

**PEKİ NAZ ENZİMLERİ YLE PAMUKLU TEKS TİL  
ÜRÜNLERİNİN ÖN TERBİYE İŞLEMLERİNİN  
YAPILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Müh. Umut Kıvanç ŞAHİN**

**Anabilim Dalı : TEKS TİL MÜHENDİSLİĞİ**

**Program : TEKS TİL MÜHENDİSLİĞİ**

**OCAK 2003**

**PEKTİ NAZ ENZİMLERİYLE PAMUKLU TEKSTİL  
ÜRÜNLERİNİN ÖN TERBİYE İŞLEMLERİNİN  
YAPILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Müh. U Kıvanç ŞAHİN  
(503991064)**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 24 Aralık 2002  
Tezin Savunulduğu Tarih: 17 Ocak 2003**

**Tez Danışmanı : Y. Doç. Dr. Nevin Çiğdem GÜRSOY  
Diğer Jüri Üyeleri Prof. Dr. Hâbi p DAYI OĞLU (İ. T. Ü)  
Prof. Dr. Hâli l Rfat ALPAY (U. Ü)**

**OCAK 2003**

## ÖNSÖZ

Gün geçtikçe artan çevre kirliliği her alanda olduğu gibi tekstilde de çevre dostu yaklaşımların önem kazanması sonucunu getirmektedir. Yüksek ürün verimiyle reaksiyonlarda öne çıkan enzimler tamamen canlı organizmalar tarafından üretildiklerinden doğaya zararlı değildirler. Bu çalışmada tekstil ön terbiye işlemlerinde enzim kullanımdan bahsedilmiştir ve enzimlerin önerdiği gelişmeler anlatılmıştır.

Bu çalışma sırasında benden yardımlarını ve hoşgörüsünü esirgemeyen değerli danışmanım Y.Doç. Dr. Nəvin Ç. GÜRSOY'a, tez konumun belirlenmesi ve çalışmanın yürütülmesi esnasında her zaman desteğini hissettiğim Sayın Prof. Dr. Bülent ÖZİPEK'e, sonuçların değerlendirilmesi aşamasındaki katkılarından dolayı Doç. Dr. Emel ÖNDER'e, çalışmada kullanılacak olan enzimin temininde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Cevza CANDAN'a, SEM filmlerinin temini ve elde edilen fotoğrafların yorumlanması sırasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Fatma KALAOĞLU'ya ve Y.Doç. Dr. Yeşim RİDAĞ'a, çalışma planını hazırlarken kıymetli desteğini ve bilgisini benimle paylaşan Dr. Gilay ÖZCAN'a, olumlu eleştirileriyle desteğini hissettiğim Prof. Dr. Habip DAYI OĞLU'ya ve kimya konusundaki geniş bilgisini ve laboratuvar tecrübesini benimle paylaşan değerli arkadaşım Y. Kımyager Hilal BALKANLI'ya teşekkürlerimi bir borç bilirim

Saygılarımla

Aralık, 2002

Umut Kıvanç ŞAHİN

## İÇİNDEKİLER

<b>KISALTMALAR</b>	<b>viii</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>ix</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>xi</b>
<b>SEMBOL LİSTESİ</b>	<b>xiii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>xiv</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>xv</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Giriş ve Çalışmanın Amacı	1
<b>2. ENZİM</b>	<b>2</b>
2.1. Enzim	2
2.2. Enzimin Keşfi ve Tarihi	7
2.3. Enzimin Adlandırılması	9
2.4. Enzimin Sınıflandırılması	9
2.4.1. Oksido-redüktazlar	11
2.4.2. Transferazlar	11
2.4.3. Hidrolazlar	11
2.4.4. Liyazlar	11
2.4.5. İzomerazlar	12
2.4.6. Liyazlar	12
2.5. Enzim Katalizinin Mekanizması	12
2.6. Enzimde Aktif Merkez	13
2.7. Enzim Kinetiği	19
2.7.1. Kinyasal Kinetik	19
2.7.2. Enzimin Katalizlediği Reaksiyonların Kinetiği	21
2.7.2.1. Enzim Kinetiği	21
2.7.2.2. Ürün Değişiminin Zamanla Bağlılığı	22
2.7.2.3. Enzim Kinetiğinde Michaelis-Menten Bağıntısı	22
2.7.2.4. Enzim-Substrat Kompleks Oluşumunun Modelle Açıklanması	24
2.8. Enzim Aktivitesi	25
2.8.1. Enzim Aktivite Birimleri	25
2.8.2. Enzim Aktivatörleri (Kofaktörler)	26
2.8.2.1. Prostetik Grup	26

2.8.2.2. Metal Katyonları	26
2.8.2.3. Koenzimler	27
2.8.2.4. Enzimli Reaksiyon Hızlarının Kofaktörlere Bağımlılığı	30
2.8.3. Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler	30
2.8.3.1. Enzim Aktivitesine Sıcaklığın Etkisi	30
2.8.3.2. Enzim Aktivitesine Hidrojen İyon Konsantrasyonunun (pH) Etkisi	32
2.8.3.3. Enzim Aktivitesine Substrat Konsantrasyonunun Etkisi	34
2.8.3.4. Enzim Aktivitesine Enzim Konsantrasyonunun Etkisi	36
2.8.3.5. Enzim Aktivitesine İnhibitörlerin Etkisi	36
2.8.4. Enzim Aktivitesi ve Miktarı Tayini	37
2.9. Enzim İnhibisyonu	38
2.10. Enzimlerin Spesifliği	41
2.10.1. Mutlak Spesiflik	41
2.10.2. Stereokimyasal Spesiflik	41
2.10.3. Grup Spesifliği	41
2.10.4. Bağ Spesifliği	42
2.11. Enzim Türleri, Enzimatik Reaksiyonların Kontrolü ve Düzenlenmesi	42
2.11.1. Alosterik Enzimler	42
2.11.2. İzozim veya İzoenzimler	45
2.11.3. Çok Fonksiyonlu Oligomerik Enzimler	46
2.11.4. Multi-enzim Kompleksleri	46
2.12. Enzimlerin Başka Kontrol Mekanismaları	47
2.12.1. Zimogen Aktifleşmesi	47
2.12.2. Kovalent Modifikasyon	48
2.12.3. Hormonlar	48
2.13. Enzimlerin İmmobilizasyonu	48
<b>3. ENDÜSTRİDE ENZİM KULLANIMI</b>	<b>50</b>
3.1. Biyoteknoloji Tanımları	51
3.2. Tekstil Endüstrisinde Biyoteknoloji	51
3.3. Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Enzimler	53
3.3.1. Anilazlar	53
3.3.2. Selülazlar	54
3.3.3. Pektinazlar	55
3.3.3.1. Pektinin Yapısı	55
3.3.3.2. Pektik Enzimlerin Sınıflandırılması	55

3.3.3.3. Pektinazların Kullanım Alanları	57
3.3.4. Proteazlar	58
3.3.5. Lipazlar	59
3.3.6. Katılaşmalar	59
3.4. Enzimlerin Tekstil Dışındaki Kullanım Alanları	60
3.4.1. Deterjanlar ve Enzimler	60
3.4.2. Kemoterapi ve Enzimler	60
3.4.2.1. Anti metabolitler	60
3.4.2.2. Antibiyotikler	61
3.4.3. Gıda Biyoteknolojisi ve Enzimler	62
3.4.4. Bira ve Şarap Biyoteknolojisi ve Enzimler	62
3.4.5. Hayvan Yemi Biyoteknolojisi ve Enzimler	64
3.4.6. Odun ve Kağıt Biyoteknolojisi ve Enzimler	64
3.4.7. AR-GE'de ve Tarımda Enzimler	65
<b>4. PAMUKLU MAMULLERİN BİTİMİŞLEMLERİNDE ENZİM KULLANIMI</b>	<b>66</b>
4.1. Pamuk	66
4.1.1. Pamuk Liflerinin Morfolojik Yapısı	66
4.1.2. Pamuk Elyafının Özellikleri	67
4.1.2.1. Pamuk Elyafının Fiziksel Özellikleri	67
4.1.2.2. Pamuk Elyafının Kimyasal Özellikleri	67
4.2. Haşıl Sökme İşlemleri	73
4.2.1. Haşıl Maddeleri ve Sınıflandırılması	73
4.2.2. Enzimatik Haşıl Sökme İşlemleri ve Amilaz Enzimi	74
4.3. Hidrofilleştirme İşlemleri	75
4.3.1. Hidrofilleştirme İşlemlerinde Enzim Kullanımı	75
4.3.2. Alkali ile İşlem	77
4.3.3. Hidrofilleştirme İşlemlerinde Kullanılan Enzimler	77
4.3.3.1. Lipaz Enzimi	77
4.3.3.2. Proteaz Enzimi	78
4.3.3.3. Selülaz Enzimi	78
4.3.3.4. Pektinaz Enzimi ve Deneysel Çalışmalar	79
4.4. Biyo-Parlatma İşlemleri	89
4.4.1. Biyo-parlatma İşlemi	89
4.4.2. Pamuğun Enzimatik Hidrolizi	89

4.4.3. Bıyo-parlatma İşlemlerinde Kullanılan Selülaz Enzimleri	91
4.4.3.1. Selülaz Enzimlerinin Yapısı ve Deneysel Çalışmalar	91
4.5. Ağartma Flotellerinden Peroksit Uzaklaştırma İşlemleri	97
4.5.1. Peroksit Giderme Yöntemleri	98
4.5.1.1. Durulama ile Peroksit Giderme	98
4.5.1.2. İndirgen Kimyasallar ile Peroksit Giderme	98
4.5.1.3. Anti peroksit Enzimi ile Peroksit Giderme	98
4.5.2. Anti peroksit Enzimleri	100
4.5.2.1. Katilaz Enzimleri	100
4.6. Denim Mamullerinin Yıkama İşlemleri	101
4.6.1. Denim Kumaş Yapısı	101
4.6.2. Denim Yıkamada Kullanılan Enzimler	102
4.6.3. Çeri Boyama	102
<b>5. GHAZ ve MALZEMELER</b>	<b>105</b>
5.1. G hazırlar	105
5.1.1. Su Banyosu	105
5.1.2. pH Metre	105
5.1.3. Isıtıcıli Manyetik Karıştırıcı	105
5.1.4. H üv	106
5.1.5. Tartı	106
5.1.6. SEM	106
5.2. Malzemeler	106
5.2.1. Kumaş	106
5.2.2. Kimyasal Maddeler	107
<b>6. DENEYSEL ÇALIŞMA</b>	<b>108</b>
6.1. Pektinaz Enzimiyle Hidrofilleştirme	108
6.2. Testler	109
6.2.1. Su Emiciliği ve Ağırlık Kaybı	109
6.2.2. Selüloz, Pektin, Protein, Yağ ve Vaks Miktarlarının Kalitatif Analizi	109
6.2.3. SEM	109
6.3. Deneysel Dizayn	109
<b>7. SONUÇLAR</b>	<b>112</b>
7.1. Ön Denemeler	112

7.2 Su Emiciliği ve Ağırlık Kaybı	116
7.3 Selüloz, Pektin, Protein, Yağ ve Vaks Miktarlarının Kalitatif Analizi	124
7.4 SEM ile Lif Yapısının İncelenmesi	125
<b>8. TARTIŞMA</b>	<b>128</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>130</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>133</b>



## KISALTMALAR

APSU	: Enzim konsantrasyonu birimi
ATP	: Adenin trifosfat
[A], [P], [E], [S]	: Konsantrasyonlar
CBD	: Selülöz Bağlayıcı Bölge
CBH	: Sellülozohidrolaz
Co Q Co A	: Koenzimler
DNA	: Deoksiribonükleik asit
E	: Enzim
EC	: Enzim kodu
EG	: Endoglukonaz
EK	: Enzimkoenzim kompleks
EK P	: Enzimkoenzim ürün kompleks
EKS	: Enzimkoenzim substrat kompleks
Emicilik	: Süemicilik
E-S	: Enzimsubstrat kompleks
ESI	: Enzimsubstrat inhibör kompleks
FAD	: Flavinden adenin dinükleotit
FMN	: Flavinden mononükleotid
F O	: Flotasyon
GTP	: Guanin trifosfat
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
I	: İnhibör
IP	: İzoelektrik nokta
IU	: Spesifik aktivite
LDH	: Laktat dehidrogenaz
MA	: Molekül ağırlığı
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
PAL	: Pektinli yaz
PE	: Pektin esterase
PG	: Poligalakturonaz
PGH	: Poligalakturonat hidrolaz
PGL	: Poligalakturonat liyaz
PL	: Pektinli yaz
PMG	: Polinetal galakturonaz
PMGL	: Polinetal galakturonaz liyaz
RNA	: Ribonükleik asit
S, S'	: Substratlar
SEM	: Tarayıcı elektron mikroskopu
SPSS	: Sosyal bilimlerin istatistiksel paket programı
TPP	: Tiamin pirofosfat

## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 2.1.</b> Enzimisi mleri ne örnekler.....	9
<b>Tablo 2.2.</b> Enzimlerin sınıflandırılması.....	10
<b>Tablo 2.3.</b> Kofaktör olarak metal iyonu ihtiva eden bazı enzimler.....	27
<b>Tablo 2.4.</b> Grup transferi gerçekleştiren koenzimler.....	28
<b>Tablo 3.1.</b> Bakteriye l α-amilazların özellikleri.....	54
<b>Tablo 3.2.</b> Selülaz enzimlerinin özellikleri.....	54
<b>Tablo 3.3.</b> Mikrobiyal pektinazların özellikleri (asidik pektinazlar).....	57
<b>Tablo 3.4.</b> Mikrobiyal pektinazların özellikleri (alkali pektinazlar).....	58
<b>Tablo 3.5.</b> Bazı önemli proteaz sınıfları.....	58
<b>Tablo 3.6.</b> Mikrobiyal lipazların özellikleri.....	59
<b>Tablo 3.7.</b> Gıda biyoteknolojisinde enzimler.....	63
<b>Tablo 3.8.</b> Bira ve şarap biyoteknolojisinde enzimler.....	64
<b>Tablo 3.9.</b> Hayvan yemi biyoteknolojisinde enzimler.....	64
<b>Tablo 3.10.</b> Odun ve kağıt biyoteknolojisinde enzimler.....	65
<b>Tablo 3.11.</b> AR-GE’de ve tarımda kullanılan enzimler, işlevleri ve uygulamaları.....	65
<b>Tablo 4.1.</b> Pamuk lifinin kimyasal yapısı.....	66
<b>Tablo 4.2.</b> Pamuk elyafının önemli fiziksel özellikleri.....	68
<b>Tablo 4.3.</b> Pamuk elyafının önemli kimyasal özellikleri.....	70
<b>Tablo 4.4.</b> Amilaz çeşitleri, etkili oldukları pH aralıkları ve sıcaklık bölgeleri.....	74
<b>Tablo 4.5.</b> Farklı işlemlere göre pamuk liflerinin mikroskopik yüzey özellikleri.....	85
<b>Tablo 4.6.</b> Pad-steamyöntemine göre enzimatik ve alkali yıkamanın karşılaştırılması.....	86
<b>Tablo 4.7.</b> Jet boyama aparatında enzimatik ve alkali yıkamanın karşılaştırılması.....	86
<b>Tablo 4.8.</b> Proteaz enzimleri ve özellikleri.....	88
<b>Tablo 6.1.</b> Sabit parametreler.....	110
<b>Tablo 6.2.</b> Kodlanmış olarak tam faktöriyel deneysel tasarım.....	110
<b>Tablo 7.1.</b> Değişken parametreleri n-1, 0, +1 seviyeleri.....	116
<b>Tablo 7.2.</b> Elde edilen emicilik ve ağırlık kaybı değerleri.....	116

<b>Tablo 7.3</b>	Verilere uygulanan MANOVA istatistiksel analiz testinin sonuçları.....	119
<b>Tablo 7.4</b>	Enzim miktarı 0,15 g/l dduğunda yüzeyaktif madde miktarının emiciliğe etkisi.....	120
<b>Tablo 7.5</b>	Yüzeyaktif madde miktarının emiciliğe etkisinin ANOVA istatistiksel yöntemiyle değerlendirilmesi.....	120
<b>Tablo 7.6</b>	Yüzeyaktif madde miktarı ile emicilik arasındaki ilişkinin üstel fonksiyon olarak ifadesi .....	121
<b>Tablo 7.7</b>	Enzim ile emicilik arasındaki ilişkinin üstel fonksiyon olarak ifadesi.....	122
<b>Tablo 7.8</b>	İstatistiksel olarak en iyi ürün özelliğini veren numunenin muamele değerleri .....	124

## ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1 : Bir kimyasal reaksiyonun katalizlenmiş ve katalizlenmemiş halleri için enerji diyagramı.....	6
Şekil 2.2 : Enzim-substrat etkileşimini gösteren şematik gösterimi.....	14
Şekil 2.3 : Bir aktif merkezin şematik gösterimi.....	15
Şekil 2.4 : Esnek bir aktif merkezin şematik gösterimi.....	16
Şekil 2.5 : Enzim kendi substratına karşı stereospesifliğini gösteren şematik olarak gösterimi.....	18
Şekil 2.6 : Sınetrik substrat moleküllerinde stereospesiflik.....	19
Şekil 2.7 : Enzimkinetiğinde [S]»[E] olması durumunda [P]-zaman grafiği.....	22
Şekil 2.8 : Enzim olarak katalizlenen bir reaksiyonun hızına substrat konsantrasyonunun etkisi.....	23
Şekil 2.9 : Enzimkatalitik bir tepkinin üzerine sıcaklığın etkisi.....	32
Şekil 2.10 : Enzimaktivitesine pH'nın etkisi.....	33
Şekil 2.11 : pHdeğişimlerinde enzimlerin aktivite durumları.....	34
Şekil 2.12 : Substrat konsantrasyonunun sabit miktarda enzimle katalizlenen bir reaksiyonun hızına etkisi.....	35
Şekil 2.13 : Enzimve substratın birbirlerine göre konsantrasyonlarının şematik gösterimi.....	35
Şekil 2.14 : Enzimkonsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisi.....	36
Şekil 2.15 : Yarışmalı ve yarışmasız inhibisyonların şematik gösterilişi.....	39
Şekil 2.16 : Allosterek enzimlerin aktifliklerini ardışık bir şekilde değişmesi.....	44
Şekil 2.17 : Homotropik allosterek enzimlerin v-[S] eğrileri.....	44
Şekil 2.18 : Heterotropik allosterek enzimlerin v-[S] eğrileri.....	45
Şekil 2.19 : Enzimimmobilizasyonu yöntemleri.....	49
Şekil 3.1 : Doğada bulunan penisilinlerin R-gruplarıyla birbirinden farklılaşması.....	62
Şekil 4.1 : Nişastanın enzimatik parçalanması.....	75
Şekil 4.2 : Basitleştirilmiş bir pektin polimerine pektinolitik enzimlerin etkisi.....	80
Şekil 4.3 : pHve sıcaklığın fonksiyonu olarak kuşak üzerinde kalan artıkkpektin.....	80
Şekil 4.4 : 60°C pH= 9,2' de 30 dakika reaksiyon süresi sonunda (% artıkkpektinin, enzim konsantrasyonuna etkisi.....	81
Şekil 4.5 : Enzimkonsantrasyonu ile hidrofilitik arasındaki ilişki.....	81
Şekil 4.6 : Pektinaz ile primer çeperdeki pektinin hidrolizi.....	82
Şekil 4.7 : Selülaz ile işleme.....	83

<b>Şekil 4 8</b>	: Pektinaz ile işle m.....	84
<b>Şekil 4 9</b>	: Kal an pekti n yüzdesi ile süre arası ndaki ilişki.....	85
<b>Şekil 4 10</b>	: Hidrofillik ile işle msüresi arası ndaki ilişki.....	86
<b>Şekil 4 11</b>	: B yol oji kişle mile alkali işle msonrası boyan mş ku maşları n K S değerleri .....	87
<b>Şekil 7.1</b>	: Isıtıcı lı manyetik karıştı rıcı da yüzeyaktif madde ni ktarı = 0,27 g/l ve enzi m ni ktarı = 0,15 g/l işle mkoşulları nda işle msüresi ile emicilik arası ndaki ilişki.....	112
<b>Şekil 7.2</b>	: Isıtıcı lı manyetik karıştı rıcı da yüzeyaktif madde ni ktarı = 0,27 g/l ve enzi m ni ktarı = 0,3 g/l işle mkoşulları nda işle msüresi ile emicilik arası ndaki ilişki.....	112
<b>Şekil 7.3</b>	: Isıtıcı lı manyetik karıştı rıcı da yüzeyaktif madde ni ktarı = 11 g/l ve işle msüresi = 30 dak işle mkoşulları nda enzi m ni ktarı ile emicilik arası ndaki ilişki.....	113
<b>Şekil 7.4</b>	: Isıtıcı lı manyetik karıştı rıcı da enzi m ni ktarı = 0,6 g/l ve işle m süresi = 20 dak işle mkoşulları nda yüzeyaktif madde ni ktarı ile emicilik arası ndaki ilişki.....	113
<b>Şekil 7.5</b>	: Isıtıcı lı manyetik karıştı rıcı da yüzeyaktif madde ni ktarı = 80 g/l ve işle msüresi = 20 dak işle mkoşulları nda enzi m ni ktarı ile emicilik arası ndaki ilişki.....	114
<b>Şekil 7.6</b>	: Isıtıcı lı manyetik karıştı rıcı da yüzeyaktif madde ni ktarı = 160 g/l ve işle msüresi = 20 dak işle mkoşulları nda enzi m ni ktarı ile emicilik arası ndaki ilişki.....	114
<b>Şekil 7.7</b>	: Isıtıcı lı manyetik karıştı rıcı da enzi m ni ktarı = 0 g/l ve işle m süresi = 30 dak işle mkoşulları nda yüzeyaktif madde ni ktarı ile emicilik arası ndaki ilişki.....	115
<b>Şekil 7.8</b>	: Isıtıcı lı manyetik karıştı rıcı da enzi m ni ktarı = 0,15 g/l ve işle msüresi = 20 dak işle mkoşulları nda yüzeyaktif madde ni ktarı ile emicilik arası ndaki ilişki.....	116
<b>Şekil 7.9</b>	: Yüzeyaktif madde ni ktarı ile emicilik arası ndaki üst el fonksi yon ilişki si.....	121
<b>Şekil 7.10</b>	: Yüzeyaktif madde ni ktarı ile emicilik arası ndaki li neer ilişki ..	122
<b>Şekil 7.11</b>	: Enzi mile emicilik arası ndaki li neer ilişki.....	122
<b>Şekil 7.12</b>	: Enzi mile emicilik arası ndaki üst el fonksi yon ilişki si.....	123
<b>Şekil 7.13</b>	: H a m ku maş nu munesi ni n SEMaltı ndaki lif gör ünüşü.....	125
<b>Şekil 7.14</b>	: İstatisti ksel d arak en iyi ürün özelli ği veren nu muneni n SEM altı ndaki lif gör ünüşü .....	126
<b>Şekil 7.15</b>	: İstatisti ksel d arak en köt ü ürün özelli ği veren nu muneni n SEMaltı ndaki lif gör ünüşü .....	126

## SEMBOL LİSTESİ

$\Delta G$	: Reaksiyonun serbest enerji değişimi
$\Delta G^*$	: Aktivasyon enerjisi değişimi
$G_1, G_2, G_3$	: Sakkarit çeşitleri
$I_1, N, S_1, S_2$	: Enzimlerin kod numaraları
$k$	: Boltzmann sabiti (reaksiyonun hız sabiti)
$K$	: Denge sabiti
$k_1, k_2, k_3$	: Reaksiyonların hız sabitleri
$k_i$	: İnhibitör sabiti
$K_M$	: Michaelis sabiti
$L$	: C E L*a*b koordinat sisteminde açıklık değeri
$R$	: Evrensel gaz sabiti
$T$	: Mutlak sıcaklık
$v$	: Reaksiyon hızı
$V_{max}$	: Enzimin katolitik aktivitesini gösteren maksimum hız değeri

## ÖZET

Gün geçtikçe artan çevre kirliliği her alanda olduğu gibi tekstilde de çevre dostu yaklaşımların önem kazanması sonucunu getirmektedir. Geleneksel yöntemlerle yapılan ön terbiye işlemlerinde kullanılan kimyasallar çevreye zararlı atıklar oluşturmaktadır. Bu kimyasalların yerine alternatif maddeler üretilmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla canlı organizmalar tarafından üretilen enzimlerin kullanımı gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır.

Bu çalışmada belirli bir kumaş tipi için pektinaz enzimiyle, 1 saniye ve altında su emiciliği sağlayan hidrofilleştirme şartlarının istatistiksel olarak incelenmesi ve en uygun şartların seçilmesi hedeflenmiştir. İlk olarak literatürde yer alan ve enzim miktarının kumaş ağırlığına oranının %0.6 olduğu optimum durumu için istenen emiciliği sağlayan yüzey aktif madde miktarının belirlenmesi amacıyla çok sayıda ön deneyler gerçekleştirilmiştir. Bu ön deneyler sonucunda 150 g/l yüzeyaktif madde miktarı ve 20 dakika işlem süresinin belirtilen enzim miktarı seviyesinde istenen emiciliği sağlayan minimum değerler olduğu tespit edilmiştir. Buna göre yapılan deneysel dizaynda yüzeyaktif madde ve enzim miktarları ile işlem süresi değişken parametreler; kumaş ağırlığı, flotte oranı, işlem sıcaklığı ve pH ise sabit parametreler olarak alınmıştır. Yapılan her deney 3 kez tekrarlanmış olup deney sonucu elde edilen emicilik ve ağırlık kaybı değerleri sosyal bilimler için istatistiksel paket programı (SPSS) kullanılarak lineer regresyon yöntemiyle değerlendirilmiştir.

Değerlendirme sonucunda, yüzeyaktif madde miktarı dışındaki diğer iki değişken parametrenin su emiciliği ve ağırlık kaybı üzerine etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Ancak çalışılan enzim seviyelerinin birbirine çok yakın olmasının bu neticede etkili olduğu düşünülmektedir. Zira değişken parametrelerin her bir seviyesi için diğer iki parametrenin emiciliğe etkisi incelendiğinde istatistiksel olarak en iyi ürün özelliği gösteren numunenin yüzeyaktif madde ve enzim miktarı olarak seçilen orta seviyelerde işlem gören numune olduğu görülmüştür.

## **PRE-TREATMENT OF COTTON FABRIC USING PECTINASE**

### **SUMMARY**

Environmental pollution is increasing day by day and as in many other fields, ecologically friendly approaches are getting more important in textile industry. Chemicals used in traditional pretreatment processes in textile industry are causing environmentally harmful effluent. Alternative materials are being produced instead of those chemicals used traditionally. For this purpose, use of enzymes of organic origin has been spreading.

The target of this study is statistically evaluating the hydrophilisation conditions that provide water absorbency of 1 second or less and choosing the best conditions. Firstly, preparatory experiments are made to find the amount of surfactant that will be used to provide the desired water absorbency with the given amount of enzyme that is %0.6 on weight of fabric as in literature. Minimum values are found as 150 g/l for surfactant and 20 minutes of treatment time. In experimental design according to this values, variables are surfactant (g/l), enzyme (g/l) and treatment time where constants are sample fabric weight, bath ratio, working temperature and pH. All experiments are repeated 3 times and water absorbency and weight loss values are evaluated with linear regression method using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS).

The results of the statistical evaluation shows that there is no statistically significant effect of enzyme and treatment time on water absorbency and weight loss. But, we suppose, this is because of the very closely chosen enzyme levels. When the effect of two of the variables are evaluated while the third is hold constant for every level, it's seen that statistically best results are gained when zero levels of surfactant and enzyme are used.



## **BÖLÜM 1. GİRİŞ**

### **1.1 Giriş ve Çalışmanın Amacı**

Enzimlerle ilgili biyoteknolojik ilerleme çok hızlı olup dünya çapında da büyük ilgi çekmektedir. Günümüzde selülozlar, hemiselülozlar ve pektinazlar başta olmak üzere enzimler; gıda, bira ve şarap, hayvan yemi, tekstil ve yıkama, ağaç ve kağıt endüstrisinde olduğu kadar AR-GE alanında da kullanılmaktadır. Bu uygulamaların bazılarında enzimlerin biri ya da ikisi tercih edilirken bazılarında ise azami yarar sağlamak için bunların karışımına ihtiyaç duyulmaktadır. Biyokimya, genetik ve protein yapılar hakkında olduğu kadar bakterilerden ve mantarlardan elde edilen selülozozomiyeren selülozlar ve ilgili enzimler hakkında bugün ulaştığımız gelişmeler, bunlar hakkında tahminlerin ortaya atılmasına ve beklentilerin oluşmasına sebep olmuştur. Ayrıca, selüloz sistemlerindeki selüloz bağlayıcı bölge (CBD) gibi katalitik olmayan yapıların ve *Trichoderma reesei*'den elde edilen selülobiyohidroaz öncüllerinin ve ilgili enzimlerin gelecekte biyoteknoloji ve araştırma alanlarında anahtar role sahip olacakları şüphesizdir. Bu sebeple, enzimlere olan talebi karşılamak ve bunların biyoteknolojideki ve araştırmalarındaki potansiyellerini tamamen kavramak için temel ve uygulamalı alanlardaki çokdisiplinli araştırmalara devam edilmesi hayati önem taşımaktadır. Bu gelişmelerle birlikte artan bilimsel bilgilerin 21.yy'da enzim biyoteknolojisinde büyük başarıların yolunu açması beklenmektedir.

Bu çalışmanın amacı, pamuklu örnek kumaşların hidrofilleştirilmesinde pektinaz enzimi kullanımının faydalarının ortaya konması ve deneyler sonucunda kullanılan pektinaz enzimi için optimum reçetenin elde edilmesidir. Böylece, sert kimyasallarla yapılan klasik hidrofilleştirme işlemi yerine çevre dostu bir alternatif madde önerilmesi amaçlanmaktadır.

## BÖLÜM2. ENZİMLER

### 2.1 Enzim

Enzimler, canlı organizmalardaki kimyasal reaksiyonları hızlandıran ve hiçbir yan ürün oluşmasına fırsat vermeden %100'e yakın bir reaksiyon verimi sağlayan biyolojik katalizörlerdir [1].

Doğal reaksiyonlar, laboratuvar koşullarındaki 100-1000000 kez daha hızlı gerçekleşmektedir (bir sınırlı impulsun aktarılmasının saniyenin 1-3 milyonda 1'i süresinde meydana geldiği kabul edilmektedir). Eğer laboratuvar koşullarındaki reaksiyonlar yüksek hızlarda yapılmak isteniyorsa şiddetli reaksiyon koşulları gereklidir. Yüksek sıcaklıklar, etkili yükseltgenme ve indirgenme ajanları ve/veya kuvvetli asitler ve bazlar gibi şiddetli koşullar canlılar için öldürücüdür. Doğal reaksiyonlar vücut sıcaklığında (35°C civarında) ve pH seviyesinde (pH ~ 7 civarı) meydana gelirler ve bu koşullar altında reaksiyonu etkilemek için hücre tarafından kullanılan yüksek verimdeki ve spesifik katalistlere "enzim" denir. Bilindiği gibi bir katalist reaksiyonda tükenmeden (harcanmadan) bir kimyasal reaksiyonun hızını arttıran maddedir. Tersinir bir reaksiyonda dengenin pozisyonunu etkilemez, sadece dengeye ulaşma hızını artırır. Enzimcanelerin hücreleri tarafından üretilen karışık bir organik katalizör olarak da tanımlanabilir[2].

Enzimler, düşük hızda olan reaksiyonları katalizörler ve reaksiyonun dengesini değiştirme işinin katalitik aktivite gösterirler. Enzimlerin katalitik özellikleri bir çok etki nedeniyle yavaşlayabilir, katalitik aktivite kaybedilebilir. Isı, kuvvetli asit ve bazlar, denatüre edici ajanlar aktivitenin kaybına neden olurlar [3].

Enzimlerin molar kütleleri yaklaşık 12000 ile birkaç milyon arasında değişir. Birkaç enzim yalnızca peptitten veya çok fazla peptit zincirinden meydana gelmiştir. Diğerlerinde katalitik etkileri için gerekli olan kimyasal bileşenler vardır. Bunlara kofaktör denir. Kofaktörler ya bir metaldir ( $Mg^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Fe^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ,...) ya da kompleks bir organik moleküldür. Kofaktörler birçok enzimin protein kısmına

bağlıdır. Bu durumda kofaktör prostetik grup olarak adlandırılır. Kofaktörlerin nispeten az sayılı ya da dayanıklı kısmı molarlarına karşın protein kısmı nispeten az sayılı ya da dayanıklıdır [1, 4].

Tüm enzimler proteindirler. Pepsin, tripsin ve ribonükleaz gibi bazı enzimler tamamen aminoasit birimlerinden oluştuğundan basit proteinlerdir. Fakat diğerleri protein olmayan kısımlar içerirler ve bu yüzden konjuge (birleşik) proteinlerdir. Bir konjuge protein enziminin (holoenzim) farklı bileşenlerine istinaden birçok terim yaygın olarak kullanılmaktadır. Enzimin polipeptit kısmına “Apoenzim” denir. Enzimden ayrılabilen protein olmayan organik kısma “koenzim” denir (Bazı yazarlar koenzim terimini enzimden kolayca ayrılabilen maddeler için kullanmaktadırlar. Eğer madde enzimin protein kısmına sıkıca bağlanmışsa “prostetik grup” adını alır. Bu çalışmada prostetik grup konjuge proteinin protein olmayan kısmı olarak tanımlanmıştır. bu açıdan bakıldığında koenzim spesifik bir prostetik grup örneğidir). Apoenzim kendi başına katalitik olarak işlevsizdir fakat koenzim eklendiğinde aktiflik kazanır. Metal iyonunun ( $Mg^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$  gibi) apoenzime ya da koenzime bağlandığı birçok metaloprotein enzim vardır. Metal iyonu genellikle enzim aktivatörü olarak adlandırılır. Metal iyonunun enzime substrat arasında koordinasyon kompleksi oluşturduğu ve elektron kaymalarını (değişimlerini) artırarak substratı aktive ettiği kabul edilmektedir [3].

$$\text{Koenzim (prostetik kısım)} + \text{Apoenzim (Protein kısım)} = \text{Holoenzim} \quad (2.1)$$

Enzimlerin çoğu üretildikleri hücrede iş gördüklerinden “hücre içi” enzimler adını alırlar. Eğer enzimin katalitik aktivite alanı (nide özsuyunda olduğu gibi) kendisini üreten yapının dışında ise bu enzim “hücre dışı” enzim olarak adlandırılır. Enzimin çalışmasını klasik katalist tanımlarından ayırt etmek için sukrozun hidrolizi güzel bir örnektir. Eğer bakteri ve küfler katılmazsa su içindeki bir sukroz çözeltisi fark edilebilir bir seviyede hidrolize uğramadan korunabilir. Eğer HCl eklenirse ve reaksiyon karışımı ısıtılırsa hidroliz meydana gelir ve glukoz ve fruktöz oluşur. Eğer asidin yerine invertaz (sukraz) enzimi ilave edilirse reaksiyon çok daha yüksek bir hızda meydana gelir ve çözelti nispeten az ısıya gereksinim duymaz. Dahası HCl laktözün ve maltözün da hidrolizini katalizler ancak invertaz sadece sukroz için spesifiktir ve herhangi bir diğer sakkaritin hidrolizini katalizlemez. Katalitik RNA moleküllerinin küçük bir grubu hariç, bütün enzimler protein yapısındadır. Proteinlerin en büyük ve özelleşmiş grubunu teşkil ederler [1, 3].

Enzimlerin önemli özellikleri şunlardır;

1. Etki koşulları dar sınırlıdır. Yaşam ve canlılık hücre içindeki etkinliklerin ve koordinasyonun bütünüdür. Bu, sıcaklık, pH, iyon şiddeti, osmotik basınç gibi fiziksel değişkenlerin oldukça dar sınırları içinde meydana gelen bir olgudur. Bu olguyu meydana getiren kimyasal reaksiyonların katalizörleri olan enzimler de etkinliklerini aynı dar sınırlar içinde gösterirler.

2. Katalitik etkinlikleri kimyasal katalizörlerinden çok fazladır ( $10^6$ - $10^{16}$  kat olabilir). Bu etkinlik sabit olmayıp metabolizmanın gidişine göre azalabilir ya da çoğalabilir.

3. Yan ürünler meydana gelmez. Organik kimyasal reaksiyonlarda az veya çok keskinlikle yan ürün meydana gelir. Enzim reaksiyonlarında ise hiç yan ürün meydana gelmez, verim %100'dür. Aksi halde örneğin milyonda bir mertebesinde ürün meydana gelseydi, bu zamanla birikerek yaşamın gidişini olumsuz yönde etkileyecekti.

4. Enzim ve substrat moleküllerinin oranı: Enzimlerle reaksiyon veren maddelere substrat denir. Kimyasal katalizörlerin aksine, substrat molekülleri enzimlerden (yani katalizörlerden) çok daha küçüktür. Enzimler nükleik asit, protein gibi büyük polimer moleküllere de etkileyebilir. Bu gibi durumlarda da yine enzimin etki ettiği bölge polimerin küçük bir kısmıdır.

5. Özgüllük (Spesiflik): Enzimler sadece bir substrata veya aynı fonksiyonlu grubu olan substrat serisine karşı etkindirler. Molekülü yakın olsa bile bunun dışındaki maddelere karşı etkinlik göstermezler. En basit hücrede bile aynı anda çok sayıda biyokimyasal reaksiyon meydana gelir. Buna göre hücrede çok çeşitli sayıda enzimin bulunması dağandır.

