentonit, hidroksiapatit, nişasta, gluten ve kalsiyum fosfattır.

Bir enzimin suda çözünmeyen taşıyıcıda adsorpsiyonu pH, çözgen, iyon şiddeti, enzim - adsorban oranı ve sıcaklık gibi faktörlere bağlıdır. Bu etmenlerin araştırılması, adsorbanın ve aktivitenin geri kazanılması için optimal koşulların saptanması çok önemlidir. Adsorpsiyon işleminin mekanizması genellikle çok karışık olup birçok olasılıktan hangisinin gerçekleşeceğini önceden saptanması, çok güçtür.

Prensip olarak bir proteinin aktif adsorpsiyonu tersinir bir işlem olmalıdır. Ancak bazı durumlarda (Örneğin; kaolinitte adsorplanmış üreaz) tersinir olmayan bir adsorpsiyon söz konusu olabilmektedir. Eğer aktivite sabit kalıyor ve immobilize enzim sürekli işlemlerde kullanılabilirse bu tür adsorpsiyon enzim immobilizasyonu için ideal bir durumdur. Desorpsiyon, reaksiyon ürünlerinin kirlenmesine ve aktivitede sürekli bir değişmeye neden olur. Tersinir adsorpsiyonlar enzim immobilizasyonu için pek uygun değildir. Daha öncede belirttiğimiz gibi adsorbanların çoğu enzimlerin saflaştırılmasında kullanılmaktadır. Bu saflaştırma işlemi sırasında immobilizasyon da gerçekleşebilir.

Bazı adsorbanlar bir enzimin farklı biçimlerini, aktif veya inaktif biçimlerinden birini adsorbe ederken diğerini desorbe etmektedir. Eğer enzimin aktif şekli adsorbe edilirse, bazı durumlarda immobilize enzimin bağıl aktivitesi % 100 den büyük değerler almakta, tersi durumda ise bağıl aktivite sıfır olmakta yani immobilizasyon ürünü hiç aktivite göstermemektedir.

Son yıllarda hidrofobik assosiyasyondan da enzim immobilizasyonun da yararlanılmaya başlanmıştır (Wong, 1993). Ligand olarak tane içeren adsorbanların

birçok enzimin immobilizasyonunda kullanılacağı ve bu immobilizasyonda hidrofobik kuvvetlerin önemli bir rolü olduğu öne sürülmektedir.

Adsorpsiyon yönteminin yararları; enzim immobilizasyon işleminin basit oluşu, değişik biçim ve yükteki taşıyıcıları seçme olanağı vermesi ve bir yandan immobilizasyon gerçekleştirilirken diğer yandan enzim saflaştırılmasına olanak sağlamasıdır. İşlem çok kolay olduğu gibi çok yumuşak koşullarda gerçekleşmekte ve önemli ölçüde enzim inaktivasyonuna da neden olmaktadır.

Yöntemin sakıncalarını ise şu şekilde sıralayabiliriz: Her ne kadar immobilizasyon işlemi kolaysa da optimal koşulların saptanması çok güçtür. Eğer enzim ile taşıyıcı arasında kuvvetli bir bağlanma yoksa bu durumda desorpsiyon sonucu enzim serbest halde reaksiyon ortamına geçmekte ve ürünlerin kirlenmesine neden olmaktadır. Enzim desorpsiyonu özellikle substrat konsantrasyonunun yüksek olduğu durumlarda hiç istenmeyen bir durumdur.

1.5.2. Adsorplanan madde

Adsorplayıcının bir gramında adsorplanan madde miktarı; kütle, mol ya da adsorplayıcının gaz veya buhar olması durumunda normal koşullara indirgenmiş hacim olarak verilmektedir. Adsorplanan madde miktarı için genellikle X/m oranı kullanılmaktadır. Buradaki m adsorplayıcının kütlesini, X ise bu kütlede adsorplanan maddenin kütlesini, molar miktarını ya da normal koşullara indirgenmiş gaz hacmini göstermektedir.

Adsorplayıcının kütlesindeki artma ya da adsorplayıcının kütlesindeki azalma ölçülerek adsorplanan madde miktarına geçilebilir. Çözeltilerden adsorpsiyon sırasında çözeltinin derişimindeki düşmeden, gaz adsorpsiyonu sırasında ise sabit sıcaklık ve sabit hacimdeki gazın basıncındaki azalmadan ya da sabit sıcaklık ve sabit basınçtaki gazın hacmindeki azalmadan adsorplanan madde miktarına kolaylıkla geçilebilmektedir. Adsorplanan madde yığın halindeki durumuna göre çok farklı özelliklere sahip olmaktadır.

Adsorplayıcı ve adsorplanan yanında sıcaklıkla sabit tutulduğunda gaz fazından adsorpsiyon yalnızca basınca, çözeltiden adsorpsiyon ise yalnızca

derişime bağlıdır. Bu durumda, adsorplanan madde miktarını basınçla ya da derişimle değişimini veren çizgilere adsorpsiyon izotermi denir.

Adsorplayıcı ve adsorplanan yanında hacim de sabit tutulduğunda adsorplanan madde miktarı yalnızca sıcaklığa bağlıdır. Bu durumda, adsorplanan madde miktarının sıcaklıkla değişimini veren çizgilere adsorpsiyon izokoru denir. Adsorplayıcı ve adsorplanan yanında basınç sabit tutulduğunda adsorplanan madde miktarı yalnızca sıcaklığa bağlı olmaktadır. Bu durumda, adsorplanan madde miktarının sıcaklıkla değişimini veren çizgilere adsorpsiyon izobarı denir.

1.5.3. Adsorplayıcı katılar

Metaller ve plastikler de dâhil olmaz üzere bir kristal yapıya sahip olsun ya da olmasın tüm katılar az veya çok adsorplama gücüne sahiptir. Adsorplama gücü yüksek olan bazı doğal katıları kömürler, killer, zeolitler ve çeşitli metal filizleri şeklinde; yapay katıları ise aktif kömürler, moleküler, moleküler elekler (yapay zeolitler), silikajeller, metal oksitleri, katalizörler ve bazı özel seramikler şeklinde sıralayabiliriz.

Adroplama gücü yüksek olan katılar deniz süngerini andıran bir gözenekli yapıya sahiptir. Katıların içinde ve görünen yüzeyinde bulunan boşluk, oyuk, kanal ve çatlaklara genel olarak **gözenek** adı verilir. Doğadaki gözeneklerin boyutu bir mağara ile bir atom büyüklüğü arasında değişmektedir. Genişliği 2 nm'den küçük olanlara **mikrogözenek**, 2 nm ile 50 nm arasında olanlara **mezogözenek**, 50 nm'den büyük olanlara ise **makrogözenek** adı verilmiştir. Katının bir gramında bulunan gözeneklerin toplam hacmine **öztöl gözenek hacmi**, bu gözeneklerin sahip olduğu duvarların toplam yüzeyine ise **öztöl yüzey alanı** denir. Gözenekler küçüldükçe duvar sayısı artacağından öztöl yüzey alanı da artacaktır. Bir başka deyişle, öztöl yüzey alanının büyüklüğü öztöl gözenek hacminin büyüklüğünden çok gözeneklerin büyüklüğüne bağlıdır. Gözeneklerin büyüklük dağılımına adsorplayıcının **gözenek boyut dağılımı** denir. Bir katının adsorplama gücü bu katının doğası yanında öztöl yüzey alanı, öztöl gözenek hacmi ve gözenek boyut dağılımına bağlı olarak değişmektedir.

1.6. Adsorpsiyon denklemleri

Denel yoldan belirlenen adsorpsiyon izotermelerini ve diğer adsorpsiyon verilerini değerlendirebilmek için çok sayıda denklem türetilmiştir. Adsorplanan ve adsorplayıcı maddelerin özelliklerine göre bir adsorpsiyon için bu eşitliklerden biri ya da bir kaçı daha uygun olmaktadır.

a. Langmuir denklemi

Amerikalı bilim adamı Irving Langmuir (1181-1957) tarafından 1916 yılında kimyasal adsorpsiyon için çok basit bir izoterm denklemi türetilmiştir. Tek tabakalı fiziksel adsorpsiyon ve çözeltiden adsorpsiyon içinde geçerli olan bu eşitliğe Langmuir denklemi denir (Russel ve Farmer, 1964).

Langmuir adsorpsiyon denklemi şu şekilde açıklanır (Langmuir, 1918). Adsorplayıcının örtülü yüzey kesri θ , örtülmemiş yüzey kesri $(1-\theta)$ ve toplam yüzey A ise;

$$\text{Adsorpsiyon hızı} = k_1.(1-\theta).A.P$$

$$\text{Desorpsiyon hızı} = k_2. \theta .A$$

şeklinde dir. Adsorpsiyon dengesi kurulduğunda bu iki hızın birbirine eşitliğinden

$$k_1.(1-\theta). A. P = k_2. \theta .A$$

ve buradan örtülü yüzey kesri

$$\theta = k_1.P/k_2.+k_1.P$$

bulunur. Eğer $k_1/k_2 = k$ şeklinde alırsak

$$\theta = k. P/1+k.P$$

bağlantısı elde edilir. Adsorplayıcı yüzeyin kaplanmış kesri θ ve birim kütlede katı yüzeyinin monomoleküler olarak örtülmesi için gerekli gazın hacmi V_m ise birim kütlede adsorplanan gazın toplam hacmi

$$V = V_m \theta = V_m.k.P /1+k.P \quad (a)$$

şeklinde yazılır. Buna Langmuir adsorpsiyon denklemi denir. Langmuir adsorpsiyon

izotermi görüldüğü gibi $\theta=1$ olduğu zaman adsorplanan gaz hacmi $V=V_m$. (a) denkleminde bunun sağlanabilmesi ancak yüksek basınçlarda söz konusudur. Yüksek basınçlarda $k.P$ 0 yanında 1 sayısı ihmal edilirse $V=V_m$ olur ki bu sabittir.

Çok düşük basınçlarda 1 sayısı yanında $k.P$ değeri ihmal edilirse (a) denklemi $V=V_m.k.P$

şekline dönüşür. Burada V_m , k sabittir. (a) denkleminin her iki tarafı P 'ye bölünürse Langmuir denklemi

$$V/P = V_m k / (1 + k.P) \text{ veya}$$

$$P/V = 1/V_m k + 1/V_m \cdot P \quad \text{olur.}$$

P 'ye karşı P/V değerleri grafiğe geçirilirse elde edilen doğrunun eğiminden V_{max} daki kaymadan k bulunur. V_m sıcaklığa bağlı değildir. Fakat k sıcaklığa bağlıdır. Çünkü $k = g \exp(\Delta H/RT)$ 'dir. Burada; g , entropi faktörü; ΔH , adsorpsiyon entalpisi; R , ideal gaz sabiti ve T , mutlak sıcaklıktır.

Langmuir denklemi basit kabuller üzerine kurulmuştur. Aslında katı yüzeyleri tek düze olmayan bir yapıya sahiptirler. Adsorpsiyonda önce en aktif merkezlerde adsorplama olur ve bu yüzden ΔH büyüktür. Yüzey örtüldükçe daha az aktif merkezlerde adsorplama başlar ve adsorpsiyon daha az ekzotermik olur. Buna karşın çok sayıda deneysel adsorpsiyon izotermi Langmuir denklemine uymaktadır.

b. Brunauer-Emmet-Teller (BET) denklemi:

Çok tabakalı fiziksel adsorpsiyon için türetilen bu denklem

$$\frac{p/p_0}{n(1 - p/p_0)} = \frac{1}{n_m c} + \frac{c-1}{n_m c} \frac{p}{p_0}$$

şeklinde yazılabilir. Bağıl denge basıncı p/p_0 yerine bağıl denge derişimi c/c_0 alınarak çözümden adsorpsiyon için de kullanılabilir. Deney verileri bu denkleme göre grafiğe geçirildiğinde $0,05 < p/p_0 < 0,35$ aralığında bir doğru bulunmaktadır. Bu doğrunun eğim ve kayması sırasıyla $(c-1)/n_m c$ ve $1/n_m c$ niceliklerine eşitleneorek bulunan iki denklemin ortak çözümünden V_m tek tabaka kapasitesi ile c sabiti bulunur. Tek tabaka

kapasitesi denklemde yerine konularak özgül yüzey alanına geçilir. Adsorplama gücünün bir ölçüsü olan c sabiti

$$c \approx \exp[(q_1 - q_L) / RT]$$

olarak verilmektedir. Buradaki q_1 birinci tabakanın adsorpsiyon ısısını, q_L adsorplanan maddenin yoğunlaşma ısısını, $q_1 - q_L = q$ net adsorpsiyon ısısını göstermektedir.