6. Bağlanma yeri ve aktif merkez: Enzim molekülü büyük olmakla birlikte, substrat bunun her yerine değil, "aktif merkez" denilen özel bir yere bağlanır ve biyokimyasal reaksiyon burada meydana gelir. Aktif merkezdeki enzim ve substratın geometrileri birbirine uygundur ve aralarında anahtar-kilit ilişkisine benzer bir ilişki vardır. Bu yolla geometrik olduğu kadar optik stereospesiflik de meydana gelir. Aktif

merkezde reaksiyonu yürüten çeşitli -COOH, -OH, -SHi ni dozol hal kasi gibi gruplar bulunur.

7. Biyokimyasal reaksiyonlarda da termodinamik yasaları geçerlidir. Biyokimyasal reaksiyonlarda kimyasal reaksiyonlar gibi;

a) Dengeli reaksiyon,

b) Kinetik reaksiyon şeklinde olabilir.

Dengeli reaksiyonlarda,  $\Delta G$  reaksiyon serbest enerji değişimi ve K denge sabiti olmak üzere;

$$\Delta G = -RT \ln v \quad (2.2)$$

eşitliği mevcuttur.

Kinetik reaksiyonlarda  $\Delta G^*$  aktivasyon enerjisi,

$$\Delta G^* = RT \ln kT/h - RT \ln v' \text{ dir.} \quad (2.3)$$

Burada;

$\Delta G$  Reaksiyon serbest enerji değişimi,

$\Delta G^*$ , Aktivasyon enerjisi değişimi,

R, Evrensel gaz sabiti,

T, Mutlak sıcaklık,

k, Boltzmann sabiti,

K, Denge sabiti,

v, Reaksiyon hızıdır [4].

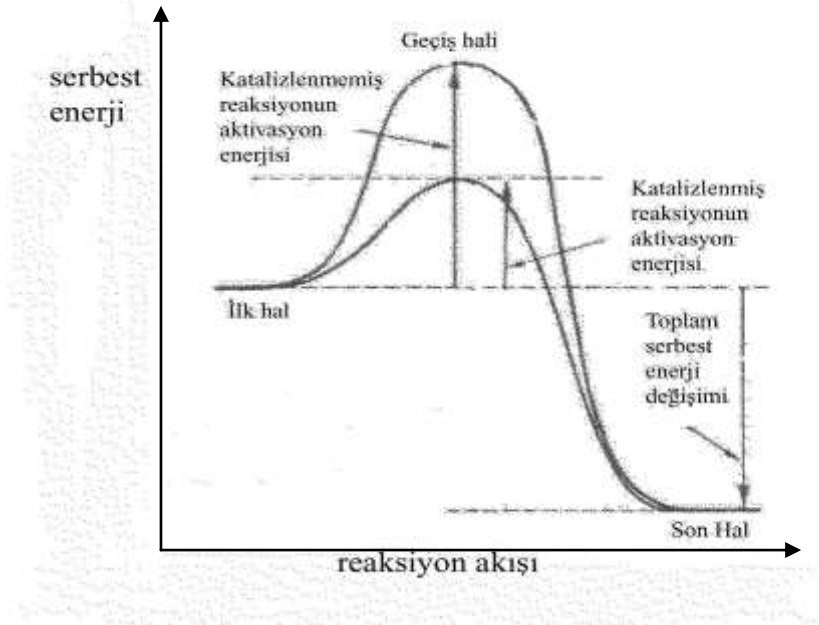
Reaksiyonun enerji diyagramı Şekil 2.1'de gösterilmiştir.

Reaksiyona giren maddelerin ürüne çevrilmeleri için bir enerji engelini aşmaları gerekmektedir. Bu enerji engelini "aktifleştirme enerjisi" denir ve belli sıcaklıkta 1

mol reaktanın aktifleşmiş durum kazanması için gerekli enerji miktarı olarak tarif edilir [1].

Genelde kimyasal reaksiyonlar  $25^{\circ}\text{C}$ ta (veya  $298^{\circ}\text{K}$  de) tanımlanır ve buna standart reaksiyon denir. Biyokimyasal reaksiyonlar genellikle  $37^{\circ}\text{C}$ ta gerçekleştiğinden bunlarla ilgili reaksiyon serbest enerjisi  $\Delta G$  ve aktivasyon enerjisi de  $\Delta G^{*}$  ile gösterilir [4].

Her kimyasal reaksiyonda aktifleşme engelini n üst noktasına karşılık gelen “geçiş hali” veya “geçiş kompleksi” adı verilen ve etkileşen moleküllerin enerjice zengin hallerini gösteren bir durum vardır [1].



Şekil 2.1 Bir kimyasal reaksiyonun katalizlenmiş ve katalizlenmemiş halleri için enerji diyagramı

Reaksiyon hızı geçiş kompleksi konsantrasyonu ile orantılıdır. Sıcaklığın yükseltilmesi; termik hareket ve enerjiyi arttıracığından geçiş kompleksi konsantrasyonu yükselecek ve bunun sonucu olarak da reaksiyon hızlanacaktır [1].

Katalizörlerin reaksiyon hızları üzerine etkileri aktivasyon enerjisini azaltmak şeklindedir. Reaktanlarla daha düşük enerjili bir geçiş kompleksi oluşturarak daha çok sayıda ürünün oluşumunu sağlarlar. Reaksiyonlardan sonra katalizörde hiçbir değişiklik olmaz [1].

8. Geçiş hali ve aktif kompleks: Enzim reaksiyonlarında, substrat ürüne dönüşürken “enzim-substrat kompleksi” üzerinden geçtiği kabul edilir. Şekil 2’de aktif kompleks, eğrinin enerjisinin en yüksek olduğu tepe noktasına karşılıktır. Aktif merkezin substrata çok uygun geometride olması, uygun yön ve açı da bulunması, enzim-substrat kompleksinin oluşması işini çok kolaylaştırır ki bu etki  $\Delta G$  nin yaklaşık 10 kat küçülmesini; yani reaksiyon hızlarının yüz milyon kat artmasını sağlar. Bundan başka aktif komplekste gerginlik meydana gelir ki, ürüne dönüşürken bu gerginliğin giderilmesi de reaksiyon hızının arttırılmasına katkıdır [4].

Aktivasyon terimi hem koenzimlerin hem de metal iyon aktivatörlerinin rollerini içermektedir. Genel olarak inaktif bir proteinin aktif bir enzime dönüştürüldüğü herhangi bir işlemi belirtmektedir. Basit protein enzimlerinin çoğu “proenzim” ya da “zimogen” olarak bilinen inaktif halde salgılanmaktadır. Pepsinogen ve tripsinogen de dikkatlice incelenen bu tür bileşiklerdir. Bu proenzimler, proenzim molekülündeki bir inhibitör peptidin başka enzimin etkisiyle uzaklaştırılması sonucu aktif enzimler olan pepsin ve tripsin dönüşmektedirler. Tripsinogenin aktivasyonunda molekül den bir heksapeptit koparılarak yeni protein tripsinin katalitik aktivitesi için gerekli olan yapıya (konformasyona) ulaşması sağlanmaktadır [2].

## 2.2 Enzimlerin Keşfi ve Tarihi

İnsanların enzimlerden yararlanması çok eski çağlara kadar dayandığı bir gerçektir. Bazı mikroorganizmaların ürettiği enzimlerle gerçekleşen mayalı ekmeğe, peynir, yoğurt ve şarap yapım binlerce yıldan beri bilinmektedir. Çok eski çağlardan beri insanlar maya hücrelerinin şekeri mayalayabildiğinden haberdardılar. Louis Pasteur alkolik fermentasyon ve sütün ekşimesi gibi işlemleri sistematik olarak inceleyen ilk bilim adamlarından biridir. Sızdırmaz steril kaplarda saklandığında glukozun değişmeden kaldığını gözlemlemiştir. Pasteur (hatalı olarak) gözlenen katalitik aktiviteden belirli sağlıklı mikroorganizmaların sorumlu olduğuna inanmıştır ve tüm katalist grubunu tanımlamak için maya (ferment) terimini kullanmıştır. Bu isim bugünkü Alman literatüründe hala kullanılmaktadır [2,4].

Midede meydana gelen sindirimin mekanik bir olay olmadığı, 1783’te Spallanzani tarafından yapılan deney sonucu kuşların mide suyunun eti çözmesiyle kanıtlanmıştır. 1810’da Gay-Lussac, şekerli maddelerin fermentasyonla alkolle

dönüş nesi nin for mül ünü ver miştir. 1811’de Kirschoff nişasta çözültüsünün za manla şekere dönüştüğünü göster miştir. Rubi quet ve çalışna arkadaşları 1830’da a niğdalini n acı bade m özüt üyle hi droli zlendi ğini bul muşlardır. Payen ve Persoz, buğdaydan di astaz (a milaz) enzi mi ni yalı t mışlardır ve bunun ni şastayı şekere dönüştüren madde olduğunu kanıtla mışlardır, aynı za manda bi yoloji de enzi mlerin öne mli olduğunu vurgula mışlardır. 1850’ye kadar di astazdan başka laktaz, üreaz, emülsin, tripsin, pepsin, pityalin gibi enzi mler, karışmı lar halinde de olsa, bilinmekt eydi. Pepsin 1834’te Schwann tarafından oldukça saf bir şekilde elde edil miştir. 1837’de Berzelius bu etkin bileşikleri tanı mlamak için ilk kez ‘‘katalizör’’ sözcüğünü kullanı mıştır. 1866’da Mac mun önceleri ‘‘histohemat inler’’ dedi ği st okro nları bul du. 1878’de Willy Kuhne bu maddeleri tanı mlamak için enzi m (enzyme = yunanca –en: içinde ve zyme: maya) is mi ni n kullanı lmas ını öner miştir. Ost vald 1883’te bütün enzi mlerin katalizör olduğunu kanıtla mıştır. 1884’te Emil Fischer enzi mlerin etkilerinde özgüllük özelli ğini bul muştur ve enzim-substrat ilişkisini n anahtar-kilit ba ğı ntısı gi bi olduğunu kanıtla mıştır. 1897’de Edward Buchner (Nobel ödülü 1907) maya hücrelerini kum la öğüt erek ve ortaya çıkan materyali filtre ederek hücretsiz bir ekstrakt hazırla mıştır. Hücretsiz öz suyunda aynı orijinal sa ğla m maya hücreleri gi bi aynı bi çinde şekerlerin fer mant asyonunu arttır na yetene ğine sahip olduğunu gözle mlemiştir. Bu deneyin modern enzi mki nyası nın başlangı cı oldu ğu kabul edil mektedir. 1897’de Bertrand ilk kez ‘‘koenzi m’’ sözcüğünü kullanı mıştır. 1902’de Emil Fischer enzi mlerin de proteinler gi bi polipeptit yapı da olduklarını kanıtla mıştır. pHı ilk kez tanı mlayan Sørensen, enzi m aktifliklerinin pH a ba ğlı olarak de ğişti ğini bul muştur. 1912’de Batelli ve Stern, dehidrogenaz türünden enzi mleri bul muştur. Michaelis ve Menten 1913’te enzi mlerin katalitik etkisini n kinetik kura mını geliştiril mişlerdir ve kendi adları yla anılan ünlü ba ğı ntıyı bul muşlardır. Bu kura m 1925’de Briggs ve Hal dane tarafından daha ayrı ntılı olarak incelenmiştir ve geliştiril miştir. N hayet 1926’da James Sumner (Nobel ödülü 1946) do ğal ortamında protein yapı da olduğunu söyledi ğini saf kristalin enzi m (üreaz) elde et meyi başa r mıştır. Aynı yöntemle 1931’de Nortrop ve çalışna arkadaşları si ndiri menzi mleri olan pepsini, tripsini ve ki motripsini kristaller halinde elde et mişlerdir. Bu arada proteinlerin ve peptitlerin analiz ve sentez yöntemleri de gelişmiştir. 1953’de Sanger, insülinin a mi noasit sıra analizini yayı nla mıştır. Daha sonra 1958’de sı ğır pankreası ri bonükleaz ının a mi noasit sıra analizi yapı lmıştır. 124 a mi noasitten oluşan bu enzi min 1969’da Merrieffield



tarafından yapılan çalışmada katı hal tekniği ile kimyasal sentezi gerçekleştirilmiştir. Günümüze dek 70 kadar enzim aminoasit sıra analizi yapılmıştır. Bunlardan birçoğunun özellikle Xışınları yöntemiyle sekonder yapıları (alfa sarıl yapıları) ve tersi yer yapıları (konformasyonları) ve aktif merkezleri belirlenmiştir [1, 4].

Enzim araştırmaları, bilimsel amaçla olduğu kadar uygulamaya dönük olarak da yapılmaktadır. Uygulamada kullanılan bazı enzimler şunlardır; rennin peynir üretiminde “peynir mayası” olarak; pepsin, tripsin v. b. enzimler dericilikte ve tıpta sindirimi yardımı olarak; papain bira üretiminde; amilaz nişastayı hidrolizleyerek glikoz üretiminde; invertaz sakkoruzu hidrolizleyerek yapay bal yapımında; pektinaz, nükleaz ve oksidazlar gıda endüstrisinde kullanılmaktadır [4].

### 2.3 Enzimlerin Adlandırılması

Enzimler, önceleri katalitik etkilerini üzerinde gösterdikleri, “substrat” adı verilen bileşiklerin sonuna ‘az’ eki getirilerek adlandırılmaktaydılar. Bu isimler en azından substratlar hakkında bilgi verirken bu hususta hiçbir bilgi ifade etmeyen bazı enzim adları da biyokimyacılar tarafından kullanılmaktaydı. Zamanla daha birçok enzimin ortaya çıkması sonucu sistematik bir isimlendirmeye ihtiyaç duyulmuştur. Bunun üzerine enzimler Uluslararası Enzim Komisyonu tarafından, katalizledikleri reaksiyon tiplerine ve reaksiyon mekanizmalarına göre bir sınıflandırmaya tabi tutulmuşlardır. Tablo 2.1’de enzimlerin isimlendirilmelerine örnekler verilmiştir [1].

Tablo 2.1 Enzim isimlerine örnekler

Sustrata göre		Reaksiyona göre	
Substrat	Enzim	Reaksiyon	Enzim
Protein	Proteinaz	Oksidasyon	Oksidaz
Karbohidrat	Karbohidraz	Redüksiyon	Redüktaz
Lipid	Lipaz	Dekarboksilasyon	Dekarboksilaz
Ure	Ureaz	Hidrolizasyon	Hidrolaz

### 2.4 Enzimlerin Sınıflandırılması

Doğada çok sayıda (2000’in üzerinde) enzim ve enzim-substrat kompleksi oluşma olasılığı bulunmaktadır. Çok sayıda enzimin sınıflandırılmasında karışıklığı önlemek amacıyla 1955 yılında Uluslararası Biyokimya Birliği Enzim Komisyonu bir standart geliştirmiştir. Sistematik isimlendirmenin başlıca özellikleri şunlardır:

1. Reaksiyonlar ve onları katalizeleyen enzimler 6 gruba bölünmüştür. Her bir grup da kendi içinde 4 ile 13 arasında alt gruba ayrılmıştır. Sözü edilen 6 grup birtakım örnekleriyle Tablo 2.2’de verilmiştir [1].

2. Enzim adı iki kısımda verilir. İsmi ilk bölümü substratın veya substratlarıdır. İkinci ise katalizlenen reaksiyonun tipinin sonuna “-az” eki getirilmiş hali, yani grup veya alt grup adıdır. Substratlar aralarına iki nokta konularak yazılırlar [1].

3. Reaksiyonun tabiatını açıklayacak ifadeler gerekiyorsa, parantez içinde ismin sonuna yazılabilir.

Enzimlerin ayrılıkları 6 ana grup, bazı örnekleriyle Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2 Enzimlerin sınıflandırılması

<b>1. Oksidoreduktazlar</b>	Redoks reaksiyonları katalizlerler
1.1	CH-OH grubuna etkiyenler
1.2	C-O grubuna etkiyenler
1.3	C-CH grubuna etkiyenler
1.4	CH-NH <sub>2</sub> grubuna etkiyenler
1.5	CH-NH grubuna etkiyenler
<b>2. Transferazlar</b>	Fonksiyonel grupların transferinde görev alırlar
2.1	Cl gruplarını transfer edenler
2.2	Karbonil gruplarını transfer edenler
2.3	Açıl gruplarını transfer edenler
2.4	Glikozil gruplarını transfer edenler
2.5	N- içeren grupları transfer edenler
2.6	Fosfat gruplarını transfer edenler
2.7	S- içeren grupları transfer edenler
<b>3. Hidrolazlar</b>	Hidroлиз reaksiyonları katalizlerler
3.1	Esterleri hidrolizeyenler
3.2	Glikozid bağlarını hidrolizeyenler
3.3	Peptid bağlarını hidrolizeyenler
3.4	Diğer C-N bağlarını hidrolizeyenler
3.5	Asit anhidritlerini hidrolizeyenler
<b>4. Liyazlar</b>	Çift bağ katılma ve çift bağ oluşturan reaksiyonları katalizlerler
4.1	C-Cl liyazlar
4.2	C-O liyazlar
4.3	C-N liyazlar
<b>5. İzomerazlar</b>	İzomerleşme reaksiyonları katalizlerler
5.1	Resonanslar
5.2	İntramoleküler oksidoreduktazlar
5.3	İntramoleküler transferazlar
<b>6. Liyazlar “Sentetazlar”</b>	Sentez reaksiyonları katalizlerler
6.1	C-O bağını oluşturanlar
6.2	C-S bağını oluşturanlar
6.3	C-N bağını oluşturanlar
6.4	C-C bağını oluşturanlar

4. Her enzime sistematik kod numarası verilmiştir. Bu numara EC (Enzym Code) harflerinden sonra ardarda gelen dört rakamdan ibarettir. Birinci rakam enzimin bağlı olduğu grubu gösterirken ikincisi alt grubu, üçüncüsü alt alt grubu belirtmektedir. Dördüncü rakam ise, enzimin aynı ilk üç rakama sahip enzimler arasındaki sırasını vermektedir. Mesela, EC 2.7.1.1 kod numarasında 2, bu enzimin bir transferaz enzimi olduğunu; 7, bir fosfat grubu transfer edildiğini; 1, fosfat

transferlerinin alkol grubu olduğunu ve sonuncu 1 de bu enzim alkol grubuna fosfat transferi sağlayan enzimler arasında ilk sırayı aldığı göstermektedir. Sözü edilen enzim hegzokinaz geleneksel adı ile bilinen ATP: D-hegzos-6-fosfortransferaz enzimidir [1].

#### 2.4.1 Oksidoreduktazlar (EC 1)

Elektron aktarılmasını ve 2 substrat arasında redoks reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir. Substratlara S ve S' denilirse;



genel reaksiyonuyla gösterilebilirler. Bu büyük ve önemli grup, dehidrogenazlar veya oksidazlar olarak bilinmektedir. -CH-OH -CH=CH-, -C=O -CH-NH<sub>2</sub> ve -CH-NH gruplarının indirgenmelerini ve yükseltgenmelerini katalizleyen enzimler bu sınıftadır [1, 4].

#### 2.4.2 Transferazlar (EC 2)

İki substrat arasında hidrojen dışındaki grupların transferini katalizleyen enzimlerdir. Bu sınıfa giren enzimler substratlarının fonksiyonel gruplarının (amino, metil, fosfat, asetil vb.) aktarılmasını hızlandırır. Taşınan gruba G denilirse;



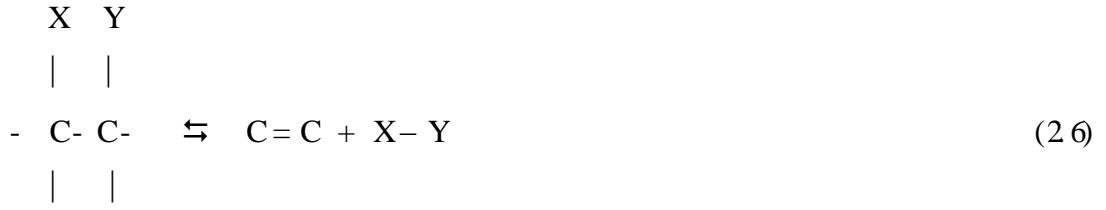
genel reaksiyonu yazılabilir [1, 3].

#### 2.4.3 Hidrolazlar (EC 3)

Enzim teknolojisi yönünden çok fazla öneme sahip olan bu enzimler hidrolizasyon reaksiyonlarını katalize ederek hızlandırır. Ester, eter, peptid, glikozit, asit anhidrit, C-C, C-halojenür veya P-N yapılarına bir H<sub>2</sub>O molekülünün katılmasıyla hidrolizi katalizleyen enzimlerdir [1, 3].

#### 2.4.4 Liyazlar (EC 4)

Hidrolizden farklı bir mekanizma ile substratlardan grupların uzaklaştırıldığı ve çift bağların oluşturulduğu reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir. Genel anlamda reaksiyonları;



şeklinde gösterilebilir [1].

#### 2.4.5 İzomerazlar (EC 5.)

Moleküldeki karbon atomlarının yerlerini değiştiren, optik konfigürasyonda değişiklik oluşturan ve katalitik izomerizasyonda görev yapan enzimlerdir. Geometrik, optik veya yapısal izomerlerin birbirine dönüştürülmesini katalizlerler [1, 3].

#### 2.4.6 Liğazlar (EC 6.)

ATP ve GTP gibi yüksek enerjili fosfat bileşiklerinden fosfat bağının koparılması sonucu ortaya çıkan enerji yardımıyla iki bileşiğin bağlanması reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir. İki substratın birleştiği reaksiyonlarda görev alırlar. Tekstil endüstrisinde kullanılan enzimler ( $\alpha$ -amilaz, selüloz, proteaz vb.) genellikle hidrolaz sınıfına dahildirler. Bu enzimler çeşitli yapıdaki bağların (ester, asetal, amid vb.) hidrolizini sağlarlar. Reaksiyon sonunda su açığa çıktığından hidrolaz isminin alırlar [2, 3].

#### 2.5 Enzim Katalizi Mekanizması

Enzimler, kimyasal dengeyi yerleşmesini hızlandırır. Bu hızlandırma, kimyasal katalizörlerin yaptığından çok üstündür. Hesaplamalar yapıldığında, enzimlerin reaksiyonları  $10^8$ - $10^{20}$  kat arasında hızlandırdığı görülmektedir. Enzimlerin bu olağanüstü kataliz gücünde başlıca dört önemli faktör rol oynar:

1. Enzim substrat molekülünü bağlayarak parçalanacak bağın aktif merkezdeki katalitik gruba çok yakın durmasını ve ara ürünün kolayca oluşmasını sağlar.
2. Bazı enzimler, substratla dayanıksız kovalent ara ürünler oluştururlar, böylece reaksiyonun kolaylaşmasını sağlarlar.

3. Prot on verici veya prot on alıcı olarak iş gören bazı fonksiyonel gruplar vasıtasıyla bir enzim genel bir asit veya baz katalizini gerçekleştirebilir.
4. Enzim substrat moleküllerinin parçalanacak olan bağının gerilmesi veya deformasyonunu sağlayarak bağın parçalanmasını kolaylaştırır. [1]

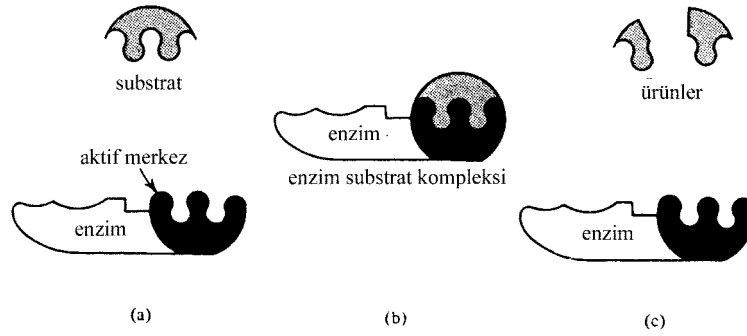
## 2.6 Enzimlerde Aktif Merkez

Emil Fischer 1894’de doğal glikozitleri hidrolizleyen enzimlerin sadece bir stereoisomere (örneğin D-şekline) karşı etkin olduğunu ve L-şekline etki olmadığını göstermiştir ve enzime substrat arasında anahtar-kilit ilişkisine benzer bir ilişkinin bulunduğunu söylemiştir. Gerçekten her enzim kendi substratına karşı özgül olarak etkir. Bu özgülük bazı durumlarda kesin olup bazı durumlarda da sınırlı bir genişliğe sahiptir, yani enzimler fonksiyonel grup yapısı birbirine benzer olan birden çok substrata etkiyebilir. Ama bu durumda bile etki hızları ( $K_M$  değerleri) farklıdır [4].

1888’de İsveçli kimyager Swante Arrhenius katalitik aktiviteyi açıklamak için bir sistem önermiştir. Buna göre bir katalist bir reaktanla (reaksiyona giren madde ile) birleşerek bir ara bileşik oluşturur. Bu ara bileşik birleşmiş yapılardan daha reaktiftir (Ara bileşiğin oluşması için daha düşük enerjili bir reaksiyon gerekmektedir. Bu reaksiyonun aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyon hızını artırır. Enzimler aktivasyon enerjilerini diğer katalistlerden daha etkin biçimde düşürerek biyokimyasal reaksiyonların daha düşük sıcaklıklarda meydana gelmesini sağlarlar). Bu sistem inorganik, organik ya da biyokimyasal tüm katalitik reaksiyonlara uygulanabilir. Genel olarak katalitik reaksiyonların en azından iki aşamada gerçekleştirilmesine dayanır. İlk aşamada bir enzim molekülü (E) ve bir substrat molekülü (S) çarpışırlar ve enzimsubstrat (E-S) kompleksi denen bir ara bileşik oluşturmak üzere reaksiyona girerler (Bileşik orijinal substratı ve serbest enzimi verecek şekilde parçalanabildiğinden bu aşama tersidir). İkinci aşama ise, ürünlerin oluşumunu ve buna müteakip enzim yüzeyinden ayrılmasını içermektedir.



E-S kompleksinin varlığı spektroskopik ve kinetik deneylerle doğrulanmıştır. Enzim ile substratı bir arada tutan bağlar muhtemelen protein yapısını bir arada tutan (elektrostatik, kovalent, hidrojen bağları gibi) bağlarla aynıdır. Buna ek olarak E-S kompleksinin oluşmasında gerekli olan yapısal özelliklerin ya da fonksiyonel grupların enzim yüzeyinde spesifik bir konumda olmaları görülmüştür. Enzimin substratla birleştiği ve substratın ürünlere dönüştüğü bu kısım “aktif merkez” adı alır. Bunlar aminoasit rezidüleri ile oluşmuş ve özel geometrisi olan yerlerdir. Aktif merkez substratın yapısını tümler nitelikte spesifik bir konformasyona sahiptir, böylece iki molekülün anahtarın kilide oturması gibi birbirlerine bağlanmalarını sağlar. Aktif merkezler, en az 3 bağlanma yeri olan girintiler veya çıkıntılar şeklinde olabilirler. Enzimin çalışmasındaki anahtar ve kilit teorisi Şekil 2.2’de gösterilmiştir [24].



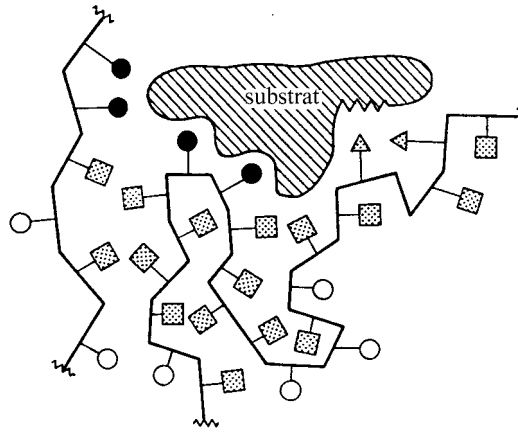
Şekil 2.2 Enzim-substrat etkileşiminin şematik gösterimi

Şekil 2.2 üzerinden enzim-substrat etkileşimi şöyle açıklanabilir; (a) enzimin aktif alanının ve substratın tümler yapıları vardır ve anahtarın kilide geçtiği gibi birbirlerine bağlanırlar, (b) enzim-substrat kompleksi oluştuğunda katalitik reaksiyon başlar ve (c) reaksiyon ürünleri enzim yüzeyinden ayrılarak enzim başka bir substrat molekülüyle birleşmesi için serbest bırakılır.

Geçmiş yıllarda enzimin substratı ürünlere dönüştürme mekanizması hakkında birçok çalışma yapılmıştır. Ancak şu ana kadar enzimlerin reaksiyon hızını diğer katalistlerden daha verimli biçimde arttırdıkları detaylı mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. Örneğin, enzimin tüm katalitik aktivitesinin bir bütün olarak protein yapıdan mı yoksa aktif merkeze bağlanan küçük bir bölgeden mi kaynaklandığı bilinmemektedir. Ribonükleazlar gibi bazı enzimlerden küçük peptitler kopartılmıştır ve kayda değer bir katalitik aktivite kaybı görülmüştür.

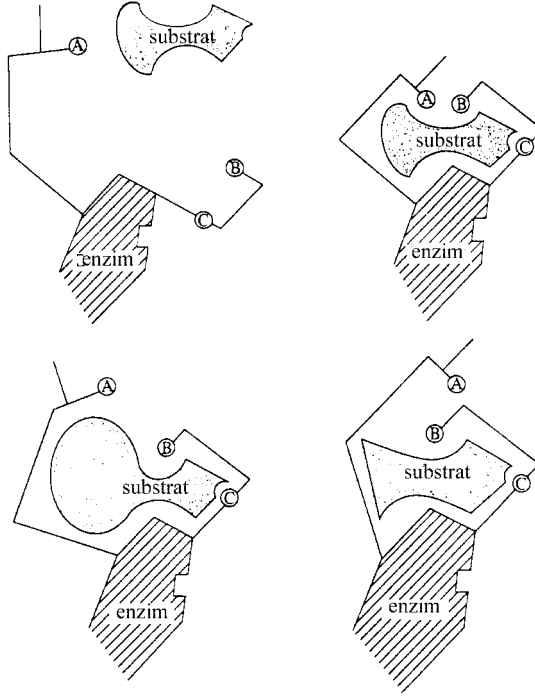
Spesifik aminoasit yan bağlarını enzimlerin aktif merkezlerine dahil etmek için birçok deneme yapılmıştır. Aktif merkez, protein zinciri boyunca birçok farklı pozisyondaki aminoasitlerden oluşmaktadır. Bu aminoasitler polipeptit zincirinin katlanması ve bükülmesiyle biraraya gelmiş olabilirler. Enzimlerin denatürasyonla inaktive edilmeleri, aktif merkezi kusursuz bir 3 boyutlu düzende bir arada tutan sekonder ve tersiyer yapıların önemine işaret eder [2].

1963'te, D E Koshland, Jr bir enzimin aktive edilmiş kompleksi oluşturmak üzere substratla reaksiyona girmesi sırasında konformasyonunun değişme uğradığını söyleyerek eski anahtar-kilit teorisini genişletmiştir. Katalizden sonra enzimin yapısal yapısına geri dönmektedir. Enzimin birbirine benzer bileşikleri ayırt etme yeteneğini açıklamak için, substrat ile enzim yüzeyinin bir kısmının birbirine geçmesi gereklidir. Ancak bu, rijit pozitif bir substratın rijit negatif bir kalıba statik bir geçmesinden çok, elin eldivenin şeklini değiştirmesinde olduğu gibi karşılıklı etkileşim sonucu substratın enzim molekülünde sebep olduğu yapısal bir değişikliktir [2].



Şekil 2.3 Bir aktif merkezin şematik gösterimi.

Şekil 2.3'te siyah halkalar substrat ile uyumları spesifikliği belirleyen bağlantı aminoasit rezidüleri, üçgenler bir substrat bağına etkiyen katalitik rezidüleri; boş halkalar yüzeydeki işlevsiz rezidüleri; kareler ise birbirleriyle etkileşerek proteini üç boyutlu yapısını belirleyen rezidüleri göstermektedirler.



Şekil 2.4 Esnek bir aktif merkezin şematik gösterimi.

Bağlanan substrat A ve B katolitik gruplarının uygun biçimde dizilmesini sağlar ve reaksiyon meydana gelir (üstteki iki şekil). Çok büyük ya da çok küçük olan bileşikler de bağlanırlar ancak katalitik gruplar uygun biçimde dizilmediğlerinden reaksiyon meydana gelmez (alttaki şekil) [2].

Bu indüklenmiş bağlanma teorisi henüz tamamen doğrulanamıştır, ancak eski teoriye uymayan birçok deneysel bulguyu açıkladığından oldukça ilgi çekici bir öneridir. Koshland, reaksiyona girmediği halde enzime bağlanan birçok bileşik örneğinin yanı sıra aktif merkeze açıkça uyumlu olmadığı halde enzime katalitik reaksiyon veren başka bileşik örnekleri de belirtmiştir. Koshland'a göre, bir enzimin aktif merkezi iki bileşenden oluşmaktadır; biri substrat spesifliğinden (tenas gruplarından), diğeri ise katalizden (katalitik gruplardan) sorumludur. Aktif merkez, yapısal olarak birbirine benzer birçok bileşiğe bağlanabilmesi için uyarılan (indüklenen) esnek bir bölgedir. Ancak, sadece uygun substrat katolitik gruba doğru dizilişte bulunabilme kabiliyetine sahiptir (Şekil 2.3 ve 2.4).

Birçok enzim stereospesiflik özelliği taşır. Bazı enzimler daha geniş bir spesiflik gösterirler ve benzer yapısal özelliklere sahip birçok bileşiğin dönüşümünü katalizeleyebilirler.



Bir enzimın substratına spesifikliğinin ortaya çıkması iini iki ayrı yapısal özelliğin gerekli olduğu çalışmalar sonucu belirlenmiştir. Birincisi, substrat enzimtarafından etkilenebilecek bir kimyasal bağa sahip olmalıdır. İkincisi, substrat üzerinde enzimın yapışabileceği ve substratı katalitik bölgenin etkileyebileceği pozisyona getirebilecek gruplar bulunmalıdır. Bu grupların parçalanacak bağile spesifik bir geometrikilişisi de vardır [1].

Bir enzimın aktif bölgesi, substratları (varsa kofaktörleri) bağlayan ve bağ yapımında ve yıkımında görev yapan rezidüleri kapsar. Bunlara katalitik grup adı da verilir. Enzimlerin yapı, spesifiklik ve kataliz özellikleri farklı farklı olmasına rağmen, aktif bölgelerini ortak özelliklerini sayabiliriz

1. Aktif bölge, enzimın toplam hacmine oranla küçük bir kısımın oluşturur. Enzimdeki aminoasitlerin birçoğu substratla temas halinde değildirler. Bu, enzim moleküllerinin niçin büyük olduğu sorusunu ortaya karır. Enzim molekülün büyük olması, aktif merkezin geometrik yapısının oluşması için gereklidir [1].

2. Aktif bölge üç boyutlu bir biridir. Bu bölge ne bir nokta, ne bir çizgi ne de bir yüzeydir. Enzimın lineer yapısının değişik noktalarında bulunan grupların bir araya gelerek oluşturdukları karmaşık bir yapıdır. Birbirlerinden çok uzakta bulunan aminoasitler bile kırılmalar sonucu katalitik grupta görev alabilirler. Mesela lizozim enziminin aktif bölgesi, 129 aminoasitlik lineer sıralamalarda 35, 52, 62, 63 ve 101 no'lu rezidlerden oluşmuştur [1].

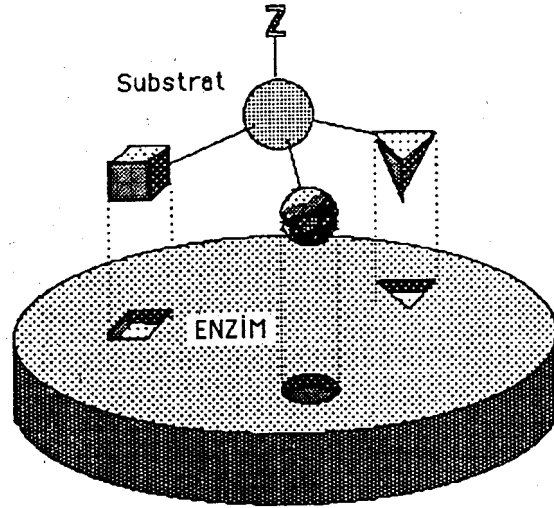
3. Substratlar enzime nispeten zayıf kuvvetlerle bağlanmışlardır. E-S kompleksinin denge sabitleri  $10^{-2}$ - $10^{-8}$  M arasında değişir. Bu da -3 ile -12 kcal/mol arasında değişen bağ enerjilerine karşılık gelir. Hlbuki, kovalent bağların kuvveti -50 ile 110 kcal/mol arasındadır [1].

4. Aktif bölgeler bir yarık ve girinti içinde yer alırlar. Yapısı incelenmiş olan tüm enzimlerde substrat molekülleri suyun girmediği çukur bölgelere bağanırlar. Girinti içinde bağanma ve kataliz için gerekli polar gruplar da vardır. Girintinin apolar karakteri substratın bağanma gücünü de arttırır. Bunun yanı sıra girintiler, katalizde esas olan bazı bölgeleri polar yan gruplara kazandıracak bir mikrovre de oluştururlar [1].

5. Spesifik bir bağlanma, atomlarının aktif bölgede belirli tarzda düzenlenmeleri sonucu mümkün olur. Substrat bu bölgeye tam oturabilecek şekle sahip olmalıdır. Enzime substrat arasındaki bu anahtar-kilit modeli kataliz olayının stereospesifliğini çok iyi açıklamaktadır [1].

Bununla birlikte, son zamanlarda yapılan çalışmalar bazı enzimlerin aktif bölgelerinin rijit bir yapıda olmadığını göstermiştir. Bu tip enzimlerin aktif bölgelerinin yapıları substratın bağlanmasıyla değişikliğe uğramaktadırlar. Bölge, yalnız bağlandıktan sonra substrata komplemanter hale gelmektedir. Bu ikinci çeşit bağlanma modeline etkileşme sonucu uygunluk modeli denir [1].

6. Substratın enzimin en az 3 yerine bağlanması, stereospesifliği ortaya çıkarır. Bu husus Şekil 2.5'te gösterilmiştir.

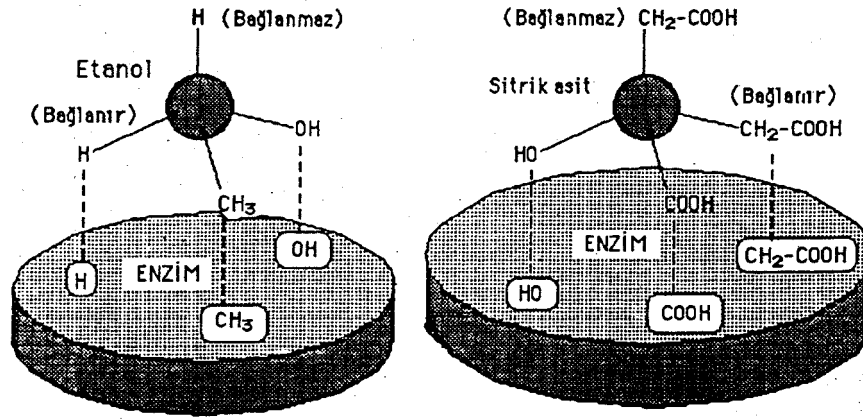


Şekil 2.5 Enzimin kendi substratına karşı stereospesifliğini şematik olarak gösterilmesi

Şekilde, substrat üzerinde küre, küp ve prizma biçiminde gösterilen gruplar, enzim üzerinde bunlara uyum oyuklara sadece bir konumda yerleşebilir. Örneğin, şiral bir molekülün R şekli yerleşiyorsa, S şekli yerleşemez. Böylece stereospesiflik ortaya çıkar. Ayrıca, optik izomerlik bakımından 'siyatrik' denilen ve üzerinde birbirinin aynı iki grup bulunan substratlarda bile, bu 'aynı' gruplardan sadece bir tanesi aktif merkeze yerleşebilir. Moleküllerinde izotop atomları bulunduran etanolle ve siyatrik asitle yapılan deneylerle bu kanıtlanmıştır [4].

Şekil 2.6'da siyatrik substrat moleküllerinde stereospesiflik gösterilmiştir. (A) Etanolün 2 tane C-H hidrojeniinden sadece bir tanesi, (B) Siyatrik asidin  $\text{CH}_2\text{-COOH}$

gruplarından sadece bir tanesi aktif merkeze bağlanabilir, diğerleri bağlanamadığı için burada da stereospesiflik ortaya çıkar.



Şekil 2.6 Sterik substrat moleküllerinde stereospesiflik

## 2.7 Enzim Kinetiği

Enzim kinetiği, enzimler tarafından katalizlenen reaksiyon hızlarının incelendiği bir konudur. Kimyasal kinetikte temel prensipleri burada da geçerlidir. Gerçek kimyasal kinetik reaksiyon hızlarının nicel incelenmesini kapsamanın yanı sıra reaksiyonların mekanizmalarıyla da ilgilenir. Fakat enzim kinetiğinde daha çok biyokimyasal reaksiyonların hızlarının nicel incelenmesini yapılmıştır ve buna etki eden faktörler ele alınmıştır [1].

### 2.7.1 Kimyasal kinetik

Kimyasal reaksiyonlar, ürünleri oluşturmak üzere birbirleriyle etkileşen reaktanların sayılarına göre sınıflandırılırlar. Bir, iki veya üç reaktanın ürünleri meydana getirdiği reaksiyonlar bu yüzden sırasıyla moleküler, bimoleküler veya trimoleküler olarak isimlendirilirler [1].

Kimyasal reaksiyonlar ayrıca reaksiyon derecelerine göre de sınıflandırılabilirler. Sıfırıncı, birinci, ikinci ve üçüncü derece reaksiyonlar reaksiyon hızlarına kaç çeşit reaktan konsantrasyonunun etki ettiğini gösterirler [1].

Birinci derece reaksiyonların hızları yalnız bir çeşit reaktanın konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. En basit örnek olarak  $A \rightarrow P$  reaksiyonunu ele alırsak, reaksiyon

hızı birim zamanda A'nın kaybolma veya P'nin oluşma hızıyla orantılıdır. Burada herhangi bir t anındaki reaksiyon hızı ifadesi;

$$d[P] / dt = - d[A] / dt = k[A] \quad (2.9)$$

ile verilir. Buradaki k, hız sabiti olup, sıcaklıkla değişen bir değerdir. Bu ifadenin integrali alınıp logaritmada 10 tabanına göre yazılırsa;

$$\log([A_0] / [A]) = kt / 2.303 \quad (2.10)$$

denklemi çıkar. Burada  $[A_0]$ ,  $t = 0$  anındaki,  $[A]$  ise herhangi bir t anındaki değerdir.

İkinci derece reaksiyonların hızları da iki reaktanın konsantrasyonuna veya bir reaktan konsantrasyonunun ikinci kuvvetine bağlıdır. Buna örnek olarak;



veya



reaksiyonlarını gösterebiliriz. Bunların hız ifadeleri ise;

$$d[P] / dt = - d[A] / dt = - d[B] / dt = k[A][B] \quad (2.13)$$

$$d[P] / dt = -1/2 d[A] / dt = k[A]^2 \quad (2.14)$$

şeklinde verilebilir.

Burada örnek alınan  $A + B \rightarrow P$  reaksiyonu her zaman ikinci derece olmayabilir. Bazı durumlarda birinci derece davranışı da gösterebilir. Mesela A'nın konsantrasyonu çok yüksek ve B'ninki düşük ise, bu bimoleküler reaksiyonun hızı yalnız B'nin konsantrasyonuna bağlıdır ve reaksiyon birinci derecedendir. Buradan reaksiyon derecesinin, reaksiyonun gerçekleştiği şartlara bağlı olduğu ve doğrudan doğruya reaktan sayısından çıkarılabacağı sonucuna varılmaktadır.

Üçüncü derece reaksiyonlara nadiren rastlanır. Hızları üç konsantrasyon terimine bağlıdır.

Bazı kimyasal reaksiyonların hızları herhangi bir reaktan konsantrasyonuna bağlı değildir. Bu tip reaksiyonlar “sıfırıncı derece”dir. Birçok katalizörlü reaksiyonlar bu tiptendir [1].

## 2.7.2 Enzimlerin Katalizlediği Reaksiyonların Kinetiği

### 2.7.2.1 Enzim Kinetiği

Enzimatik reaksiyonlar kimyasal kinetikte olduğu gibi tek, iki veya daha çok substratlı olabilir. Enzimatik reaksiyonlar, reaksiyon ortamının sıcaklığı, pH, iyon şiddeti, hidrolik basıncı, inhibitör veya aktivatörlerin varlığı gibi durumlardan etkilenirler. Şekil 2.8’de enzimatik reaksiyon hızının substrat konsantrasyonuyla değişimi görülmektedir. Düşük substrat konsantrasyonlarında, reaksiyon hızı substrat konsantrasyonuyla orantılı olarak artar, yani reaksiyon substrata göre birinci derecedendir. Substrat konsantrasyonu arttıkça zaman, reaksiyon hızı artışında bir azalma gözlenir ve bu bölümde reaksiyon sıfırıncı ile birinci derece arasında karışık bir dereceye sahip olur. Substrat daha da arttırıldığında hız sabitleşir ve substrat konsantrasyonuyla değişmez. Bu bölümde reaksiyon sıfırıncı derecedendir ve bütün enzim molekülleri substratla birleşmiş yani doymuş haldedir. Bütün enzimler sözü edilen doygunluk özelliği gösterirler. Ancak her birisinin bu hale erişebilmesi farklı substrat konsantrasyonlarıyla mümkündür [1].



E; Enzim S; Substrat, ES; Enzimsubstrat kompleksi, P; Ürün için kullanılan kısaltmalardır.

Reaksiyon sırasında enzim ile substrat arasında [ES] ara kompleksi meydana gelir.  
Reaksiyon hızı;

$$v = k_3 [ES] \quad (2.16)$$

olarak hesaplanır.

### 2.7.2.2 Ürün Değişiminin Zamanla Bağlılığı

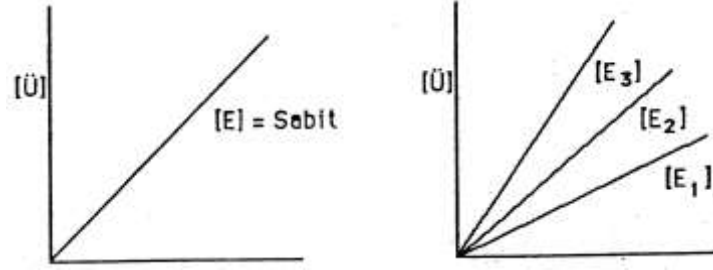
Ürün değişiminin zamanla bağlılığı karmaşık bir fonksiyondur. Ancak enzim değişimine göre çok aşırı alınan substrat değişimlerinde basitleşir. Bu durumda ürüne göre tanımlanan reaksiyon hızı sabittir;

$$v = d[P] / dt = k \quad (\text{sabit koşul: } [S] \gg [E]) \quad (2.17)$$

Bu basit diferansiyel denklemin integrali alınırsa;

$$[P] = kt \quad ([S] \gg [E]) \quad (2.18)$$

elde edilir. Bunun grafiği bir doğrudur. Grafik 2.7 de görüldüğü gibi [E] derişimi arttıkça ürün derişimi de artmaktadır[4].



Şekil 2.7 Enzimkinetiğinde  $[S] \gg [E]$  olması durumunda  $[P]$ -zaman grafiği

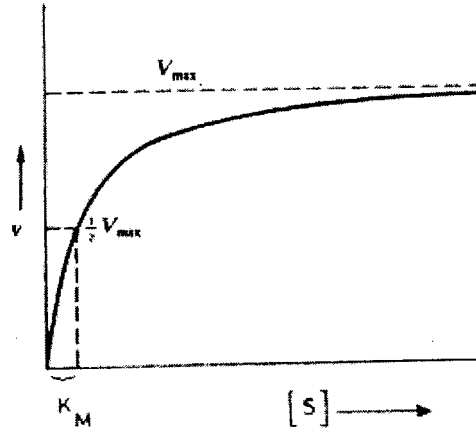
Enzimkinetiği, substrat derişimi sabit tutulup enzim derişimi değiştirilerek de incelenebilir. Bu durumu ne karmaşık olmakla birlikte, bu kez substrat derişimi enzimerişimine göre çok küçük alınmak koşuluyla bağıntı basitleşir ve reaksiyon hızı enzimerişimi ile orantılıdır.

$$v = k' [E] \quad (k' \text{ sabit koşul: } [E] \gg [S]) \quad (2.19)$$

### 2.7.2.3 Enzimkinetiğinde Michaelis-Menten Bağlılığı

Yukarıda verilen enzimkinetiği bağıntılarında enzim ve substrat derişimlerinin göreceli oranları arasında birinin diğeri den çok büyük olması şeklinde kısıtlamalar vardır. Daha geniş derişim alanlarında geçerli olmak üzere, 1913 yılında Michaelis ve Menten tarafından enzimatik reaksiyonların ilk basamağında bir E-S kompleksi oluşmasında enzimlerin doygunluk özelliğinden yola çıkılarak, Şekil 2.7'deki eğriyi verecek bir model ve bağıntı geliştirilmiştir ki, enzimkinetiğinde en çok kullanılan bağıntı budur. Burada enzim derişimi sabit alınıp ( $[E] = \text{sabit}$ ) hiçbir derişim

kısıtlaması olan bir reaksiyon hızının substrat derişimine bağılılığı incelenmektedir. Sonuç hiperbolik bir fonksiyondur ve grafik bir hiperbol eğrisidir [4].



Şekil 2.8 Enzimati olarak katilinen bir reaksiyonun hızına substrat konsantrasyonunun etkisi [1]

Şekilde görülen sabitlerden Vmax maksimum hızdır ve hiperbolisi npt otunu v eksenini kestiği noktadır. Maksimum hızın yarısına (Vmax/2) karşılık olan substrat derişimi KM'dir [4].

Vmax ve KM bir enzimnin niteliğini belirleyen önemli "enzimsabitleri"dir Michaelis-Menten eğrisi şekilde görüldüğü gibi üç temel kısımdan oluşur; 1. Yaklaşık KM'ye kadar olan çizgisel kısım Bu bölge küçük substrat derişimlerine karşılıktır ve burada birinci derece kinetiği geçerlidir (Mono- moleküler reaksiyon). 2. bölge orta substrat derişimlerine aittir. Burada karışık bir kinetik vardır (1. ve 2. derece kinetiklerin karışımı). 3. bölge ise yine çizgisel bir kısımdır ve yüksek substrat derişimlerine aittir. Burada 0. derece kinetiği vardır [4].

Reaksiyon hızı;

$$v = (V_{max} [S]) / (V_{max} + [S]) \quad (2.20)$$

şeklinde dir.

[S]  $\rightarrow \infty$  için bağıntının limiti alınırsa Vmax bulunur :

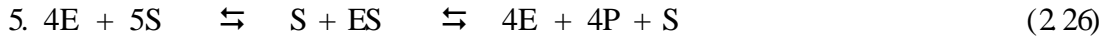
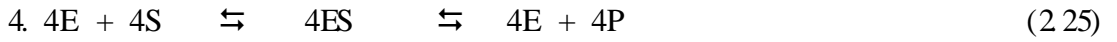
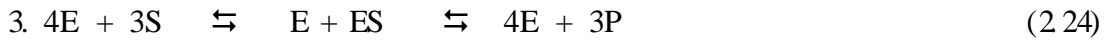
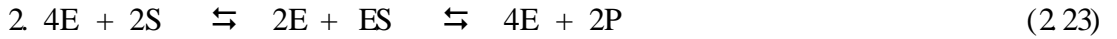
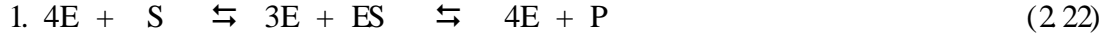
$$\lim_{[S] \rightarrow \infty} (V_{max} [S]) / (V_{max} + [S]) = V_{max} \quad (2.21)$$

[S]  $\rightarrow \infty$

Bağlantıda  $v = V_{max}/2$  konulursa  $[S] = K_M$  bulunur ki bu da yukarıda verilen tanıma uyuyor [4].

#### 2.7.2.4 Enzim-Substrat Kompleks Oluşumunun Modelle Açıklanması

Başlangıçta 4 enzim molekülü bulunduğunu varsayalım ve substrat derişimini yavaş yavaş arttıralım



1. ve 2. de enzim derişimi substrata göre aşırıdır, E-S kompleksi oluşuktan sonra, ortamda daha enzim molekülü vardır, dolayısıyla E-S'ni n ürüne dönüşmesi çizgisel olarak yürür (Michael-Menten grafiğinde 1. kısım). 3. de enzim doygunluğa yaklaşır ve 4. de doygunluğa erişir. Ürün yavaş bir şekilde ayrılırken enzim hızlı bir şekilde yeniden E-S kompleksi verir, ortamdaki substrat yeteri kadar enzim molekülü bulamayacağından reaksiyon hızı çizgisellikten sapar (2 kısım) 5. ve daha sonraki aşırı substrat durumlarında ise E-S kompleksi yavaş bir şekilde ürüne ayrılırken, oluşan E ortamda bol miktarda bulunan substrat ile E-S kompleksi verir, yani E-S derişimi hiç azalmaz (eğrinin 3. kısmı) [4].

Reaksiyon hızı;

$$v = -d[S] / dt = d[P] / dt \quad (2.27)$$

olur. [1]



## 2.8 Enzim Aktiviteleri

### 2.8.1 Enzim Aktivite Birimleri

Spesifik aktivite; 1 mg enzim tarafından birim zamanda dönüşüme uğratılan substratın  $\mu\text{mol}$  miktarıdır.

IU = Spesifik aktivite:  $\mu\text{mol} / \text{mg} \cdot \text{dak}$

- Aktif merkez aktivitesi; 1 aktif merkez tarafından 1 dakikada dönüşüme uğratılan substrat moleküllerinin miktarıdır.

- Turnover sayısı; 1 molekül enzim tarafından dakikada dönüşüme uğratılan substrat molekülleri sayısıdır. Turnover sayısının yüksek olması aktivitenin fazla olduğunu gösterir.

- Katal (kat); 1 saniyede 1 mol substratı dönüşüme uğratan enzim aktivitesidir.  $\mu\text{kat}$  (mikrokatal) ve nkat (nanokatal) birimleri kullanılır.

1 IU = 16,67 nkat

1  $\mu\text{kat}$  = 60 IU

1 kat = 60 x 10 IU

Bir çözelti içindeki enzim aktivitesi “enzim ünitesi” (birim) cinsinden verilir. Her enzim kapsayacak bir ünite tanımlanması na rağmen, 25°C’te ve optimal şartlarda 1 mikromol ( $10^{-6}$  mol) substratı bir dakikada ürüne dönüştüren enzim miktarına “1 enzim ünitesi” denilmesi genel de kabul edilmiştir. Ancak uluslararası standart ölçü sistemine (SI) göre zaman birimi saniye, madde miktarı birimi mol olduğundan bu sistemde enzim aktiviteleri birimi kataldır. 1 katal enzim belirli şartlar altında saniyede 1 mol madde dönüşümüne sebep olur. Bazı enzimler için özel ünite tanımları vardır. “Spesifik aktivite” (özgül aktivite) terimi de 1 mg protein başına enzim ünitesi ( $\text{E} \cdot \text{Ü} / \text{mg protein}$ ) olarak tarif edilir. Bu enzim saflığının bir ölçüsüdür ve enzim izolasyonu esnasındaki basamaklarda maksimum ve sabit bir değere ulaşır. Böylece enzimin saf halde elde edildiği anlaşılır. Enzimlerin izolasyonu ve saflaştırılmasında, proteinlerde uygulanan metotlar aynen geçerlidir [1].

## 2.8.2 Enzim Aktivatörleri (Kofaktörler)

Diğer proteinler gibi enzimler de basit ve bileşik olarak sınıflandırılabilirler. Bazı enzimler katalizleme fonksiyonlarını yalnız protein yapılarıyla yerine getirebilirken bazıları da protein yapısında olmayan “kofaktör” adı verilen gruplara ihtiyaç duyarlar. Kofaktör bir metal iyonu olabilir gibi, “koenzim” denilen kompleks bir organik bileşik de olabilir. Bazen aktivite için ikisi de gerekebilir. Enzimler sıcaklıkla denatüre olurken, kofaktörler ısıya dayanıklıdır. Katalitik olarak aktif olan enzim kofaktör kompleksine “haloenzim” adı verilir. Kofaktörsüz proteine ise “apoenzim” adı verilir. Apoenzim katalitik olarak inaktiftir. Kofaktörlü enzimlerin bu bileşiklere veya metal iyonlarına karşı farklı derecelerde afiniteleri vardır. Çok defa bu kofaktörler diyalize uzaklaştırılabilir. Fakat bazı enzim-kofaktör bağlanmaları kovalent yapıdadır veya diyalize uzaklaştırılmayacak kadar sıktır. Böyle kofaktörlere “prostetik grup” adı verilir. Enzim gevşek olarak bağlanmış koenzimlerle enzim arasındaki etkileşimler enzim-substrat etkileşimlerine benzer. Reaksiyonlardan sonra enzimlerden ayrılarak bir başka metabolizma olayında yer alabilirler [1].

Kofaktörler üç kısma ayrılır;

1. Prostetik grup
2. Koenzimler
3. Metal katyonları (kofaktörler)

### 2.8.2.1 Prostetik Grup

Enzim molekülüne kovalent bağlarla bağlı olan ancak polipeptit olmayan bileşiklerdir. Burada temel biyokimyasal reaksiyon prostetik grup üzerinde olur. Enzim ara komplekslerin oluşması için gerekli konformasyonu sağlar [4].

### 2.8.2.2 Metal Katyonları

Canlıların temel yapısını oluşturan 6 elementin yani, C H O N P ve S'lerin yanında miktarı azınsanacak kadar az ve çoğu metal olan 6 element daha vardır. Örneğin 70

kg'lık bir insan vücudunda 1 kg  $Ca^{+2}$  (kemiklerde), 0.2 kg  $P^+$  (kemiklerde), 40 g  $Na^+$  (kanda), 250 g  $Cl^-$  (kanda), 200 g  $K^+$  (hücrelerde), 20 g  $Mg^{+2}$  ve 4 g  $Fe^{+2,+3}$  vardır. Bunların çoğu enzimden ayrıldıktan sonra, enzim aktifliğini yitirmediğinden kofaktör oldukları anlaşılmıştır [4].

Kofaktörler, etkinliklerini ya enzim ya da koenzime bağlanarak gösterirler. Enzime bağlı olanlar doğrudan doğruya proteine bağlı olabileceği gibi bazıları da enzim sisteminin bir parçası olan prostetik grubu içerisinde bulunurlar. Kofaktör olarak metal katyonlarının etkinlikleri aynı zamanda onların koordinasyon sayıları ile de ilgili dir.

Tablo 2.3'de kofaktör olarak metal iyonlarını kullanan enzimler sıralanmıştır. Bu enzimlerde metal iyonlarının iki çeşit fonksiyonu vardır. Birincisi; substrat ve enzim arasında köprü görevi görerek koordinasyon kompleksi oluşumuyla bunları birbirine bağlar. İkinci olarak kendisi katalitik bir fonksiyon görür. Mesela; katalaz enziminin demir atomları, hidrojenperoksidin parçalanmasında katalitik merkez görevini üstlenmiştir. Aynı özelliği demir tuzları da hidrojen peroksidin bozunması reaksiyonunda göstermektedir. Fakat bu özellik enzimin protein kısmı tarafından daha da artırılmıştır.

Tablo 2.3 Kofaktör olarak metal iyonu ihtiva eden bazı enzimler

$Zn^{+2}$	Alkol dehidrogenaz Karbonik anhidraz Karboksi peptidaz	$Fe^{+2}$ veya $Fe^{+3}$	Sitokromlar Peroxidaz Katalaz Ferridoksin
$Mg^{+2}$	Fosfoliidozlar Fosfotransferazlar	$Cu^{+2}$ ( $Cu^+$ )	Tirozinaz Sitokrom oksidaz
$Mn^{+2}$	Arginaz Fosfotransferazlar	$K^+$ $Na^+$	Pruvat fosfokinaz ( $Mg^{+2}$ de gerekir). Pazın membran ATP-azı ( $Mg^{+2}$ ve $K^+$ iyonları da gerekir)

### 2.8.2.3 Koenzimler

Koenzimlerin pek çoğunun kimyasal yapısı tespit edilmiştir. Enzime kovalent bağlarla değil, iyonik bağlarla veya hidrojen bağlarıyla bağlanmışlardır. Basit işlemlerle ayrılabilirler. O zaman enzim aktifliğini yitirir. Çünkü biyokimyasal reaksiyonlar koenzimüzerinden yürür. Pek çoğunun belirli vitaminlerle direkt olarak ilgili olduğu bulunmuştur. Vitaminler organizmalar tarafından sentezlenemeyen ancak normal metabolizmanın devamı için gerekli olan organik bileşiklerdir. Organizmalar sentetik yetenekleriyle birbirlerinden ayrıldıklarından bir tür için vitamin olan madde bir diğeri için olmayabilir. Vitaminlerin çoğu (özellikle de B

grubu olanlar) koenzimlerin sentezinde yapısal birimler olarak kullanılmaktadır. Bu gözlem organizmalarının normal işlemlerinde vitaminlerin neden hayati bir rol oynadıklarını açıklamaktadır [2,4].

Tablo 2.4’de bilinen önemli koenzimler ve onların görev aldıkları reaksiyon tipleri verilmiştir. Koenzimler genellikle elektronların ve belirli atomların veya fonksiyonel grupların transferini gerçekleştirirler. Koenzimlerin birçoğu tiamin, lipoiik asit, riboflavin, pantoteniik asit, nikotinamid gibi vitaminleri yapılarının aktif bir parçası olarak ihtiva ederler. B vitaminlerini oluşturan bu bileşikler hayvan organizmaları tarafından sentezlenemediğinden besinlerle alınmaları gerekir [1].

Tablo 2.4 Grup transferi gerçekleştiren koenzimler

Koenzim	Taşıyan birim
Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD <sup>+</sup> )	Hidrojen atomları (elektronlar)
Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP <sup>+</sup> )	Hidrojen atomları (elektronlar)
Flavin mononükleotid (FMN)	Hidrojen atomları (elektronlar)
Flavin adenin dinükleotid (FAD)	Hidrojen atomları (elektronlar)
Koenzim Q (CoQ)	Hidrojen atomları (elektronlar)
Tiamin pirofosfat (TPP)	Aldehitler
Koenzim A (CoA)	Açıl grupları
Lipoamin	Açıl grupları
Kobamidd koenzimi	Alkil grupları
Biyositin	CO <sub>2</sub>
Pridoksal fosfat	Amino grupları
Tetrahidrofolat koenzimi	Metil, metilen, formil veya formilino grupları

Bir kısım enzimlerin, özellikle hidrolitik enzimlerin (hidrolazlar) etkinlik göstermesinde koenzim gerekir. Bunların aktif merkezlerinde bulunan CH<sub>2</sub>OH imidazol, glutamiasit, aspartat gibi aktif gruplarla reaksiyon yürütülür. Öte yandan redoks enzimlerinde (dehidrojenazlar, redüktazlar, oksidazlar gibi) veya anabolik ya da katabolik enzimlerde kendisi de reaksiyona giren koenzimlerle birlikte etkin olurlar. Bunlar mekanistik bakımdan incelendiğinde 3 duruma ayrılır;

1. Sıralı mekanizma. 2. Sırasız mekanizma. 3. Ping-pong mekanizması [4].

1. Sıralı Mekanizma: Burada enzim koenzim substrat üçlü kompleksi (E.K.S.) oluşur. Reaksiyon bu üçlü kompleks içinde meydana gelir. Yeni kompleks içinde ürün bulunur;



Bundan sonra ürün kompleksten ayrılır. Sıralı mekanizmada üçlü kompleksin oluşması ve dönüşümlen sonra meydana gelen yeni üçlü kompleksten ürünün ayrılması belirli bir sıraya göre olur.

2. Sırasız Mekanizma: Burada üçlü kompleks oluşmasında ve üçlü kompleks içinde dönüşümlenmeden sonra ayrılmalarda sıra önemli değildir.



olabildiği gibi,



de olabilir.



dönüşümünden sonra ayrılmalarda,

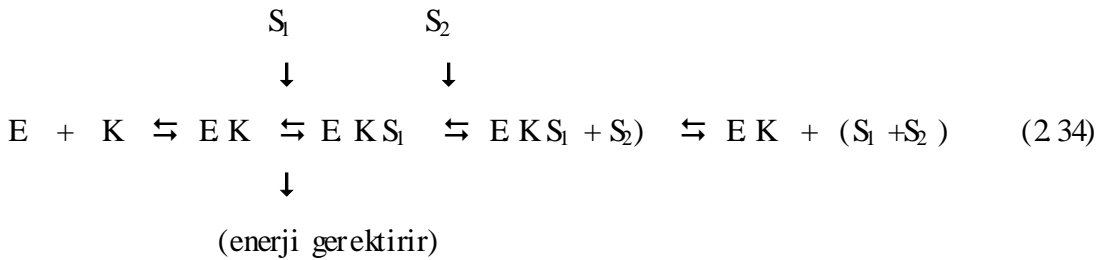


olabildiği gibi,



de olabilir.

3. Çok substratlı reaksiyonlarda ping-pong mekanizması: Özellikle substratın karbon sayısını arttıran sentez reaksiyonlarında doğal olarak iki substrat reaksiyona girer. Böyle reaksiyonlarda karbon sayısı artmış olan ürün EK kompleksinden ayrılıncaya, bu kompleks ayrışmadan yeniden reaksiyona girer [4].



## 2.8.2.4 Enzimli Reaksiyon Hızlarının Kofaktörlere Bağlılığı

Michaelis-Menten eşitliği, substrat konsantrasyonu ile enzimlik reaksiyon hızı arasındaki ilişkiyi tanımlamanın yanı sıra; hızla kofaktör arasındaki ilişkileri de açıklar.



denge durumunda enzimin aktif hali daha sonra,



denge reaksiyonu ile substrat bağlanarak ESK kompleksini oluşturur. Reaksiyon hızı bu kompleksin konsantrasyonu tarafından tayin edilir. Bu olayda enzimin yalnız substratla değil, kofaktörüyle de doyumu söz konusudur.

$K_M$  Michaelis sabitinin yarı maksimum hızdaki substrat konsantrasyonunun ve enzimin substrata ilgisiz derecesinin ifadesidir. Aynı şekilde enzimin kofaktörle ilişkisini gösteren ve yarı maksimum aktivitenin gerçekleştirdiği kofaktör konsantrasyonuna eşit olan bir Michaelis sabiti de kofaktör için vardır. Kofaktör  $K_M$  değeri, doygunluk seviyesindeki sabit substrat konsantrasyonunda, kofaktör konsantrasyonunun reaksiyon hızı üzerine etkisini ölçmesiyle elde edilir. Özet olarak koenzimli reaksiyonların kinetiği incelenirken koenzimler substrat gibi işleme tabi tutulurlar [1].

## 2.8.3 Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler

### 2.8.3.1 Enzim Aktivitesine Sıcaklığın Etkisi

Kinematik reaksiyonların çoğunun önde gelen prensiplerinden biri sıcaklıktaki yaklaşık  $10^\circ\text{C}$ 'lik bir artışın reaksiyon hızını 2 ya da 3 kat artırmasıdır. Ancak belli bir noktadan sonra, sıcaklığın artması reaksiyon hızını düşürür (Şekil 14.7). Bir enzimin maksimum aktiviteyi sağlayan sıcaklığa “optimum sıcaklık” denir. Sıcak kanlı hayvanların enzimlerinin çoğunun optimum sıcaklıkları  $37^\circ\text{C}$ ’dir. Hızdaki düşüş, enzimlerin protein olmaları ve bu sebeple sıcaklıkla denatüre olmaları gerçeğinin direkt bir sonucudur. Sıcaklık artışı enzimlerin sekonder ve tersiyer

yapılarını bozar ve aktif alanın dezoryante olmasına (dizilimini bozulmasına) sebep olur [3].

0°C'ta ve 100°C'ta enzim tarafından katalizlenen reaksiyonların hızları neredeyse sıfırdır. Bu gerçeğin birçok pratik faydası vardır. Enzimleri temas halinde olabilecekleri bakterilerden arıtma için kaynayan suya atarız. Vücut sıcaklıklarının düşmesi sebebiyle hayvanlar (özellikle kış mevsiminde) kış uykusuna yatarlar ve bunun sonucu metabolizmalarının hızı düşer (bu düşük metabolizma hızını sağlayabilmek için gerekli yiyecek dokular da depolanır) [3].

Kinematik kanunlarına göre reaksiyon hızları sıcaklıkla artmaktadır. Enzimatik reaksiyonlar ancak belli bir sıcaklığa kadar bu kanuna uyabilmektedirler. Bu optimum sıcaklığa kadar, enzimatik reaksiyonların da hızları sıcaklıkla artar. Enzim reaksiyonları için de, bu sıcaklık bölgesindeki Arrhenius aktifleştirme enerjisini hesaplamada kullanılan,

$$k = A e^{-E_a / RT} \quad (2.37)$$

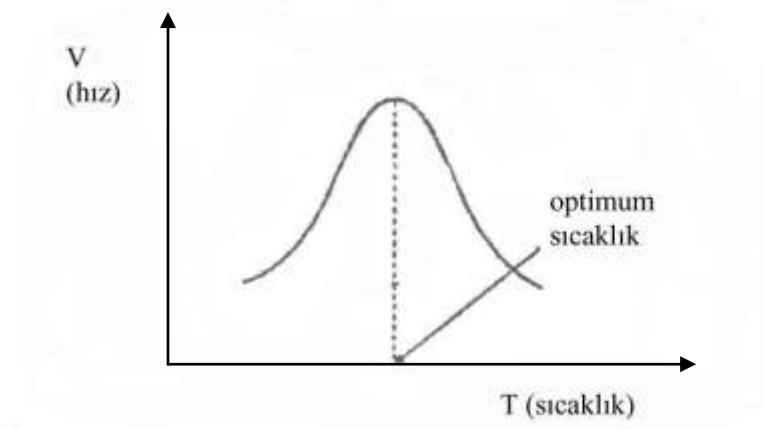
ya da

$$\ln k = \ln A - E_a / RT \quad (2.38)$$

bağıntıları geçerli olur. Belirli bir optimum sıcaklıktan sonra enzimler denatüre olmaya başlanmaktadır ve bunun sonucu olarak da enzim aktivitesi azalmaya başlanmaktadır. Bunun için optimum sıcaklıktan daha yüksek sıcaklıklarda enzimatik reaksiyonların hızları düşmeye başlar. Genellikle enzimlerin çoğu 50-60°C'ta iktif hale geçmektedir. Bununla beraber 80-90°C sıcaklığa kadar aktivitelerini saklayan enzimlere de rastlanmaktadır. Enzimlerini iktif hale geçmeleri olayına denatürasyon denir. Denatürasyon dönüşümsüz (tersinmez) bir olaydır. Yani sıcaklığın etkisiyle denatüre olarak aktivitesini kaybeden bir enzimi aktif hale getirmek mümkün değildir. Bu bakımdan enzimler genellikle amonyum sülfat çözeltisi içerisinde veya liofilize edilerek kuru toz halinde ve soğukta saklanırlar.

Enzimlerin denatüre oluşme mekanizmaları da kinematik kanunlarla incelenebilmektedir. Genellikle denatürasyon hızının aktifleşme enerjisi 40.000- 100.000 cal/ mol arasında

değişmektedir. Her enzimin aktivitesinin maksimum olduğu belirli bir optimum sıcaklık vardır. Buna ait grafik Şekil 2.9'da görülmektedir [3].



Şekil 2.9 Enzim katalizli bir tepki üzerine sıcaklığın etkisi

### 2.8.3.2 Enzim Aktivitesine Hidrojen İyon Konsantrasyonunun (pH) Etkisi

Enzim substrat ve koenzim moleküllerinde asitli veya bazlı gruplar vardır. ES kompleksinin en kararlı bir şekilde oluşması yani hızının maksimum olması için bu grupların belirli bir iyonlaşma durumunda olması gereklidir. Bunun dışındaki iyonlaşmalarda ES kompleksi zayıflar ve reaksiyon hızı düşer. Bu optimum bir pH'ta reaksiyon hızının en yüksek olması demektir. pH ve reaksiyon hızı profili çan eğrisi şeklindedir [4].

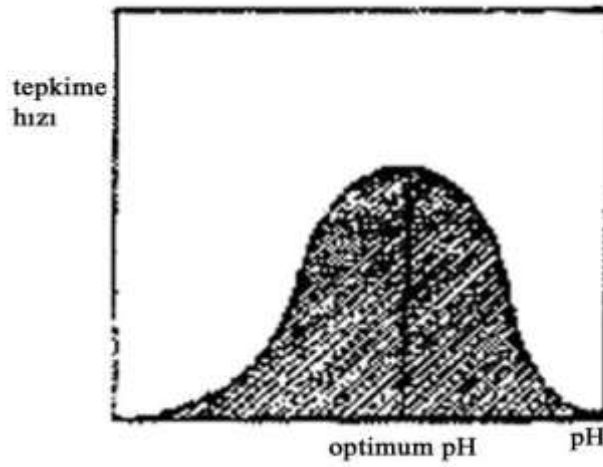
Her enzimi için aktivitelerin maksimum olduğu pH değerleri vardır. Bu değerlerin üzerinde ve altında aktivite değerleri düşer. Bununla birlikte bütün enzimlerin pH-aktivite eğrileri aynı şekilde değildir. pH-aktivite ilişkisinde etkili olan faktörler şunlardır:

1. Substratı bağlamada görev alan ve enzimin aktif bölgesinde bulunan iyonlaşabilir grupların pK'sı
2. Enzim bağlanma olayında görev gören substratların pK'sı
3. Enzim üzerindeki katalitik göreve sahip grupların pK'sı
4. Enzimin biyolojik olarak aktif konformasyonunu belirleyen grupların pK'sı.



pH aktivite eğrileri, her bir pH için substratla doyurulmuş enzim çözeltileri ile yapılan deneyler sonucu elde edilir. Çünkü birçok enzimin  $K_M$  sabiti pH ile değişir. Elektriksel yönden nötr veya üzerindeki yükler kataliz olayında hiçbir rol oynayan substratlara sahip enzimlerin, pH aktivite eğrileri çok basittir [1].

Enzimin en fazla aktivite gösterdiği pH değerine optimum pH denir. Bu pH'nın altında ve üstündeki değerlerde enzimin aktif merkezini oluşturan gruplar değişime uğrayarak inaktif duruma geçerler (Şekil 2.10).



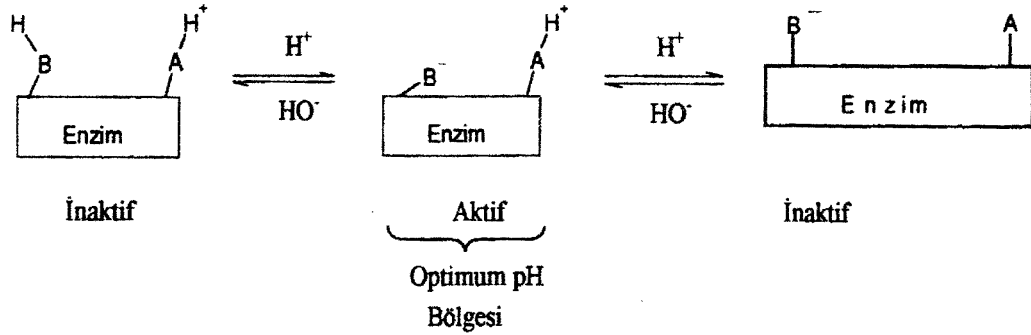
Şekil 2.10 Enzim aktivitesi ile pH'nın ilişkisi

Her enzimin pH 3 ile 8 arasında olan bir optimum pH'si vardır. Ancak pek çok enzimin pH 7 dolayındadır. Çok asitli veya çok bazik ortamlarda enzim molekülleri denatüre olacağından, reaksiyon hızı tersine  $0$ 'a düşer. Enzimlerle yapılan laboratuvar deneylerinde reaksiyon ortamının tampon çizelgesini hazırlamak için öncelikle optimum pH'nın bilinmesi ve tayini edilmesi gerekir [4].