Yoğunlaşma ısısı belli olduğundan c sabitinden son bağıntı yardımıyla birinci tabakanın q_1 adsorpsiyon ısısı bulunur. Yüzeyin adsorplama gücü yüksek olduğunda q_1 çok büyük olacak ve q_L sabit olduğuna göre son bağıntı uyarınca c sabiti de çok yüksek olacaktır. Bu durumda BET denklemine göre çizilen doğru merkezden geçer ve bu doğrunun eğimi $1/n_m$ olur.

c. Polanyi denklemi:

Polanyi; adsorplanan fazın sıvı özelliğinde olduğunu ve bu sıvının buhar basıncının aynı sıcaklıktaki yoğun sıvının buhar basıncına eşit olduğunu ileri sürmüştür (Sarıkaya, 2000). Basıncı p denge basıncına eşit olan buhar fazından basıncı p^0 olan adsorplanmış faza bir mol maddenin tersinir olarak aktarımı sırasındaki serbest entalpi değişiminde eşit olan maksimum iş Polanyi tarafından adsorpsiyon potansiyeli olarak tanımlanmış ve

$$\varepsilon \equiv w^{tr} \Delta G = RT \ln(P^0 / p)$$

şeklinde gösterilmiştir. Buhar yerine gazların adsorpsiyonu söz konusu olduğundan P^0 yerine $P k_r^2$, yani kritik basınç ile indirgenmiş sıcaklığın karesinin çarpımı alınmaktadır.

d. Dubbinin-Radushkevich-Kagcier (DRK) denklemi:

Dubbinin ve Radushkevich Polanyi karakteristik eğrisi mikro gözenek hacimlerinin adsorpsiyon potansiyeline göre değişimini veren bir Gauss dağılımı olduğu ileri sürmüşler ve bu eğrinin denklemini

$$V = V_m \cdot \exp \left((-K \varepsilon^2 / \beta^2) \right) = V_{mi} \exp \left[(-k / \beta^2) R^2 T^2 / n^2 (P^0 / p) \right]$$

şeklinde yazmışlardır.

e. Diğer bazı adsorpsiyon denklemleri

Freundlich denklemi: Langmuir denkleminin türetilmesinde düşünülen ideal olarak temiz ve homojen olayın katı yüzeyindeki adsorpsiyonlar için Alman fizikokimyacı Herbert Max Finlay Freundlich (1880-1941) tarafından

$$n = ac^b$$

eşitliği verilmiştir. Deneysel çalışmalara dayanılarak türetilen Freundlich denkleminin logaritması grafiğe geçirilerek elde edilen doğrunun kayma ve eğiminden sırasıyla a ve b sabitleri bulunur. Çözeltilerden adsorpsiyon için türetilen bu denklem derişim yerine basınç alınarak gaz ya da buhar fazından adsorpsiyon için de kullanılabilir.

İyonik katılardaki adsorpsiyonlarda gözleendiği gibi, fiziksel adsorpsiyon nicel olarak tamamlanan iyon değişimi gibi bir kimyasal olaydan sonra başlar. Çözeltinin derişimini sıfırlayarak yürüyen ve nicel olarak tamamlanan kimyasal adsorpsiyonda tutulan madde miktarını n_k , çözeltinin derişimine paralel olarak artan fiziksel adsorpsiyonda tutunan madde miktarını ise n_f ile gösterdiğimizizde adsorpsiyonun herhangi bir anında tutunan toplam madde miktarı $n = n_k + n_f$ olacaktır. Bu durumda Freundlich denklemi

$$\ln(n - n_k) = \ln a + b \ln c$$

Şeklinde yazılır. Adsorpsiyon izoterminin $c=0$ iken sahip olduğu maksimum yükseklik n_k kimyasal adsorpsiyon, daha sonraki artmalar n_f fiziksel adsorpsiyon olarak alınır. Kimyasal adsorpsiyondan **katyon değiştirme kapasitesi** gibi bazı kimyasal özelliklere, fiziksel adsorpsiyondan ise özgül yüzey alanına geçebilmektedir.

Syrgin-Frumkin denklemi: Rus kimyacılar tarafından a ve f birer sabit olmak üzere

$$\theta = n / n_m = (1 / f) \ln ac$$

şeklinde bir adsorpsiyon denklemi türetilmiştir. Çözeltiden adsorpsiyon için türetilen denklemdaki derişim yerine basınç alınarak gaz fazından adsorpsiyon için de kullanılabilir.

Hill denklemi: Polimetler gibi moleküler yüzeylere sahip maddelerin gaz ya da buhar fazından adsorpsiyonu için türetilen Hill denklemi grafiği bir doğru vermek üzere

$$\frac{\theta}{1-\theta} + \ln \frac{\theta}{1-\theta} - \ln \frac{p}{p_0} = \ln k_1 + k_2 \theta$$

şeklinde yazılmaktadır. Buradaki $\theta = n/n_m$ örtülü yüzey kesrini, p/p_0 bağıl denge basıncını, k_1 adsorplayıcı ve adsorplanana bağlı ve değeri 0,08-0,45 arasında değişen bir sabiti, k_2 ise adsorplayıcıya bağlı ve değeri 1,6 – 2,8 arasında değişen bir sabiti göstermektedir. Bağıl denge basıncı p/p_0 yerine c/c_0 alınarak aynı denklem çözeltiden adsorpsiyon için de kullanılabilir.

Terkim denklemi: Kimyasal adsorpsiyon için türetilen ve Slygin – Frumkin denklemine çok benzeyen Temkin eşitliği

$$\theta = n/n_m = a \ln bp, (0,2 < \theta < 0,8)$$

şeklinde verilmiştir. Buradaki a ve b birer sabiti p ise denge basıncını göstermektedir. Basıncı yerine derişim alınarak aynı denklem özetliden adsorpsiyon için de kullanılabilir.

Fowier denklemi: Fiziksel ve kimyasal adsorpsiyonlar için türetilen bu eşitlik

$$bp = \frac{\theta}{1-\theta} \exp\left(\frac{2\theta w}{kT}\right)$$

şeklinde verilmektedir. Buradaki p denge basıncını, θ örtülü yüzey kesrini, k Boltzmann sabitini, T sıcaklığı, b bir sabiti, w ise adsorplanan madde molekülleri arasındaki etkileşmelere bağlı bir niceliği göstermektedir.

Harkins-Jura (HJ) denklemi: Termodinamik yoldan türetilen bu eşitlik grafiği bir doğru vermek üzere

$$\lg (p/p_0) = B - C/v^2$$

şeklinde yazılabilmektedir. Denklemdaki B ve C sabitleri sırasıyla bu eşitliğe göre çizilen doğrunun kayma ve eğiminden bulunmaktadır. Azot adsorpsiyonu için

$$A/m^2 \text{ g}^{-1} = 4,06 \text{ C}^{1/2}$$

eşitliğinden özgül yüzey alanına geçilebilmektedir.

1.7. Ultraviyole Spektroskopisi

Bir madde, üzerine düşürülen çeşitli dalga boylarından (ultraviyole ışınlarından radyo dalgalarına kadar) ancak bazılarını absorplar. Maddenin bu özelliğinden yararlanılarak yapısı, konsantrasyonu tayin edilebilir. Bunun için madde üzerine dalga boyu 110 nm. den 3000 nm. ye kadar değişen ışınlar düşürülür. Bütün dalga boylarını verecek ve hangi dalga boylarının absorplandığı tespit edecek tek bir cihaz yapmak mümkün olmadığından, belirli dalga boyları arasında çalışan cihazlar geliştirilmiştir. 110-1000 nm dalga boylarındaki ışınlarla çalışan cihazlara ultraviyole (UV) spektroskopisi adı verilir.

Ultraviyole spektroskopisi kalitatif analizde, kantitatif analizde, titrasyonda, molekül ağırlığı tayininde, yük aktarma kompleksi teşekkülünde, asit ve bazlık sabitleri tayininde, kompleks stoksiyometrisinin ve sabitinin bulunması amacıyla kullanılır.

Kantitatif analiz, ışının absorplanması üzerine kurulmuş olan tain metodudur. Kantitatif analiz için taini yapılacak maddeyi saflaştırmak, tainin yapılacağı dalga boyunu seçmek, tainin sıcaklığını ayarlamak, tain için uygun çözücü seçmek ve pH'nı ayarlamak gibi bir takım işlemler yapmak gerekir (Gündüz, 1990).



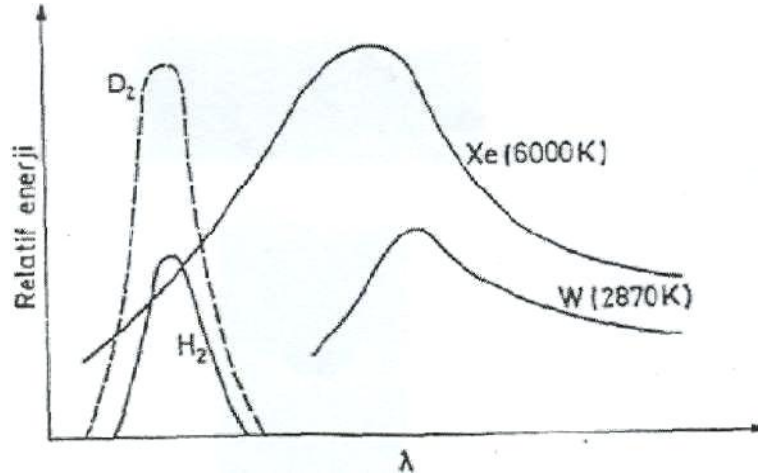
Şekil 1.11. Bir spektrofotometrenin temel bileşenleri.

Maddenin ışığı absorplamasını incelemek için kullanılan düzeneğe absorpsiyon spektrometresi veya absorpsiyon spektrofotometresi adı verilir. Bir spektrofotometrede düzeneği Şekil 1.11. da görüldüğü gibi başlıca, ışık kaynağı, dalga boyu seçicisi, detektörden oluşur. Detektörde elektrik sinyaline çevrilen optik sinyal bir kaydedici veya bir galvanometre ile ölçülür.

Bu ana bileşenlere ek olarak spektrofotometreler de ışığı toplamak, odaklamak, yansıtmak, iki demete bölmek ve örnek üzerine belli bir şiddette göndermek amacıyla mercekler, aynalar, ışık bölücüleri ve giriş ve çıkış aralıkları vardır. Örnek ise kullanılan dalga boyu bölgesinde ışığı geçiren maddeden yapılmış örnek kaplarına konularak ışık yoluna yerleştirilir.

Işık kaynakları

UV ve görünür bölgede D₂, W, H₂ ve Xe gibi sürekli ışık kaynakları kullanılır. Şekil de en yaygın olarak kullanılan bu dört lambanın yaydığı spektrumları görülmektedir.



Şekil 1.12. D₂, W, H₂ ve Xe lambalarının yaydıkları ışımının spektrumları.

Tungsten flaman lambası görünür ve yakın IR bölgede ışık yayar. Elektrik akımı ile ısıtılan tungstenden yayılan bu ışık, siyah cisim ışıması olup, 320 nm ile 3000 nm arasındaki bölgeyi kapsar. 3000 °K de çalışan bir tungsten lambasının yaydığı enerjinin ancak % 15'i görünür bölgededir. Tungsten lambasının içinde bir miktar iyot veya brom buharı bulunursa lambanın ömrü artar ve bu lamba tungsten-halojen lambası olarak adlandırılır. Ultraviyole bölgede en çok kullanılan lambalar, hidrojen veya döteryum elektriksel boşalım lambalarıdır. Düşük basınçta (5 mmHg) H₂ veya D₂ gazı içeren bu lambalarda 40 voltluk doğru akım uygulanarak elektriksel boşalım elde edilir. Bu lambalar, 180 nm ile 380 nm arasında ışık yayar. Daha pahalı ve daha uzun ömürlü olan D₂ lambasının yaydığı ışığın şiddeti H₂ lambasına göre çok daha

fazladır. UV ve görünür bölgenin tümünde (150 nm-700 nm) kullanılabilecek bir başka şiddetli ve sürekli ışık kaynağı, Xe ark lambasıdır. Bundan başka civa buhar lambası da her iki bölgede ışıma yapabilen bir ışık kaynağıdır. Civa buhar lambası, sürekli spektruma ek olarak kesikli hatlar da içerir. Ksenon ve civa lambaları, daha çok luminesans spektroskopisi yönteminde ışık kaynağı olarak kullanılırlar. Kuartz 200-320 nm arasındaki ultraviyole ışığı geçirdiğinden, bu bölgedeki ışıkla çalışabilmek için, lambaların pencereleri, mercekler, örnek kaplarının duvarları ve detektörün giriş penceresi kuartzdan yapılır. 320-700 nm arasındaki bölgede ise, bu kısımların camdan yapılmış olması yeterlidir.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Enzimlerin aktiviteleri günümüzde değişik amaçlarla kullanılmaktadır. Ancak gerek organizmadaki miktarlarının azlığı gerekse söz konusu biyolojik ünitelerden saflaştırmaları son derece zor bir işlem olması nedeniyle çok pahalıdırlar. Bu durum, enzimlerin defalarca kullanılabilirliğini gündeme getirmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalar bu yöndedir. İmmobilize katalaz enziminin, oksitleme, beyazlatma veya sterilizasyon reaktifi olarak hidrojen peroksitin uzaklaştırılmasında, endüstriyel alanlarda veya glikoz biosensor sistemlerinin komponenti olarak analitik alanda birçok faydalı uygulamaları vardır (Ertaş ve ark., 2000; Santoni ve ark., 1997).