Bir enzimin optimum pH'sı normal hücre içi ortam pH'sı ile aynı değildir [1]. Canlı hücrelerde ortamın pH'ının nötrale yakın olduğu bilinmektedir [4]. Hücrelerden her birinde pH davranışı farklı yüzlerce enzim mevcuttur ve pH'nın karışık hücre içi kontrol ağında çok önemli bir yeri vardır. Ancak, biyokimyasal reaksiyonlar sırasında her enzimin yerel pH'ını tayin etmek mümkün değildir. Bu yerel pH'larda küçük değişiklikler meydana gelerek bu yolla da reaksiyon hızlarının ayarlandığı sanılmaktadır [1, 4].

Protein esaslı yapılarının bir sonucu olarak enzimler buldukları ortamın pHındaki değişimden etkilenirler. pH'ın uç (düşük ya da yüksek) değerleri proteinin denatüre olmasına sebep olabilir. Ancak, hidrojen iyonu konsantrasyonundaki en ufak bir değişiklik hemenzimdeki hem de substrattaki asidik ve bazik gruplarının iyonlaşma derecesini değiştirir. Eğer aktif alanda iyonlaşabilen gruplar varsa ve eğer enzimin substrata bağlanabilmesi için belirli bir yük gerekiyorsa, bu yüklerinden herhangi biri nötralize edilen bir enzim katalitik aktivitesini kaybeder. Bir enzim uygun yüke sahip olduğu dar bir pH aralığında maksimum katalitik aktivite gösterir. Bu aralığın orta değeri optimum pH adını alır (Şekil 2.10). Mide özsuyu dışında vücut sıvılarının hemen hepsinin optimum pHları 6 ile 8 arasındadır[2].

Enzimin aktif merkezi oluştururan aminoasitlerin aktif grupları asidik ve bazik olabilirler, yalnız asidik olabilirler, yalnız bazik olabilirler ya da ne asidik ne de bazik olabilirler (Böyle durumda komşu asidik veya bazik gruplarının etkisi dolaylı olmaktadır). Enzimatik reaksiyon bu grupların hangisine uyarsa uysun bu tür enzimlerin belirli bir optimum pH'ta maksimum aktivite göstermelerine ilişkin genel mekanizma şematik olarak Şekil 2.11'deki gibidir.



Şekil 2.11 pH değişiminde enzimin aktivite durumu

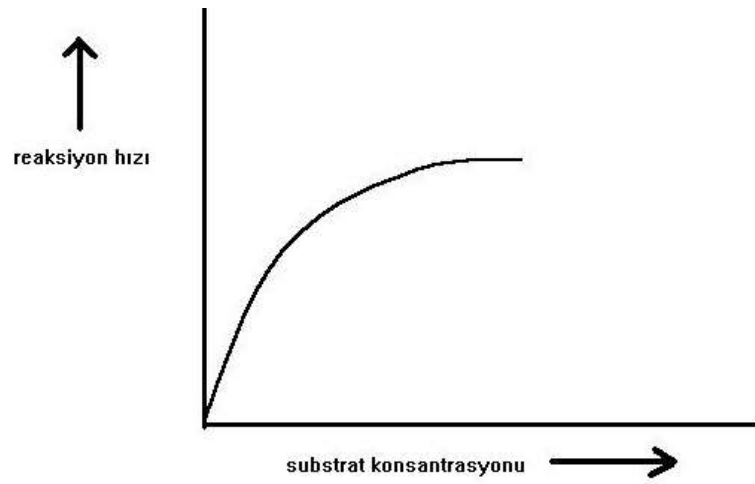
### 2.8.3.3 Enzimin Aktivitesine Substrat Konsantrasyonunun Etkisi

Belli bir hıza ulaşılan kadar substrat konsantrasyonu arttıkça enzimlik reaksiyon hızı da artar. Bu noktada, substrat konsantrasyonunun daha da artması reaksiyon hızında belirgin bir artışa sebep olmaz. Şekil 2.11 enzim tarafından katalizlenen karakteristik bir reaksiyon örneğidir ve enzim-substrat kompleksinin varlığının bir kanıtıdır. Yüksek substrat konsantrasyonlarında herhangi bir anda, pratik olarak tüm enzim molekülleri substrata doymuştur. Fazla substrat molekülleri, E-S kompleksi

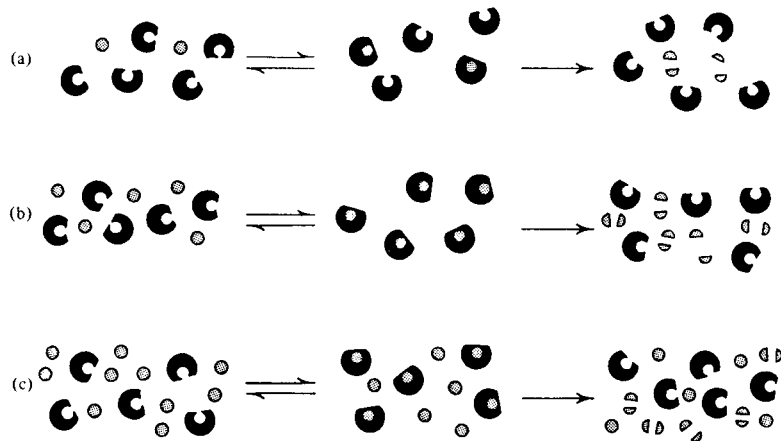
ayrılıp ürünleri ve serbest enzimleri verinceye kadar reaksiyona girmekten beklerler. Bu ilişki Şekil 2.12'de gösterilmiştir aşağıda verilen iki eşitlikle özetlenebilir.



Düşük substrat konsantrasyonlarında hızı belirleyen faktör E-S kompleksinin oluşumudur, yüksek substrat konsantrasyonlarında ise E-S kompleksinin ayrılması en yavaş basamaktır [2].



Şekil 2.12 Substrat konsantrasyonunun sabit miktarda enzimle katalizlenen bir reaksiyonun hızına etkisi

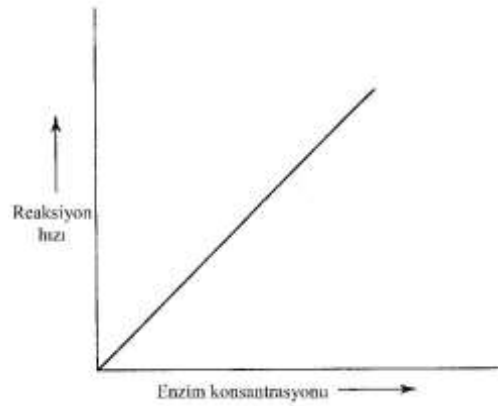


Şekil 2.13 Enzim ve substratın birbirlerine göre konsantrasyonlarının şematik gösterimi

Şekil 2.13'te (a) düşük substrat konsantrasyonu, (b) yeterli substrat konsantrasyonu, (c) fazla substrat konsantrasyonu hallerini temsil etmektedir.

#### 2.8.3.4 Enzim Aktivitesine Enzim Konsantrasyonunun Etkisi

Tüm pratik durumlarda enzim konsantrasyonu substratınkinden çok daha düşük olduğundan (substrat enzime doymuş olmayacağından) enzim tarafından katalizlenen bir reaksiyonun hızı her zaman enzim konsantrasyonuna bağlıdır (Şekil 2.14). Bu yeni bir şey değildir, çünkü tüm katalitik reaksiyonların hızı katalistin konsantrasyonu arttıkça artar [2].



Şekil 2.14 Enzim konsantrasyonunun reaksiyon hızına etkisi

#### 2.8.3.5 Enzim Aktivitesine İnhibitörlerin Etkisi

Enzimatik reaksiyonların hızlarını azaltan maddelere genel olarak inhibitör adı verilmektedir. İnhibitörlerin reaksiyon hızını azaltıcı etkileri birbirinden farklı olabilir. Örneğin, proteinlerin çökmesine ya da denatüre olmasına sebep olabilen maddeler enzimatik reaksiyonları inhibe ederler (ketlerler). Bunların dışında -SH grupları bulunuyorsa, böyle enzimler üzerine bazı ağır metal iyonları inhibitör olarak etki ederler. Bazı inhibitörler de enzimin etken (prostetik) grubu üzerine etki ederek enzimi inaktif hale getirebilirler. İnhibitörlerin bazıları tıpkı substratlar gibi enzimlerle kompleks yaparlar. Bunlar iki sınıfa ayrılır; bir kısmı substratın enzime bağlandığı aynı aktif merkezler üzerinde enzimle kompleks yaparlar. Böyle inhibitörler enzime substrata kıyasla daha kolay kompleks verebildiği oranda etkilidirler. Bu bakımdan böyle inhibitörlere “rekabet edici inhibitörler” adı verilmektedir. Diğer bir tür inhibitörler ise enzime substratın bağlandığı yerden

bağlanmazlar. Bu durumda hem substrat hem de inhibitör aynı anda enzim üzerine bağlanabilir. Böyle inhibitörlere “rekabet etmeyen inhibitörler” denir [3].

Genellikle ağır metallerin katyonları (demir, bakır vb tuzları) enzimler için inhibitördür. İndirgen ve yükseltgen maddeler de enzim yok edici maddelerdir. Enzimler protein yapıdaki katalistler olduğundan, genel olarak hem proteinleri hem de katalistleri etkileyen faktörlerden etkilenirler. Bir enzimin aktivitesi, katalizlediği reaksiyon belirli zaman aralıklarında takip edilerek ölçülebilir. Reaksiyonun hızı ya substratın tüketilmesi hızının ya da ürünlerin oluşum hızının gözlenmesiyle tespit edilebilir. Bu tür deneylerde hız tek değişkendir ve diğer tüm koşullar sabit tutulmalıdır [2,3].

#### **2.8.4 Enzim Aktivitesi ve Miktarı Tayini**

Bir çözelti veya doku ekstraktı içindeki enzim miktarı, enzimin katalitik aktivitesinden faydalanılarak bulunur. Bu iş için enzim hakkında şu bilgiler gerekmektedir:

1. Katalizlenen reaksiyon denkleminin net stoikiyometresi
2. Enzimin kofaktör veya metal iyonuna ihtiyacı olup olmadığı
3. Substrat ve varsa kofaktörü için  $K_M$  değerleri
4. Optimum pH
5. Enzimin kararlı ve enzim aktivitesinin yüksek olduğu sıcaklık aralığı
6. Substratın kayboluş veya ürünün oluşum hızlarının tespit edilebildiği basit bir analitik yöntem.

Enzimler optimum pH'ta ve doygunluğun üzerindeki substrat konsantrasyonlarında çalışırlar. Böylece sıfırıncı derecede bir reaksiyon oluşur. Kofaktörlü enzimlerle ilgili tayinlerde, koenzim veya metal iyonları konsantrasyonları doygunluğun çok üzerinde alınır. Bu durumda sistemde hızı sınırlayan tek faktör enzim konsantrasyonudur. Yani, hız enzim miktarıyla doğru orantılıdır ve çözeltideki enzim seviyesini direkt olarak verir. Ürünün oluşum hızının ölçülmesi genellikle substratın harcanma hızına

göre daha hassas sonuçlar verir. Çünkü tayındeki substrat konsantrasyonu oldukça yüksektir ve harcanan miktar da buna oranla çok düşüktür. Dolayısıyla farkı hassas olarak belirtmek imkansızdır. Reaksiyon ürünleri özel kimyasal veya spektroskopik metotlarla ölçülür. Bunlardan ikincisi daha avantajlıdır, çünkü reaksiyonun devam boyunca ölçüm yapılabilir ve buna paralel olarak sonuçları grafik üzerine kaydetmek mümkündür [1].

## 2.9 Enzim İnhibisyonu

Enzimlerin hem canlı organizmalardaki hem de laboratuvar ortamındaki aktivitelerinin bazı bileşikler tarafından azaltılması ve hatta yok edilmesi olayına inhibisyon adı verilir. Buna sebep olan bileşiklere de inhibitör denilir. İnhibitörler genellikle küçük molekül ağırlığına sahip bileşikler veya iyonlardır.

Enzimatik aktivitelerin inhibisyonu, biyolojik sistemlerde başlı başına bir kontrol mekanizması oluşturduğundan, önemli bir olaydır. Birçok ilaçlar ve zehirli bileşikler de fonksiyonlarını bu yolla gerçekleştirirler. İnhibisyon olayından aynı zamanda enzimetik mekanizmalarının incelenmesinde de faydalıdır.

Enzimatik inhibisyon dönüşümlü ve dönüşümsüz olabilir. Dönüşümsüz inhibitör enzim ya kovalent olarak bağlanır ya da zor ayrışabilen bir kompleks oluşturur. Sinerjyaları niteliklerinde önemli bir rol oynayan asetil kolin esteraz enziminin sinerji gazı zehirleri tarafından inhibisyonu buna bir örnektir.

Dönüşümsüz inhibisyonun aksine dönüşümlü inhibisyonda, enzime inhibitör etkileşmesi bir denge reaksiyonu şeklindedir. Dönüşümlü inhibisyonun en basit tipi yarışmalı (kompetitif) olanıdır. Yarışmalı inhibitör, yapı itibarıyla substrata benzer ve enzim aktif merkezine bağlanır (Şekil 2.15). Böylece substratın enzime bağlanması önlenmiş olur. Fakat substrat konsantrasyonunu arttırmakla inhibisyon etkisi kaldırılabilir. Yani enzimin  $V_{max}$  değeri değişmez. Çünkü hem enzim-substrat, hem de enzim-inhibitör komplekslerinin ayrışmaları bir denge reaksiyonu olduğundan substrat konsantrasyonunun arttırılması dengeyi E-S kompleksi lehine kaydırır.



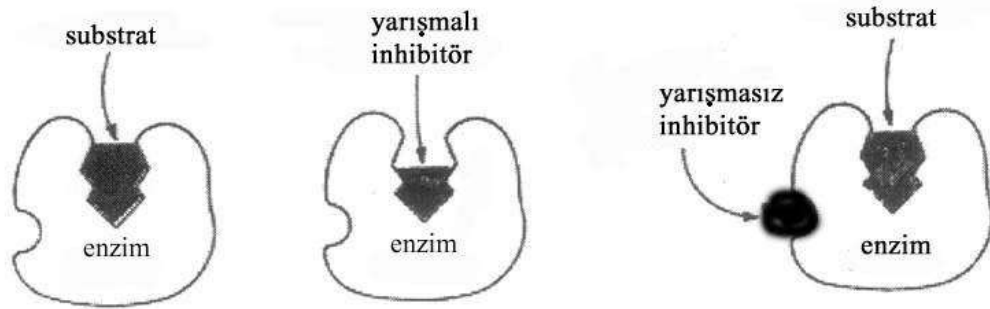
dengesi ne benzer şekilde, I i n h i b i t ö r ü g ö s t e r d i ğ i n d e ;



denge denklemini yazabiliriz. Son reaksiyonun denge sabiti K;

$$K = [E][I] / [EI] \quad (2.43)$$

şeklinde ifade edilir.



Şekil 2.15 Yarışmalı ve yarışmasız inhibisyonların şematik gösterilişi

Yarışmalı inhibitör kataliz hızını, E-S kompleksi oranını düşürerek azaltılır. Bir başka ifade ile enzimin  $K_M$  değeri artar. Bu tip inhibisyona, malonatın süksinat dehidrogenaz enzimi üzerindeki etkisi klasik bir örnek olarak verilmiştir. Bu enzim süksinattan iki hidrojen atomunun çıkarılmasını katalizler.



Yukarıda görüldüğü gibi malonat, süksinata göre bir eksik metilen grubu ihtiva ettiği için iki karboksil grubu vasıtasıyla enzime yapışır fakat hidrojen verebilecek iki karbon atomu olmadığından değişmeden kalır.

Yine dönüşümü bir tip olan yarışmasız (an Kompetitif) inhibisyonda inhibitör ve substrat enzim moleküllerine aynı anda bağlanabilir (Şekil 2.15). Bu bağlanmanın enzimin aynı bölgesine olmadığını gösterir. Yarışmasız bir inhibitör etkisini bir enzimin turnover sayısını, yani katalitik aktivitesini düşürerek gösterir. Burada substrat ve inhibitör arasında yarışma söz konusu değildir. Substrat konsantrasyonunu arttırmakla inhibisyon kaldırılmaz. Enzimin  $V_{max}$  değeri

azalırken,  $K_M$  sabit kalır. Substrat ve inhibitör farklı bölgelere yapışabildiğinden enzimdeki çeşitli aktif kompleks meydana gelir: EI ve ESI, ESI'dan I dönüşümü olarak ayrışabildiğinden yine ürün meydana gelebilir fakat katalizmede yavaşlamadır. Bu tip inhibisyonda şu reaksiyonlar olabilir;



Yarışmasız inhibisyona örnek olarak, enzimlerin aktivitelerinde gerekli olan sisteinlerin -SH gruplarına bazı ağır metal iyonlarının merkeze oturacak şekilde dönüşümü olarak bağlanmalarını verebiliriz [1].

Bir başka dönüşümü inhibisyon tipi ankompetitif inhibisyondur. Bu inhibisyon çeşidinde inhibitör serbest enzime değil, sadece ES kompleksine bağlanabilir.



Buna göre inhibitör sabiti,

$$K_i = \frac{[ES][I]}{[ESI]} \quad (2.47)$$

şeklinde ifade edilir. Bu bağıntı ankompetatif inhibitör varlığında substrat konsantrasyonunun yükseltilmesiyle inhibisyonun artabileceğini göstermektedir. Buna göre inhibitör varlığında ortamdaki ES kompleksi uzaklaştığı için  $K_M$  azalır. Aynı zamanda ortamdaki ESI kompleksi sürekli var olacağından  $V_{max}$  düşer.

Ankompetatif inhibisyon bir substratlı reaksiyonlarda ender görülür; buna karşılık iki substratlı reaksiyonlarda yaygındır.



İnhibitörleri çok defa yarışmalı ve yarışmasız olmak üzere keskin sınırlarla birbirinden ayırmak mümkün değildir. Gerçekte inhibisyon genellikle karışıktır.

Birden fazla polipeptid zincirinden meydana gelen allosterik enzim adı verilen enzimlerde, allosterik inhibisyon adı verilen bir başka çeşit inhibisyon olayı gözlenir. Bu inhibisyon çeşitlerinde, inhibitörler enzimin aktif merkezinden başka yere bağlanırlar ve üç boyutlu yapıyı değiştirerek enzim aktivitesini etkilerler [1].

## **2.10 Enzimlerin Spesifliği**

Enzim diğer katalistlerden ayıran özelliği substrat spesifliğidir. Örneğin; hidrojen iyonları disakaritlerin, polisakaritlerin, lipitlerin ve proteinlerin hidrolizini bunları ayırt etmeksizin yapar ancak bu dörtü için de farklı enzimler gerekmektedir. Enzim spesifliği her bir enzimin aktif alanının yegane olmasının bir sonucudur, ve bu yeganelik burada bulunan grupların kimyasal yapıları, elektrik yükleri ve uzamsal dizilişlerinin bir fonksiyonudur. Birçok enzim spesifliği tipi bulunmaktadır ve keyfi olarak şu şekilde gruplandırılmışlardır [2].

### **2.10.1 Mutlak Spesiflik**

Mutlak spesifliğe sahip olan enzimler yalnızca belirli bir substratın belirli bir reaksiyonunu katalizlerler ve benzer yapıdaki substratlara hiçbir katalitik etkileri yoktur. Örneğin, üreaz üreyi hidroliz eder ancak metil üreyi ya da biüreti hidroliz etmez. Arginaz ve sünnik asit dehidrojenaz diğer örneklerdir [2].

### **2.10.2 Stereokimyasal Spesiflik**

Enzimlerin çoğu substratın yalnızca bir stereoisomerik haline karşı önemli derecede spesiflik gösterirler. Laktik asit dehidrojenaz, kas hücrelerinde bulunan L-laktik asidin oksidasyonunu katalizler ancak birçok mikroorganizmada bulunan D-laktik asidin oksidasyonunu katalizlemez. Füneraz, fümerik asitde su katar fakat onun cis-izomeri olan maleik asitde su katar [2].

### **2.10.3 Grup Spesifliği**

Grup spesifliği olan enzimler daha az seçicidirler çünkü aynı fonksiyonel gruplara sahip olan, yapısal olarak benzer moleküllere etkiler. Peptidazların çoğu bu

kat egori de d i r l e r . P e p s i n i , a r o m a t i k a m i n o a s i t b a ğ l a y a n t ü m p e p t i t l e r i h i d r o l i z e d e r . K a r b o k s i p e p t i d a z , z i n c i r i n k a r b o k s i l u c u n d a n p e p t i t l e r e s a l d ı r a r a k h e r d e f a s ı n d a b i r a m i n o a s i t k o p a r ı r [ 2 ] .

#### **2.10.4 Ba ğ S p e s i f i k l i ğ i**

B a ğ s p e s i f i k l i ğ i o l a n e n z i m l e r e n d ü ű ü k s p e s i f i k l i ğ e s a h i p e n z i m l e r d i r ç ü n k ü b a ğ ı n ç e v r e s i n d e k i y a p ı s a l ö z e l l i k l e r e b a k m a k s ı z ı n s a d e c e b e l l i b i r t i p t e k i k i m y a s a l b a ğ a s a l d ı r ı r l a r . L i p i d l e r d e e s t e r b a ğ l a r ı n h i d r o l i z i n i k a t a l i z l e y e n l i p a z l a r b u e n z i m t ü r ü n e ö r n e k t i r [ 2 ] .

### **2.11 En z i m T ü r l e r i , E n z i m a t i k R e a k s i y o n l a r ı n K o n t r o l ü v e D ü z e n l e n m e s i**

#### **2.11.1 A l o s t e r i k E n z i m l e r**

B i r ç o k m u l t i e n z i m s i s t e m i , n e t r e a k s i y o n h ı z l a r ı n ı k e n d i k e n d i l e r i n e d ü z e n l e m e k a p a s i t e s i n e s a h i p t i r . B u s i s t e m l e r i n ç o ğ u n d a , s e r i r e a k s i y o n l a r s o n ü r ü n ü , b e l i r l i b i r k o n s a n t r a s y o n a e r i ű i ű i n d e s i s t e m i n i l k e n z i m i n i i n h i b e e d e r . D i ğ e r a r a b i l e ű i k l e r b ö y l e b i r ö z e l l i k g ö s t e r m e z l e r . B u t i p s o n ü r ü n i n h i b i s y o n u n a f e e d - b a c k ( g e r i b e s l e m e ) i n h i b i s y o n u a d ı v e r i l i r [ 1 ] .

K e n d i r e a k s i y o n l a r ı n ı d ü z e n l e y e n e n z i m s i s t e m l e r i n i n ç o ğ u n d a , s o n ü r ü n t a r a f ı n d a n i n h i b e e d i l e n e n z i m r e a k s i y o n s e r i s i n i i l k e n z i m d i r . B u e n z i m l e r e d ü z e n l e y i c i v e y a a l l o s t e r i k e n z i m a d ı v e r i l i r . A l l o s t e r i k e n z i m l e r i n a k t i v i t e l e r i n i e t k i l e y e n b i l e ű i k l e r e m o d ü l a t ö r d e n i r . E ğ e r e t k i a k t i v i t e y i a r t t ı r ı c ı , p o z i t i f y ö n d e i s e a k t i v a t ö r , a k t i v i t e y i a z a l t ı c ı , n e g a t i f y ö n d e i s e i n h i b i t ö r a d ı n ı a l ı r . A l l o s t e r i k e n z i m l e r , s i s t e m i n d a l l a n m a n o k t a s ı n d a k i e n z i m l e r d e o l a b i l i r l e r . S i s t e m t a r a f ı n d a n o l u ű t u r u l a n s o n ü r ü n l e r v e h a t t a b a ű l a n ğ ı t a b u n l a r a b a ğ l ı o l a r a k s e n t e z l e n e n b i l e ű i k l e r , b u e n z i m l e r i i n h i b e e d e b i l i r l e r . Y a n i a l l o s t e r i k e n z i m l e r b i r d e n f a z l a m o d ü l a t ö r b i l e ű i k t a r a f ı n d a n s e n t e z l e n e b i l i r . B u n l a r a m u l t i v a n ( ç o k d e ğ e r l i k l i ) a l l o s t e r i k e n z i m l e r d e n i r . B u b i l e ű i k l e r d e n b a z ı l a r ı n ı n e t k i s i p o z i t i f , b a z ı l a r ı n ı k i i s e n e g a t i f y ö n d e d i r [ 1 ] .

A l l o s t e r i k e n z i m l e r i n e n ö n e m l i o r t a k ö z e l l i ğ i , k a t a l i z e d i k l e r i r e a k s i y o n l a r ı n h ü c r e i ç i ű a r t l a r d a d ö n ü ű ü n s ü z o l m a s ı d ı r . Y a n i i l k e n z i m r e a k s i y o n u k a t a l i z e d i ğ i z a m a n , d i ğ e r l e r i d e h e m e n g e r ç e k l e ű i r [ 1 ] .

Allosterik enzimler diğerlerine nazaran daha büyük, daha kompleks ve saflaştırılmaları daha zor enzimlerdir. Genellikle hepsi birden fazla polipeptit zinciri ihtiva ederler. Kinetik özellikleri Michaelis-Menten ifadesinden ve eğrisinden sapmalar gösterir [1].

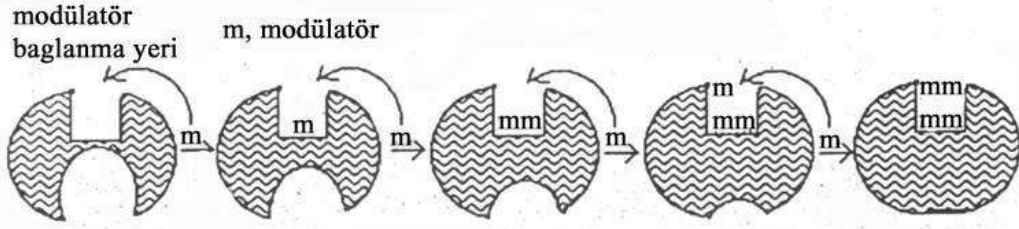
Üç tip allosterik enzim tespit edilmiştir;

- 1- Homotropik
- 2- Heterotropik
- 3- Homotropik-heterotropik

Homotropik allosterik enzimlerde substrat, aynı zamanda konsantrasyona göre katolitik substrattan başka bileşikleri tarafından etkilenmektedir [1].

Allosterik enzimler ‘Düzenleyici enzimler’ türündendirler. Genellikle birden çok polipeptit zincirinden oluşmuşlardır ve aktif merkezleri veya merkezlerden başka modül atör moleküllerini bağlanacağı merkezler de vardır. Bu enzimler değişen [S] substrat derişimine göre sigmoid bir hız profili verirler. Yani eğri ‘S’ şeklinde olup bir dönüm noktası vardır. Düzenleyici etki de aktivatör ve inhibitör olarak etkiyen moleküllerini bağlanacağı yerler vardır. Modül atör buralara bağlandığı zaman aktif merkezin konformasyonu değişerek düzenleyici etki ortaya çıkar. Allosterik enzimler çok basamaklı bir reaksiyon dizisi içeren metabolizmanın orta bir yerinde bulunurlar [4].

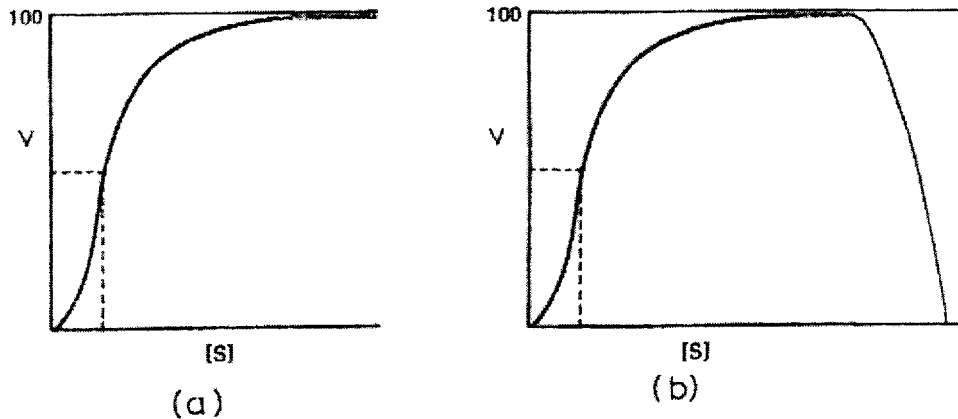
Allosterik enzimlerin aktifliklerinin birdenbire değil de ardışık olarak artan veya azalan bir şekilde değişmesi, modül atör molekülün bağlanma merkeziindeki boşluğa 1, 2 veya daha çok ve sırasıyla bağlanmasıyla açıklanmaktadır. Bu durum Şekil 2.16’da gösterilmiştir. Modül atör enzim bağlandıkça aktif merkezin konformasyonu değişir ve substratın enzime bağlanma yeteneği gittikçe azalır [4].



Şekil 2.16 Allostrik enzimlerin aktifliklerinin ardışık bir şekilde değişmesi

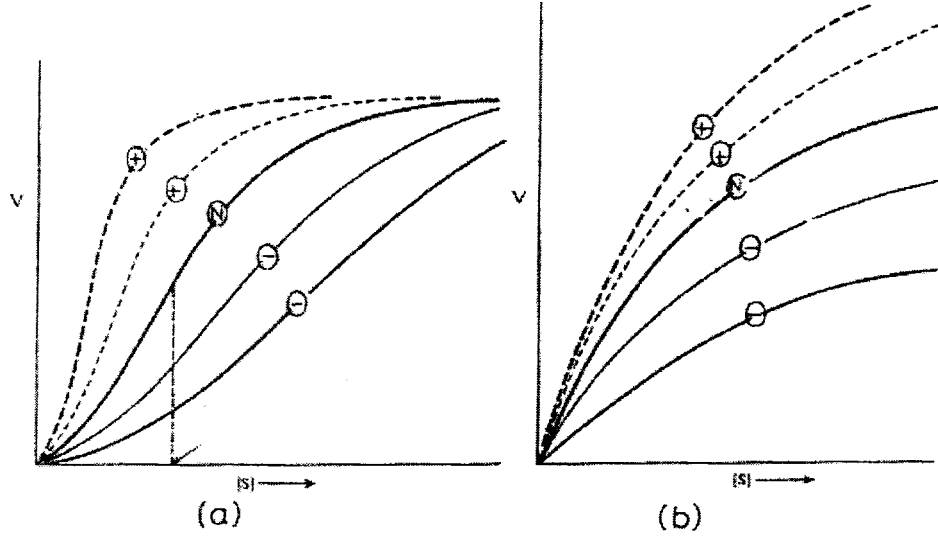
Allostrik enzimkinetiğinin klasik Michaelis-Menten davranışının  $v-[S]$  eğrilerinin şekilleri, homotropik veya heterotropik olmalarına bağlıdır. Fakat genelleme yapmak tam doğru değildir. Bilindiği gibi Michaelis-Menten  $v-[S]$  eğrisi hiperboliktir. Homotropik düzenleyici enzimlerin  $v-[S]$  eğrisi ise sigmoid yapıdadır (Şekil 2.17). Eğrinin sigmoid hali ilk bağlanan substratın, ikincisinin bağlanmasını kolaylaştırdığını ve bu suretle aktiviteyi arttırdığını gösterir. Bazen bu eğriler çok diktir; substratın konsantrasyonunda az bir artış, kataliz hızında büyük bir yükselmeye neden olur [1].

Homotropik enzimler artan substrat konsantrasyonuna karşı üç çeşit davranış gösterirler. Bazılarında enzimin substrata aktivitesi artarken ve bunun sonucu olarak da  $K_M$  azalırken  $V_{max}$  değişmez (Şekil 2.17.a). Bazılarında ise, maksimum hıza erişildikten belirli bir substrat konsantrasyonu sonrası substrat, bir inhibitör gibi davranarak hızı azaltılır (Şekil 2.17.b). Az sayıdaki bazı homotropik enzimlerde ise affinite yani  $K_M$  aynı kalırken  $V_{max}$  değişir [1].



Şekil 2.17 Homotropik allostrik enzimler için  $v-[S]$  eğrileri

Şekil 2.17 de homotropik allosterik enzimler için  $v$ -[S] eğrileri verilmiştir. Bu eğrilere bakıldığında; (a) Sigmoid eğri; bir substratın bağlanması ikincisini kolaylaştırır ve (b) Fazla substrat konsantrasyonunda inhibisyon gözlenir.



Şekil 2.18 Heterotropik allosterik enzimler için  $v$ -[S] eğrileri:

Şekil 2.18'de heterotropik allosterik enzimlerin  $v$ -[S] eğrileri gösterilmektedir. Modül atörler aktivasyon ve inhibisyon etkilerini ya  $K_M$ 'i ya da  $V_{max}$ 'ı değiştirerek gösterirler. Burada da bir genelleme yapma imkanı yoktur, çünkü her allosterik enzimin kendine has kinetik davranışı vardır. Şekil 2.18'de görüldüğü gibi; (a) pozitif veya negatif modül atör, enzimin substrata afinitesini ( $K_M$ ) değiştirir ve  $V_{max}$  aynı kalır, (b) modül atör afiniteye etkisiz  $V_{max}$ 'ı değiştirir [1].

### 2.11.2 İzozim veya İzoenzimler:

Bir canlı türünde aynı reaksiyonu katalizleyen ve farklı kimyasal yapıya sahip birbirleriyle oligomer meydana getirebilen fakat aktiflikleri farklı olan eşit birimlerden oluşan oligomere "İzozim"ler denir. Günümüze kadar doğada bulunan 100 kadar izozim incelenmiştir. Bunların en klasik örneği laktat dehidrojenazdır (LDH). Bu enzimin molekül ağırlığı 35000 olup, tetramerdir. Elektroferezde 4 birim birbirinden ayrılabilir. Bundan da anlaşılır ki, her ne kadar 4 birimin molekül ağırlıkları birbirine eşit ve konformasyon bakımından tetramer meydana getirebiliyorlarsa da aktif merkezleri farklıdır. Gerçekten yürek kaslarından izole edilen LDH birimlerinin aktiflikleri en çoktur ve bunlara 'H' şekli denir. O halde tetramer şekli  $H_4$ 'tür. İskelet kaslarından ise aktifliği en az olan türler elde

edilmiştir ve bu birimlere de 'M' türü denilmiştir. O halde doğada, aktifliği gittikçe azalan sırada,  $H_4$ ,  $H_3M$ ,  $H_2M_2$ ,  $HM_3$  ve  $M_4$  şeklinde 5 tane LDH bulunur. Doğal olarak karbonhidrat metabolizması en etkin olan kaslarda  $H_4$  türü ve en az etkin olanlarda ise  $M_4$  türü bulunur. Etkinlikleri bunların arasında olanlarda ise diğerleri bulunur [1,4].

### 2.11.3 Çok Fonksiyonlu Oligomerik Enzimler

İzozimlerde oligomeri oluşturan alt birimlerin fonksiyonları birbirinin aynıdır. Aradaki fark sadece enzim aktifliklerinin ( $K_M$  değerlerinin) farklı olmasıdır. Bazı oligomerik enzimlerde ise her polipeptidin fonksiyonu farklıdır. Buna bir örnek olarak E.coli'de bulunan triptofansentetaz enzimini verebiliriz [4].

### 2.11.4 Multi Enzim Kompleksleri

Sağlam bir hücrede enzimler bir arada çalışırlar ve seri halde bir çok reaksiyonu katalizlerler. Birinci enzimin ürünü daha sonrakinin substratı olur. İşte bu tip enzim topluluklarına multienzim sistemleri adı verilir [1].

Çok fonksiyonlu oligomerik enzimlerin en yaygın örneği multienzim kompleksleridir. Bunlar, fonksiyonları farklı olan 3 veya daha çok enzimsisteminin birbiriyle kompleksleşmesiyle oluşmuştur. Fonksiyonları farklı olan her sistem 2 ile 40 kadar polipeptit zinciri bulundurabilir. Bunlar biyokimyasal reaksiyon serisini en uygun ve hızlı bir şekilde gerçekleştirecek şekilde birbiriyle kenetlenerek bir kompleks meydana getirmiştir. Multi enzim komplekslerinin molekül ağırlığı milyonlarca olabilir. Bunlar elektron mikroskopunda gayet güzel çok hızlı geometrik şekiller olarak görünürler [4].

Multi enzimler üç tip moleküler organizasyona sahiptirler:

En basit tipteki multienzim sistemlerinde enzimler stoplazma gibi bir sıvı içinde çözülmüş ve birbirlerinden ayrı halde bulunurlar. Küçük substrat molekülleri bir enzimden diğerine difüzyonla girerler [1].

İkinci tip multienzim sistemlerinde enzimler, son derece organize olmuş ve birbiriyle fiziksel anlamda birleşmiş enzim kompleksleri halinde, fonksiyonlarını beraberce yerine getirirler. 40'tan fazla polipeptit zinciri taşıyan enzimsistemleri de vardır. Kompleksten uzaklaşan enzim molekülleri aktivitelerini kaybederler. Substrat

kompleksten hiç ayrılmadan birçok kademeden sonra ürüne dönüşür. Bu şekildeki bir multienzim sistemi biyolojik yönden çok avantajlıdır; çünkü substrat difüzyonu yolunda vakit geçirmeden daha kısa zamanda ürüne çevrilebilir [1].

Üçüncü tip multienzim sistemlerinde enzimler, membranlar veya ribozomlar gibi yapılar üzerine dizilmiş haldedir. Örnek olarak solunum zinciri ve protein sentezi enzimleri verilebilir [1].

Bir multienzim sisteminin kinetiği tek bir enziminkinden daha karmaşıktır. Sistemin her bir enziminin substrat ve kofaktörü için ayrı ayrı  $K_M$  değerleri vardır. Reaksiyon hızları reaksiyonu en yavaş yürüten enzimininle sınırlıdır [1].

## 2.12 Enzimlerin Başka Kontrol Mekanismaları

Hücre içi reaksiyonları, allosterik enzimler tarafından düzenlenmelerinin yanı sıra başka kontrol mekanizmaları tarafından da etkilenirler. Bunların başlıcaları zimojen aktifleşmesi, kovalent modifikasyon ve hormonlar olarak sayılabilir [1].

### 2.12.1 Zimojen Aktifleşmesi

Biyolojik sistemlerde bazı proteinler inaktif ön bileşikler halinde sentezlenmektedirler ve daha sonra peptit bağının proteolitik enzimler tarafından hidrolizlenmesi sonucu aktif hali kazanmaktadırlar. Eğer aktif haldeki protein bir enzimi ise, inaktif ön bileşik halinde zimojen veya proenzim adını alır. Zimojenlerin proteolitik enzimlerle aktifleşmeleri olayına zimojen aktifleşmesi denir. Proteinlerin spesifik proteolitik enzimlerle aktivasyonuna biyolojik sistemlerde sık rastlanır. Bazı örnekleri şunlardır:

1- Besinlerdeki proteinleri hidrolizleyen sindirim enzimleri mide ve pankreasta zimojenler halinde sentezlenirler.

2- Kan pıhtılaşması ondan fazla proteinin görev aldığı bir olaydır. Pıhtılaşma faktörleri olarak da isimlendirilen bu proteinlerin birçoğu inaktif halde zimojen aktivasyonu ile geçmektedirler.

3- Bazı protein yapıdaki hormonlar da aktif olmayan ön bileşikler halinde sentezlenmektedirler.

4- Deri ve kemiklerdeki kollajen fibröz proteini, çözünebilir bir ön bileşik olan prokollajenden türemektedir [1].

## **2.12.2 Kovalent Modifikasyon**

Biyolojik sistemlerde enzimatik aktiviteyi kontrol eden bir diğer mekanizma da küçük bir grubun kovalent olarak enzime bağlanması, yani enzimin bir kovalent modifikasyona uğramasıdır [1].

## **2.12.3 Hormonlar**

Bazı enzimlerin spesifikliği fizyolojik kontrol altındadır (Mesela süt bezlerindeki laktoz sentezi) [1].

## **2.13 Enzimlerin İmmobilizasyonu**

Biyo katalizörlerin teknik kimya ve biyoteknolojide çeşitli amaçlarla kullanılmasına başlanması, bilim adamlarının bu katalizatörlerin daha ekonomik ve kullanışlı hale getirilme olanaklarının araştırılmasına yöneltmiştir.

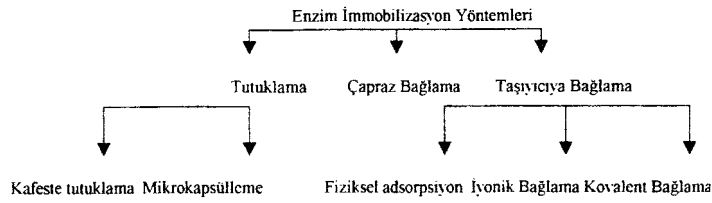
Enzim üretiminde hammaddesi sorunu mikrobiyal kaynaklar sayesinde büyük ölçüde çözülmüş görülmektedir. Bununla birlikte enzimlerin mikrobiyal kaynaklardan izolasyonu ve saflaştırılması oldukça masraflı bir işittir. O halde bu biyo katalizörlerin potansiyellerinden olabildiğince yararlanmak gerekir. Bilindiği gibi enzimler, suda çözülen spesifik katalizatörlerdir. Endüstriyel uygulamaların çoğu, sulu çözeltilerde gerçekleştirildiğinden katalizatör olarak kullanılan serbest enzimnin aktivitesini yitirmediği için geri kazanılması olanak dışıdır. Serbest enzim reaksiyon ortamından istenilen anda uzaklaştırılmadığından reaksiyonun kontrolü çok güçtür hatta çoğu kez olanaksızdır. Reaksiyonun istenilen anda durdurulması için inhibör katılması düşünülebilir. Ancak serbest enzim tarafından kirlenmiş olan reaksiyon ürünlerine böylece yeni bir kirlilik unsuru eklenmiş olacaktır. Ürün veya ürünlerin bu kirlilik unsurlarından arıtılması, maliyeti çok arttırmaktadır.

Tüm bu sorunları olumlu yönde çözümlenebilir, enzim kimya endüstrisi, için daha çekici hale getirmek için özellikle son 15 yıldır immobilizasyon üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır.



Enzimler suda çözünmeyen bir taşıyıcıya fiziksel veya kimyasal olarak bağlanarak, suda çözünmeyen ürün veren bir kopolimerizasyona enzim molekülünün monomer olarak katılmasıyla ve suda çözünmeyen bir matrisde veya çözünmeyen mikrokapüllerde tutulmakla immobilize edilirler.

Enzimler katalizör olarak pratikte üç değişik formda kullanılırlar. 1. Çözünen form 2. Çözünen immobilize form 3. Çözünmeyen immobilize form Son iki form için "immobilize enzim" terimini kullanmak daha doğrudur. Enzim immobilizasyonu yöntemleri Şekil 2.19'daki gibi gruplandırılabilirler.



Şekil 2.19 Enzim immobilizasyonu yöntemleri

İmmobilize enzimin doğal (serbest) enzime üstünlükleri şöyle sıralanabilir:

- Reaksiyon sonunda ortamdaki kolayca uzaklaştırılabilir (süzme, santrifüjleme v. b) ve ürünlerin enzim tarafından kirlenmesi gibi bir problem yaratmaz.
- Çevre koşullarına (pH, sıcaklık vb.) karşı daha dayanıklıdır.
- Birçok kez ve uzun süre kullanılabilir.
- Sürekli işlemler uygulanabilir.
- Doğal enzime göre daha kararlıdır.
- Ürün oluşumu kontrol altında tutulabilir.
- Birbirini izleyen çok adımlı reaksiyonlar için uygundur.
- Bazı durumlarda serbest enzime göre daha yüksek bir aktivite gösterebilir.
- Enzimin kendi kendini parçalanması azdır [3].

### **BÖLÜM 3. ENDÜSTRİDE ENZİM KULLANIMI**

Dünyadaki en bol ve yenilebilir enerji kaynağı olan lignoselülozu glukoza ve çözünebilir şekere dönüştürmek konusundaki mühim potansiyellerinin etkisiyle selülozlar ve ilgili polisakkaritler hakkındaki araştırmalar 1950'lerin başında başlamıştır. 1970'lerde ve 1980'lerde yaygın olarak yapılan basit ve uygulamalı araştırmalar göstermiştir ki, lignoselülozun çözünebilir şekere enzimlerle indirilen biyo-dönüştürülmesi oldukça zordur ve pahalıdır. Yine de selülozlar, hemiselülozlar ve pektinazlar hakkında yapılan devamlı çalışmalar bu enzimlerin gıda, bira ve şarap, hayvan yemi, tekstil ve yıkama, ağaç, kağıt ve tarım endüstrilerinde de araştırma ve geliştirme alanındaki kadar bioteknolojik potansiyelleri olduğunu açığa çıkarmıştır.

Bugün enzimler birçok endüstriyel uygulamada yaygın olarak kullanılmaktadırlar ve daha stabil, yüksek afiniteye sahip ve spesifik enzimlere olan talep giderek artmaktadır. 1995 yılında yapılan bir hesaplama göre 2005 yılında dünyadaki endüstriyel enzim satışının 1 milyar Amerikan dolarından fazla olacağı ve endüstriyel enzim pazarının ise 1.7-2 milyar dolar olacağı düşünülmekteydi. Kısa süre önce yapılan bir yayında ise endüstriyel enzimler henüz 2000 yılında 1.6 milyar dolarlık bir pazara ulaştığı belirtilmiştir. İşin ilginç tarafı, dünyadaki endüstriyel enzimlerin %60'ı Avrupa'da ve kalan %40'ı da Amerika'da ve Japonya'da üretilmektedir. Ayrıca endüstriyel enzimlerin yaklaşık % 75'ini hidrolazlar oluşturmaktadır ve karbohidrolazlar da bunları takip etmektedir.

Selülozların ve hemiselülozların biyolojide kullanılmaları 1980'lerin başında ilk olarak hayvan yemlerinde ve bunları takiben gıda sektöründe başlamıştır ve daha sonra bu enzimler tekstil endüstrisinde kullanılmışlardır. Aslında pektinazlar gıda endüstrisinde 1930'da bile kullanılmaktaydılar. Son 20 yılda özellikle tekstil, gıda, bira ve şarap, ağaç ve kağıt endüstrilerinde selülozların, hemiselülozların ve pektinazların kullanımı oldukça artmıştır. Bugün bu enzimler dünya enzim pazarının yaklaşık %20'sini oluşturmaktadırlar ve çoğunlukla *Trichoderma* ve *Aspergillus*

kökenlidirler. Şu anda birçok ticari enzim üreticisi biyoteknolojiye uygun ısıl marla enzimler hazırlayıp satmaktadır ve bunlarla ilgili olarak güncelleştirilmiş detaylar firmalara ait web sayfalarında bulunmaktadır [5].

### 3.1 Biyoteknoloji Tanımları

Biyoteknoloji birçok farklı biçimde tanımlanmıştır. Birleşik Krallık'taki Spinks komisyonu biyoteknolojiyi tanımlayan ilk gruplardandır: "Biyoteknoloji; biyolojik organizmaların, sistemlerin veya proseslerin üretim ve hizmet endüstrisinde uygulanmasıdır". Avrupa Biyoteknoloji Federasyonu ise benzer ancak daha geniş bir tanım kullanmıştır: "... mikroorganizmaların, doku hücresi kültürlerinin ve bunların parçalarının mikrobiyolojide ve mühendislik birimlerinde beraberce kullanılmasıdır". Amerikan Ulusal Sağlık ve Gıda Enstitüsü ve Amerikan Ulusal İlaç Yönetimi Enstitüsü tarafından kullanılan tanım şöyledir, "Biyoteknoloji; biyolojik sistemlerin ve organizmaların teknik ve endüstriyel proseslere uygulanmasıdır". Bu alanda kullanılan teknolojiler; genetik materyalin direkt yapay modifikasyonu için klasik genetik seleksiyon ve/veya yeni türlerin üretimi (örneğin rekombinant DNA) ve canlı organizmaların genetik materyalini modifiye etmek için gen ekleme ve diğer yeni tekniklerdir (örneğin hücre füzyonu ve hibridoma [antikor üretimi] teknolojisi) [6].

### 3.2 Tekstil Endüstrisinde Biyoteknoloji

Ketenin ısıtılıp yumuşatılması tekstil işlemlerindeki ilk biyoteknolojik uygulamadır. 2000 yıldan daha uzun bir süre önce, keten bitkisinin gövdesinden keten liflerinin çıkarılmasında kısmi soyulmayı sağlamak için bitki üzerinde gelişen mikroorganizmalar kullanılmıştır. 1980'lere kadar tekstil işlemlerinde kullanılan enzim amlaz olmuştur. Bu enzim halen dokuma sonrası nişasta bazlı haşılıların kuşaştan sökülmesinde kullanılmaktadır.

Tekstil işlemlerinde enzimatik uygulamalar hakkındaki araştırmalar geçtiğimiz yüzyılın başlarına kadar gitmektedir. Bu süre zarfında, yün elyafındaki pulcukların uzaklaştırılması ve bu sayede keleşmezlik özelliğinin gelişmesi konusunda proteolitik enzimlerin sahip oldukları potansiyelin kaynağı anlaşılmıştır. Bu alandaki araştırmaların sürüyor olması gerçeğine rağmen henüz bir endüstriyel proses geliştirilememiştir. Bu, genellikle, tekstil liflerinin heterojen yapılarına ve maruz

kalınan beklendi ki lif mukavemeti kayıplarına bağlanmaktadır. 1960'lar da biyolojik deterjanların ortaya çıkması ile organik protein bazlı (yumurta ve kan gibi) lekelerin kuyafetlerden çıkarılması için spesifik olarak üretilen deterjanların formlerinde proteazlar kendilerine yer bulmuşlardır. Daha sonra 1970'lerde, kumaşların yıkanması ve fibrillerin uzaklaştırılması için yapılan çoklu yıkama işlemlerinde kullanılmak üzere deterjanlara selülozlar katılmıştır. Bugün birçok deterjanda selüloz bulunmaktadır. Selülozlar fibrillerin ve tüy şeklindeki liflerin enzimatik uzaklaştırılmasında kullanılmışlardır ve önce pamuklu tekstil endüstrisinde daha sonra dalyosel proseslerinde başarıyla kullanılmışlardır. Son olarak da denim ve diğer kumaşlarda kullanılmış görünümefektini elde edilmesinde kullanılmışlardır.

Mayıs 2000'de Birinci Uluslararası Tekstil Endüstrisi Biyoteknoloji Sempozyumu Portekiz'de düzenlenmiştir ve dünyanın çeşitli yerlerinden 150'den fazla katılımcı bu organizasyona katılmıştır. Bu forumda bilim adamlarının ve endüstriden gelen delegelerin yaptığı sunuşlar tekstil alanında biyoteknolojinin büyük potansiyelini yansıtmıştır. Biyoteknolojideki gelişmeler özel uygulamalar için özel enzim karışımlarının yapılabilmesine olanak vermiştir. Örneğin, 100°C'ta yapılan haşıl sökme işlemleri için amilazlar geliştirilmiştir ve birçok tekstil uygulamasında selüloz monokomponentlerinin tabii enzimlerden üstün olduğu gösterilmiştir. Selülozlar, amilazlar, pektinazlar ve proteazlar gibi hidrolitik enzimlerin yanı sıra, oksiredüktazları da içeren diğer enzimlerin aktivitelerinde birçok tekstil prosesinde kuvvetli araçlar olduğu fark edilmiştir.

Son yıllarda enzimatik modifikasyonların ana hedefi her ne kadar pamuk lifleri olsa da, enzimlerin keten veya yün liflerinin (veya kumaşların) geliştirilmesinde de bir potansiyele sahip oldukları görülmüştür.

Tekstil atıksularının muamelesinde uygulanan biyoteknolojik prosesler ikiye ayrılır; mikrobiyal sistemler ve enzimler. Mikrobiyal atık su muamelesinde, yeterli detoksifikasyonun sağlanması için anaerobik ve aerobik basamakların kombinasyonu yararlı görülmektedir. Laktazlar, lignin peroksidazlar ve nangan peroksidazlar gibi lignolitik enzimlerin boyaların polimerizasyonu ya da indirgenmesi yoluyla tekstilde kullanılan boyaları renksizleştirdiği gösterilmiştir. Azo bileşikleri de içeren birçok boya için renksizleşme ve detoksifikasyon mekanizmaları açıklanmıştır. Ancak, azo gruplarının moleküler nitrojene dönüştürülmesiyle birlikte bazı azo

grupların indirgenmesi ne rağmen, bu enzimler bazı boyalara hiç saldırmamışlardır. İndirgenme hızını belirleyen inorganik etki den çok redoks potansiyeli olduğu görülmektedir. Tekstil atık sularının muamelesinde bir başka ilginç uygulama ise ağartma işleminden sonra atık sulardaki hidrojenperoksit'in katalazlar kullanılarak oksijen ve suya dönüştürülmesidir. Hem bu işlemin hem de boyama atık sularının enzimatik muamelesinin (özellikle immobilize enzimler kullanıldığında) proses sularının geri dönüştürülmesine imkan verdiği gösterilmiştir.

Son yıllarda biyoteknoloji ve biyoyıkama gibi birçok biyoteknolojik yöntemler tekstil endüstrisinde kullanılmaktadır, ancak enzimatik atık su muamelesi ve yünün biyolojik apresi gibi diğer prosesler henüz endüstriyel seviyede kullanılmamaktadır. Biyoteknolojideki tekstil uygulamalarıyla ilgili süren araştırmalar önümüzdeki on yılda yeni doğa dostu ve verimli teknolojilerin tekstil endüstrisinde kullanımına olanak sağlayacaktır [7].

### 3.3 Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Enzimler

Son yıllarda tekstil endüstrisinde enzimlerin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Amilaz enzimleri çok eskiden beri nişasta hasılını sökmekte kullanılmaktadır. Selülozu hidrolize eden selüloz enzimleri, kumaş yüzeyini düzleştirmede, boncuklanma eğilimini azaltmada, biyoparlatmada ve denim kumaşlara eski miş görünüş kazandırmada kullanılmaktadır. Proteaz enzimlerinden yünlü maddelere keçeleşme özelliği sağlama, boyar madde alımını artırma ve ipek maddelerden serisini uzaklaştırma işleminde yararlanılmaktadır. Pektinaz enzimleri ağartma öncesi pamuklu maddelerin hidrofilleştirilmesinde, keten, kenevir, ram, jüt gibi bitkisel liflerin enzimatik havuzlama işlemlerinde kullanılmaktadır. Katalaz enzimleri ise hidrojenperoksit ağartmasından sonra, flotte'deki peroksit su ve oksijene parçalamakta kullanılmaktadırlar. Ayrıca 1960'lardan beri tekstil endüstrisi dışında deterjan sanayinde de enzim kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır [3].

#### 3.3.1 Amilazlar

Amilazlar, nişastanın uzun molekül zincirini parçalamaya özelliğine sahiptirler. Tablo 3.1'de bakteriyel  $\alpha$ -amilazların özellikleri görülmektedir.

$G = \text{Gukoz}$   
 $G_2 = \text{Malt oz}$   
 $G_3 = \text{Maltotrioz}$   
 $G_4 = \text{Maltotetroz}$   
 $G_5 = \text{Maltopentoz}$   
 $G_6 = \text{Maltohexoz}$

Nışasta  $\rightarrow$  Amilaz  $\rightarrow$

Tablo 3.1 Bakteriye  $\alpha$ -amilazların özellikleri

$\alpha$ -amilazlar	$\beta$ -subtilis	$\beta$ -licheniformis	$\beta$ -amylidi-quefaciens
Optimum pH	6.2	7.0-9.0	5.9
Optimum sıcaklık	65°C	90°C ve üstü	70°C
Molekül ağırlığı	41 000	62 000	50 000
Izoelektrik noktası	4.8	5.2	5.2
Son ürünler	$G_1, G_2$	$G_2, G_3, G_4$	$G_6$

### 3.3.2 Selülazlar

Selülaz enzimlerinin bir çoğu mantar esaslıdır (Tablo 3.2). Bunlar; Endoglukonaz (1,4- $\beta$ -D-glukan-glukonohidrolaz EC 3.2.1.4), sellobioidrolaz (1,4- $\beta$ -D-glukan-sellobioidrolaz EC 3.2.1.1),  $\beta$ -glukozidaz ( $\beta$ -D-glukozit-glukozidaz EC 3.2.1.2) açık formleri ile gösterilirler [8].

Tablo 3.2 Selülaz enzimlerinin özellikleri

Selülaz	Kaynak		MA	IP
Endoglukonaz	Trichoderma reesei	I	20 000	7.5
		II	40 000	4.6
Sellobioidrolaz	Trichoderma reesei	I	60 000	3.9
		II	60 000	5.6
$\beta$ -Glukozidaz	Trichoderma reesei	I	47 000	5.74
		II	35 000	

Selülaz enzimlerinin genel olarak tekstil maddelerinde sağladığı etkiler; boncuk, tüycük ve lif uçlarının uzaklaştırılması, nerserize maddelerde materyal yapışmasının (pürüz efekti) önlenmesi, tutumun geliştirilmesi, yüzey yumuşaklığı kazandırılması, pürüzsüz ve temiz yüzeyden dolayı artan parlaklık, materyal dokusunun relaksasyonu, geliştirilmiş esneklik, yıkanmaya dayanım, düşük tüylenme eğilimi ve kullanımsırasında neps oluşması, ketenin rejener selülöz liflerinden yapılan maddelerde tüylülüğün giderilmesi, ponza taşı ve zararlı kimyasal maddelerin kullanılmadan taşınmaya efekti verilmesi ve moda uygun kullanılmış görünümü maddelerin eldesidir [3].

### 3.3.3 Pektinazlar

#### 3.3.3.1 Pektinin Yapısı

Ki myasal olarak pektik maddeler  $\alpha$  (1-4) bağlarıyla bağlanmış, galakturonik asit rezidülerinden oluşan bir iskelete sahip kompleks koloidal asit polisakkaritleridir. Pektin molekülünün kenar halkaları L-ramnoz, arabinoz, galaktoz ve ksilozdan oluşmaktadır. Galakturonik asidin karboksil grupları, metil grupları tarafından kısmen esterleştirilebilirler ve ayrıca sodyum potasyum ve amonyum iyonları tarafından kısmen veya tamamen nötralize edilebilirler. İskelet halkasındaki modifikasyonların tipine dayalı olarak pektik maddeler; protopektin, pektik asit, pektinik asit ve pektin şeklinde sınıflandırılabilirler.

Protopektin bir pektik maddedir ve yavaşlı hidroliz sonucu pektin ve pektinik asit verir. Protopektin, bitki dokularında bulunan, suda çözünmeyen ve çözünbilir pektik maddelerin üretiminde kullanılan pektik maddeleri tanımlamakta kullanılan bir terimdir.

Pektinik asitler büyük miktarda metoksil grup içeren galakturonanlardır. Pektinik asidin normal ya da asidik tuzlarına pektinat denir. Pektinik asidin kendine has özelliği şeker ve asit ile ya da (metil içeriği uygun biçimde düşük ise) kalsiyum gibi bazı diğer bileşimlerle jel oluşturabilmesidir.

Pektin ana bileşen olarak pektinik asit içeren birçok farklı yapının karışımına verilen genel isimdir. Doğal haldeki pektin hücre duvarında bulunmakta ve çözünmez protopektin oluşturmak için diğer yapısal polisakkaritlerle ve proteinlerle bir araya gelebilir.

Bir ham meyvedeki pektin, hücre duvarındaki selüloz mikrofibrillerine bağlıdır. Bu durumdaki pektin çözünmezdir ve bu sebeple hücre duvarına sağlamlık kazandırır.

#### 3.3.3.2 Pektik Enzimlerin Sınıflandırılması

Pektinin, pektik asidin veya di-galakturonatın tercih edilen substrat olmasına, pektinazların trans-eliminasyon ya da hidroliz yoluyla iş görmelerine ve parçalanmanın rastgele ya da sırala yapılmasına göre pektik enzimler 3 sınıfa ayrılmışlardır.

1) Pektin esterazlar (PE)

Pektin metil hidrolaz olarak da bilinen pektin esterazlar, pektik asidi oluşturan pektinin met oksil grubunun deesterifikasyonunu hidrolizlerler.

## 2) Depoli merleştirici enzimler

### A) Glikozidik bağları hidrolizleyenler

#### 1. Poli metil galakturonazlar (PMG)

$\alpha$ -1,4-glikozidik bağlarının hidrolitik parçalanmasını katalizlerler.

-Endo-PMG Tercihen yüksek miktarda esterleşmiş pektinin  $\alpha$ -1,4-glikozidik bağlarını rastgele parçalar.

-Eks-PMG Pektinin  $\alpha$ -1,4-glikozidik bağlarını pektin zincirinin indirgen olmayan ucundan sırayla parçalar.

#### 2. Poli galakturonazlar (PG)

Pektik (poli galakturonik) asitteki  $\alpha$ -1,4-glikozidik bağlarının hidrolizini katalizlerler.

- Endo-PG Poli (1,4- $\alpha$ -D-galakturonid) glikanohidrolaz olarak da adlandırılır ve pektik asitteki  $\alpha$ -1,4-glikozidik bağları rastgele parçalar.

-Eks-PG Poli (1,4- $\alpha$ -D-galakturonid) galakturonohidrolaz olarak da adlandırılır ve pektik asitteki  $\alpha$ -1,4-glikozidik bağları sırayla parçalar.

### B) Bölener

Trans-eliminasyon ile  $\alpha$ -1,4-glikozidik bağları bölener ve bunun sonucunda, dışan galakturonik asidin indirgen olmayan ucunda C4 ve C5 karbonlarının arasında doyumsuz bağı içeren galakturonidin ortaya çıkmasına sebep olur.

#### 1. Poli metil galakturonat liyazlar (PMGL)

Trans-eliminatif bölme yoluyla pektinin parçalanmasını katalizlerler.

-Endo-PMGL: Poli (metoksi galakturonid) liyaz olarak da adlandırılır ve pektindeki  $\alpha$ -1,4-glikozidik bağlarının rastgele bölünmesini katalizler.



-Eks o-PMGL: Pektini n trans-eli ni natif böl ün n eyle parçalan ması nı katalizler.

## 2. Poli gal akt ur onat li yaz lar (PGL)

Trans-eli ni nasyon yoluyla pektik asitteki  $\alpha$  1,4- gli kozi dik ba ğ ları n böl ünmesi ni katalizlerler.

-Endo- PGL: Poli (1,4  $\alpha$ -D- gal akt ur oni d) li yaz olarak da adlandırılır ve pektik asitteki  $\alpha$  1,4- gli kozi dik ba ğ ları n rast gele böl ünmesi ni katalizler.

-Eks o- PGL: Poli (1,4  $\alpha$ -D- gal akt ur oni d) eksoli yaz olarak da adlandırılır ve pektik asitteki  $\alpha$  1,4- gli kozi dik ba ğ ları n sırayla böl ünmesi ni katalizler.

## 3. Prot opekti naz

Yüksek derecede poli n e ri ze çözünebilir pekti n olu ş turarak prot opekti ni çözü nür hale getirir.

### 3.3.3.3 Pektinazın Kullanım Alanları

Kullanım alanına göre pektinazlar ikiye ayrılır; asi dik pektinazlar ve alkali pektinazlar. Tablo 3.3'te ve Tablo 3.4'te mikrobiyal pektinazların özellikleri gösterilmiştir.

Tablo 3.3 Mikrobiyal pektinazların özellikleri (asi dik pektinazlar)

Üretil di ğ Tür	Pektinaz Tipi	Optimum pH	Optimum Sıcaklık (°C)
Aspergillus niger CH4	Endo-pektinaz Eks o-pektinaz	4.5-6.0 3.5-5.0	50' den düşük
Penicillium frequentans	Endo-PG	4.5-4.7	50
Sclerotium rolfsii	Endo-PG	3.5	55
Rhizoctonia solani	Endo-PG	4.8	50
Mucor pasilus	PG	5.0	40
Clostridium thermosaccharolyticum	PGH	5.5-7.0	30-40

Gıda endüstrisinde ve ş arap yap ım ında kullanılan asi dik pektik enzimler genellikle mantar kökenlidirler ve özellikle Aspergillus niger' den gel mektedirler. Asi dik pektinazların endüstri de kullanıldı ğ alanlar; el ma suyu ve ş arabı, armut suyu, üzüm suyu ve ş arap, çilek suyu, böğürtlen suyu, portakal suyu ve limon suyu yap ım, turuncgil kabuklarından ya ğ eldesi, turuncgil salataları yap ım, kuru hayvan yemi, mango, şeftali, guava, papaya, ananas ve muz sularının yap ım ıdır. Ayrıca yoğurt,

puding bebek nması ve diyet yiyeceklerin yapısında, şeker pancarından şeker eldesinde, patatesten nişasta üretiminde ve genetik çalışmalar için protoplast izolasyonunda da kullanılırlar.

Tablo 3.4 Mikrobiyal pektinazların özellikleri (alkali pektinazlar)

Üretilen Tür	Pektinaz Tipi	Optimum pH	Optimum Sıcaklık (°C)
Bacillus sp. RK9	PGL	10.0	-
Bacillus sp. NF-33	PG	10.5	75
Bacillus polynyxa	PG	8.4-9.4	45
Bacillus pumilus	PATE	8.0-8.5	60
Amicalo sp.	PAL	10.25	70
Xanthomonas campestris	PATE	9.5	25-30
Bacillus No. P-4-N	PG	10.0-10.5	65
Bacillus stearothermophilus	PATE	9.0	70
Penicillium italicum CECT 22941	PL	8.0	50
Bacillus sp. DF 7	PL	8.0	60
Bacillus subtilis	PAL	8.5	60-65
Pseudomonas syringae pv. Glycinea	PAL	8.0	30-40

Alkali pektinazlar genellikle bakteri kökenlidirler ve endüstride en çok Bacillus spp. kökenli olanlar kullanılırlar. Alkali pektinazların endüstride kullanıldığı alanlar; jüt, keten, kenevir ve ramiliflerini ayrılması, pektik atık sularının muamelesi, Japon kağıdı üretimi, kağıt üretimi, yağ ekstraksiyonu, çay ve kahve fermentasyonudur [9].

### 3.3.4 Proteazlar

Bu enzim grubu pektin veya polipeptid moleküllerini organik asit ve amine ayırır. Peptidaz ve proteaz olarak iki sınıfa ayrılırlar. Peptidazlar, peptitler ve türevleri üzerine etkili olup proteinlere etkisizdir. Proteazlar ise proteinleri polipeptid zincirlere ve polipeptitlere ayırırlar. Bazı önemli proteazlar Tablo 3.5'te gösterilmiştir [3].

Tablo 3.5 Bazı önemli proteaz sınıfları

EC 3.4.11 $\alpha$ -aminoasil peptid hidrolaz
EC 3.4.13 Dipeptid hidrolaz
EC 3.4.14 Dipeptidil peptid hidrolaz
EC 3.4.15 Peptidil peptid hidrolaz
EC 3.4.16 Serin karboksipeptidaz
EC 3.4.17 Metalo karboksipeptidaz
EC 3.4.23 Aspartik proteaz

### 3.3.5 Lipazlar

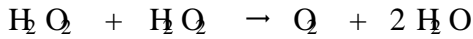
Li pazlar gliserinin ve yağ asitlerinin esterlerinin veya düşük molekül ağırlığındaki alkollerin çeşitli esterlerini hidrolize ederler. Esterazlar etereal tuzlar üzerinde etkili olurken, fosfatazlar esterlerden fosforik asidi ayırırlar. Tablo 3.6’da bazı mikrobiyal lipazların özellikleri görülmektedir [3].

Tablo 3.6 Mikrobiyal lipazların özellikleri

Kaynak	MA	pH	Sıcaklık
Aspergillus niger	45 000	8.0	40° C
Candida cylindracea	67 000	8.0	40° C
Candida lipolytica	26 000	8.0	40° C
Mucor javanicus	36 000	5.5-8.5	30-45° C
Penicillium roqueforti	12 000	6.0-8.0	30-40° C
Pseudomonas fluorescens	36 000	5.0-9.0	40-65° C
Rhizopus arrhizus	80 000	8.0	40° C
Rhizopus delemar	43 000	8.0	37° C
Rhizopus niveus	83 000	5.0-7.0	30-45° C
Porc pancreas	50 000	8.0	37° C

### 3.3.6 Katalazlar

Oksido-redüktaz grubu enzimlerdir. Solunum aktivitesi olan hücrelerde bulunurlar. Anaerobik çevrelerde bulunmazlar. Hücreler için zehirli olan hidrojenperoksiti su ve oksijene parçalarlar. Bir molekül elektron verici, diğeri de elektron alıcı olarak hizmet verir.



Bu modele göre katalazlar yaşayan hücrelerin dokularına oksijen sağlar. Çeşitli esaslı katalazlar, kristalin yapıda elde edilir fakat kimyasal özellikleri aynıdır. Moleküler ağırlıkları yaklaşık 250 000’dir ve her birinde bir metal atomu bulunan 4 alt bölümden oluşur. Katalazlar diğer reaksiyonlarında hidroperoksit gibi davranır ve şu reaksiyonu verir.



Katalaz enzimlerinde enzim-substrat oranı oldukça yüksektir. Bir molekül katalaz 5 milyon peroksit molekülünü parçalayabilir. Bu enzimler peroksit artıklarını uzaklaştırmak için kullanılır. Örneğin, peynir ve sütün peroksit ile sterilizasyonundan, tekstil materyallerine oksidatif ağartılmasından ve optik lenslerin temizliğinden sonra kullanılır [8].

### 3.4 Enzimlerin Tekstil Dışındaki Kullanım Alanları

#### 3.4.1 Deterjanlar ve Enzimler

Hidroazlar, endüstriyel enzimlerin yıkama deterjanı katkı maddeleri olarak kullanılan temsilcilerdir. 30 yıldan daha fazla süre boyunca en çok satılan enzimler olmuşturlar. Hidroazların yıkama deterjanlarında kullanılmaları, keratin ve elastin gibi protein esaslı lekelerin kumaştan sökülmesi için proteaz kullanımı ile başlamıştır proteazın başarısının ardından, amilazlar, lipazlar ve selülozlar gibi hidroazlar da yıkamada kullanılmışlardır.

Selülozların kullanılmasına başlanması yıkama enzimleri tarihinde bir dönüm noktası olmuştur, çünkü bu enzimler diğerleri gibi lekeleri parçalamaktadırlar. Bunun yerine selüloz pamuklu kumaşın mikrofibrillerini parçalayarak leke parçacıklarını uzaklaştırılmasına yardımcı etmektedir. Mikrofibrillerin parçalanması kumaşta yumuşaklık ve parlaklık da kazandırmaktadır. Deterjan katkısı olarak en yaygın kullanılan selülozlar endo-1,4-β-glukonazlardır (EC 3.2.1.4). Kristalin haldeki selüloza karşı inaktif olduklarından selülozların çoğu sağlam kumaşları parçalamazlar [10].

#### 3.4.2 Kemoterapi ve Enzimler

Kemoterapi, buldukları yerdeki hücelere zarar vermeden hastalık yapıcı mikroorganizmaları kimyasallar (ilaçlar) vasıtasıyla yok etmektedir. Bakteriden insana bütün canlı organizmaların metabolik işlevleri benzerdir ve bu sebeple güvenilir ve etkin kemoterapötik ajanların keşfi müthiş bir işidir. Bilmektedir ki, ilaçlar saldırgan organizmaların hücelerindeki kritik enzimlerini inhibe ederek iş göremektedirler [2].

##### 3.4.2.1 Anti metabolitler

Anti metabolit; bir enzimin normal substratına (metabolite) oldukça yakın bir yapıya sahip olan ve belirli bir metabolik reaksiyonu yarışmalı olarak inhibe eden maddedir. İlk (1930'da) ve en iyi anlaşılan anti metabolit sentetik bir antibakteriyel olan sülfonilamidlerdir. İkinciği, birçok patojenik bakterinin gelişmesinde hayati role sahip bir bileşik olan P-aminobenzoik asit yapısal benzerliğinden kaynaklanmaktadır. Bakteriler folik asit sentezi için p-aminobenzoik asitde ihtiyaç duyarlar ve sülfonilamid

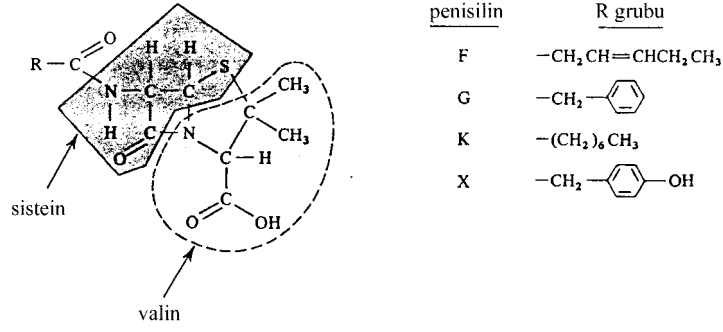
de p-amino benzoik asidin folik asitle birleştirilmesi içeren enzim kontrollü aşamaya müdahale eder.

Sülfonilamid insan (ya da diğer memeliler) için zararlı değildir çünkü insan folik asit sentezleyemez, önceden düşünülmüş folik asidi gıdalar vasıtasıyla alır. Bu ilaç antimikrobiyal ajan olarak kabul gördükten sonra daha birçok sülfonilamid türevi (sülfa ilaçlar) sentezlenmiştir ve bu kapasite açısından daha da etkin oldukları görülmüştür. Bu harika ilaçlar sayesinde II. Dünya Savaşı sırasında birçok hayat kurtarılmıştır. Askerleri tropik kapması engellemek için açık yaralarına yanlarında taşıdıkları toz haldeki sülfa ilaçları dökmüşlerdir. Şekil 3.1'de metabolit olan p-amino benzoik asidin yapısıyla beraber birçok önemli sülfa ilaçlarının yapıları da verilmiştir.

### 3.4.2.2 Antibiyoetikler

Bazı antibiyotiklerin antimetabolitler gibi iş gördüğüne inanılsa da, bu terimler özdeş değildirler. Antibiyotik, bir organizma tarafından sentezlenen ve başka bir organizma için zehirli olan bir bileşiktir. Şu anda çoğu laboratuvar da sentezlenebilen antibiyotikler, iyice tanımlanabilen bir kimyasal madde sınıfı meydana getirmektedirler ancak bakterilerin gelişmesi için gerekli olan birçok enzimi etkin biçimde inhibe etmek ortak özelliğine sahiptirler.

Dünyada en yaygın olarak kullanılan antibiyotiklerden biri olan penisilin, Alexander Fleming tarafından 1928'de tesadüfen keşfedilmiştir. 1938'de Ernst Chain ve Howard Florey penisilini saf halde elde etmişler ve antibiyotik olarak etkinliğini kanıtlamışlardır (Bu üç bilim adamı 1945'te Fizyoloji ve İlaç konusunda Nobel Ödülü aldılar). Penisilin ilk olarak 1941'de piyasaya sunulmuştur. Penisilinin organizmalar için gerekli hücre duvarı bileşenlerinin sentezine müdahale ederek bakterilerin gelişmesini engellediğine inanılır. Bu gelişimi inhibisyonunun gerçek mekanizması hala tam olarak bilinmemektedir. Doğada var olan birçok penisilin yapay olarak da elde edilmiştir. Hepsinin ampirik formülü  $C_8H_{11}O_2SN_2R$  dir ve hepsi 5 üyeli bir halkaya yapışık 4 üyeli bir halkaya sahiptirler (Şekil 3.1). Bunlardan en yaygın olarak kullanılan Penisilin G'dir.