Aspergillus niger mikro organizmasından üretilen ve mantarda bulunan epoxide hydrolase enzimi oldukça yüksek aktivite göstermiştir. Enzimin, enzimatik özelliklerinin gerek sıcaklık karşısında verdiği reaksiyon gerek aktivite ve stabilite durumundan ortaya çıkan pH değerleri ve gerekse solvent maddesinin aktivitesine karşı verdiği reaksiyon bakımından serbest enzimle benzer nitelikte olduğu tespit edilmiştir. (Marisseow ve ark., 1999).

Kinetik parametreler daha düşük bir K_m değeri ile daha yüksek bir V_{max} değerinin söz konusu olduğunu ortaya koymaktadır. Bunu molekül bölünmesini etkileyen bir mikro ortam veya enzime bağlı molekülde gerçekleştirilen bir değişimle açıklamak mümkündür. (Morisseow, 1997).

Doğal bir polimer olan Chitozan filmi üzerine katalaz enzimi immobilizasyonun da optimum sıcaklık, pH, iyonik şiddet, depolama kararlılığı ve kinetik parametrelerin belirlenmesi çalışmaları yapılmıştır. (Akkuş ve Öztop, 2000). Chitozan ucuz, inert ve hidrofilik olduğundan enzim immobilizasyonu için iyi bir polimerdir.

Son zamanlarda izole edilmiş bir *Bacillus* sp bakterisinden elde edilmiş katalaz enzimi preparatlı, gluteraldehitin kovalent çapraz bağlı bir faktör olarak kullanılması ile silanize edilmiş alüminyum oksitte immobilize edildi. Enzim destekli reaksiyonun

oluşum süresinin etkisi, immobilizasyon ürünü ve elde edilen aktivitenin azalmasına bağlıdır. (Silgia ve ark., 2001).

Katalaz enzimi (EC 1.11.1.6) hidrojen peroksidin su ve oksijen molekülüne ayrışması sonucu doğada bol miktarda bulunmaktadır (Muller ve ark., 1997; Vasudevan ve Weiland, 1992).

Katalaz enziminin reaksiyon hızı oldukça yüksektir, ve optimum şartlar altında bir mol katalaz enzimi bir dakika içerisinde 5 milyon hidrojen peroksidi ayrıştırabilir. Böylece, enzimatik muameleler, zaman ve enerji açısından önemli bir kazanç sağlayabilir ve peroksit ağartmasından sonraki yıkama işlemini ya iptal edebilir ya da kısaltabilir. Konvansiyonel (geleneksel) olarak etkili peroksit ağartma işlemi yüksek sıcaklık ve alkali ortamda yürütülür. Çünkü bilinen katalaz enzimlerinin çoğu, orta sıcaklıklarda (20 °C -50 °C) nötr pH'ta optimum aktivite gösterir. Var olan ticari katalaz enzimlerinin uygulanması ağartma suyunun pH'ının ve sıcaklığının ıslahını gerektirir (Spiro ve Criffith, 1997). Enzim dengesini artıran bir yaklaşım immobilizasyondur (Guisan ve ark., 1991).

Katalaz; gözenekli cam (Urban ve ark., 1991), gözeneksiz cam (Vasudevan ve Weiland., 1994), chitosan (Çetinus ve Öztop, 2000), kappa-karagenan jel (Campanella ve ark., 1998), asimetrik selüloz membran (Selli ve ark., 1993), naylon membran (Dajun ve ark., 1993), kollojen zar (Vrbova ve ark., 1993), alümina (Costa ve ark., 2001), yumurta kabuğu (Chatterjee ve ark., 1990), dekstran (Marshall ve Rabinowitz, 1976), amino şeker içeren doğal polimer olan bioskin (Solas ve ark., 1994), çok küçük silika partikülleri (Kondo ve ark., 1993), kalsiyumhidroksiapatit (Bartoug ve ark., 1998), cibacron mavisi F3GA ve Fe(III)ten türeyen polyhidroksietil metakrilat membranları (Arıca ve ark., 1997), adsorpsiyon ve poliakrilamit jeller (Jiang ve Zhang, 1993), gibi çok sayıda taşıyıcı materyal üzerinde immobilize olur.

Ceylan ve Sarıkaya (1989), HNO₃ aktivasyonu ve ısıtma işlemin Eskişehir sepiolitinin yüzey asitliği üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar sepiolitini 0.75 M HNO₃ ile aktivasyonundan sonra 300 °C da 15 saat ısıya tabi tutulmasıyla

elde edilen yüzey asit merkezleri sayısının $1.1 \times 10^2 \text{q}^{-1}$ değeri ile maksimuma ulaştığını bulmuşlardır.

Papier ve ark. (1992), talkın yüzey özelliklerini dikkate alarak Na_2CO_3 , NH_3 ve çeşitli alkollerle muamele edilmesiyle talkın adsorpsiyon kapasitesinde artış olduğunu gözlemişlerdir.

Asitle aktifleştirme işlemi, Ca-bentonite uygulanmaktadır. Bu işlem, bentonitin seyreltik, fakat HCl ve H_2SO_4 gibi kuvvetli asitlerle ısıtılmasına dayanmaktadır. Asit, süspansiyon halindeki küçük taneleri geçerek, kristale ulaşır ve muhtemelen kristalin yüzeyinden çok ucunu etkiler. Oktahedral tabakadaki alüminyum, magnezyum ve varsa demir iyonları, aktifleştirme için kullanılan asitle reaksiyona girerek, tuz halinde solüsyona geçer. Hemen hemen aynı anda, kristal tabakaları arasında bulunan değişebilen Ca^{++} iyonları solüsyona geçen bu iyonlarla yer değiştirir. Özellikle Al^{+++} ve H^+ iyonları Ca^{++} ile yer değiştirirler ve açığı Ca^{++} ise sülfat iyonu ile çözünmeyen CaSO_4 şeklinde etkisiz duruma gelir. Yıkama ile solüsyondaki çözünmüş tuzlar ayrılır; kurutulduktan sonra, yığın yoğunluğu düşük halde aktif kil elde edilmiş olur (Bailey, 1963; Çakıcıoğlu ve ark., 1985; Çalışkan ve Armağan, 1987; İpekoğlu ve Bilge, 1997).

Aktive edilmiş killerin, aktif özellikleri, yani reaksiyonu hızlandırmaları veya renkleri gidermeleri, oktahedral katyonların aşağı yukarı yarısının kilin kristal kafesinden uzaklaştırıldığı zaman yüksek düzeye ulaşır (Sarıkaya, 1977; Sarıkaya ve ark., 1985; Saygın ve Kayahan, 1984; Yalçın ve Özbilge, 1985).

Barbier ve ark. (2000), yaptıkları araştırmalar sonucu; negatif yüklü durumda olan bentonit kil mineralleri, yapı taşlarını elektriksel bakımdan nötr duruma getirebilmek amacı ile katyon adsorpladığını belirtmişlerdir. Killerde görülen değişebilir katyonların başlıcaları H^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , NH_4^+ , Al^{3+} olup kilin temel Si-Al yapı ünitesinin dışında bulunur, zayıf elektriksel kuvvetle tutulduğunu ve kil mineralinin bir çözelti içerisinde bulunması halinde çözeltideki diğer bazı katyonlarla yer değiştirebildiğini açıklamışlardır. Değişebilen katyonlar bentonitin su ile karıştırıldığında kolloidal özellik göstermesi, su ve bazı organik ortamlarda

hacimce şişmesi, yüksek plastisiteye sahip olması gibi özelliklerini doğrudan etkilediğini bulmuşlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan araç ve gereçler

1. UV-Visible spektrofotometresi-Shimadzu
2. Wortex Mikser Fisons
3. Isıtıcı
4. Isıtıcılı magnetik karıştırıcı
5. Termostat
6. Derin dondurucu
7. pH Metre- Jenway 3010
8. Cam malzeme olarak; erlen, mezür, beher, tüp, rodajlı balon.
9. Shimadzu libror AEL-40 SM
10. Etüv-Philip Harris

3.1.2. Kullanılan kimyasal maddeler

- Katalaz enzimi (Hidrojen-Peroksit; Hidrojen Peroksit Oksidoredüktaz E.C. 1.11.1.6)
- Hidrojen Peroksit
- Sodyum Hidroksit
- Hidroklorik Asit
- Sodyum Fosfat
- Gümüş Nitrat

3.2. Kullanılan çözeltilerin hazırlanması

3.2.1. Enzim çözeltisi

Katı halde satın alınan enzim 0,05M sodyum fosfat tamponuyla sabit pH'da (pH=7) 1/5000 oranında seyreltilir.

3.2.2. Substrat çözeltisi

0,05 M fosfat tamponunun (pH=7) 50 mililitresine %30'luk Hidrojen Peroksitin 0,1 mililitresi katılır. Substrat çözeltisinin 240 nm'deki absorbansına

bakılır ve 0,550-0,520 arasında bir değ er okunur. Bu aralıktan daha yüksek ise tampon katılarak seyreltilir. Eğer daha az ise az miktarda H₂O₂ katılır.

Katı halde satın alınan enzim 0.05 M sodyum fosfat tamponuyla sabit pH'da (pH=7) 1/5000 oranında seyreltilir.

3.2.3. Aktif karbon süspansiyonu (25 mg/ ml)

1500 mg aktif karbon alınarak 60 mililitre saf suya katılarak aktif karbon süspansiyonu hazırlanır.

3.2.4. %30'luk hidrojen peroksit c zeltisi

%30'luk H₂O₂ için stok substrat konsantrasyonu 9.96 Molar olarak bulunur.

3.2.5. 0,05 Molar sodyum fosfat tamponu (pH=7)

7.1 gram Na₂HPO₄ yaklaşık 1000 mililitre su içinde c z l r, pH metre kullanarak pH=7'ye kadar 1M HCl ilave edilir. Hacim 1 litreye saf su ile tamamlanır.

3.3. Yöntem

Bu çalışmada katı destek materyali olarak aktif karbon (Bahçesaray-Van cevizi) kullanıldı. Aktif karbon değirmende öğütüldü ve gözenek büyüklüğü 0,038 mm (400 mesh) olan elekten geçirildi. Ayrıca çalışmada sığır karaciğerinden saflaştırılan serbest katalaz enzimi (E. : 2.000-50.000 ünit /mg- protein) kullanıldı.

Çalışmanın birinci aşamasında Coomassie Blue yöntemi ile kantitatif prtorein tayini yapıldı. Bu metod Orto-fosforik asitli ortamda proteinlerin Coomassie Brilliant Blue G-250 reaktifi ile kompleks oluşturmaları ve oluşan bu kompleksin 595 nm dalga boyunda maksimum absorbans göstermeleri esasına dayanır.

Protein tayin işlemi şu şekilde gerçekleştirildi; 1 ml'sinde 1 mg protein ihtiva eden standart enzim c zeltisinden tüplere 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 ml konuldu. Saf su ile bütün tüplerin hacmi 0,1 ml'ye tamamlandı. Her bir tüpe 5 ml Coomasie – blue reaktifi eklendi ve vartet - mikser ile karıştırıldı. 10 dakika inkübasyondan sonra 595 nm'de köre karşı absorbans değerleri okundu. Okunan absorbans değerlerine karşılık gelen mg protein değerleri kullanılarak standart bir

grafik elde edildi. Enzim çözeltisindeki protein miktarları bu grafik yardımı ile hesaplandı.

Çalışmanın ikinci aşamasında ise öğütülmüş aktif karbondan 1500 mg alınarak bir erlene konuldu. Numuneye 60 mililitre saf su ilave edilecek aktif karbon süspansiyonu hazırlandı. Katalaz enziminin aktif karbon üzerine adsorpsiyonu için değişik zaman periyotlarında sabit pH'da (pH=7) 0,05 M sodyum fosfat tamponun süspansiyon ile farklı sürelerde ve farklı oranlarda muamele edilerek adsorpsiyon şartları belirlendi. Serbest enzimin aktif karbon üzerine adsorpsiyonu için 0,05 M sodyum fosfat tamponu içinde yaklaşık 1/500 mg. ml⁻¹ enzim ihtiva eden çözeltiiler kullanıldı. Daha sonra 1ml enzim çözeltisi ve 4 ml aktif karbon süspansiyonu 30 °C'de ve 60 dakika hafif bir şekilde vartet mikserde çalkalanarak karıştırıldı. Enzim – aktif karbon kompleksi 15 dakika 3000 devirde santrifüj edildi. Sonra üsteki sıvı alınarak aktivite tayini yapıldı. Altta kalan katı 0,05 M sodyum fosfat tamponu ile üç kez yıkanarak tekrar santrifüj edildi. Daha sonra altta kalan katıya 5 ml fosfat tamponu ilave edilip bir erlende toplanarak bağlı enzim çözeltisi elde edildi. Elde edilen bağlı enzim çözeltisi üzerine pH, sıcaklık ve iyonik şiddetin etkisini belirlemek için denemeler yapıldı. Ayrıca Lineweaver- Burk denkleminde yararlanarak K_m ve V_{max} tayinleri yapıldı.

En son aşamada ise aktif karbon asitle muamele edildi. Asitle muamele işlemi, 250 ml 1 M HCl asidi ile 100 ml saf su 250 ml'lik balon jojedeki 50 gr. aktif karbona eklendi. Sonra kaynamaya bırakıldı ve kaynama işlemi 5 saat boyunca devam ettirildi. Kaynatılan aktif karbon üzerindeki sıvı döküldü. Asitle kaynatılmış aktif karbon defalarca su ile yıkandı. Dökülen saf sulara AgNO₃ ilave edilerek asidin uzaklaşıp uzaklaşmadığı kontrol edildi. Saf su ile AgNO₃ bulanıklık oluşturmaması asidin aktif karbondan uzaklaştığının belirtisidir. Asitle muamele gördükten sonra yıkanarak asitten uzaklaştırılan aktif karbon 80 °C'de kurutulmaya bırakıldı. Daha sonra asitle muamele görmüş aktif karbon ile saf enzim immobilize edildi. Elde edilen bağlı enzim çözeltisi ile pH, sıcaklık, iyonik şiddet K_m ve V_{max} tayinleri yapıldı.

Serbest ve bağlı enzim çözeltiilerinde pH nın etkisini incelemek amacıyla yapılan denemelerde pH=4-9 aralığı kullanıldı. Sıcaklığın etkisini belirlemek için 20,

30, 40, 50, 60, 70, 80 °C'lerde numune 15 dakika süreyle inkübatörde bekletildikten sonra analizleri yapıldı. Enzim aktiviteleri üzerine iyonik şiddetin etkisini tespit etmek için sabit pH'da (pH=7) 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 M konsantrasyonlarda aktivite tayinleri yapıldı. Sabit pH'da (pH=7) 30 °C'de bağlı enzimin maksimum tutunma süresini belirlemek amacıyla 10, 20, 30, 40, 50, 60 dakikalık zaman periyotlarında karıştırıldı. Bütün aktivite tayinleri 240 nm'de ultraviyole spektroskopisi ile yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Serbest ve immobilize enzim için (K_m ve V_{max}) kinetik sabit değerlerinin belirlenmesi

Katalaz enzimi (Hidrojen-Peroksit; Hidrojen Peroksit Oksidoredüktaz E.C. 1.11.1.6) için K_m ve V_{max} değerlerinin tespiti amacı ile değişik konsantrasyonlarda substrat çözeltileri kullanılarak enzim aktiviteleri belirlendi.

K_m ve V_{max} 'ı tain etmek için Michailis – Menten eşitliği yazılıp düzenlenirse;

$$V = \frac{V_{max}[S]}{[S] + K_m}$$

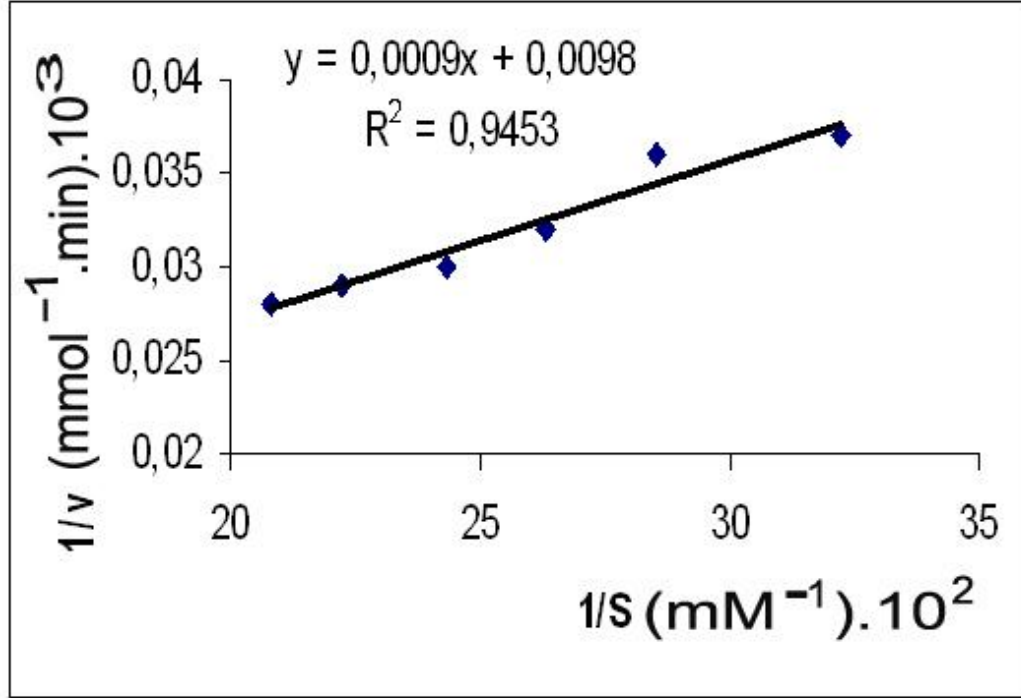
$$\frac{1}{V} = \frac{K_m + [S]}{V_{max}[S]}$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{Max}}$$

y eksen kesim noktası $1/V_{max}$, x eksen kesim noktası $-1/K_m$, eğim K_m/V_{max} 'tır. (K_m =mM, V_{max} = μ mol/dak., V =EÜ/dak.)

Çizelge 4.1. Serbest enzim için kinetik sabitlerinin (K_m ve V_{max}) belirlenmesinde kullanılan substrat ve enzim değerleri

Substrat Miktarı (ml)	2.9	2.7	2.5	2.3	2.1	1.9
E. Ü:	0.510	0.497	0.473	0.441	0.402	0.384
V:	35.1	34.2	32.6	30.4	27.7	26.7
S:	9.62	8.96	8.30	7.62	6.97	6.30

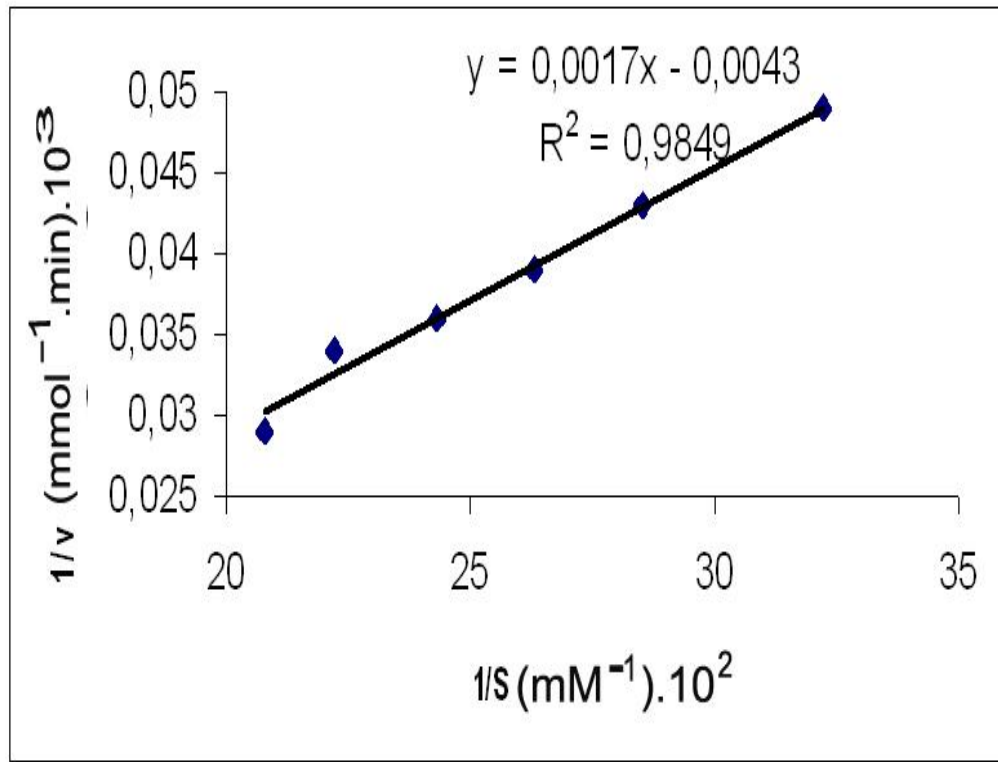


Şekil 4.1. Serbest Enzim için $V_{\max}$ ve K_m Değerleri Grafiği

Şekil 4.1. den $1/S$ ve $1/V$ değerleri bulunarak Lineweaver-Burk grafiklerinden K_m ve $V_{\max}$ değerleri belirlendi. Serbest katalaz enzimi için, K_m ve $V_{\max}$ değerleri sırası ile 3,57 mM ve 37,03 $\mu\text{mol/dak.}$ olarak tespit edilmiştir. (S= Substrat konsantrasyonu, V= Enzimin reaksiyon hızı).

Çizelge 4.2. İmmobilize enzim için kinetik sabitlerinin (K_m ve V_{max}) belirlenmesinde kullanılan substrat ve enzim değerleri

Substrat Miktarı (ml)	2.9	2.7	2.5	2.3	2.1	1.9
E. Ü:	0.499	0.426	0.402	0.371	0.337	0.295
V:	34.40	29.41	27.77	25.64	23.25	20.40
S:	9.62	8.96	8.30	7.62	6.97	6.30



Şekil 4.2. İmmobilize enzim için V_{max} ve K_m değerleri grafiği

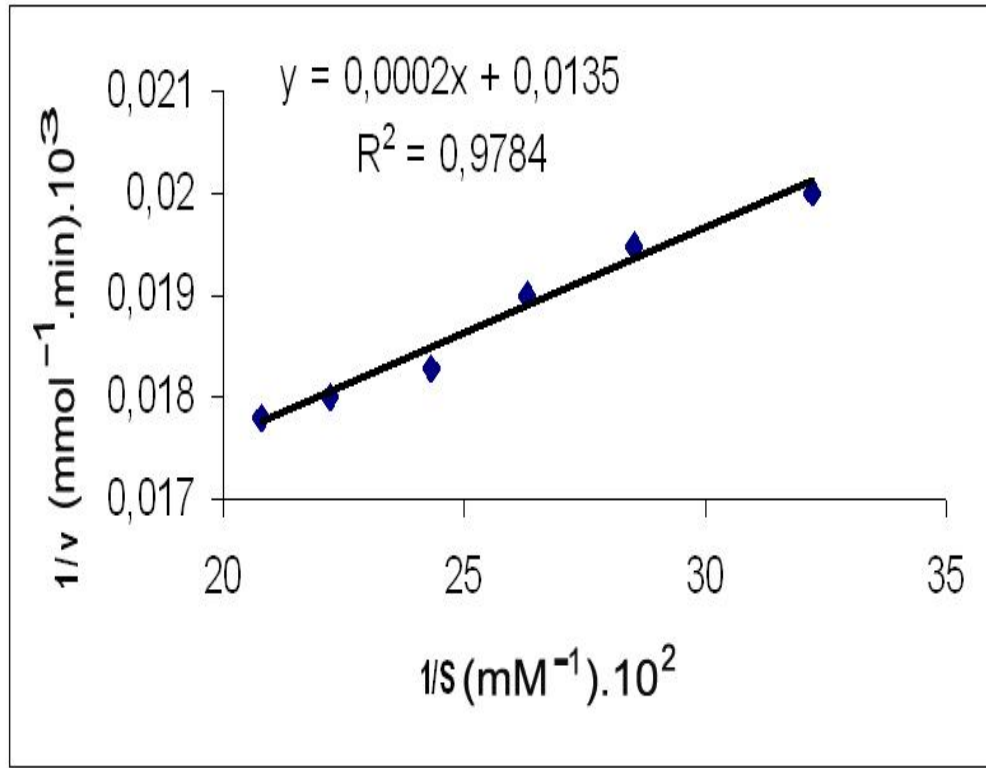
Şekil 4.2 den $1/S$ ve $1/V$ değerleri bulunarak Lineweaver-Burk grafiklerinden K_m ve V_{max} değerleri belirlendi.