Şekil 3.1 Doğada var olan penisilinlerin R gruplarıyla birbirinden farklılaşması

Doğada var olan penisilinler sadece R gruplarıyla birbirinden farklılaşırlar. Amino asitler olan valin ve sisteinin penisilin yapısına dahil olduklarına dikkat edilmelidir.

Penisilin oldukça kararsız yapıda olduğundan ve midenin pH1 penisilini inaktif bir türeğine dönüştüreceğinden penisilin ağızdan alınmaz. Bazı bakteri türleri antibiyotik parçalayan bir enzim olan penisilnazı üreterek penisiline dayanıklılık kazanırlar. Bu türlerle mücadele etmek için penisilnaz tarafında inaktive edilemeyen penisilin analogları sentezlenmiştir. Yakın zamanda sentezlenen bu analoglardan birinde penisilin G nin benzil grubunun yerini etoksi naftil grup almıştır [2].

### 3.4.3 Gıda Biyoteknolojisi ve Enzimler

Gıda biyoteknolojisinde enzimler, özellikle de son yıllarda, birçok uygulamada alan bulmuştur. Bu alanlardan bazıları; meyve ve sebze sularının meyveden çekilmesi ve arıtılması, meyve suyu ve püresi üretimi, meyve ve sebzelerin duyuşsal özelliklerini geliştirilmesi, zeytin yağı üretimi ve unlu mamullerin kalitesinin geliştirilmesidir. Tablo 3.7 de gıda biyoteknolojisinde kullanılan enzimler, işlevleri ve uygulamaları verilmiştir [5].

### 3.4.4 Bira ve Şarap Biyoteknolojisi ve Enzimler

Bira ve şarap üretimi çok eski zamanlardan beri bilinmektedir. Eksojen glikanazların ve ilgili polisakkaritlerin sadece bira ve şarap kalitesini arttırmakla kalınayıp üretimi verimliliklerine de katkı sağladığı görülmüştür. Tablo 3.8 de bira ve şarap üretiminde kullanılan enzimler, işlevleri ve uygulamaları verilmiştir [5].

Tablo 3.7 Gıda biyoteknolojisinde enzimler

Enzim	İşlev	Uygulama
Parçalayıcı Enzimler (pektinazlar, selülozlar ve hemiselülozlar)	Çözünebilir pektin ve hücre duvarı bileşenlerini hidrolizi; viskoziteyi düşürür ve meyve suyunun tekstüresini sağlar	Meyvenin sıklabilirliğini artırarak ve zeytinde yağı çıkararak, aromanın enzimlerin, proteinlerin, polisakkaritlerin ve nişastanın giderilmesi
Poli galakturonaz, pektin esterase ve pektin transeliminaz ile birlikte termostabil pektinaz ve asit	Çilek, kiraz gibi meyvelerde ve çekirdekli meyvelerde dokuların birliğiyle birlikte viskozitede hızlı düşüş	Meyve ezilebilirliğini ve renk yoğunluğunu geliştirerek
Yüksek pro-pektinaz ve düşük selüloz ile birlikte poligalakturonaz	Pro-pektinin kısmi hidrolizi	Yüksek viskoziteli meyve püresi üretimi
Düşük pektin esterase ve hemiselüloz ile birlikte poligalakturonaz ve pektin transeliminaz	Pro-pektinin kısmi hidrolizi ve çözünebilir pektinin orta boyda parçalara hidrolizi; asit parçalarının oluşumu ve çökeltisi; selüloz liflerinden hidrokolloidlerin uzaklaştırılması	Düşük viskoziteli, homojen sebze suyu üretimi
Poli galakturonaz, pektin transeliminaz ve hemiselüloz	Pektinin, dallanmış polisakkaritlerin mükus maddelerini tanımlayan hidrolizi	Meyve suyunun artırılması
Pektinaz ve $\beta$ -glukozydaz	Meyve ve sebze kabuklarının kolay soyulması ve olgunlaşması için glukozydaz ve pektinazın eklenmesi	Meyvelerin ve sebzelerin duymasal özelliklerinin artırılması
Arabi noksilan modifiye edici enzimler (endoksilanazlar, ksilan dallanmayı parçalayan enzimler)	Tahıl esaslı arabi noksilan modifikasyonu ve arabi noksil-oligosakkaritlerin üretimi	Unlu maddelerin tekstüresini, kalitesini ve raf ömrünün artırılması
Selülozlar ve hemiselülozlar	Hücre duvarı polisakkaritlerinin ve diğer selülozların kısmen yada tamamen hidrolizi	İslanabilirlikte gelişme, tahılların homojen su absorpsiyonu, mayalı gıdaların besleyicilik kalitesi, kurutulmuş sebzelerin ve hazır çorbaların su alabilirliği, Fonksiyonel gıda katkıları ve düşük kalorili gıdalar olarak kullanılan oligosakkaritlerin üretimi
$\beta$ -glukonazlar ve mannanazlar	Manranın ve bakteriyel hücre duvarının çözünebilirliği	Gıdaların korunması
Ksilanazlar ve endoglukonazlar	Arabi noksilan ve nişastanın hidrolizi	Buğday unundan nişasta ve glutenin ayrılması
Pektinli yazaktiviteleri ve poligalakturonazlardan pektin esterase	Meyvenin işlenmesi	Yüksek kalitede ketçap üretimi
Ramnogalakturonaz	Meyve suyunun stabilitesi	Hojen elma suyu üretimi
Ramnogalakturononasetil esterase ve galaktanaz		
Selüloz ve pektinaz	Antioksidanların meyve ve sebze posalarından ayrılması	Koroner kalp yetmezliği ve damar sertliğinin kontrolü, meyvenin bayatlamasını önlenmesi
Endo-mannanaz	Kıvamlaştırıcı lifin modifikasyonu	Gıdaların lif içeriğini artırarak içi suda çözünebilir diyet gıdaların üretimi

Tablo 3.8 Bira ve şarap biyoteknolojisinde enzimler

Enzim/ mikroorganizma	İşlev	Uygulama
$\beta$ -glukanaz / glukanolitik maya	$\beta$ -1, 3 ve $\beta$ -1, 4 glukanın hidrolizi; viskoziteyi azaltma ve önfermantasyon sırasında indirgenmiş şekerin ayrılması	Önfermantasyonda filtrasyon ve bira kalitesinin geliştirilmesi
Pektin esterasez	Pektinlerin deesterifikasyonu ve jelleşmesi	Elma şurubunun arıtılması ve geliştirilmesi
Parçalayıcı enzimler (selülazlar, hemiselülazlar ve pektinazlar)	Bitkisel hücre duvarı polisakkaritlerinin hidrolizi	Üzümzarının parçalanmasında ve renk ekstraksiyonunda gelişme
$\beta$ -glukozydaz	Aromatik kalıntıların modifikasyonu	Şarabın aromasında artış

### 3.4.5 Hayvan Yemi Biyoteknolojisi ve Enzimler

Yıllık 600 milyon tondan fazla üretim ve 50 milyar dolardan fazla ciro yapan hayvan yemi endüstrisi tarım sektöründe çok önemli bir yere sahiptir. Üretilen yemlerin %90'ı küçük ve büyük baş hayvanlar tarafından tüketilmektedir, evcil hayvanlar tarafından ve balık çiftliklerinde tüketilen kısım ise sadece %10'dur. Enzimlerin hayvan yemi alanındaki işlevleri ve uygulamaları Tablo 3.9'da özetlenmiştir [5].

Tablo 3.9 Hayvan yemi biyoteknolojisinde enzimler

Enzim	İşlev	Uygulama
Selülazlar ve hemiselülazlar	Lignoselülozik materyallerin kısmi hidrolizi; tahıl kabuklarının soyulması; $\beta$ -glukanların hidrolizi; bağırsaktaki viskozitede düşüş ve hayvan yemlerini daha iyi emilimlenmesi ve esnekliği	Hayvansal gıdaların besin kalitesinde artış (geviş getiren ve tek midedi hayvanlarda)
$\beta$ -glukanaz ve ksilanaz	Tahıl $\beta$ -glukanlarının ve arabi noksilanların hidrolizi, bağırsaktaki viskozitenin azalması ve tahıl kabuklarından besin eldesi	Besini sindirilmesi ve emiliminde artış (tavuklarda)
Yüksek ksilanaz aktiviteli hemiselülaz	Domuz yemlerini besleyiciliğinin artması	Domuz yemlerini maliyetlerini düşürülmesi
Selülazlar, hemiselülazlar ve pektinazlar	Silolama ve samanın korunması sırasında bitkisel hücre duvarının kısmi hidrolizi, geviş getiren ve tek midedi hayvanlarda yüksek yem dönüşüm verimlerini içeren tercih edilen genin belirlenmesi	Geviş getiren hayvanlar için kaliteli saman üretimi, ot silolarının kalitesini artırmak

### 3.4.6 Odun ve Kağıt Biyoteknolojisi ve Enzimler

Ticari olarak kullanılan enzim karışımları birçok enzim aktivitesini içlerinde barındırırlar ve bunların bazıları hayati önem taşırken bazıları da zararlı olabilir. Bu sebeple, odun ve ağaç endüstrisinde yapılacak bir enzimatik hazırlık işleminde



kullanılan enzim karışımının ya da saf enzimin substrat özgüllüğü ve işlevi iyice araştırılmalıdır. Tablo 3.10’da odun ve kağıt endüstrisinde kullanılan enzimler, işlevleri ve uygulamaları özetlenmiştir [5].

Tablo 3.10 Odun ve kağıt biyoteknolojisinde enzimler

Enzim	İşlev	Uygulama
Selülazlar ve hemiselülazlar	Ham odunun özelliklerini modifikasyonu; karbohidrat moleküllerinin kısmi hidrolizi ve lif yüzeyinden mürrekkebin sökülmesi; kağıt üretiminde drenajlardaki koloidal materyallerin hidrolizi	Odundaki biyomekanik işlemler; geri dönüşürlümlü liflerden mürrekkep sökülmesi; kağıdın akışkanması
Ksilanazlar, mannanazlar, $\beta$ -ksilozidaz ve $\alpha$ -L-arabinofuranosidaz	Tekrar çöktürülmüş ksilanın hidrolizi ya da ksilanın lignin-karbohidrat komplekslerinden çıkarılması; glikomannanın uzaklaştırılması	Kağıdın biyo-ağartılması; sonraki ağartmadaki ve çevresel kirlenmeye sebep olan kloru azaltma
Saflaştırılmış selülaz ve hemiselülaz bileşenleri	Odun liflerinin kısmi ya da tamamen hidrolizi	Odun liflerinin biyoyakaraktasyonu

### 3.4.7 AR-GE’de ve Tarımda Enzimler

Araştırma-geliştirme faaliyetlerinde enzimlerin hem karışımlarının hem de ayrılmış bileşenlerinin kullanılması oldukça fazladır. Ayrıca tarımda da hem bitki hastalıklarının kontrolünde hem de bitki gelişiminde potansiyel uygulamalarına sahiptirler. AR-GE’de ve tarımda kullanılan enzimler, işlevleri ve uygulamaları Tablo 3.11’de özetlenmiştir [5].

Tablo 3.11 AR-GE’de ve tarımda kullanılan enzimler, işlevleri ve uygulamaları

Enzim	İşlev	Uygulama
Selülaz ve hemiselülaz ve pektinaz karışımları	Bitki ya da mantar hücre duvarlarının çözünür hale getirilmesi	Bitki ve mantar protoplazmının, hibrit ve mutant türlerini üretimi
Selülazlar ve ilgili enzimler, tercihen $\beta$ -1,3 ve 1,6 glukanazlar; Trichoderma sp. Ve Geocladium	Sporla döllenme, döl yolu uzaması ve mantar gelişimini inhibisyonu	Bitki patojenlerinin ve hastalıklarının biyokontrolü
Trichoderma sp., Geocladium sp., Chaetomium sp., Penicillium sp., Rhizopus nigricans, Fusarium roseum	Tohum döllenmesini, bitki gelişimini ve çiçeklenmesini sağlama; kök sisteminin geliştirilmesi; mahsulün artırılması	Tarım
Selülazların ve selülozların CBD si; selülozomün dokümanları, kohezi ve bağ ayıcıları	Afinite etki, afinite sistemleri, konjugasyon ve gen füzyonu	Proteinleri, enzimleri ve proteinleri afinite saflaştırılması, immobilizasyonu ve füzyonu; birçok uygulama için hibrit moleküllerin üretimi
T. reesei’den elde edilen sellüloz hidrolaz öncülü ve Aniger’den elde edilen glukonilaz öncülü	Heterodimerik proteinleri ve enzimleri açıklama	Yüksek seviyeli protein enzim ve anti kor üretimi
Doğal enzimler, selüloz malt birimleri ya da rekombinant enzimler	Spesifik bir uygulamanın verimliliğinin geliştirilmesi	Tasarımlı selülozomün üretimi



## BÖLÜM 4. PAMUKLU MAMULLERİN BİTİ MİŞLEMLERİNDE ENZİM KULLANIMI

### 4.1 Pamuk

#### 4.1.1 Pamuk Liflerinin Morfolojik Yapısı

Pamuk lifi, selülozik ve selülozik olmayan materyallerden oluşmaktadır. Bir pamuk lifinin en dış tabakası mum ve pektinle kaplı kütikülüdür ve selüloz, pektin, mum ve protein esaslı materyallerden oluşan primer çeperin etrafını sarar. Pamuk lifinin daha iç kısmında paralel selüloz fibrillerinden oluşan sekonder çeper ve lümen bulunmaktadır. Bu tabakalar yapısal ve kimyasal olarak birbirinden farklıdır. Mum protein ve pektin esaslı kütikula, lif ağırlığının %2.5'i kadardır ve amorfür. Primer çeper; lif ağırlığının %2.5'i kadardır, %30 kristalite indeksine sahiptir ve selüloz esaslıdır. Sekonder çeper, lifin %91.5'i ağırlığındadır, %70 kristalite indeksine sahiptir ve selüloz esaslıdır. Lümen ise protoplazmik kalıntılarından oluşmaktadır [11].

Çiğün bir pamuk lifinin kimyasal kompozisyonuna ait bilgiler Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1 Pamuk lifinin kimyasal yapısı

Bileşik	Tümlif bileşimi	Primer çeper ve kütikula bileşimi
Selüloz (ksiloglukan)	% 94	% 54
Pektin	%1.2	%9
Mumlar	%1.3	%14
Protein	%0.6	%8
Kül	%1.2	%3
Diğer	%1.7	%12

Pektin, suda çözülmeyen kalsiyum, magnezyum, demir ve alüminyum tuzları formuna dönüşmüş poligalaktonik asitlerden oluşmaktadır. Proteinlerin yapı taşlarının ise kompleks aminoasitler olduğu bilinmektedir. Yağlar esas olarak yüksek alifatik alkollerden, yağ asitlerinden ve bunların esterlerinden

oluşmaktadır. Minerallerin en önemli bileşenleri, 1-triakontanol, montanol,  $\beta$ -sisterol ve yüksek molekül ağırlıklı ester karışımlarıdır. Kül ise potasyum fosfat iyonları ve diğer toprak alkali metallerin bileşiklerinden oluşmaktadır [12].

Enzimatik işlemlerin anlaşılmasında 4 kural önemli olmaktadır. Birincisi; mumpektik maddeler ve proteinler amorf durumdadırlar. İkincisi; primer çeper selülozu, sekonder çeper selülozundan ve lifin ana yapısındaki selülozdan daha amorfudur. Üçüncüsü; selülozik olmayan maddeler ve primer çeper selülozu pamuk lif ağırlığının çok küçük bir kısmını oluştururlar. Dördüncüsü; pamuk yüzeyinde mikrogözenek ve yarıklar bulunmaktadır. Bunlar materyale belirli bir derece enzim girişine izin vermediği için genişletilebilirler. Böylece pamuk yüzeyi lifi iskeletinden daha kolay bir şekilde enzimatik olarak hidrolize edilebilir. Enzim dozajı ve işlem süresi gibi koşullar; pamuğun menşei ve durumuna, pamuğun orijinine, iplik ve kumaş oluşumuna ve enzimatik işlem öncesi iplik veya kumaşın kimyasal transformasyonuna bağlıdırlar [3].

#### **4.1.2 Pamuk El yafının Özellikleri**

Pamuk el yafının özellikleri genel olarak iki açıdan incelenebilir; fiziksel özellikleri ve kimyasal özellikleri.

##### **4.1.2.1 Pamuk El yafının Fiziksel Özellikleri**

Pamuk, Dünya üzerinde el yafından en çok yararlanılan bitkidir. Ayrıca pamuk el yafı tekstilde en fazla kullanılan el yafıdır. Pamuk el yafının özellikleri yetiştirildiği ortam şartlarına, yetiştirilme özelliklerine ve türlerine göre değişiklik gösterebilir. Tablo 4.1'de pamuk el yafının önemli fiziksel özellikleri genel hatlarıyla verilmiştir.

##### **4.1.2.2 Pamuk El yafının Kimyasal Özellikleri**

Pamuk, kimyasal olarak %80-90 selüloz, %6-8 sudan oluşur. Geri kalan maddeler ise pektin, mum ve yağlı maddeler, protein ve küldür.

##### **1- Selüloz**

Pamuk, keten, ramî, jüt, kenevir, sial, tabaka gibi bitkisel el yafıların temel kimyasal yapısı selülozdur. Bitki hücre duvarının yapı taşıdır yani iskelet bileşimidir.

Ki myasal liflerden rejenere selülözün da esasıdır (viskoz, bakır asetat, triasetat rayonları gibi).

Tablo 4.2 Pamuk el yafının önemli fiziksel özellikleri

Kriterler	Pamuk El yafının Fiziksel Özellikleri
<b>Mikroskopik görünüş</b>	Boyuna görünüşü yassı, bükümlü, hortum veya şeride benzer bir yapıdadır. Bükümler yüzeye düzgünsüz görünüm verirler. Bükümler cm'de 60-160 adet arasında olabilir. Enine kesidi böbrek veya fasulye şeklindedir. Lümen denilen bir merkezi kanalı vardır.
<b>Uzunluk</b>	El yafının boyu 1 cm'de 6 cm'ye kadar olabilir. Uzunluk karakteristik bir özelliktir. Belirli bir dereceye kadar çevre ve ortam şartlarının etkisiyle değişimler gösterebilir. 1 cm'den kısa olanlarınterdir. 1-2,5 cm marası kısa kesikli (ştapelli) el yafılar, 2,5-3,5 cm arası orta kesikli el yafılar, 3,5 cm'de uzun olanlar uzun kesikli el yafı olarak sınıflandırılırlar.
<b>İncelik</b>	Genel olarak uzun el yafılı pamuklar, kısa el yafılı pamuklardan daha ince olurlar. El yafının inceliği genel de 12-45 mikron arasında değişir.
<b>Renk</b>	Pamuk el yafının rengi yetiştiği bölgeye göre değişiklik gösterir. Genellikle beyazdır. Krem rengi, kahverengi gibi renkler de olabilir.
<b>Parlaklık</b>	Parlak değildir. Doğal bir matlığı vardır. Pamuk el yafında parlaklık el yafı ştapel uzunluğuna bağlı olarak artar. Ayrıca merserizasyon işlemi ile parlaklığı artırılabilir.
<b>Mükavemet (kuru)</b>	Pamuk el yafıta mükavemet olgunlaşma derecesine bağlıdır. Merserize olmayan pamuk orta dayanıklılıktadır. Merserize pamuk daha dayanıklı olur. Mükavemet genel olarak 3-4,5 g/denye arasındadır. Pamuk el yafında mükavemet merserizasyon işlemi ile artar.
<b>Mükavemet (yaş)</b>	Yaş halde mükavemet %10-20 arasında artar.
<b>Uzama elastikiyeti</b>	Ketenden daha fazla, ipek ve yünden daha az elastiktir. Pamuktaki doğal bükümler elastikiyeti artırır ve el yafının iplik haline getirilmesini kolaylaştırır. Uzama kabiliyeti %3-10 arasındadır. Pamuk el yafı %2 uzatıldığında geri dönüş elastikiyeti %75 civarındadır.
<b>Rezilyans (yaylanma)</b>	Düşüktür. El yafının bir basınç altında kalması, ezilmesi sonrasında eski haline dönüşü güçtür. Bu sebeple pamukta buruşma özelliği yüksektir. Buruşmazlık apresiyle pamuğun bu özelliği iyileştirilebilir.
<b>Nem alma</b>	Pamuk el yafının nem alma özelliği iyidir. Ham pamuk yapısındaki muş yağ gibi maddeler sebebiyle hidrofoftur. Bu maddeler uzaklaştırıldıktan sonra pamuk el yafı hidrofil olur. 20°C ve %65 nisbi nemde %8,5 civarında nem alır. Yaş pamuk daha güçlüdür.
<b>Alev alma</b>	Her men alev alır, erimez, koruyucu ve çabuk yanar.
<b>Statik elektriklenme</b>	Problemyoktur
<b>Pilling (boncuklanma)</b>	Problemyoktur
<b>Yoğunluk</b>	1,54 g/cm <sup>3</sup> . Poliamid, yün, polyester gibi birçok tekstil el yafından daha yüksektir.
<b>Sıcaklık</b>	Yüksek sıcaklıklara iyi dayanır. Ütüleme sıcaklığı olarak 230°C'ta kısa süreli kullanılabilir. Sıcaklık yükseldiçe kavrulur, sararmaya başlar ve dağılır. 100°C'a kadar sıcak suya dayanır 70-90°C'ta kurutulabilir.

Genel formülleri (C<sub>n</sub>H<sub>2n</sub>O<sub>n</sub>) olan polisakkaritlerdir. Selülözün ki myasal yapısı, glikoz moleküllerinin birbirine eklenerek oluşturduğu uzun zincir formundadır. Makromoleküller, n tane β-D-Glikoz yapı taşının 1. ve 4. karbon atomları üzerinden oksijen köprüleri ile birbirine bağlanması sonucu oluşur.

Selülöz beyaz, suda çözünebilen karbohidrattır. Nem çekiçi bir maddedir. %12 oranında nem alabilir.

## **2- Pektin**

Tipik bir olgun pamuk elyafı %0.6-1.2 arasında değişen miktarlarda pektini içerir. Pektini elyaftan nicel olarak saptamak zordur, sadece ürünlük asit yardımıyla doğruya yakın bir değer elde etmek mümkün olabilmektedir. Pektin daha ziyade primer çeperde lokalize olmuştur. Bu pektin Ruteniümkırması ile lekelenerek mikroskop altında daha bariç şekilde görülebilir.

## **3- Mumlu ve Yağlı Maddeler**

Kloroformda, karbontetraklorürde, benzende veya diğer organik çözücülerde çözünen maddeler pamuk elyafının yağlı ve mumlu maddeleridir. Elde edilişi bakımından selülden sonra elyafının en önemli bileşiklerindedir. Olgun pamuk elyafı %0.6 dolayında mumlu ve yağlı maddeler içerir. Tohumundan elde edilen elyafta ise %14-17 mumlu ve yağlı maddeler bulunur. Mumlu ve yağlı maddeler 85-90°C'ta erimeye başlarlar. Ham pamuk elyaftan eğrilmiş pamuk ipliği çoğunlukla mumlu halini muhafaza eder.

## **4- Protein**

Pamuk elyafında bir miktar azotlu madde bulunur. Bunların oranları pamuğun çeşidi ve yetiştiği şartlara göre az çok değişir. Azotlu maddelerin hepsinin elyafta protein azot halinde olduğu düşünülebilir.

## **5- Kül**

Pamuk elyafının kaliteleri içerdiği kül miktarına göre değişmektedir. Elyafta bulunan kül miktarı aynı zamanda pamuğun çeşidine ve yetiştiği bölgenin toprak şartlarına göre değişir. Pamuk ve pamuğun temel yapıtaşı olan selüloz kimyasal madde ve etkilere değişik tepkiler gösterirler.

Tablo 4.3 Pamuk elyafının önemli kimyasal özellikleri

Etkenler	Pamuk Elyafının Kimyasal Özellikleri
<b>Asitler</b>	Derişik HCl ve H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> gibi kuvvetli asitler pamuğa kolayca zarar verirler. Sadece H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pamuğu yapışkan bir madde haline sokar. HNO <sub>3</sub> ile pamuk bir nevi barut oluşturur. Asetik asit ve sitrik asit gibi zayıf asitler pamuğa zarar vermezler. Eğer elyafının içinde kristalize olmasına izin verilirse oksalik asit pamuğu zayıflatır.
<b>Bazlar (alkaliler)</b>	Bazlara karşı çok dirençlidir. Pamuk zarar görmeden kuvvetli baz çözeltilerinde işleme sokulabilir. Ancak bazlar pamuğu hava oksijeniyle duyarlı hale getirerek yükseltgenmesine neden olabilirler. Bu durumda pamuk indirgen özellik gösterir ve makromoleküllerine parçalanarak ortalama polimerizasyon derecesi düşüğünden dayanım kaybına uğrar.
<b>Organik çözücüler</b>	Birçok organik çözücüye karşı dirençlidir.
<b>Ağartma maddeleri</b>	Pamuk ağartıcılara iyi dayanır ancak potasyumper manganat ve sodyumhipoklorit gibi kuvvetli oksitleyici ağartma maddeleri pamuğu yavaş yavaş oksiselülöz haline getirebilir. Bu durumda pamuk mukavemet kaybına uğrar. Çok fazla ağartılmış pamuk yaş halde kolayca yırtılır.
<b>Küf ve mantar</b>	Eğer dayanıklılık için bir muameleye tabi tutulmuşsa küften zarar görür. Nemli hasıl maddeleri ve nişastalar küflenmeye yol açar.
<b>Güveler, böcekler</b>	Dirençlidir ancak kağıt güvesi nişastalı pamuğa zarar verir.
<b>Işıkatmosfer koşulları</b>	Güneşin kızılötesi ışınları pamuğu zamanla oksiselülözle dönüştürür ve mukavemetinin düşmesine sebep olur. Örneğin güneş ışığında 2 hafta kalan pamuk mukavemetinin %50'sini kaybeder.
<b>Su</b>	El yafı suyun etkisiyle ekseninin dik yönünde şişer, genişler. Yaş halde kopma dayanım artışı gösterir.
<b>Boyama</b>	Genellikle reaktif, direkt, küp ve kükürt boya ile boyanır. Küp boyama pamuğa mikemrel ışık ve yıkanma haslığı verir.

Genel olarak pamuk elyafı asitlere karşı hassastır. Asitler selülöz makromoleküllerindeki glikoz yapı taşlarını birbirine bağlayan oksijen köprülerini parçalayarak elyafa zarar verirler. Kuvvetli anorganik asitler selülöz elyafındaki oksijen köprülerini kopararak makromoleküllerini daha küçük parçalara bölerler yani ortalama polimerizasyon derecesi düşer. Bu da elyaf özelliklerini değiştirir ve aldehyt uç grupları nedeniyle indirgen özellik gösterir. Sonuç olarak selülöz elyafı asitlere dayanımsızdır. Bu nedenle nötrleştirme gibi işlemlerde organik asitler tercih edilmelidirler. Belirli koşullar altında kuvvetli asitler selülözü esterselülöz oluşturacak şekilde etkililer.

Genel olarak pamuk elyafı bazlara karşı dayanıklıdır. Bazlar (alkaliler) selülöz elyafı sudan daha etkin bir şekilde şişirir. Konsantrasyon arttığında (%12'likten daha derişik bazlar) intramoleküler reaksiyonlar görülür, elyafın yapısı değişir. Hidroksil grupları alkali metalle yer değiştirir veya selülöz alkaliyi absorbtif kuvvetlerle tutar. Bazların selülözü şişirmesi, bazın alkali iyon çapına bağlıdır. Çap arttıkça şişirme azalır. Selülöz elyafı bazlarla makromolekül zincirinin uzunluğuna bağlı olarak az

veya çok çözünür. Bu çözünme sıcaklık düştükçe artar.  $-5^{\circ}\text{C}$ taki %0'luk sudkostik çözeltisi selüloz elyafını hemen hemen tamamen çözer. Bir diğer etken selüloz elyafındaki makromoleküllerin zarar görme durumudur. Makromolekül parçalanmışsa çözünme artar. Bazı kompleks bazlar ve kuvvetli organik bazlar, selüloz elyafını tamamen çözünmesi ne neden olur. Doğal ve rejenere selüloz liflerinin bazlarla işlem görmesi sırasında sıcaklık ve konsantrasyon seçimine özen gösterilmelidir. Bazlarının etkilerine bağlı olarak pamuk elyafı nerserize edilir. Rayon dokumalarında krep görünümü elde edilir.

Hidrofil (emici) pamuk oluşturmak için de bazlardan yararlanır. Sıcak bazı k ön işleme pamuğun su emiciliği artırılır. Orta derecede uzunluğa ve inceliğe sahip pamuklar için son derece uygun bir işlemdir.

Tıbbi alanda kullanım amacıyla sıcak kimyasal işlemlerle tüm yağı ve yabancı maddeleri uzaklaştırılmış pamuk, çok kısa sürede ağırlığının %8-20'si kadar nem absorbe edebilir.

Pamuk lifleri bazlara karşı oldukça dayanıklıdır ancak özellikle yüksek sıcaklıklarda, bazlar selülozu hava oksijeni ne karşı hassas duruma getirerek aldehit grubu oluşturacak şekilde yükseltgenmesi ne neden olabilir. Bu durumda elyaf zarar görür ve indirgen özellik gösterir.

Yükseltgen maddeler ılıman koşullar altında selüloz elyaf ile çeşitli reaksiyonlar gösterirler. Ancak kontrolsüz işlemlerde makromolekülleri parçalayarak elyafın zarar görmesi ne neden olurlar. Selüloz makromoleküllerini oluşturan her bir glikoz yapı taşında yükseltgenebilecek çeşitli alkol grupları mevcuttur. Bunların yükseltgenmesiyle aldehit, karboksilli asit, keton meydana gelir ve oksiselüloz oluşur. Daha ileri derecede C-C bağları kopar. Yükseltgenme devamettiğinde altılı hal ka açılarak esterselülozu oluşana kadar etki eder bu da makromoleküllerin parçalanması demektir. Oksiselülozlar indirgen özellik gösterirler, karboksilli asit grubu olan selüloz elyafları bazı boyar maddelerle boyanırlar.

Pamuklu maddelerin ağartılmasında çeşitli yükseltgen maddelerle çalışılırken koşulların reçeteye göre ayarlanması na dikkat edilmelidir. Pamuk elyafı genel olarak indirgen maddelere karşı dayanıklıdır. Pamuk genellikle sodyum disülfid ve sodyum disülfoksilat gibi indirgenlerden zarar görmez. Bununla beraber sitrik asit, laktik



asit, oksalik asit, tartarik asit gibi asitlerin sıcak çözeltileri pamuk ve mullerine etki ederler.

Su selülöz elyafı lif eksenine dik yönde şişirir. Bu da suyun kristalitlerinin lifin dış yüzeyindeki hidroksil grupları ile birleşmesinden kaynaklanır. Hidroksil gruplarının fazla olması bu şişmeyi arttırır (rejenere selülöz liflerde olduğu gibi), hidroksil gruplarının az olması halinde şişme azdır (asetat ve triasetat liflerde olduğu gibi). Yaş halde doğal selülöz liflerinin kopma dayanımı makromolekül zincirlerinin tribüyonvari yapısı nedeniyle artış gösterir. Rejenere selülöz liflerde ise, kısa olan makromolekül zincirleri birbiri üzerinden kayna gösterir. Bu da kopma dayanımının oluşmasına yol açar.

Tuzlar selülöz elyaflarının şişirecek ve anyon çapına bağlı olarak kısmen çözecek şekilde etki ederler. Alkali ve toprak alkali metal tuzlarının katyon çapı büyüdükçe selülozu çözme yetenekleri azalır, anyon çapı arttıkça artar. Yani, küçük katyon ve büyük anyondan oluşan tuzlar selüloza en fazla etkiyi gösterirler.

Selülöz lifleri ısıya karşı oldukça dayanıklıdır. Ancak tutuşma sıcaklıkları 400°C olduğundan kolay yanarlar. 150°C a kadar hiçbir değişiklik olmadan muamele edilirler. Daha yüksek sıcaklıklarda makromoleküller parçalanmaya başlarlar. 200°C ın üzerinde uzun süre kalırsa termik parçalanma (piroliz) nedeniyle ağırlık kaybı görülür. Bu sıcaklıkta açığa çıkan gazlar yanıcı değildir. 350°C tan sonra piroliz hızı çok artar ve yanıcı gaz karışımı meydana gelir. Bu esnada bir kıvılcım tutuşmaya neden olur. 400°C ın üzerinde ise gaz karışımı kendiliğinden tutuşur. Pamuk çok hızlı yanar, yanma ısı düşük olmasına rağmen yanma çok hızlı ilerlediğinden açığa çıkan enerji fazladır. Pamuğa özgü dikkat edilecek diğer bir husus ise pamukta için için yanma olayıdır. Yangınlarda pamuklu materyalin tamamen sönmesine dikkat edilmelidir. Aksi halde içiniçin tekrar yanarak yangına sebep olacaktır.

Güneş ışığına maruz kalan pamuk kızıltesi ışınlarının etkisiyle hava oksijeni sebebiyle kimyasal değişliğe uğrar ve mukavemetinden önemli ölçüde kaybeder. Keten ve pamuk gibi selülöz elyafın ağartılmasında eskiden beri gün ışığından yararlanılmıştır. Beyazlatmak amacıyla güneş ışığı altında nemli halde 2 hafta serili bırakılan pamuğun mukavemetlerinde %50 oranında düşme olduğu gözlenmiştir.

Boyama sırasında pamuğun devamlı boya banyosu içinde kalması su yüzeyinde havayla temas geçmemesi gereklidir. Aksi halde pamukta sarı-kahverengi arası lekeler meydana gelir. Bu bölgeler boya tutmaz ve mukavette düşer olur [13].

## 4.2 Haşıl Sökme İşlemleri

### 4.2.1 Haşıl Maddeleri ve Sınıflandırılması

Haşıl sökme işleminin amacı çözgü iplikleri üzerindeki haşıl maddelerini uzaklaştırmaktır. Haşıl sökmenin iyi yapılmadığı terbiye işlemlerinde hatalar meydana gelmektedir ve bunların giderilmesi de mümkün olmaktadır [14].

Başarılı ve yeterli bir haşıl sökme yapabilmek için haşıl maddelerini iyi tanıması gerekir. Haşıl maddelerini üç ana gruba ayırmak mümkündür.

- 1) Parçalanabilir
- 2) Suda çözünebilir
- 3) Suda çözünmeyen veya suya dayanıklı haşıllar

Yapılarına göre ise haşıl maddeleri şöyle sınıflandırılabilir:

1. Nişasta esaslı ürünler; patates, mısır nişastası ve türevleri
2. Selülöz esaslı ürünler; karboksimetilselülöz, metilselülöz
3. Sentetik ürünler; polivinilalkol, poliakrilat ve çeşitli kopolimerler
4. Diğer ürünler; alginat, kemik unu, tutkal, jelatin, kazein [15].

Suda çözünebilir haşıl maddeleri açık en yıkama makinalarında yıkama ile uzaklaştırılabilirler (Örneğin polivinilalkol, poliakrilat vb.).

Suda çözünmeyen haşıl maddeleri enzimatik haşıl sökme, oksidatif haşıl sökme, asidik hidroliz ve bazik hidroliz yöntemlerinden biriyle suda çözünebilir hale getirilebilir [3].

#### 4.2.2 Enzimatik Haşıl Sökme İşlemleri ve Amilaz Enzimi

Nişasta haşılının enzimatik olarak sökülmesinin esası, önce nişasta makromolekülünü parçalayarak suda çözünür duruma getirmeye ve sonra da bu parçalanmış ürünlerini yıkayarak uzaklaştırmaya dayanmaktadır. Enzimlerle haşıl sökme işleminde iyi sonuç almak için, bazı şartların sağlanması ve önceden belirlenmesi gerekir. Bunlar; haşıl sökme flottesinin enzim konsantrasyonu, haşıl sökme süresi, haşıl sökme sıcaklığı, haşıl sökme flottesinin pHı, haşıl sökme flottesinin su sertlik derecesi, haşıl sökme efekti artırma için flotteye non-iyonik ıslatıcı ilavesi ve haşıl sökme efekti artırma için flotteye tuz ilavesidir.

Haşıl sökme işlemlerinde enzim kullanılması liflere zarar vermemeleri, zararlı kimyasalların kullanılmasını, geniş proses koşullarına uyum sağlamaları, atıksularda kolayca parçalanabilmeleri açısından oldukça önemlidir.