Bağlı enzim için, K_m ve V_{max} değerleri 7,1 mM ve 39,40 $\mu\text{mol/dak.}$ olarak bulunmuştur.

K_m ve V_{max} değerleri, değişik konsantrasyonlarda substrat çözeltileri kullanarak elde edilen enzim aktivitelerinden, $1/S$ ve $1/V$ değerleri bulunarak Lineweaver-Burk grafiklerinden belirlendi (Keha ve Küfrevioğlu, 2005).

Çizelge 4.3. Asitle muamele edilmiş aktif karbon için kinetik sabitlerinin (K_m - V_{max}) belirlenmesinde kullanılan substrat ve enzim değerleri

Substrat Miktarı (ml)	2.9	2.7	2.5	2.3	2.1	1.9
E. Ü:	0.841	0.803	0.792	0.760	0.742	0.723
V:	58.8	55.4	54.6	52.4	51.1	49.8
S:	9.62	8.93	8.30	7.62	6.97	6.30



Şekil 4.3. Asitle muamele edilmiş aktif karbon için K_m ve V_{max} grafiği

Şekil 4.3.'den $1/S$ ve $1/V$ değerleri bulunarak Lineweaver-Burk grafiklerinden K_m ve V_{max} değerleri belirlendi. İmmobilize enzim için $K_m=3,84 \text{ mM}$ ve $V_{max}=56,8 \mu \text{ mol/dak.}$ olarak bulunmuştur.

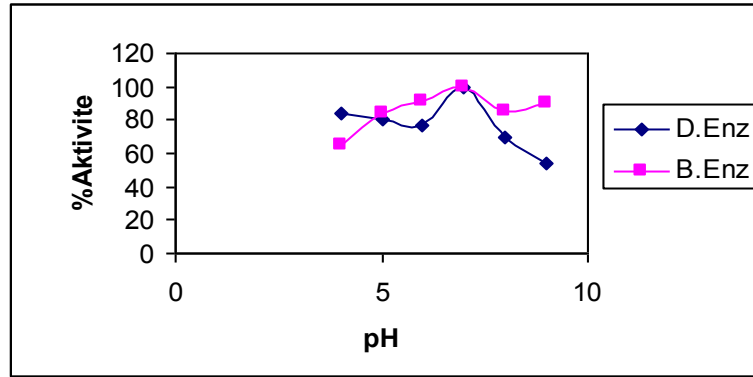
4.2. pH aktivite eğrileri

Enzimler pH değişimine karşı çok duyarlıdır. Genellikle çok fazla asidik ya da alkali ortamda etkisizdirler. Bazı hallerde enzimler en yüksek etkinliği belirli bir pH derecesinde gösterirler. Bu pH derecesine optimum pH denir. Örneğin, proteini parçalayan pepsin, midenin 2 pH'lık asidik ortamında maksimum çalışır. Buna zıt olarak pankreastan salgılanan ve yine protein sindiriminde rol alan tripsin ancak pH 8,5'da optimum olarak çalışabilir. pH ile ilgili olmasının nedeni, yapılarında proteinleri taşımalarındandır. pH'a bağlı olarak protein molekülü üzerinde çeşitli elektrik yüklenmeleri ve buna bağlı olarak dış yüz şekli meydana gelmekte ve substratla – enzim uyuşmasını sağlamaktadır. Bu elektrik yüklenmesi enzim-substrat arasındaki çekiciliği arttırmaktadır. Kuvvetli asitler ve bazlar enzimleri koagüle ederler.

4.2.1. Serbest ve immobilize enzimin aktivitesi üzerine pH'ın etkisi

Çizelge 4.4. Serbest enzim için pH değerleri

pH	4	5	6	7	8	9
E. Ü:	0.540	0.690	0.752	0.823	0.698	0.740
Aktivite	65.6	83.8	91.3	100	84.8	89.9



Şekil 4.4. Serbest ve immobilize enzimin aktivitesi üzerine pH'ın etkisi

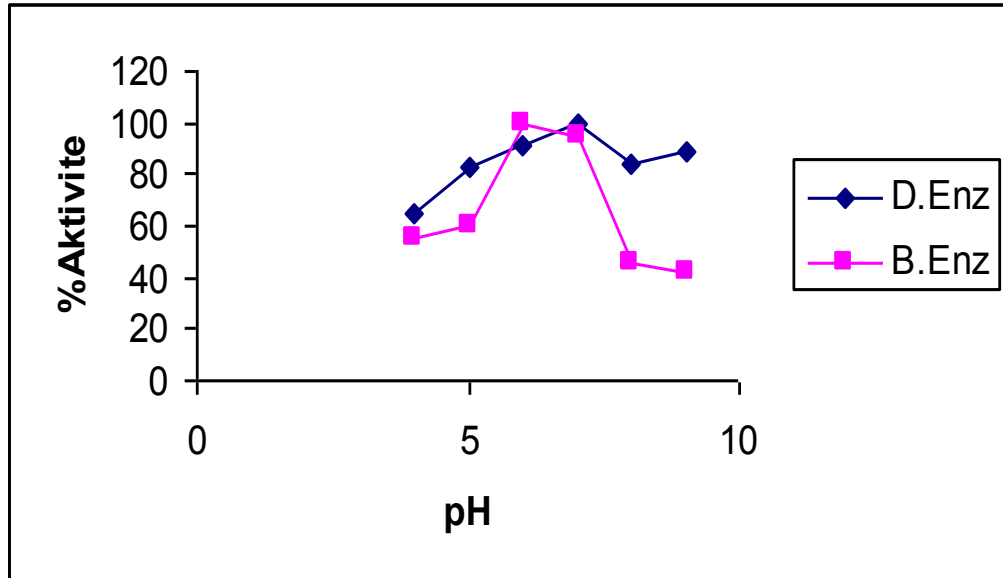
Cevizden çeşitli yollarla elde edilen aktif karbon üzerine adsorbe ettirilen katalaz enzimi için aktivite pH ilişkisi aynı deney şartlarında serbest enzim ile birlikte (Şekil 4.4.) grafik halinde verilmiştir.

Serbest enzim ile immobilize enzimin optimum pH'sı yaklaşık 7 civarında olduğu görülmektedir. Aktif karbona bağlanan enzimin aktivitesi pH'daki değişmeye karşı serbest enzime göre daha az etkilenmektedir. Optimum pH'daki bu değişim, enzimin kil üzerindeki mikro çevresi ile ölçüm yapılan çözelti bölgesi arasında H^+ ve OH^- gruplarının dağılımı bakımından farklılıklar olmasından ileri gelebilir.

4.2.2. Asitle muamele edilmiş aktif karbon üzerine adsorbe ettirilmiş katalaz enziminin aktivitesi üzerine pH'ın etkisi

Çizelge 4.5. Asitle muamele edilmiş enzim için pH değerleri

pH	4	5	6	7	8	9
E. Ü:	0.700	0.766	1.260	1.200	0.592	0.536
Aktivite	55.5	60.7	100	95.2	46.9	42.5



Şekil 4.5. Asitle muamele edilmiş aktif karbon üzerine pH'nın etkisi

Asitle muamele edilmiş aktif karbon üzerine adsorbe ettirilen katalaz enzimi için aktivite pH ilişkisi aynı deney şartlarında serbest enzimle birlikte şekil 4.5'te verilmiştir. Serbest enzimin optimum pH'sı 7 civarında olduğu halde asitle muamele edilmiş aktif karbonun optimum pH'nın 6 olduğu görülmektedir. Optimum pH'daki bu farklılık, substratın katalitik bölgeye bağlanmasından sonra, yakınındaki amino asit ortaklarının yan zincirlerindeki yüklü fonksiyonel grupların asidik katalizörler gibi davranmasında rol alabilir.

4.3. Serbest ve immobilize enzimin aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi

Serbest ve immobilize enzim üzerine sıcaklığın etkisi genellikle optimum eğriler çizilerek izlenir. Sıcaklık 10 °C yükseldiğinde tepkime hızı iki kat artar. Tepkime hızının yükselmesi sıcaklıkla doğru orantılıdır. Fakat belirli bir noktadan sonra düşmeye başlar ve tamamen durur. Yüksek sıcaklıklarda enzimler etkisizdirler. Optimum noktanın biraz üzerinde enzim etkisiz olmasına karşın, sıcaklık düşünce tekrar etkili hale geçebilirler. Fakat bu sıcaklığın devamı ya da sıcaklığın biraz daha yükselmesi enzimin etkinliğini sonsuz olarak ortadan kaldırır. Enzimlerin etkisiz hale geçmeleri ile proteinlerin koagüle olması arasında bir ilişkinin olması onların büyük bir kısmının proteinlerden yapıldığını kanıtlar. Düşük sıcaklıklarda enzimin etkinliği azdır. 0 °C'de enzim ya hiç ya da pek az işlev gösterir. Fakat soğğun enzimin yapısını değiştirdiği görülmemiştir. Bunun için enzimler genellikle derin dondurucularda korunur.

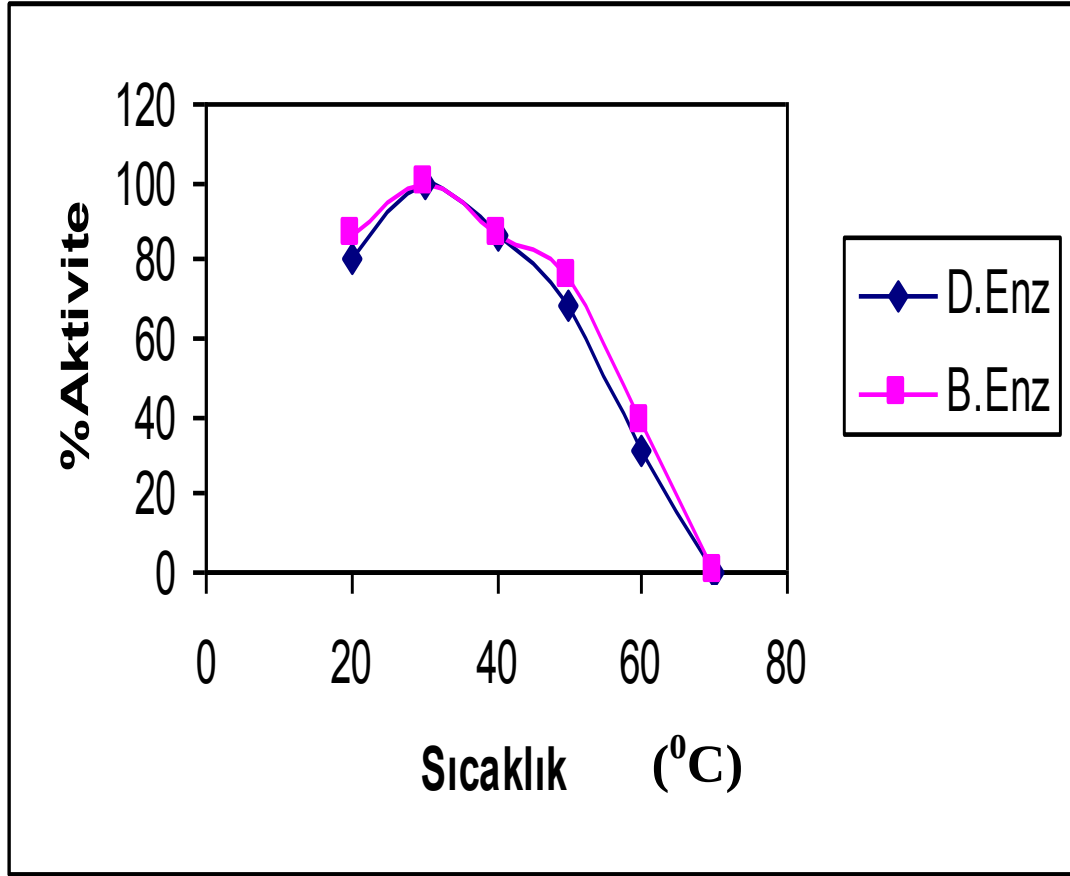
4.3.1. Aktif karbona adsorbe edilen katalaz enziminin aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi

Çizelge 4.6. Serbest enzim için bulunan sıcaklık değerleri

Sıcaklık (°C)	20	30	40	50	60	70
E. Ü:	0.514	0.636	0.552	0.440	0.200	0.0
Aktivite	80	100	86	69	31	0

Çizelge 4.7. İmmobilize enzim için bulunan sıcaklık değerleri

Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	20	30	40	50	60	70
E. Ü:	0.570	0.685	0.600	0.420	0.270	0
Aktivite	83.2	100	87.5	75.9	39.4	0



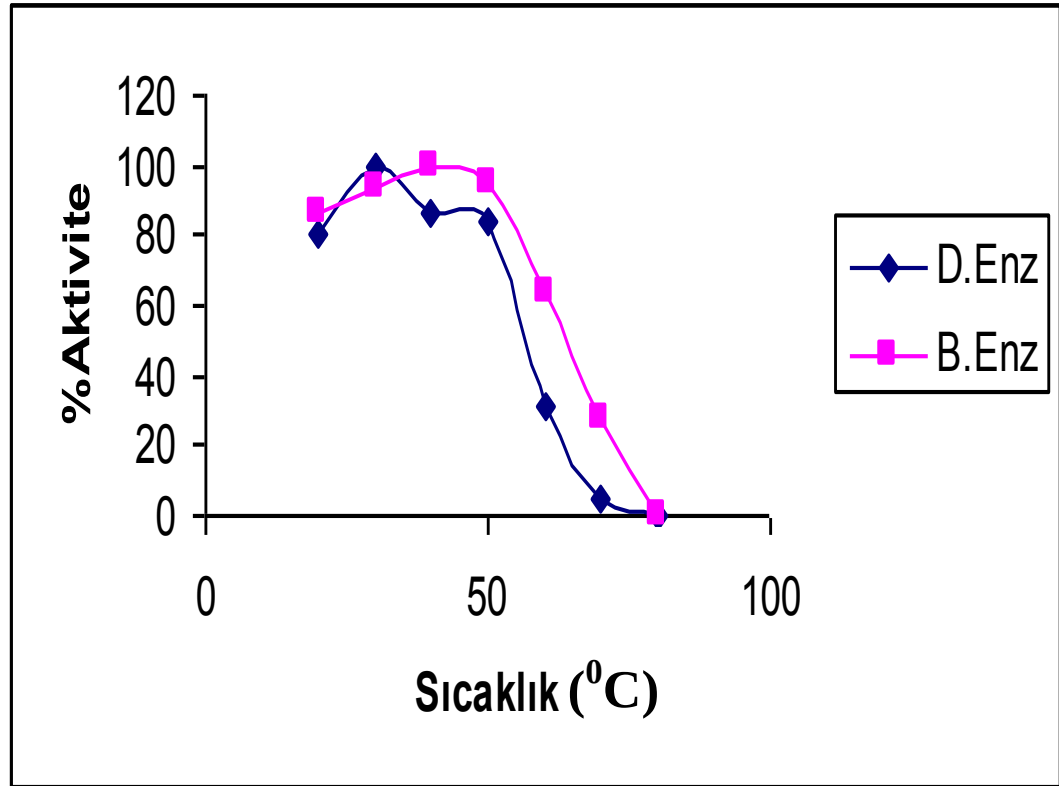
Şekil 4.6. Aktivite karbona adsorbe edilen ve serbest katalaz enziminin aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi

Aktif karbon üzerine adsorbe edilen serbest enzimin aktivitesinin sıcaklıkla değişimi şekil (4.6) 'da görülmektedir. Grafikte görüldüğü gibi serbest enzim ile immobilize enzimin grafik eğrileri hemen hemen aynıdır. Ancak bütün sıcaklıklarda immobilize enzimin aktivitesi biraz daha yüksektir.

4.3.2. Asitle muamele edilmiş aktif karbon üzerine adsorbe edilen serbest katalaz enziminin aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi

Çizelge 4.8. Asitle muamele edilmiş enzim için sıcaklık değerleri

Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	20	30	40	50	60	70
E. Ü:	0.610	0.660	0.700	0.450	0.200	0.0
Aktivite	84	94	100	64	28	0.0



Şekil 4.7. Asitle muamele edilmiş aktif karbonda adsorbe edilen katalaz enziminin aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi

Asitle muamele edilmiş aktif karbon en yüksek aktivitesini 40°C 'de göstermiştir.

4.4. Serbest ve immobilize enzimin aktivitesi üzerine iyonik şiddetin etkisi

Eğer pH ve sıcaklık sabit tutulursa, enzim / substrat derişimi arasındaki orana bağı olarak bir tepkime hızı görülür. Substratın ya da enzimin fazla olması bu hızı değışik şekillerde etkileyebilir. Bol substrat bulunan bir ortamda eklenecek enzim son ürünün miktarını arttıracaktır. Enzimlerin büyük bir kısmı işlevlerini su içerisinde gösterdiklerinden, suyun miktarı da enzim işlevinde etken bir koşuldur.

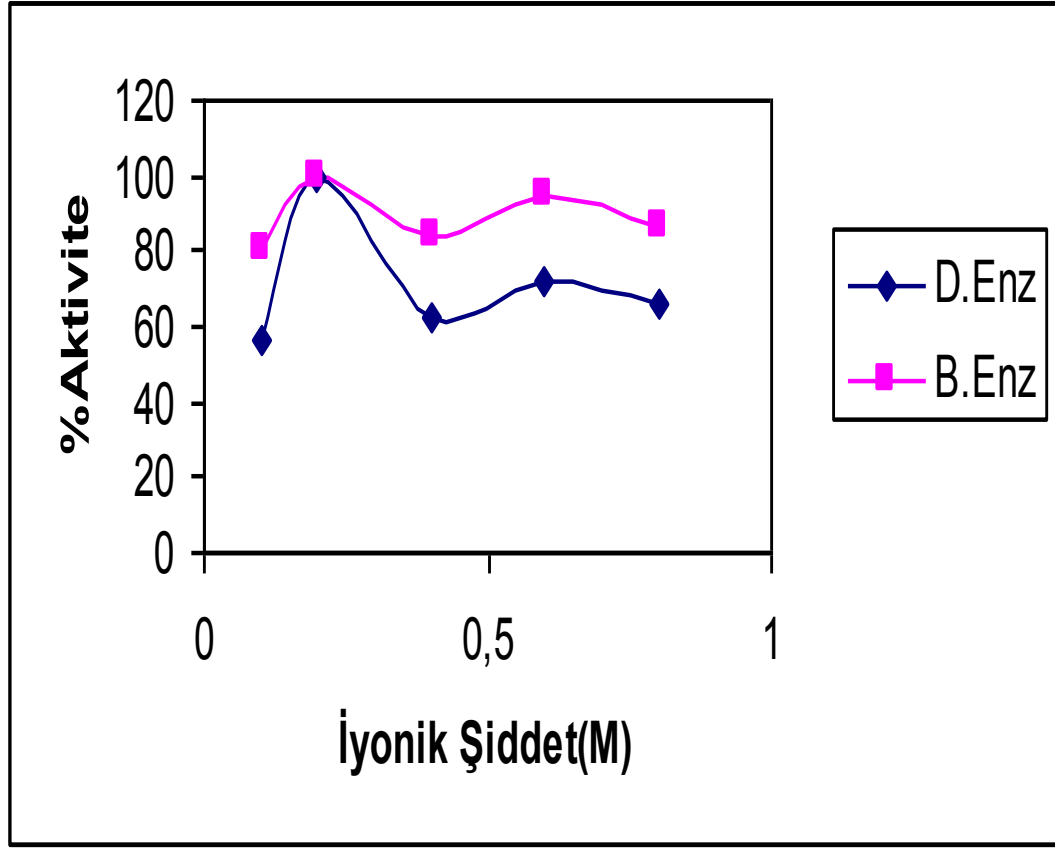
4.4.1. Aktif karbona adsorbe edilen katalaz enziminin aktivitesi üzerine iyonik şiddetin etkisi

Çizelge 4.9. Serbest enzim için bulunan iyonik şiddet değerleri

Derişim (M)	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8
E. Ü:	0.672	1.201.	0.764	0.867	0.792
Aktivite	56	100	63	72	66

Çizelge 4.10. İmmobilize enzim için bulunan iyonik şiddet değerleri

Derişim (M)	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8
E. Ü:	0.820	1.010	0.850	0.960	0.880
Aktivite	81	100	84	95	87



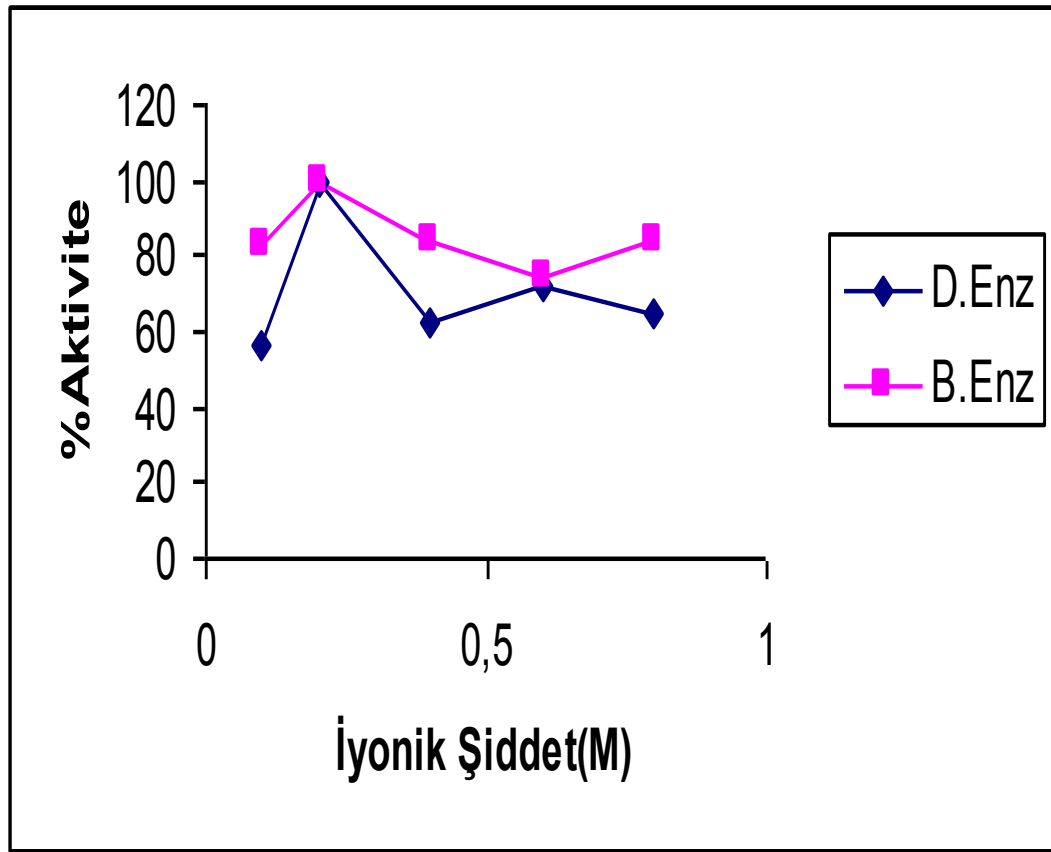
Şekil 4.8. Aktif karbona adsorbe edilen ve serbest katalaz enziminin aktivitesi üzerine iyonik şiddetin etkisi

Aktif karbon üzerine bağlanan enzim aktivitesine iyonik şiddetin etkisi şekil (4.8)'de görülmektedir. Aynı şartlarda serbest enzim için elde edilen aktivite, iyonik şiddetin eğrisine benzerdir. Ancak immobilize enzimin, ortamın iyonik şiddetine, serbest enzime göre daha duyarlı olduğu görülmektedir.