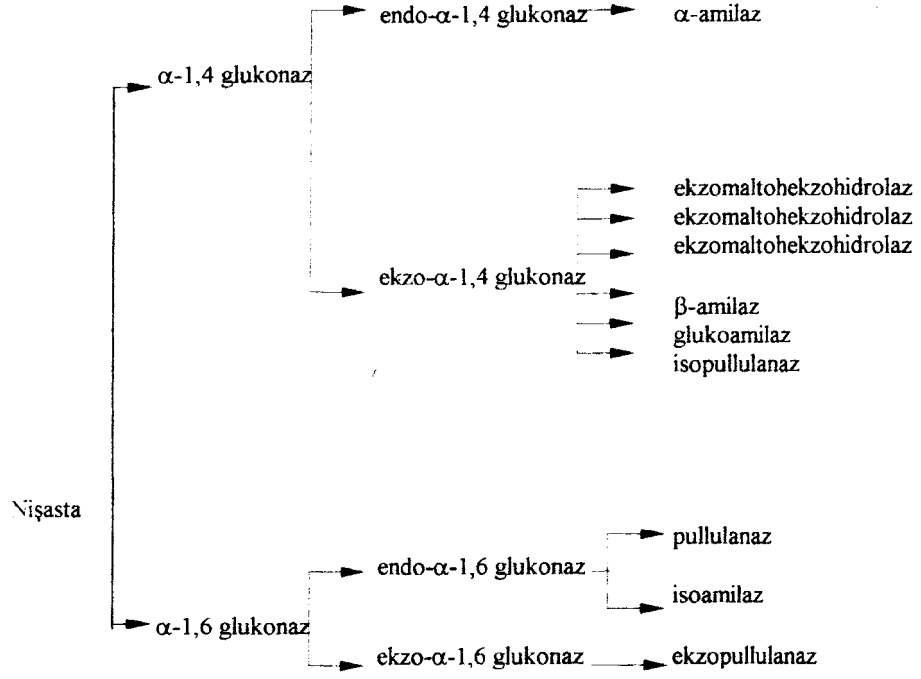
Enzimatik haşıl sökme işleminde nişastayı parçalamak amacıyla amilaz enzimi kullanılır. Tablo 4.4'te amilaz çeşitleri ve etkili oldukları pH ve sıcaklık bölgeleri görülmektedir.

Tablo 4.4 Amilaz çeşitleri, etkili oldukları pH aralıkları ve sıcaklık bölgeleri

Amilaz kaynağı	En uygun pH	En uygun sıcaklık (°C)	Etkili olduğu pH	Etkili olduğu sıcaklık (°C)
Pankreas	6-8	50-55	4.5-9	60-65
Malt	4.6-5.2	60-65	2.1-8.1	85
Bakteri	5.4-7	60-65	2-9	<90

Amilaz enzimleri hayvansal ( $\alpha$ -amilaz) veya bitkisel kaynaklı ( $\beta$ -amilaz) olmaktadır. Son yıllarda haşıl sökme işlemi için bakteriyel amilaz kullanımı artmıştır. Bakteri amilaz uygun ortamda yetiştirilen özel bir bakteriden elde edilir. Yüksek sıcaklıkta stabil  $\alpha$ -amilaz *Bacillus licheniformis* soyundan, maksimum 80 dereceye kadar stabil kalan  $\alpha$ -amilaz ise *Bacillus subtilis* soyundan yetiştirilir.

Amilazların nişastanın uzun moleküllerinin parçalaması sonucu glukoz, maltoz, maltotetroz, maltopentoz ve maltoheksöz gibi parçalanmış ürünleri meydana getirmektedir. Şekil 4.1'de nişastanın enzimatik parçalanması görülmektedir [8].



Şekil 4.1 Nişastanın enzimatik parçalanması

α-amilaz nişasta makromoleküllerini hızlı bir şekilde kopartarak dekstrine dönüştürür. α-amilazların tek etkileri nişastanın α-1,4 glikozik bağları üzerindedir, 1,6 glikozik bağları etkilemezler.

### 4.3 Hidrofilleştirme İşlemleri

#### 4.3.1 Hidrofilleştirme İşlemlerinde Enzim Kullanımı

Pamuklu maddelerin hidrofilleştirilmesinde uzun yıllardan beri bazik işlem (kaynatma) kullanılmaktadır. Son on yıldan beri araştırmalar sodyum hidroksit yerine enzim kullanma yönünde olmaktadır.

Pamuklu selülozik olmayan maddelerinin temizlenmesi için alkali kimyasalların kullanımı enzime göre çeşitli dezavantajlara sahiptir. Bazik işlemlerde büyük miktarlarda alkali yanında, ısıtıcı, kompleks oluşturuç, indirgen madde, nötralizasyon maddesi gibi diğer kimyasallar da bulunmaktadır. Atıksuyu yüksek pH değerine sahiptir, burada sülfirik asit ve karbondioksit ile nötralizasyon gerektirir ve atığın tuz yükü artmaktadır. Ayrıca bazik işlem için koşullar mutlaka kontrol edilmelidir. Aksi halde işlemlerinde pamuk selülozunun havayla temas etmesi, selülozun oksidasyonu ile sonuçlanır.

Alkali çözültisi ne uygun kompleks ilave edilmezse kalsiyum ve magnezyum iyonları sabun molekülleriyle birleşecekler ve kumaş yüzeyinde çökelmeler oluşacaktır. Bunlar da boyama, baskı ve apre işlemlerinde sorunlara yol açmaktadır.

Bazı işlemler amlaz ile haşıl sökme gibi işlemlerle uyumsuzdur. Bu nedenle konvansiyonel bazı işlemler proseslerinin tüm çevre maliyetleri yüksektir [16].

Enzimatiği işlemki myasal işlemlerle karşılaştırıldığında oldukça spesifik. Enzimler sadece yabancı maddeleri parçalamaya yönelik etki etmektedirler. Böylece bozulmuş selüloz yapısına sahip ürünler elde edilmektedir, bu da daha az ağırlık ve mukavemet kaybı, daha düşük atık su yükü anlamına gelmektedir [17].

Araştırmacılar enzim kullanımı ile son ürün ve proseslerdeki olası gelişmeleri şöyle özetlemektedirler:

- daha az kimyasal madde tüketimi, böylece daha az kimyasal oksijen ihtiyacı
- daha az ağırlık kaybı
- daha az mukavemet kaybı ve lif zararı
- geliştirilmiş tutum
- daha düşük pH lar da çalışması nedeniyle durulama suyu ve süresi nden tasarruf
- daha düşük sıcaklıklarda çalışması nedeniyle daha az enerji tüketimi
- dokuma kumaşlar için haşıl sökme + bazı işlemler kombinasyon olanağı
- örme malları için hidrofilitik + biyo-parlatma kombinasyon olanağı

Dezavantajları ise;

- daha az beyazlık derecesi artışı (ağartma işlemleri ile kolaylıkla sağlanabilir)
- daha az çöpel uzaklaştırma [18].

### 4.3.2 Alkali ile İşlem

Literatürde yıka ma, kaynat ma, bazik işlem gi bi teri mlerle tanı mlanan bu işlem hidrofilli ğe engel ol uşt uran, vaksça zengin küti kül aya yöneliktir ve ancak aynı anda pri ner çeperde uzaklaş maktadır. Kaynat ma sonucu pamuk lifi yüzeyinden sel ül ozik ol mayan materyaller uzaklaştırıl maktadır ve lif hidrofil bir karakter kazan maktadır. Genellikle sodyum hidroksit çözeltileriyle (%4-4), 30-60 dakika süreyle gerçekleştiril mektedir. Çoğu kaynat ma işlemi atmosferik basınç altında ve 75-100°C sıcaklıkta yapılmaktadır. 125-130 °C'ta çalışabilen basınçlı makinelere ise daha kısa süreli işlem ve daha az alkali kullanımı mümkün olmaktadır. İşlem sırasında kompleks oluşt urucu maddeler ve yüzey aktif maddeler de kullanılabilir mektedir [3].

### 4.3.3 Hidrofilleştirme İşleminde Kullanılan Enzimler

Pamuklu mamullerin hidrofilleştirilmesinde başta pektinaz olmak üzere selülaz, lipaz, proteaz kullanılmaktadır. Bu enzimlerin yapısı, pamuklu mamuller ile reaksiyonları ve şimdiki kadar yapılan çalışmalar şöyle özetlenebilir [3].

#### 4.3.3.1 Lipaz Enzimi

Dokuma kumaşların büyük bir bölümü nişasta esaslı polimerlerin ve vaks (mu) esaslı yağlayıcıların karışımı ile haşıl lanmaktadır. Konvansiyonel bir haşıl sökme/bazik işlem prosesinde vaksın % 10'undan daha az bir kısım sabunlaş maktadır. Tri gliserit olan bu yağlar; lipazlar ve gliserol, yağ asitleri, mono ve di gliserid reaksiyon ürünleri vererek tamen hidrolize ol maktadırlar .

Gliserol suda tamamen çözünürken yağ asitleri kaynat ma sırasında kolaylıkla uzaklaş maktadır. Mono ve di gliseritlere ise yüzey aktif maddeler veya emülsiyon ediciler etki et mektedir. Böylece lipaz ile yapılan bir işlem sadece haşıl sökme işlemini gerçekleştirmez, kaynat ma işlemine de destek olur.

Lange tarafından yapılan bir çalışmada, amilaz yanında lipaz enzimi ilavesinin nişastanın uzaklaştırılmasında pozitif yönde etkisi olduğu bulunmuştur. Tri gliserit esaslı olan yağlar, lipaz konsantrasyonu arttıkça daha iyi uzaklaş maktadırlar. Lipaz ilavesinin avantajı, kullanılan amilaz miktarını minimize ederek bazik işlem ve ağartma işlemi sonunda elde edilen beyazlık derecesi artışında da kendini göster mektir [19].

Hsieh ve Gram çeşitli poliestere kumaşların hidrofiliğini geliştirmesinde, hidrolize edici enzimlerin etkinliğini araştırmışlardır. Çalıştıkları altı lipaz tipinden beşi poliestere kumaşların suyla ıslanma ve absorban özelliklerini önemli ölçüde arttırmıştır ve bu değerler alkali ile hidrolizden elde edilen değerlerden daha iyi olmuştur.

#### 4.3.3.2 Proteaz Enzimleri

Proteolitik enzimler veya proteazlar, protein ve peptitlerin hidrolizini katalizlerler. Etkinlikleri zincir tipine bağlı olarak iki tip proteaz bulunmaktadır; proteinazlar (endopeptidazlar) ve peptidazlar. Proteinazlar, protein ve peptitlerin iç peptit bağlarına etki ederler. Bu çeşit proteazlar hayvanlardan elde edilen pepsin, tripsin ve kimotripsin ile papayadan elde edilen papaini kapsamaktadırlar.

Hsieh, pamuk lifi yüzeyindeki hidrofobik bileşimlerin eliminasyonunda, 10 çeşit proteolitik enzim kullanmıştır. 100°C'ta su ile bir ön işlemin ardından yapılan enzimatiği işlem pamuklu kumaşın hidrofilik ve absorpsiyon değerlerini arttırmıştır. Dört proteaz enzimi ile hidrofilik değerlerinde mükemmel sonuçlar alınırken, diğer proteazlarda daha az artışlar gözlenmiştir. Proteolitik işlemlerle alkali işleme nazaran daha düşük sıcaklıklarda (25-45°C) ve daha kısa süreli (10-30 dak.) çalışmak mümkün olmaktadır. Optimum reaksiyon koşulları altında proteazla işlem gören kumaşın hidrofilik değeri alkali işleminkiye benzerdir. Enzimatiği işlemde kumaş kalınlığı daha az artmaktadır. Proteinik enzimler, pektin parçalayıcı enzimlerden daha düşük sıcaklıklarda daha kısa sürede ve daha geniş pH aralıklarında (pH 4-7) çalışmaları sağlanır, ayrıca ağırlık kayıpları daha da azdır [20].

#### 4.3.3.3 Selüloz Enzimleri

Selüloz enzimleri selülozu hidrolize ederler ve selülozu daha kısa zincirli selüloz polimerlerine ve glikoza parçalamaktadırlar. Selülozlar çok çeşitli mantar ve bakteri türleri tarafından üretilmektedirler. Bunlar üç değişik tip selüloz içerirler ve selülozun glikoza parçalanmasında sinerjik olarak rol oynamaktadırlar.

1. Endo-selülaz veya endoglikonaz; Uzun zincirli selülöz polimerlerini rastgele daha kısa polimerlere parçalar (amorf bölgelere daha öncelikle saldırır).
2. Ekzo-selülaz veya sellobiyo hidrolaz; Selülöz polimer zincirlerini uçlardan hidrolize ederek sellobiyozlara oluşturur.
3.  $\beta$ -Glikozidaz; Sellobiyoz gibi kısa zincirli selülöz oligomerlerini glikozlara parçalar [21].

Çırsız ve ark pamuklu kumaşların alkali ile işlemlerine selülaz enzim ile ön işlemin etkisini incelemiştir. Alkali işlem öncesi uygulanan selülaz işleminin tohum kabuğu artıkları üzerine iki etkisi olmaktadır. Birincisi selülaz ölçülebilen bir ağırlık kaybıyla ortaya çıkan çöpelin lignoselülozik yapısını bozmaktadır. Alkali çözeltinin penetrasyonunu sağlamakta ve çöPELLERİN PARÇALANMA MİKTARINI arttırmaktadır. İşlem görmemiş çöPELLERİN %28-34'ü selülaz ile işlem sonunda çözülebilmektedir ve daha sonraki işlem sırasında % 78-86'sı kaybolmaktadır. İkincisi, optimize edilen iki adımlı ön terbiye işlemi, kumaşın çöpel içeriğini azaltmaktadır. Selülaz kumaşa çöPELLERLE TUTUNAN İNCE LİFLERİ hidrolize etmektedir ve serbest olan parçalar daha sonraki filtrasyonla uzaklaştırılmaktadır. Böylece alkali işlem öncesi selülaza işlem hem çöPELLERİN PARÇALANMASINI hem de haşılı sökül en kumaşın uzaklaşmasını sağlamaktadır [22].

#### 4.3.3.4 Pektinaz Enzimleri ve Deneysel Çalışmalar

Pamuk primer çeperinde bulunan pektin kuvvetli bir biyolojik tutkaldır. Bu tutkal lif büyümesi sırasında büyük oranda kalsiyum magnezyum demir tuzlarına ve diğer tuzlara dönüşen poligalakturonik asitlerden oluşur. Suda çözünmeyen bu pektin tuzları büyüme esnasında koruyucu bariyer oluşturmak üzere primer çeper matrislerindeki yağ ve proteinleri birbirine bağlamaya yararlar. Bundan dolayı, primer çeperdeki pektinin hidrolizi su absorbanasını sağlamak için matrisin aralarını açmayı sağlar [12].

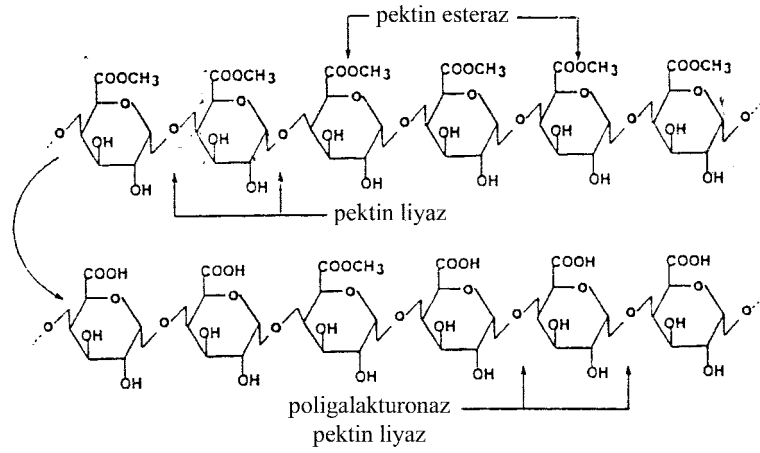
Aspergillus nigerden elde edilen üç pektinaz, pamuğun ıslanabilirliğini artırmaktadır. Pektinik maddelerin yumuşaması, diğer selülozik olmayan maddeleri de yerinden çıkartılabilirliğinde ve pamuk lifi yüzeyindeki hidrofob bileşimlerin uzaklaşmasında etken olabilmektedir. Pektin parçalayıcı enzimlerin kumaş mukavemeti üzerine



olumsuz bir etkileri yoktur. Islatıcı ve organik solvent gerektirmeden sulu sistemlerde reaksiyona girerler [20].

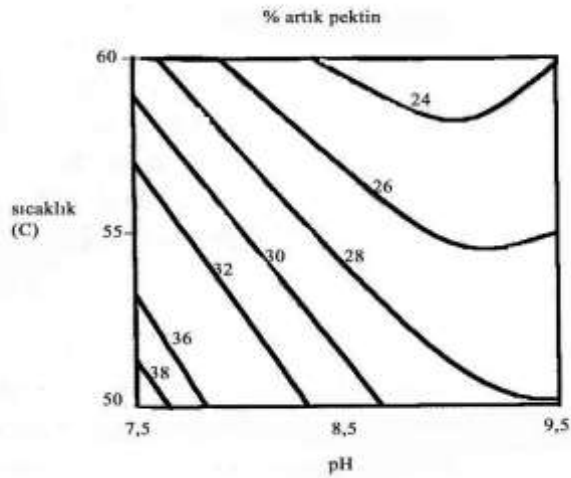
Ticari pektinazlar farklı tip enzimleri içerirler. Pektin metil diasetilat, galakturonik artıklarını esterleştirir. Pektinli yaz, yüksek metoksi pektinleri parçalar. Pektat li yaz, düşük metil veya esterleşmiş poligalakturonik asitlere etki eder. Endo ve ekzo poligalakturonidazlar, poligalakturonik asiti hidrolizler.

Basitleştirilmiş bir pektin polimerine pektinolitik enzimlerin etkisine ait bir model Şekil 4.2’de görülmektedir [23].



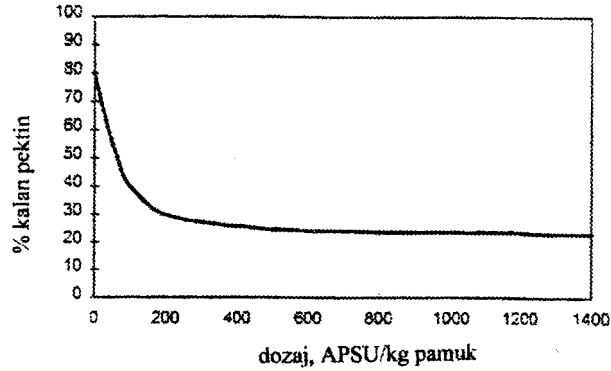
Şekil 4.2 Basitleştirilmiş bir pektin polimerine pektinolitik enzimlerin etkisi

Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’de bakteriyel pektinazın konsantrasyon, sıcaklık ve pH değerlerini optimize etmek için yapılan çalışmanın sonuçları görülmektedir.



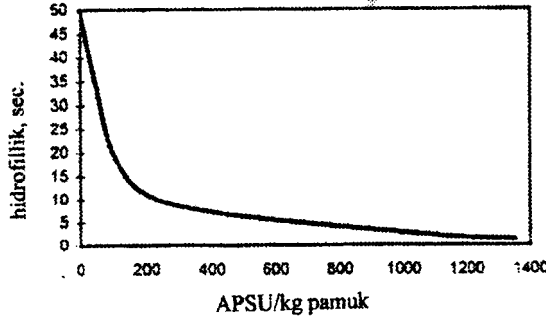
Şekil 4.3 pH ve sıcaklığın fonksiyonu olarak kuşak üzerinde kalan artık pektin

Optimum pH 9.2 ve optimum sıcaklık 60° C olarak bulunmuştur.



Şekil 4.4 60° C, pH=9.2'de 30 dakika reaksiyon süresi sonunda (%), artıkt pektinin, enzim konsantrasyonuna etkisi

Pektinin uzaklaştırılması ile hidrofilik artışı arasında yakın bir korelasyon vardır. Ancak hidrofilitteki bu artış bir çözücüyle ekstrakte edilen kumaşlarda da görülmemiştir. Bu da hidrofilik artışın sadece pektinin uzaklaştırılmasıyla olmadığını, aynı zamanda pamuk mumunun uzaklaştırılmasıyla da bağlantılı olduğunu göstermektedir (Şekil 4.5).



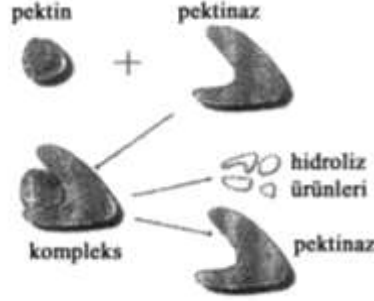
Şekil 4.5 Enzim konsantrasyonu ile hidrofilit arasındaki ilişki

Bu sonuçlar 1000 APSU/kg pamuk enzim konsantrasyonunda 5 saniyeden daha az hidrofilit değeri anlamına gelmektedir [24].

### **Alkali Pektinaz Enzimleri**

Novo Nordisk firması tarafından geliştirilen bu özel pektinaz son derece kuvvetlidir ve hafif alkali şartlarda ve kompleks oluşturucu içeren banyolarda etkili olmaktadır. Bu koşullar biyopreparasyon için yararlıdır, ancak bu ortamda konvensiyonel pektinazlar aktifliğini yitirmektedirler. Yeni geliştirilen bu enzim tipinin çok az miktarı bile pamuğa absorban özellik kazandırmaya yeterli olduğundan,

biyopreparasyon konvansiyonel bazik işlemden daha ekonomik olmaktadır. Şekil 4.6'da pektinaz ile pamuk lifinin enzimatik preperasyonunun mekanizması görülmektedir.



Şekil 4.6 Pektinaz ile primer çeperdeki pektinin hidrolizi

Şekil 4.6'da görüldüğü gibi, pektinaz enzimi primer çeperdeki pektin sitelerine hücum etmekte ve çeperle matriks yapısının arasını keserek hidrolizi katalizlemektedir. Enzim diğer pektin sitelerine tutunarak serbest kalırken, hidroliz ürünleri ve diğer materyaller çeperden uzağa yayılmaktadırlar. Bu işlem enzimin aktivitesini yitirene kadar tekrar tekrar devam etmektedir [12].

Bach ve Scholl neyer pamuk pektinin pektinolitik enzimler tarafından parçalanmasını incelemiştirler. Pektin hem pamuk yüzeyinden ekstrakte edilerek homojen bir çözeltiden elde edilmektedir hem de heterojenik bir reaksiyonla direkt olarak pamuk yüzeyinde parçalanmaktadır. Bu çalışmada parçalanma derecesi çözeltiye geçen indirgen grupların miktarını ölçerek saptanmıştır [25].

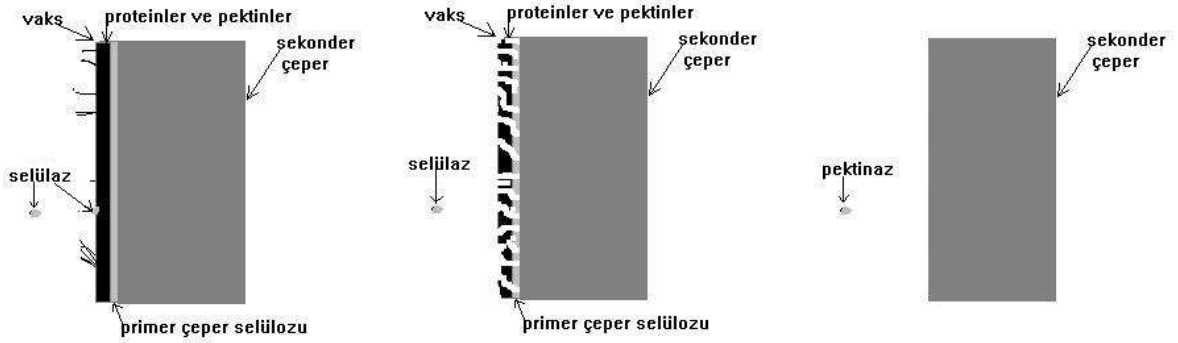
Bach ve Scholl neyer pektin parçalanmasına ilişkin bu çalışmalarının devamında konvansiyonel alkali kaynatma işlemiyle karşılaştırma yapmışlardır ve beyazlık derecesinin enzimatik işlemden daha düşük olduğunu ortaya koymuşlardır. Ancak pektinaz ve selüloz enzim kombinasyonu uygulandığında beyazlık derecesinde artış görülmektedir [26].

Rössner beyazlık derecesine ilişkin diğer bir çalışmada, enzimle muamele edilen pamuklu kumaş örneklerinin beyazlık derecesinin alkali kaynatmaya göre % 8-10 daha düşük olduğunu göstermiştir. Ağırlık kaybı esas alındığında, pamukta life ait yabancı maddelerin uzaklaştırılmasında, selüloz enzim etkili enzim olmuştur, bunu sırasıyla pektinaz, proteaz ve lipaz izlemektedir. Bu enzimlerle sonuç alınabilmesi

3 saat gibi uzun bir süre gerektirmektedir. Selülaz ile işlemlerde mukavemet kayıpları en fazla %12 olmaktadır [27].

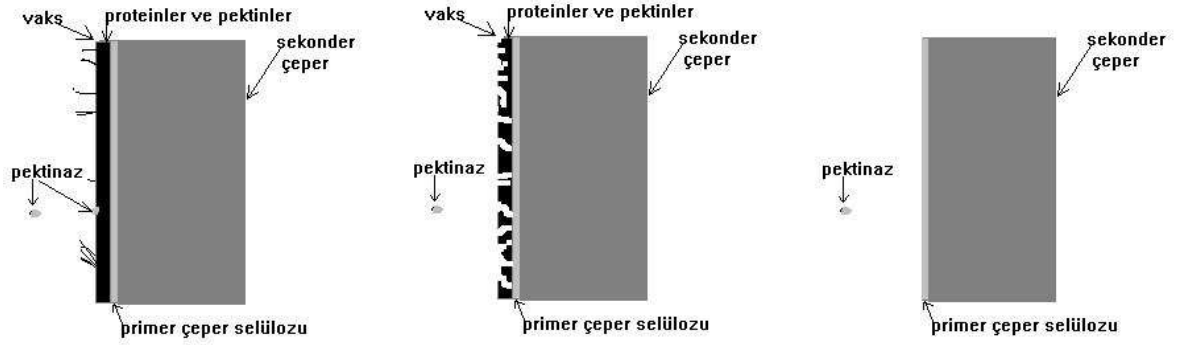
Achwal ve Bach pa muklu mullerin yüzey hidrofiliğini geliştirmek için kimyasal klorofor pektinaz işlemleri üzerine çalışmışlardır. Klorofor pektinazın yüzeye nüfusunu arttırmak amacıyla selülozik olamayan hidrofob maddeleri uzaklaştırmada kullanılmıştır. Bu çözücü-pektinaz işlemleri alkali ile kaynatılmış kumaşa göre daha büyük bir beyazlık derecesine ve önemli bir mukavemet kaybına sebep olmuştur. Klorofor işleminin ardından uygulanan kobalt pektinaz + selülaz işlemi ürünün beyazlık derecesini daha da arttırmaktadır, ancak %19 gibi önemli ağırlık kayıplarıyla sonuçlanmaktadır [28].

Li ve Hardin üç farklı selülaz ve pektinaz enzimini kullanarak, enzimlerin pa muklu mullerin hidrofiliğine, yüzey görünümüne ve ağırlık kayıplarına etkilerini incelemiştir. Enzimatik işlemlerinde küti külünün bozulması Ruteni um kırması lekelenmesi ile elektron mikroskopuyla tayin edilmiştir. Araştırmacılara göre, selülazlar küti külü yapısını, küti külünün altındaki primer selülozunu yumuşatarak parçalamaktadırlar (Şekil 4.7).



Şekil 4.7 Selülaz ile işlem

Pektinazların ise kütikülün iç pektin tabakalarını yumuşatarak, kütikül yapısını parçaladıkları iddia edilmektedir (Şekil 4.8) [11].



Şekil 4.8 Pektinaz ile işlem

Hartzell ve Hsieh hidrofilitik geliştirme de tamen sul u sistemleri kullanmışlardır. Çalışmalarında lipaz, proteaz, pektinaz ve selüloz enzimlerini pamuklu kuşların mukavemet, beyazlık derecesi, su tutma ve su ile ıslanma değerlerine etkilerini incelemiştir. Sadece selüloz enziminin önemli ölçüde suyla ıslanabilirliği ve su tutma kapasitesini arttırdığını, diğer enzimlerin fazla etkili olmadığını gözlemlemiştir. Kombi selüloz + pektinaz işleminde sinerjik olarak pamuklu kuşların ıslanma özellikleri başarı ile artmıştır. Selülozu hidrolize eden selüloz, pektin materyaline nüfuzu artırarak, pektinazın etkisine yardımcı olmuştur [28].

Buchert ve Pere pamuk liflerinin pektinaz, proteaz, lipaz ve selüloz enzimleriyle yıkama işleminden sonra pektin, protein, vaks, kül ve yağ asitlerini analiz etmişlerdir. İşlemden sonra pamuk liflerinden iplik oluşturulmuş, numara, mukavemet, düzensizlik ve sürtünme özellikleri test edildikten sonra, laboratuvar tipi örnek masasında kuş formlarına getirilerek beyazlık dereceleri ölçülmüştür. Bu enzimatik işlemler sonucunda pektinin %40'ı, proteinin %50'si uzaklaştırılmıştır, vakslar daha az etkilenmiştir. İplik çekiminden sonra ön işlemin mukavemet etkisi olmuştur, lipaz ile işlem sürtünme katsayısında azalmaya sonuçlanmıştır. Proteaz enzimi liflerden renkli maddeleri uzaklaştırma da etkili olmuştur ve kuşun L değeri artışı gözlenmiştir [29].

Li ve Hardin selüloz ve pektinaz ile işlemin pamuk lif özelliklerine ve kütikül tabakasına etkilerini incelemiştir. Denemelerinde, pektinaz, selüloz ve pektinaz + selüloz kombinasyonu ile pamuk, alkolle ekstrakte edilen pamuk ve yıkanmış

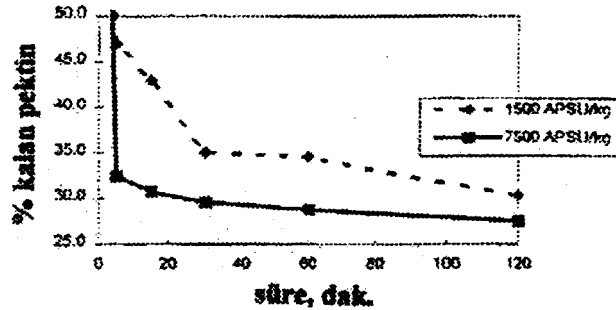
pa muklu kumaş üzerinde çalışmışlardır. Su absorbe etme özelliğindeki değişiklikler ile pamuk lifi yüzey yapısındaki değişiklikler arasında korelasyon amaçlanarak örneklerin elektron mikroskopundaki görüntüleri incelenmiştir. Tablo 4.5'te farklı işlemlerden geçen pamuk liflerini özellikleri görülmektedir [23].

Tablo 4.5 Farklı işlem gören pamuk liflerinin mikroskopik yüzey özellikleri

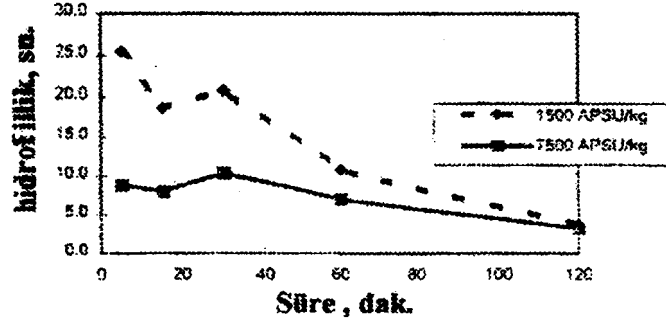
ÖRNEK	ÖZELLİK
Ham pamuk	Düz çizgiler
Kontrol-yüzey aktif madde ile enzimsiz	Düz çizgiler
Ham pa muğapektinaz / yüzey aktif madde	Yassı çizgiler, konkav oluklar & çukurluklu fibriller
Ham pa muğaselülaz / yüzey aktif madde	Yassı çizgiler, konkav oluklar & çukurluklu fibriller & oyuklar & parlak yüzeyler
Ham pa muğa P&C karışımı / yüzey aktif madde	Yassı çizgiler, konkav oluklar & çukurluklu fibriller & parlak yüzeyler
Al kolle ekstrakte pamuk	Düz çizgiler
Al kolle ekstrakte pa muğapektinaz	Yassı çizgiler, konkav oluklar & çukurluklu fibriller
Al kolle ekstrakte pa muğaselülaz	Yassı çizgiler, konkav oluklar & çukurluklu fibriller
Al kolle ekstrakte pa muğa P&C karışımı	Yassı çizgiler, konkav oluklar & çukurluklu fibriller

Li ve Hardin pa muğun enzimatiği işlemlerinde etken olan faktörleri incelemişlerdir. Bu faktörler substratın yapısı, kullanılan enzim tipi, enzimin kompleks veya spesifik olması, enzimin etkinliği, yüzey aktif madde kullanımı ve cinsi ile mekanik etkidir [16].

Lange ve ark bakteriyel pektinaz ile çeşitli pH, sıcaklık ve zaman aralıklarında deneyler yapmışlardır. Saptadıkları optimum koşullardaki ( pH 8.2 ve 55°C ) pektin uzaklaşması ve süre arasındaki ilişki Şekil 4.9'da, hidrofilitik ve süre arasındaki ilişki ise Şekil 4.10'da görülmektedir.



Şekil 4.9 Kalan pektin yüzdesi ile işlemsüresi arasındaki ilişki



Şekil 4.10 Hidrofillik ile işleme süresi arasındaki ilişki

Kontinü pad-stea yöntemi ne göre; bakteriyel pektinaz enzim ile (1500 APSU/kg pa muk) 60 dakika süre, pH 9.5 (reaksiyon sırasında  $\approx 8.2$ )  $60^\circ\text{C}$  sıcaklık,  $A_F = \%85$  şartlarında elde edilen kumaşın özellikleriyle,  $100^\circ\text{C}$ ta 60 dakika  $\%1$  NaOH ile muamele edilen kumaşın özellikleri karşılaştırılmaktadır ve Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6 Pad-stea yöntemi ne göre enzimatik ve alkali yıkamanın karşılaştırılması

Öçüm	Pektinaz yıkama	Alkali yıkama
Pektin ağırlığı	$\%22$	$\%12$
Hidrofillik (damla test)	< 1 sn	< 1 sn
Çöpel uzaklaştırması	$\%0$	$\%46$

Örne kumaşlar için jet boyama aparatı, sıcaklık ve pH'nın daha kolay kontrol edilmesi açısından avantajlara sahiptir. Bakteriyel pektinaz (1500 APSU/kg pa muk) 18 dakika süreyle, pH 8'de,  $60^\circ\text{C}$ ta, F.O 1/10 olarak örgü kumaşa muamele edilmiştir. Karşılaştırma için  $\%5$  NaOH ile  $95^\circ\text{C}$ ta 120 dakika kaynatılmış ve Tablo 4.7'deki değerler elde edilmiştir [24].

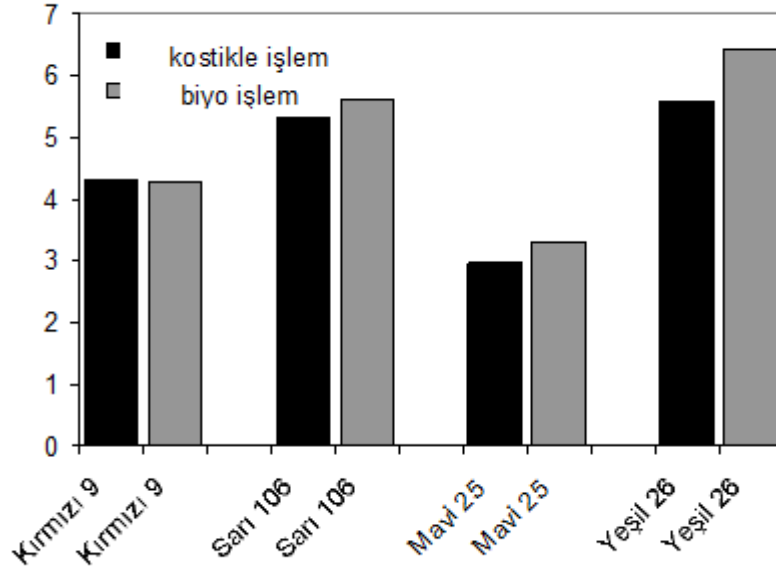
Tablo 4.7 Jet boyama aparatında enzimatik ve alkali yıkamanın karşılaştırılması

Öçüm	Pektinaz yıkama	Alkali yıkama
Pektin artışı	$\%22$	$\%12$
Ağırlık kaybı	$\%1.2$	$\%1.9$
Hidrofillik (damla test)	< 1 sn	< 1 sn
Beyazlık artışı	$\pm \%2$	$\pm \%7$

Eters ve ark bakteriyel pektinaz ile işlem gören ve konvansiyonel yöntemlerle kaynatılan kumaşları boyar maddelerle boyamışlardır. Boyama koşulları; boyar madde

konsantrasyonu; %, F.O 1: 40, tuz konsantrasyonu; 20 g/l, boyama sıcaklığı; 90° C boyama süresi; 60 dakika şeklindedir.

Boyama sonrasında, örneklerinin minimum reflaks dalga boyundaki reflektans değerleri, renk derinliğini saptamak üzere K/S değerine dönüştürülmüştür. Tüm faktörler eşit olduğunda, K/S değeri boyama konsantrasyonu ile orantılıdır. Ölçüm sonuçları Şekil 4.11’de görülmektedir.



Şekil 4.11 Biyolojik işlem ile alkali işlem sonrası boyanmış kumaşların K/S değerleri. Sonuçlardan üç boyar madde ile elde edilen renk verimlerinde enzimatik işlem sonucu artış olduğu görülmektedir [30].

Hsieh ve Gram pamuklu maddelerin hidrofilitik değerlerini geliştirmek amacıyla 100° C’te ön işlem gören pamuklu kumaşlara on çeşit proteaz enzimi ile muamele etmişlerdir. Bu enzimlerin kaynakları ve çalışma koşulları Tablo 4.8’de görülmektedir.

Bu enzimlerden dört tanesi ile (N2, N4, I1, S1) 25-45 ° C arasında 10-30 dakika sürelerle alkali işleme göre çok daha ileri koşullarda çalışmak mümkün olmuştur. Optimal reaksiyon koşullarında, proteazla muamele edilen pamuğun ıslanma davranışları alkaliyle kaynatılmış benzerdir. Proteazla işlem gören kumaşlar alkaliyle kaynatılmış göre kumaş kalınlığında küçük bir artış gösterirler. Bu kalınlık artışı 100° C suyla yapılan ön işlemden kaynaklanmakta olup proteaz ile ilgisi yoktur.