4.4.2. Asitle muamele edilmiş aktif karbon üzerine adsorbe edilen katalaz enziminin aktivitesi üzerine iyonik şiddetin etkisi

Çizelge 4.11. Asitle muamele edilmiş enzim için iyonik şiddet değerleri

Derişim (M)	0.1	0.2	0.5	0.6	0.8
E. Ü:	0.964	1.160	0.985	0.874	0.980
Aktivite	83	100	85	75	84



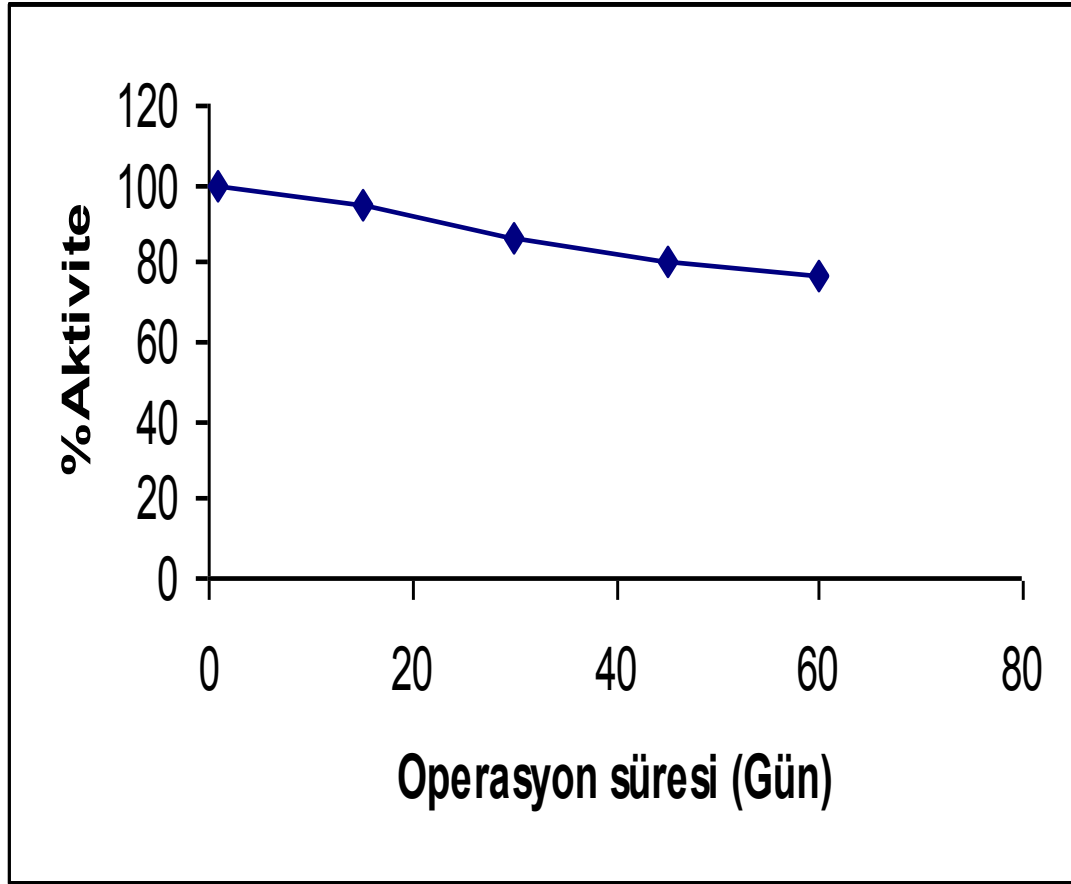
Şekil 4.9. Asitle muamele edilmiş aktif karbona adsorbe edilen katalaz enziminin aktivitesi üzerine iyonik şiddetin etkisi

Şekilde görüldüğü gibi asitle muamele edilmiş aktif karbon ile serbest katalaz enziminin benzer özellikler gösterdiği belirlenmiştir.

4.5. Enzim-aktif kömür adsorbsiyonu ile iki ay boyunca aktivite değerleri

Çizelge 4.12. İmmobilize enzim için iki ay süresindeki aktivite değerleri

Zaman (Gün)	1	15	30	45	60
E. Ü:	0.950	0.902	0.820	0.770	0.730
Aktivite	100	94.9	86.3	81	76.8



Şekil 4.10. İmmobilize enzimin iki ay süresindeki aktivite değişimi

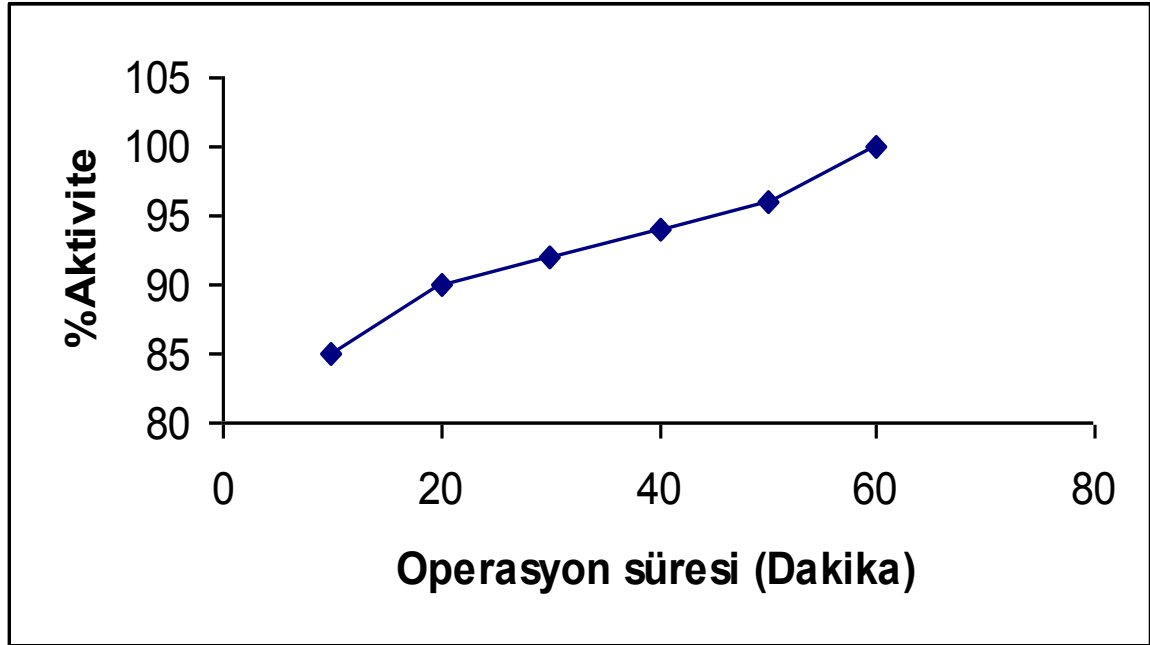
İmmobilize enzim için 15 gün ara ile yapılan aktivite tayin miktarları şekil (4.10)'da görülmektedir. Adsorbe enzim iki ay süresince aktivitesini % 76.8 oranında koruduğu gözlenmiştir.

4.6. İmmobilize enzim aktivitesinin inkübasyon süresine bağlı değişimi

Aktif karbon üzerine maksimum enzim adsorpsiyonunun 30 °C’de 60 dakika olduğu belirlenmiştir. Bu amaçla enzim çözeltisi ve aktif karbon süspansiyonları 1:4 (ml) hacim oranında. 10, 20, 30, 40, 50 ve 60 dakikalık zaman periyotlarında adsorpsiyonları incelendi.

Çizelge 4.13. Enzim-aktif karbon için farklı zamanlarda elde edilen aktivite değerleri

Zaman (Dk.)	10	20	30	40	50	60
E. Ü:	0.810	0.860	0.880	0.900	0.920	0.950
Aktivite	85	90	92	94	96	100



Şekil 4.11. İmmobilize enzim aktivitelerinin inkübasyon süresine bağlı değişimi.

5- TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada katalaz enzimi (E.C.1.11.6) aktif karbon (Bahçesaray Cevizi - Van) üzerine adsorbe edilerek adsorpsiyon şartları, adsorbe olan ve olmayan enzimin kinetik özellikleri UV spektrofometresi kullanılarak araştırıldı.

Hücrelerde önemli metabolik görevleri olan enzimler son yıllarda birçok alanda kullanılmaya başlanmıştır. Ancak enzimlerin canlı organizmalarda az miktarda bulunması ve saflaştırma işlemlerinin zorluğu bu moleküllerin son derece pahalı olmasına sebep olmaktadır. Bu durum enzimlerin suda çözülmeyen katı bir materyale immobilize edilerek defalarca kullanılmasını gündeme getirmiştir. Aktif karbon üzerine maksimum enzim adsorpsiyonunun 30 °C'de ve 60 dakika olduğu belirlenmiştir. Klivanov ve Brezin, 60 dakikayı aşan karıştırma süresinin aktivite değişiminde önemli bir etkisinin olmadığını belirtmektedirler. Bu çalışmada aktif karbon üzerine maksimum enzim adsorpsiyonunun 30 °C'de 60 dakika olarak bulunması araştırmacıların sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Elde edilen değerlerin chitosan filmi üzerine katalaz enziminin immobilizasyonu ile ilgili yapılan çalışmada benzer etki gösterdiği saptanmıştır. (Akkuş ve Öztıp, 2000). Üreazın sepiolite adsorpsiyonu ile ilgili yapılan çalışmada aynı sonuçlar bulunmuştur.

Coomasie-Blue yöntemi ile protein tayini yapıldı. Bu metot Orto - Fosforik asitli ortamda proteinlerin Coomasie Brilliant Blue G-250 reaktifi ile kompleks oluşturmaları ve oluşan bu kompleksin 595 nm dalga boyunda maksimum adsorpsiyonunun ölçülmesi esasına dayanır. Bu yöntemin hassasiyeti 1-100 µg arasındadır.

Bailey (1963)'ye göre kil üzerine enzim adsorpsiyonu enzim aktivitesini 2,5 ay boyunca % 70 oranında korumaktadır. Katalaz enzimi üzerine adsorbe edilen aktif karbon aynı işleme tabi tutulduğunda % 76.8 oranında aktivitesini koruduğu gözlenmesi, yazarın sonuçları ile örtüşmektedir. Bu sonuçlar enzim ile destek materyali arasındaki bağın tutarlı olduğunu göstermektedir. Farklı çalışma koşullarında enzim aktivitesinin uzun süre korunması sağlanırsa bu çok önemli bir bulgu olarak kabul edilebilir. Enzimlerin uzun süre saklanarak enzimin aktivitesini

kaybetmemesi, bağılı enzimlerin serbest enzimlere göre daha iyi sonuçlar verdiği yaptığımız çalışmada görülmüştür.

Serbest ve bağılı enzim üzerine sıcaklığın etkisi optimum eğriler çizilmek suretiyle elde edilir. Enzimlerin termal dengesi uzun süreli ve ticari uygulamalar için önemli kriterlerden biri olarak tespit edilmiştir. Genellikle immobilize edilmiş enzimlerin doğal enzimlere nazaran ısıya karşı daha dirençli oldukları bilinmektedir. İmmobilize edilmiş katalaz enziminin ısı dengesi, 20 °C – 80 °C’ de sabit pH’da (pH=7,0) serbest enzimle karşılaştırıldı. İmmobilize edilmiş enzim, serbest enzime göre daha uzun yarı ömür gösterdi. (Silgia ve ark., 2001). Aktif karbon üzerine immobilize edilen katalaz enziminin, serbest olduğu gözlendi. Özellikle 30 °C - 40 °C sıcaklıklarda bağılı enzimin serbest enzime göre daha fazla aktivite göstermesinin nedeni aktif karbonun yüzey etkinlikleri ile ilgili olduğudur. Bu çalışmadaki enzim aktivitelerinin sıcaklıkla değişimi enzimlerin aktivitelerini 40 °C’ye kadar arttırdığını ve daha yüksek sıcaklıklarda ise üç boyutlu yapısının bozulmasından dolayı aktivite kaybının oluşabileceği saptanmıştır.

H₂O₂ bozunmasının başlangıç oranları serbest ve immobilize katalaz enzimi için, H₂O₂ konsantrasyonlarından farklı değerler elde edildi. Bu veriler Lineweaver-Burk metoduna ve kinetik parametrelere göre (K_m - V_{max}) belirlendi.

Bu çalışma ile serbest katalaz enzimi için K_m =3.57 mM ve V_{max} = 37.03 μ mol/dak. olarak bulunmuştur. Aktif karbon için K_m = 7,1 mM ve V_{max} = 39,4 μ mol/dak iken, asitle muamele edilmiş enzim aktif kömür kompleksinde ise K_m = 3,84 mM ve V_{max} =56.8 μ mol/dak olarak elde edilmiştir. Bulunan K_m ve V_{max} değerleri serbest enzim için elde edilen değerlere yakındır. Bu değerler literatürde bilinen değerlere uygunluk göstermektedir. İmmobilize ve serbest enzimlerin K_m - V_{max} değerlerinin karşılaştırılması enzimler arasındaki etkileşimler hakkında bilgi verir (Kennedy ve Melo, 1990). Bu değerlerin birbirine yakın olması immobilizasyonda enzimin yapısının fazla değişmediği sonucunu ortaya koymaktadır. Bulduğumuz değerlerle kinetik sabit değerlerinin birbirine oldukça yakın olması, adsorpsiyonun enzimin kinetik özelliklerini önemli ölçüde etkilemediği sonucuna varılmıştır.

Enzimler pH değişimine karşı çok duyarlıdırlar. Genellikle çok fazla asidik ve alkali ortamda etkisizdirler. Bazı enzimler en yüksek etkinliği belirli bir pH derecesinde gösterilir. Serbest ve immobilize edilmiş katalaz enziminin aktivitesi üzerine pH'nın etkisi pH=4,0-9,0 aralığında incelendi. İmmobilize edilmiş katalaz enzimi ile serbest katalaz enzimin optimum pH'ında fazla bir değişim gözlenmemektedir. Asitle muamele edilmiş aktif karbonda ise farklılıklar görülmüştür. Bu farklılıklar enzimin mikro çevresinin önemli değişimlerinde katalaz enzimine bağlandığını gösterir. Enzim immobilizasyonunun çözünmez taşıyıcılar üzerine muamelesinin, enzim ve onun çevresinin çözünmesi, iyonizasyon durumu, protein uyumu ve aktivite gibi değişik etkileri vardır. Bazı durumlarda enzim polianyonik bir taşıyıcı ile birleştiğinde optimum pH'yı alkalik yönde değiştirdiğini, fakat taşıyıcı polikasyonik ise değişimin asidik yönde olduğu saptanmıştır. (Muller ve ark., 1997). Bu değişimi minimum düzeyde tutmak için çözeltinin iyon şiddetinin arttırmak gerektiği belirtilmektedir (Telefoncu ve ark., 1986).

İyonik şiddet, enzim aktivitesi üzerine etki eden önemli parametrelerden birisidir (Mustafaev, 1987). Eğer pH ve sıcaklık sabit tutrulursa, enzim/substrat derişimi arasındaki orana bağlı olarak bir tepkime hızı görölür. Substratın ya da enzimin fazla olması bu hızı değişik şekillerde etkileyebilir. Bol substrat bulunan bir ortamda etkilenecek enzim, son ürünün miktarını arttıracaktır. Serbest katalaz enzimi ile aktif karbon enzim kompleksinin 0,20 M derişimde maksimum düzeyde aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Bu çalışma ile aktif karbonun iyonik şiddet etkisi altında iyi bir tutucu olduğu gözlenmiştir. Elde edilen verilere göre aktif karbonun enzim adsorpsiyonu için uygun birer taşıyıcı olabileceği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Akkuş, Ş, Öztıp, N (2000). *Enzyme and Micnobial Technology*. 26: 497 – 501
- Arıca, M.Y., Denizli, A., Salih, B., Pişkin, E., Hasirci, V., 1997. Catalase adsorption onto Cibacron Blue F3Gaand Fe(III)-derivatized poly (hydroxyethyl metacrylate) membranes and application to a continuous system. *J. Membr Sci*, (129): 65-76.
- Bailey, S.W., 1963. Refming and Bleaching, chap.7. *Bailey's Industrials Oil and Products*, Oxford Pres, London. 719-788.
- Bailey, S.W., 1963. Polymorphism of the Kaolin, *Mineralogist*, (11): 206-209.
- Barbier, F., Duc, G., Petit, M., 2000. Adsorption of lead and cadmium ions from aqueous solution to the Montmorillonite/water interface. *Coüoids and Surfaces, a Physicochemical and EngineeringAspects*, 166: 153-159.
- Bartoug, A., Lernoux, E., Lemaitre, S., 1998. Rouxhet P.G. Adsorption of catalase on hydroxyapatite. *J Colloid interface Sci*, (208): 147-152.
- Bayşu, N., Çamaş, H., (1995). *Biyokimya*. Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi yayınları. No: 1. Kars. 246.
- Chang, T.M.S., 1976. *Methods in Enzymology*. Academic press, 3rd Edition, Newyork. 218.
- Chatterjee, U., Kumar, A., Sanwal, G., 1990. Goat liver catalase immobilization on various solid supports. / *Ferment Bioeng*, (70): 429^30.
- Campanella, L., Roversi, R., Sammartino, M.P., Tomasetti, M., 1998. Hydrogen peroxide determination in pharmaceutical formulations and cosmetics using anew catalase biosensor. *JPharm BiomedAnal*, (18): 105-116.
- Ceylan, H., Sarıkaya, Y., 1989. HNO₃ Aktivasyonu ve Isı İşlemin Eskişehir Sepiolitinin Yüzey Asitliği Üzerine Etkisi. *Doğa Dergisi*, 13(2): 130-137,
- Costa, S.A., Tzanov, T., Paar, A., Gadelj, M., Gubitz, G.M., Paulo, A.C., 2001. Immobilization of catalase sfrom bacillus on alumina for the treatment of textile bleaching effluents. *Enzyme Microb Technol*, (28): 815-819.

- Çakıcıoğlu, F., Böke, N., Peker, S., 1985. Kilin kuru yöntemle asit aktivasyonuna etki eden parametrelerinin incelenmesi. // **Ulusal Kil Sempozyumu**. Ankara. 187-203.
- Çalışkan, N., Armağan, N., 1987. İllit / smektit karışık katmanlı enez kilinin kristal yapısının ve asitle aktifleşmesinin incelenmesi. /// **Ulusal Kil Sempozyumu**. Ankara. 32-42.
- Çetinus, S.A., Öztop, H.N., 2000. Immobilization of catalase on chitosan film. **Enzyme Microb. Technol.**, (26): 497-501.
- Dajun, C., Xiaqin, W., Zuxin, Z., 1993. Biosensor of hydrogen peroxide using triethloxonium fluoroborate as alkylating reagent before enzyme immobilization. **Sens Actuators B.**, (13-14): 554-555.
- Dökmeci, İ., 1988. **Toksikoloji, Akut Zehirlenmelerde Tam ve Tedavi** Fatih Gençlik Vakfı Matbaa İşletmesi, İstanbul. 406.
- Ertaş, N., Timur, S., Akyılmaz, E., Dinçkaya, E., 2000. Spesifik determination of hydrogen peroxide with catalase biosensor based on mercury thin film electrodes. **Turkish J Chem.**, 6 (24): 95-99 .
- Guisan, J.M., Bastida, A., Cuesta, C, Lafuente, RF., Rosel, CM., 1991. Immobilization - stabilization of a - chymotrypsin by covalent attachment to aldehyde-agarose gels. **Biotechnol Bioeng**, (38): 144—152.
- Grangusit, W.T., Amero, R.C., 1948. Low Temperature Nitrogen Adsorption Studies Attapulgate. **J.Am. Chem. Soc**, (70): 3265-3270.
- Gregg, S.J., Sing, K. S. W., 1982. **Adsorption, surface area and porosity**, 2nd ed., Academic Press, London. 372.
- Grim, R.E., 1968. **Clay Mineralog.** 2nd edition. McGraw- Hill Book Company, Newyork. 340.
- Gündüz, T., 1990. **Enstrumentat Analiz**. Bilge Yayıncılık, Ankara. 214.
- Güngör, N., 1981. **Bentonitik kil minerallerinin yapı ve özellikleri üzerine değişebilen katyonların etkilerinin fiziksel yöntemlerle incelenmesi**. (Doktora tezi, basılmamış) İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- İpekoğlu, B., Bilge, Y., 1997. Improvement of the Bentonite Acid Activation Process, **Proceedings of the XX. Int. Mineral Processing Congress**, Aachen, Germany, 249-256.

- Jiang, B., Zhang, Y., 1993. Immobilization of catalase on crosslinked polymeric hydrogels-effect of anion on the activity of immobilized enzyme. **Eur Polyme. J.**, (29): 1251-1254.
- Kawashima, K., 1987. **Methods in Enzymology**. Academic Pres. (135): 146-153, Orlando.
- Keha, E., Küfrevioğlu, Öİ., 2005. **Enzimler, Biyokimya Kitabı**. Aktif yayınları, Erzurum. 642.
- Kennedy, Y.F., Melo, E.H.M., Jumel, K., 1990. Immobilized enzymes and cells. **Chem Eng Process**, (86): 81-89.
- Kondo, A., Murakami, F., Kawagoe, M., Higashitani, K., 1993. Kinetic and circular dichroism studies of enzymes adsorbed on ultrafine silica particles. **Appl Microbiol Bioiechnol**, (39): 726-731.
- Langmuir, I., 1918. Methods in Enzymology. **Journal of the American Chemical Socieity**, (40): 1361-1363.
- Marshall, J.J., Rabinowitz, M.L., 1976. Stabilization of catalase by covalent attachment to dextran. **Biotechnol Bioeng**, (18): 1325-1329.
- Morisseow C, Nellaizh H, Archelas A, Furgtorss R, Baratti YC (1997). Asymmetric hydrolysis of racemic para-nitrostyrene oxide vesing an epoxide hydrolase preparation from *Aspergillus niger*. **Enzyme Microbiol – Technol**. 20: 446 – 452.
- Morisseow C, Archelas A, Guitton C, Faucher D, Furtoss R, Baratti YC (1999) **Purification and characterization of a highly enantionselective epoxide hydrolase from *Aspergillus niger*** Eur. Y. Biochem. 263: 386-395.
- M.T.A., 1989. **Bentonit, Mevcut durum, Zuhurlar ve Yataklar, Potansiyel Bölgeler**. MTA Yayınları, Ankara. 320.
- Muller, S., Ruedel, HD., Stemmle, W., 1997. Determination of catalase aetiv ity at phsiological hydrogen peroxide concentrations. **Anal Biochem.**, (245): 50-60.
- Mustafaev, M.I., 1987. Studies of the reactions between polyelectrolytes and proteins by sedimentation measurement. **Analiûcal ultracentrifuge in chemistry and biology**, Dusbance. 62-85.

- Papier, E., Balard, H., Jagiello, J., Beaze, R., Clauss, F., 1992. Modification and Surface Characterization of Tale. **Chemically modified surfaces**, (12): 351-367.
- Pekin, B., (1979). **Biyokimya mühendisliği (Temel ilkeler)**. Ege üniversitesi Kimya Fakültesi yayınları No:3. İzmir. 216.
- Russel, J.D., Farmer, V.C., 1964. Bentonite activity. **Clay Minerals Bull.** (5): 443.
- Santoni, T., Santianni, D., Manzoni, A., Zanardi, S., Mascini, M., 1997. Enzyme elektrode for glucose determinatİon in whole blood. **Talanla**, (44): 1573–1580.
- Sarıkaya, Y., 1977. **Kuram ve Uygulamalarıyla Fiziko Kimya I**. Gazi Kitapevi, 1. Baskı, Ankara.515.
- Sarıkaya, Y., 2000. **Fizikokimya**. Gazi Kitapevi,3. Baskı, Ankara.1149.
- Sarıkaya, Y.; Ceylan, H., Biçer, C., Bozdoğan, İ., 1985. Killerin ağartıcı özellikleri. **II. Ulusal Kil Sempozyumu**. Ankara. 507–512.
- Saygın, A., Kayahan, M., 1984. Yerli ağartma topraklarının asitle aktifleştirilmesi ve bu toprakların renk açma etkinliklerinin saptanması üzerinde çalışmalar. **E.Ü. Müh. Fak. Yayını**. 14 (2): 664–67.
- Selli, E., D'Ambrossio, A., Bellobono, I.R., 1993. Enzymatic activity under tangential flow cantions of photochemicallygrafted membranes conyaining immobilized catalase. **Biotechnol Bioeng**, (41): 474—478.
- Serna, C.J.L., Serratos, J.M., 1975. Folding in Sepioİte Crystals. **Clays and Clay Minerals**, (35): 452–457.
- Silgia, A.Costa., Tzango, Tzanov., Artur, Covaco-Paulo., Andreas, Paar., Marika, Gudekj., Georg M, Gubitz., 2001. Immobilizatio of catalases from Bacillus SF on alumina for the tratment of textile bleaching effluents. **Enzyme and Microbial Technology** (28): 815–819.
- Spiro, MC, Criffith, PW., 1997. The mechanism of hydrogen peroxide blaching. **Text Chem Color**, (11): 29–35.
- Solas, M.T., Vicente, C, Xaver, L., Legaz, M.E., 1994. Ionic adsorption of catalaseon bioskin: kinetic and ultrastructural studies. **J Biotechnol**, (33): 63–70.

- Telefoncu, A., Tarhan, E., Pekin, B., 1981. *Biotechnol Bioeng*, (23): 31-35.
- Telefoncu, A., 1986. *Temel ve Uygulamalı Enzimoloji* Ege Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fak. Yayını (Der.), İzmir. (59):126–158.
- Urban, G., Kamper, H., Jachimowicz, A., Kohl, F., Kutner, H., Olcaytug, F., 1991. The construction of microcalorimetric biosensors by use of high resolution thin-film thermistors. *Biosens Bioelectron*, (6): 275–280.
- Vasudevan, PT., Weiland, RH., 1992. Deactivation and reactor stability. *Biotechnol Bioeng*, (41): 231–236.
- Vasudevan, P.T., Weiland, R.H., 1994. Studies on the morphology of immobilized catalase. *ChemEngJ.*, (55): 41-45.
- Vrbova, E., Peckova, J., Marek, M., 1993. Biosensor for determination of starch. *Starch*, (45): 341–344.
- Yalçın, S., Özbilge,Ö., 1985. Bentonitin asit ile aktifleştirilmesi. // *Ulusal Kil Sempozyumu Bildiriler*, Ankara. 229–250.
- Wong, S.S., 1993. *Chemistry of Protein Coujugation and Cross-Liinking*. CRC

ÖZGEÇMİŞ

1969 yılında Van’da doğdu. İlköğretim, ortaokul ve lise eğitimini Van’da tamamladı. 1986 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nü kazandı. Ve 1990 yılında mezun oldu. 1992 yılında Kars-Akyaka’da Kimya Öğretmeni olarak göreve başladı. 2005 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü’ne bağlı Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2006 yılında Uzman Öğretmen oldu.

Halen Van Selahaddin-i Eyyübi Lisesi’nde Kimya Öğretmeni olarak görev yapmaktadır. Evli ve iki çocuk annesidir.

Mehtap ERTAN