Ayrıca proteolitik enzimler, pektin parçalayıcı (pektinaz) enzimlerden daha kısa sürede ve daha düşük sıcaklıklarda çalışırlar. Neden oldukları ağırlık kayıpları da pektinazla muamele sonucunda olduğundan daha azdır. Daha geniş pH aralıklarında çalışmaya (pH= 4' den pH= 7' ye doğru) uygundur [31].

Tablo 4.8 Proteaz enzimleri ve özellikleri

Kod	Proteaz/ EC numarası	Kaynak	Form	pH	Sıcaklık
S1	Chymotrypsin 3.4.21.1	Pankreas	Katı	7.0-9.0	25° C
S2	Protease type XXI	Bacillus licheniformis	Sıvı		
S3	Protease type XXIII	Aspergillus oryzae	Katı		
S4	Protease type XVI	Bacillus subtilis	Katı	7.0-11.0	40-45 °C
I1	Tyrosin	Pankreas	Katı	6.0-9.0	10-75 °C
I2	Protease	Streptomyces caespitosus	Katı	6.0-10.0	55° C
N1	Subtilisin (nötral)	Bacillus subtilis	Sıvı	5.5-7.5	45-55 °C
N2	Subtilisin (Drazyn)	Bacillus	Sıvı	8.0-12.0	25-52° C
N3	Subtilisin (Acalase)	Bacillus licheniformis	Sıvı	6.0-9.0	50-65° C
N4	Subtilisin (Esperase)	Bacillus	Sıvı	6.0-11.0	40-60 °C

Buchert ve ark. pamuklu mullerdeki lignin, protein ve vaksların uzaklaştırılmasında farklı miktarlarda selüloz, ksilanaz, mannoz, poligalakturonaz içeren pektinaz, proteinaz ve lipaz preparatlarıyla pamuk lifleri ve pamuklu örgü mulleri üzerinde çalışmışlardır. Protein preparatları çok sınırlı ağırlık kaybına sebep olurken pektin preparatları için bu değer %1.1 olmuştur. Yapılan HPLC analizi ne pektinaz ile işlemlerde pektini içeriğini yaklaşık %30'u uzaklaşmıştır. Alkali yıkama işlemleri bu oranı daha da arttırmaktadır. Alkali yıkama olduğunda, enzimlerin kopma mukavemetleri üzerine de herhangi bir etkisi olmamıştır. Ancak alkali yıkama yapılan deneşmelerde, pektinaz preparatında selüloz enzimini de bulunması nedeniyle mukavemette düşme görülmüştür. Proteaz enzimlerinin mukavemeti olumsuz bir etkisi olmamıştır. Proteinli materyallerin uzaklaştırılması, mullün renginde değişmeye neden olmuştur, pamuğa renk veren materyallerin de protein esaslı olması nedeniyle açıklık (L) değerinde artış olmuştur [32].

Lawson ve Durrant 100°C kaynar suyla ön işlemlenmiş pamuklu kuşaklara pektinaz konsantrasyonunun, işlem süresinin ve çalkalama devrinin etkisini incelemiştirler. Deneşmeler çalkalama su banyosunda 100, 150, 200 rpm çalkalama oranlarında aynı

banyoda iki kumaşa (kumaş-kumaş sürtünmesini sağlamak amacıyla) birlikte yapılmıştır. Sonuçta, hidrofiliğin reaksiyon süresi ile arttığı ve yeterli hidrofilik gereken sürenin 30 dakikadan fazla olması gerektiği bulunmuştur. Ayrıca çalkalama devrinin artması da hidrofiliğin olumlu yönde geliştirilmiştir. Pektin konsantrasyonu %50 azaltıldığı durumda bile, kumaş-kumaş sürtünmesini var olduğu denemelerden elde edilen sonuçlarla, tek bir kumaşın işlem gördüğü denemeler arasında fark görülmemiştir. Çalkalama oranları farklı olan denemelerde, kumaş mukavemeti değerleri de birbirine eşit olmuştur [33].

#### 4.4 Biyo-Parlatma İşlemleri

##### 4.4.1 Biyo-parlatma İşlemi

Selülozu hidrolize eden enzimlerin, kumaş yüzeyinden dışarı çıkan lif uçlarını uzaklaştırma işlemine biyo-parlatma (biyo-polishing veya anti-pilling) bitimişler denir. Biyo-parlatma işlemi sonrası pamul üzerinde sağlanan etkiler; boncuklanma eğiliminde azalma, pamul yüzeyi üzerinde minimum bir tüylenme, yumuşak bir tutum, dökümlülük ve pamul hidrofilitesinde artış şeklindedir [21].

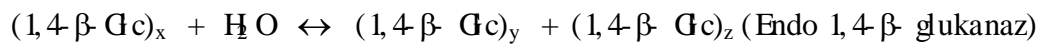
Biyo-parlatma işlemi, selüloz içeren pamullere uygulanmaktadır. Pamuklu kumaşlar, polyester/pamuk karışımı kumaşlar, keten ve ramî kumaşlar, rejenere selüloz esaslı kumaşlar üzerinde sonuç alınmaktadır.

Kumaş yüzeyinde meydana gelen olumlu yöndeki gelişmeler kalıcıdır. Çünkü selüloz ile işlemyalınz doku pamul yüzeyinde kalması, aynı zamanda işlemin görülen lif de modifiye olur. Biyo-parlatma işlemi elyaf, kumaş veya dikilmiş giysi formunda uygulanabilir [3].

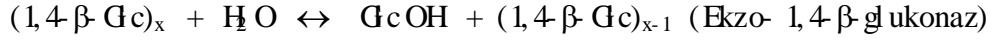
##### 4.4.2 Pamuğun Enzimatik Hidrolizi

Trichoderma reesei tarafından salgılanan saflaştırılmış selüloz karışımı başlıca 4 enzim türünden oluşur.

Endo-1,4-β-glukanhidrolaz



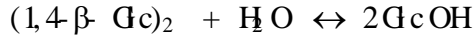
Ekzo- 1,4-β-glukohi dro laz



Ekzo- 1,4-β-glukan selobihi dro laz



Selbihi dro laz



Endoglikonazlar, selülöz makromoleküllerine rastgele etki ederek molekül içi glikozik bağları hidrolize ederlerken selobihi dro lazlar zincirin uçlarına etki ederek makromolekülü selbihi dro lazlara ayırırlar. Daha sonra selbihi dro lazlar da oluşan selbihi dro lazları (glikozid merleri) glikoz yapı taşlarına kadar indirgerler. Ekzoglikonaz enzim ise amorf hale gelmiş selülöz molekülünü hidrolize ederek selbihi dro laz moleküllerinin oluşmasını sağlar [34].

Selülazın etki mekanizması tam olarak açıklanmamakla birlikte gittikçe netleşen bir model ortaya çıkmıştır. İlk adımda endoglikonaz (endoselülaz) pamuk lifine tutunur. Bu şekilde bir enzim-selülöz kompleksi oluşur. Endoselülaz selülöz zincirini gelişigüzel yerinden ayırmaya başlar.

İkinci adımda, katalitik etki gösteren çekirdek kısmındaki 2 glikoz molekülü arasındaki bağları hidrolize eder. Bu adımdan sonra enzime tutunduğu yerde kalarak diğer koşu bağları koparır ya da sulu faza geçer.

Enzim lif bağlayan kısmına kadar sıkı ve kuvvetli bir biçimde pamuk lifine tutunmuşsa, lif üzerinde o kadar fazla kalıplı parçalayabilir. Adsorpsiyon adının hidroliz adından 2-3 kez daha hızlı gerçekleştiği belirtilmektedir.

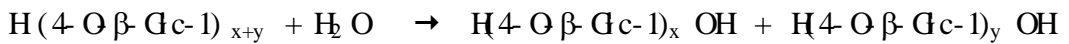
Mikroorganizmalar selülozik esaslı maddeleri kendilerine besin olarak seçtiklerinden selülözü glikoza kadar parçalamaktadırlar. Oysa tekstil endüstrisinde bu adıma kadar parçalanma istenmez. Amaç ya tüycüklerin uzaklaştırılmasıdır ya da mal üzerindeki boyanın sökülmesidir ve yumuşak tutum eldesidir. Kumaşın zarar göreceği şekilde hidrolize olması istenmez [3].

### 4.4.3 Biyo-parçalanma İşlemlerinde Kullanılan Selülaz Enzimleri

#### 4.4.3.1 Selülaz Enzimlerinin Yapısı ve Deneysel Çalışmalar

Biyosferdeki karbon dengesinin sağlanması açısından selülözün biyo-parçalanması, karbon döngüsünde başlıca adımdır. Bu işlemi yerine getiren hidrolitik enzim gruplarına selülaz denir. Genel olarak literatürde karşılaşılan selülaz terimi tek bir enzimi değil, bir karışım ifade etmektedir. Selülazların fonksiyonu belli başlı üç genel olgu bazında önem teşkil eder. Birincisi; selülazlar bitkiler tarafından morfojenik maddeler olarak üretilirler (büyüme-gelişme hazırlık evresinde selülözca zengin hücre duvarını zayıflatmak amacıyla). İkincisi; selülazlar bazı bitki patojenleri tarafından bitkinin içine yayılmayı kolaylaştırıcı maddeler olarak üretilirler. Üçüncü ve son olarak da selülazlar, selülözün kendi kendine parçalanarak karbon kaynağı olmasına yol açan parçalayıcı maddeler olarak görev alırlar.

En geniş çalışma sahasını Trichoderma cinsindeki (Trichoderma reesei, Trichoderma koningi) küflerden elde edilen selülazlar oluşturur. Selülözün enzimatik parçalanma mekanizmasının açıklanmasında genel olarak geçerli olan yaklaşım ilk olarak 1950'li yıllarda 'Reese' tarafından ortaya atılan C<sub>1</sub>-C<sub>x</sub> konseptidir. Bu konsept bazı mikroorganizmalar doğal selülözü parçalarken diğerlerinin de sodyumkarbositel selülöz gibi suda çözünebilir selülöz türevlerini parçalaması temelinde dayanmaktadır. Buna göre C<sub>1</sub> enzimi kristal selülözü anhidroglikoz zincirlerine parçalayarak, onları hidrolize olmaya yatkın hale getirirken, C<sub>x</sub> enzimi de bu anhidroglikoz zincirlerini suda çözünebilir daha küçük moleküllü oligosakkaritlere ayırır. Selülözün enzimatik parçalanmasındaki başlıca reaksiyon, asidik hidroliz reaksiyonu ile aynıdır.



Bu reaksiyonu katalizleyen 1,4-β-glukonaz enzimi, modifiye selülöz çeşitlerine ve yüksek moleküllü selülöz oligosakkaritlerine karşı farklı aktivite göstermeleri ve farklı monosakkaritler oluşumuna imkan vermeleri nedeniyle birbirinden ayrılırlar. Yukarıda bahsedilen temel reaksiyonun yanı sıra oluşabilecek yan reaksiyonlarının da temel hidrolitik reaksiyonu etkileyebilme açısından, bu parçalanma işleminde ikincil bir rolü de olabileceği unutulmalıdır.

Tablo 4.9’da ve Tablo 4.10’da selülaz bileşenlerinin elde edildiği kaynaklara bağlı olarak sahip oldukları optimum sıcaklık ve optimum pH değerleri gösterilmiştir. Bu değerlere bağlı olarak hangi tür enzim kullanılacaksa, o enzimin aktivitesinin optimum olduğu deney koşulları sağlanmalıdır [3].

Tablo 9 Endo- 1,4-β-glukanaz kaynakları ve optimum koşulları

Elde edildiği kaynak	Optimum pH	Optimum sıcaklık (t° C)
T. viride	4.5	40
<i>p. notatum</i>	1	25
S. sanguinolentum	3.7	25
C. thermoascus	5.0	70
C. thermocellum	5.2	60
Pea	6.2	35
<i>t. koningi</i>	4.8	50

Tablo 10 Ekzo- 1,4-β-glukoz kaynakları ve optimum koşulları

Elde edildiği kaynak	İşlemlenmesi gereken ürün	Optimum sıcaklık (t° C)	Optimum pH
T. viride	Glukoz	30	
T. viride	Selülobiyoz		5.0
T. reesei	Selülobiyoz + glukoz		5.0
T. reesei	Selülobiyoz		4.8
T. koningi	Selülobiyoz	40	5.0
S. pulverulentum	α-glukoz + α-selülobiyoz	30	5.0
F. solani	β-selülobiyoz		5.0
P. funiculosum	α-glukoz + selülobiyoz		4.8-5.0
C. gilvus	α-selülobiyoz		7.1
I. lacteus	β-selülobiyoz		5.0

Endoglukanazlar, karboksimetil selülöz, amorf selülöz, sellütoz üzerinde etkili olurken ekzoglukanazlar kristalin selülöz, amorf selülöz ve sellütoza etki etmezler (Tablo 4.11) [3].

Tablo 4.11 Selülözik materyallerin hidrolizi

Selülöz/selülazlar	Kristalin selülöz	CMC	Amorf selülöz	sellütoz	selülobiyoz
Endoglukanazlar	-	+	+	+	-
Exoglukanazlar	+	-	+	+	-
β-glucozidazlar	-	-	-	+	+

Tekstil endüstrisinde kullanılabilecek en az 12 değişik selülöz ürünü vardır. Bunların sınıflandırılması, en etkili oldukları pH aralığına göre yapılır. Asit dayanımlı, nötral

ve alkaliye dayanıklı selülozlar tekstil materyaline aplikasyon için etkili olan kategorilerdir. Aside dayanıklı olanlar pH 4.5-5.5'te en yüksek aktiviteye sahipken nötral enzimler pH 6-7 arasında daha etkilidir. Bunlar kumaş ve konfeksiyon ürünlerinin aplikasyonunda kullanılan en popüler enzimlerdir. Alkaliye dayanıklı selüloz, leke uzaklaştırıcı olarak ve çeşitli yıkamalardan sonra yüzeyleri iyileştirmek amacıyla ev tipi deterjanlara ilave edilir. Selülazın normal işlem koşullarında bir enzim olarak aktif hale gelmesi için sıcaklık ve pH kontrol edilmesi gereken faktörlerdir. Aside dayanıklı selülozlarla çalışılırken optimum pH aralığı olan 4.5-5.5 değeri, asetik asit veya asetik asit/NaOH tampon sistemiyle sağlanabilir. İndigo denim gibi bazı kumaşlar, yıkama sırasında pH'nın artmasına neden olabilen yüksek bir bazikliğe sahip olabilirler. Nötral selülaz geniş bir pH aralığında stabildir.

Aside dayanıklı selülozlar 40°C'ta %50 aktiviteye sahipken maksimum etkinliğe 65°C'ta ulaşırlar. Erişim için çalıştırma sıcaklığı 55-60°C civarındadır. Selülaz konsantrasyonu kumaşa ve yıkama derecesine bağlıdır. Flotte oranı 1:10 olduğunda, konsantrasyon 0.5-2 g/l olarak seçilebilir. Selülaz enzimi selüloz lifi üzerinde reaksiyona girmeye başlayınca yüzey kısmen hidrolize olur. Kumaşla ci haz arasındaki mekanik hareket ya da kumaşın yüzey-yüzeye teması, yüzeydeki zayıf lifleri uzaklaştırır. Bu da temiz ve düzgün bir yüzey görünümü sağlar. İndigo ya da diğer yüzeyi boyalı kumaşlarda renk, taş yıkamada olduğu gibi uzaklaştırılır veya azaltılabilir. Selülaz enzimi ile yıkamanın, taş yıkamadan farkı, selülaz enzimi yalnızca selüloza karşı aktif olduğundan nişasta haşılıının bir  $\alpha$ -amilaz ya da oksidatif haşıl sökme maddesi kullanılarak uzaklaştırılmasının gerekliliğidir. Sandoz firması,  $\alpha$ -amilaz ve selülaz enzimi tek adımla kombine eden biyolojik bir sistem geliştirmiştir [3].

Selülaz ile işlemler sonrasında malın hidrofiliğinde bir azalma görülmektedir. Bu da yumuşaklığı arttıran ancak hidrofiliği azaltan klasik yumuşatıcılara karşı bir avantaj oluşturmaktadır.

Öztürk ve Duran, ham bazik işlem görmüş ve ağartılmış kumaşlara çeşitli konsantrasyon, işlemsüresi ve pH'larda yapılan biyo-parlatma işlemlerinde selülaz enzimlerinin boyar madde alımını, yumuşaklığı ve hidrofiliği arttırdığına dikkat çekmektedirler.

Biyo-parlatma işleminde, selüloz enziminin pamuğu kısmen hidrolize etmesi beklenen bir durumdur. Ancak mukavetteki düşüş, kumaşa zarar verecek düzeyde olmamaktadır. Polyester/pamuk karışımı kumaşların muamelesinde mukavette düşüşü ihmal edilebilecek düzeyde düşüktür. Pamuklu kumaşların muamelelerinde ise bu oran %1'den fazla olmamaktadır [3].

1988 yılında Japonya'da Yamagashi tarafından başlatılan biyo-parlatma işlemleri üzerine çalışmalar günümüzde de devam etmektedir. Çalışmaların kapsam işlem optimizasyonu, hangi işlem adında gerçekleştirileceği ve kombine işlemlere uygunluğu üzerinedir ve kısaca şöyle özetlenebilir.

Kao ve ark. reaktif, küp ve direkt boyar maddelerle boyama işlemlerine enzimatik yıkamanın etkisini, incelemişlerdir. Selüloz enzimin katalitik hidrolizinden kaynaklanan ağırlık kaybı oranının, mamele absorbe olan direkt ve reaktif boyar maddelerde etkili olduğu belirtilmiştir. Küp boyar maddelerin ise böyle bir önleyici etkisi olmamıştır. Ağırlık kaybı merserize mamelelerde, merserize olmışlara göre daha fazladır. Bu olay merserizasyonun pamuğun kristalitesini azaltmasından kaynaklanmaktadır. Boyanmış örneklerin renk verimi, boyanmamışlardan daha düşüktür. Bunun nedeni olarak da enzimatik işlem ile mamele boyar madde moleküllerini absorbe ettiği amorf bölgelerin azalması gösterilmektedir. Ayrıca enzimatik işlem gören mamelelerin çoklu yıkamalar sonrası renkleri daha az solmaktadır [35].

Diller ve Zeronian, merserize, merserize olmuş ve gerilimsiz merserize olmuş pamuk iplikleri üzerinde selüloz enzimi ile hidroliz çalışmaları yapmışlardır. Bu amaçla toplam 48 saat süresince 37°C'ta selüloz enzimi ile muamele edilen iplik özelliklerine ait ağırlık kaybı, kopma mukavemeti ve viskozite değerleri saptanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde merserize olmuş numunenin kopma mukavemeti başlangıçta çok hızlı bir şekilde işleme süresinin sonuna doğru ise daha düşük oranda düşüş göstermektedir. 48 saat sonunda ise başlangıçtaki değerlerin %50'sini kaybetmektedir. Bununla birlikte ağırlık kaybı %10'u geçmemektedir. Gerilimsiz ve gerilimsiz merserizasyon sonrasında ise merserize olmuşa göre mukavemet sırasıyla %23 ve %37 oranında artmaktadır. Ancak bu örneklerde enzimatik işlem sonrası meydana gelen ağırlık ve mukavemet kayıpları da çok yüksek olmaktadır. Bunun nedeni, merserizasyon sonucu liflerin şişmesi, enzimatik parçalanmayı

hızlandırması ve selülozik yapıların büyük enzim moleküllerini daha kolay yapısal olarak alabilecek duruma gelmesidir. Gerilimsiz merserizasyon uygulanmış iplikler 16 saat süren enzimatik hidroliz sonucu kısıflara ayrılma ve parçalanmaktadır [36].

Choe ve ark enzimatik bitim işlemlerini farklı tip kumaşlara uygulayarak merserizasyon, kumaş tipi ve boyar madde sınıfına göre ağırlık kayıplarını incelemiştir. Asit selüloz ile işlem sonunda merserize olmuş ve olmamış kumaşlara ait ağırlık kayıpları sıralaması şöyledir;  $N_6 = 60$  merserize >  $N_6 = 60$  merserize olmamış >  $N_4 = 40$  merserize >  $N_4 = 40$  merserize olmamış örgü mamul >  $N_2 = 20 \approx N_2 = 10$  merserize olmamış doku kumaş.

Merserize olmuş mamullerin enzimatik hidrolizi daha yüksek olduğundan ağırlık kayıpları da fazla olmaktadır. Boyar madde sınıfları incelendiğinde merserize pamuklu örgü mamul için boyanmış > direkt boyar madde  $\approx$  monoreaktif boyar madde > küp boyar madde > bifonksiyonel boyar madde şeklinde bir sıralama vardır. Merserize olmamış pamuklu örgü mamul için ise boyanmış > direkt boyar madde > küp boyar madde > monoreaktif boyar madde > bifonksiyonel boyar madde şeklinde bir sıralama vardır.

Selüloz ile işlemin sonrası ağırlık kayıpları, artan boyar madde konsantrasyonuna bağlı olarak azalmaktadır. Bifonksiyonel reaktif boyar maddeler ile boyalı kumaşlarda meydana gelen ağırlık kayıpları daha da küçüktür. Bu iki şekilde açıklanabilir. Birincisi, materyal üzerindeki yüksek boyar madde konsantrasyonu enzim girişini güçleştirir, bu da düşük ağırlık kaybı ile sonuçlanmaktadır. Aynı ağırlık üzerinden boyanan bifonksiyonel ve mono reaktif boyar maddeler kıyaslandığında, bifonksiyonel boyar maddelerin daha yüksek fikse özellikleri nedeniyle daha yüksek konsantrasyonda boyandıkları görülür. İkincisi ise, bifonksiyonel boyarmaddelerin çapraz bağ yapma özellikleridir [37].

Rousell ve Hawley, laboratuvar tipi çalkalayıcıda pamuklu mamulleri selüloz enzimi ile muamele etmişler ve çok düşük ağırlık kayıpları ile kopma mukavemeti kayıpları elde etmişler. Daha sonra mekanik etkinin kumaş özelliklerine etkisini araştırmak amacıyla aynı deneşmeleri laundrometrede tekrarlamışlardır ve artan mekanik etkinin özellikle endoglukonaz aktivitesini arttırmış enzimlerde, enzimin



bağlanacağı selülöz serbest gruplarında artış sağlanması nedeniyle önemli olduğunu ortaya koymuşlardır [3].

Yachmenev ve arkadaşlarının enzimatiği işlemlerinde ultrasonik enerjinin etkisini incelemişlerdir. Reaksiyon ortamına ultrasonik enerji uygulamasının enzim performansına önemli bir artış sağlarken mukavemette azalmaya sebep olmadığı görülmüştür. En iyi sonuçlara konvensiyonel mekanik etki ve ultrasonik enerji kombinasyonu ile ulaşılmıştır. Böyle bir kombinasyon ile daha kısa sürede ve daha az enzim konsantrasyonu ile yeterli sonuçlara varılmaktadır.

Ultrasonik dalgalar ve enzim moleküllerinin flotta ortamındaki karşılıklı etkileşimin sonucu meydana gelen fiziksel ve kimyasal olay enzimatiği işlemlerin etkinliklerinde bir artışa neden olmaktadır [3].

Buschle-Diller ve Traore molekül büyüklükleri farklı direkt boyar maddeler ve farklı reaktif gruplara sahip reaktif boyar maddelerin enzimatiği işleme etkisini incelemişlerdir. Bu amaçla boyalı numunelere enzimatiği yıkama işlemleri uygulanmış ve reaktif boyar maddelerle boyalı örneklerde enzimatiği yıkama flottesinde boyar madde akışı olduğu ancak renk koordinatlarında hafif bir değişim olduğu (artan açıklık L, azalan kırmızı ve sarı bileşenler, azalan kroma) gözlemlenmiştir. Direkt boyar maddelerle boyalı örneklerin hepsinin renginde açılma görülmüştür. Bu boyar madde sınıfının yıkama haslıklarının sınırlı olduğu dikkate alınarak enzim ilavesi yapılmadan sadece tampon çözeltiyle karşılaştırma deneyleri de uygulanmış ve özellikle molekül büyüklüğü küçük olan boyar maddelerin lifte daha zayıf bağlandığı saptanmıştır. Yaş haslıklarını geliştirme amacıyla uzun zincirli kuaterner amonyum bileşikleri ile art işlemin gerekli olduğu ve boyalı ve boyasız maddelere uygulanması durumunda ağırlık kayıplarının hemen hemen eşit olduğu gözlemlenmiştir. Sonuç olarak boyar madde sınıfı, boyar madde molekül büyüklüğü ve boyar madde/lif tipinin etkili olduğu gözlemlenmektedir [38].

Traore ve Buschle-Diller, enzimatiği işlemlerde yüzey aktif maddelerin etkisini incelemişlerdir. Anyonik, katyonik ve noniyonik yüzey aktif maddelerle yapılan çalışmada, katyonik yüzey aktif maddelerin en uygun olduğu bulunmuştur. Bunun nedeni enzim kuşak kompleksindeki azaltılmış bağlanma kuvveti nedeniyle, katyonik yüzey aktif madde varlığında kuşaktan enzimdesorpsiyonunun daha kolay

olmasıdır. Bu olay enzimin selüloz zinciri boyunca daha çok birimle reaksiyona girmesine izin verir ve böylece hidroliz etkisi gelişir. Ayrıca katyonik yüzey aktif maddelerin sululu ortamda tekstil materyalinin negatif yükünü azaltarak, reaksiyon çözeltisindeki herhangi bir bileşimin yaklaşımını kolaylaştırır [39].

Li ve ark. farklı selüloz tiplerini, aktivitelerine göre enzimatik işlem sırasında mekanik etki ve flotte oranı gibi değişkenlere bağlı olarak incelemiştir.

Endoglukanaz bileşimi yüzey hidroliz işlemlerinde oldukça sınırlı mukavemet kayıpları ile pek çok tekstil uygulamalarında büyük oranda kullanılmaktadır. Endoaktiviteleri artırılmış selüloz bileşimi orta düzeyde sonuçlar verirken, konvansiyonel asit selüloz bileşimi en düşük oranda seçilmektedir [3].

İbrahim ve ark. indigo, kükürt ve reaktif boyalı pamuklu materyale farklı ticari enzimlerin etkisini incelemiştir. Sıcaklık, pH ve kuşaş tipi değişkenlerine ilave olarak yuşaşatma bitimişlemine aynı banyoda veya ayrı banyolardaki etkileri de saptanmıştır [3].

#### **4.5 Ağartma Flotterinden Peroksit Uzaklaştırma İşlemleri**

Hidrojenperoksit ekolojik olması nedeniyle tekstil terbiye işlemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Peroksit ağartması sonrasında materyal boyama işlemine girmeden önce kuşaşta peroksit artışı bulunmalıdır. Kalan peroksit renk düzgünlüğü, yetersiz boyama, partiler arası ton farklılıkları gibi boyama sorunlarına yol açabilir. Ağartma banyosundan gelen peroksit yok edilmezse boyar maddenin reaktif ve/veya kromofor grupları ile reaksiyona girebilir veya bunları okside edebilir. Zarar görmüş boyar madde molekülleri pamuğa bağlanmaz ve problemlere yol açar. Ayrıca ağartma sonrası kalan alkalinin de uzaklaştırılması gerekir. Aksi halde reaktif bir boyar madde flotteye ilave edildiğinde, atık alkali ile reaksiyona girer ve materyale absorbe olduktan önce reaksiyon başladığından düzgünlüğe boya malara yol açar. Kaliteli bir boyama elde etmek için flottede kalan peroksitin uzaklaştırılması ve alkalinin nötralize edilmesi önemlidir [3].

## 4.5.1 Peroksit Giderme Yöntemleri

### 4.5.1.1 Durulama ile Peroksit Giderme

Bu işlemlerde su tüketimi (yaklaşık 30 l/kg) ve zaman kaybı (15-30 dakika/durulama) oldukça fazladır. Yüksek miktarda atık su arıtma tesislerinin yükünü arttırır. Çok az miktarda da olsa kalıntı peroksit riski vardır. Terbiye işlemleri şu basamaklardan oluşur: 1- Ağartma, 2- Durulama, 3- Durulama, 4- Durulama ve 5- Boyama [3].

### 4.5.1.2 İndirgen Kimyasallar ile Peroksit Giderme

Peroksit gidermede sodyumbisülfid gibi indirgen maddeler kullanılabilir. Ancak sülfür esaslı bu ürünlerin bazı dezavantajları vardır. Bunlar:

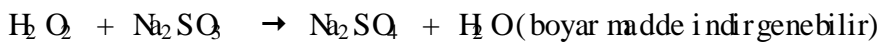
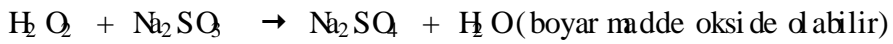
-İyi durulanmadığında kalıntı bisülfid boyar maddeleri etkileyebilir

- Dozajlama stoikiyometrik olmalıdır ancak pratik değildir. Genellikle aşırı dozajlama meydana gelir.

- Hızlı reaksiyon için yüksek sıcaklıklarda çalışmayı gerektirir.

- Atık suda tuz düşümüne neden olur [40].

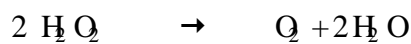
- Uygun miktarda bisülfid kullanılmadığında renk tonu değişimine neden olan reaksiyonlar meydana gelebilir [41].



### 4.5.1.3 Anti peroksit Enzimi ile Peroksit Giderme

Piyasada peroksidaz ya da katalaz olarak yer alan bu enzimlerin peroksit gidermede kullanılmaları gün geçtikçe artmaktadır. Bu enzimlerin kullanımı ile ilgili enzimatik bir reaksiyonun bütün avantajlarını taşıyan bir indirgeme işlemi gerçekleştirilmektedir.

peroksidaz



Peroksidaz ya da katalaz enzimini hidrojenperoksidi n su ve oksijene parçalanmasını katalizlenmektedir. Ticari katalazlar geniş bir çalışma aralığına sahiptirler (pH 6- 10, sıcaklık 20-50°C). Fakat optimum etkinlik pH = 7.8-8.0 ile 15-30°C arasındadır. Peroksit gidermede enzim kullanımının avantajları:

- Reaksiyon ürünlerinin ekolojik açıdan sakınca yaratmaması
- Yüksek sıcaklık gerektirmemesi
- Kullanılan enzim miktarının anorganik indirgeme maddeleri ile yapılan stokiyometrik bir redoks reaksiyonuna göre önemli ölçüde az olması
- Atık suda tuz yüküne neden olmaması şeklinde sıralanabilir.

Anti peroksit enzimlerinin peroksit ile enzimatik reaksiyonu anahtar-kilit prensibi ne göre gerçekleştiğinden hiçbir yan reaksiyondan endişe edilmemelidir. Anti peroksit enzimleri, boyar maddelerle reaksiyona girebilen zincirler üzerinde etkili olduklarından, her tür boyar maddeye karşı kimyasal açıdan inert davranmaktadır. Sonuç olarak flotte bir defa daha boşaltılmaksızın, enzimatik reaksiyonun tamamlanmasından hemen sonra boyama işlemine başlanabilmektedir. Terbiye işlemi ağartma, durulama ve katalaz/boya mabasa maktarı ndan oluşur.

Peroksit giderme işleminde katalaz kullanımının sağlandığı su tasarrufuna ilişkin değerler Tablo 4.12’de görülmektedir.

Tablo 4.12 Katalaz kullanımı ile sağlanan su tasarrufu

İşlem	Konvensiyonel	Katalaz enzimi
Ağartma (flotte oranı = 1:20)	2000 l	2000 l
1. Yıkama	2000 l	2000 l
2. Yıkama	2000 l indirgen madde	2000 l katalaz+nötr maddeler+boyar madde
3. Yıkama	2000 l	2000 l
Boyama	2000 l	2000 l
Toplam	10000 l	6000 l

Tasarruf = 40 l/kg materyal

Konvensiyonel yöntemde işlemsüresi yaklaşık 120 dakikayken enzimatik peroksit gidermede 20 dakika tasarruf sağlanmaktadır [3].

Anti peroksit enzimleri maliyet açısından klasik yöntem göre %39'luk bir ek gider yaratmaktadır ancak ısı, elektrik ve su giderlerindeki tasarruf sayesinde toplam maliyette %11'e varan düşüslere neden olmaktadır [3].

## 4.5.2 Anti peroksit Enzimleri

### 4.5.2.1 Katalaz Enzimleri

Katalaz enzim bir metaloproteinidir. Moleküler ağırlığı yaklaşık 240.000'dir. Katalaz enzimleri mantar (*Aspergillus niger*) ve bakteriyel (*Micrococcus lysodeikticus*) olmak üzere iki kaynaktan elde edilebilirler. Tablo 4.13'te çeşitli kaynaklardan elde edilen katalazların özellikleri görülmektedir [3].

Tablo 4.13 Çeşitli kaynaklardan elde edilen katalazların özellikleri

Kaynak	Moleküler ağırlık	Adsorpsiyon bandı nm ( $\epsilon_{mM}$ )	Kat. E	K	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>
At eritrositi	246000	277, 406, 505, 538, 625	95000	11-35	3	5.6
İnsan eritrositi	240000	405, 505, 540, 625	63000			
At karaciğeri	225000	405, 506.5, 544, 629.5	50000	30		
İnek karaciğeri	24000	405, 500, 535, 622	48000-35000	16		
M <i>lysodeikticus</i>	232000	405, 506, 545, 631.5	99000	64.5	15.5	32.6

Yapılan çalışmalardan elde edilen katalaz enzimlerinin depolama stabilitelerini düşük olduğunu ve yüksek peroksit içeren çözeltilerde deaktive oldukları gösterilmiştir. Bu dezavantajlara rağmen elde edilebilirliği kolay ve ucuzdur. Mantar kaynaklı katalaz enzimlerinin elde edilme maliyetlerinin yüksek olmasına rağmen, depolama stabiliteleri oldukça iyidir. Yüksek peroksit konsantrasyonlarında bile aktiviteyi yitirmezler ve zamanla bağlı olarak tüm peroksidi parçalanmasını sağlarlar. 35-40 °C'ta bile bir yıl aktiviteyi kaybetmeyecek kadar dayanıklıdır [40].

Katalazların uygun maddelerle immobilize edilmeleri hem termik stabilite oranlarının artmasına, hem de kayıpsız olarak tekrar kullanılmasına olanak tanır. Ayrıca enzimlerin numuneden uzaklaştırılmaları için başka temizleme işlemlerine gerek yoktur. Kontinü ve diskontinü yıkama proseslerinin her ikisine de uygulanabilirler [41].

Schacht ve ark. ağartma flottesinde kalan artı peroksidi reaktif boyamaya etkisini incelemişlerdir. Bu amaçla, pamuklu mullerin hidrojenperoksit ile ağartılması

ardından her yıka ma adı mndan sonra peroksit mikt arları sapt anmıştır. Peroksit konsantrasyonları yıka madan önce 1.8 g/l, birinci yıka madan sonra 0.3 g/l, ikinci yıka madan sonra 0.1 g/l, üçüncü yıka madan sonra 0.004 g/l'dır. Reaktif boyar maddeler ile boyama da artık peroksit miktarının etkisini ince lenebilmesi için her adı ndan sonra boyama yapı lmıştır. Flotteye 144 u/g katalaz ilave edil di ğinde en yüksek boya ma verimlili ği elde edil mektedir [3].

Jensen, katalaz enzimini uzun süreli depolanması veya olası bozul malarında aktivitesini belirleyecek hızlı bit test yöntemi geliştirmiştir. Bu yöntem işletmelerde proses kontrolü amaçlı olarak da kullanılabilir. Yüksek konsantrasyondaki (2000 ppm) peroksit miktarında yöntem yanlış sonuç verebileceğinden düşük konsantrasyonlara uygundur. Yöntemde peroksit test kağıtları (Merc-Merkoquant 1.10011.0001) ile katalaz içeren peroksit çözeltilerinin 30 saniye aralıklarla 15 dakikaya kadar peroksit içerikleri kontrol edilir [3,42].

#### **4.6 Denim Mırmullerinin Yıkama İşlemleri**

##### **4.6.1 Denim Kumaş Yapısı**

Denim kumaşlar 2/1 ya da 1/2 di mi örgü lü sağlam ipliklerden dokunan ve genellikle mavi, lacivert ve siyah renkli pamuklu kumaşlardır. Uygun iplik numaraları çözgüde 20/2-40/2 veya 20/1 Ne, atkı da ise 12/1-16/1 Ne'dir. Örgü olarak her sınıf (hafif, orta, ağır ve çok ağır) denim kumaşta 2/1 di mi olmalıdır. Ağır ve çok ağır sınıflarda 3/1 de kullanılabilir.

Di mi örgülerde atkı ve çözgü atlamaları kumaş yüzeyinde di mi çizgileri ya da diagonal çizgiler olarak bilinen ve yatayla belirli bir açı yapan çizgiler oluştururlar. İpliklerin yaptığı örgü atlamalarının yan yana dizilmeleri, ipliklerin birbirine doğru daha çok yaklaşmasına olanak sağladığından, bez ağına oranla daha sıkı dokunabilen bir kumaş yapısı oluşturur. Di ğer yandan atlamalar birbiri üzerinden kayarak yığıl ma da yapacaklarından hem kumaş kalı nlaşacak hem de kumaşın birim ağırlığı artacaktır. Di mi örgü yapılarında yan yana dizilen atlamalar nedeniyle ipliklerin belirli bir etki altında birbirleri üzerinden kaymaları kolaylaşacağından di mi kumaşlar, di mi çizgisi yönünde esneklik gösterirler. Bu esneklik kumaşın ani gerilmelere karşı direncini arttırdığından, dayanıklı bir yapı da elde edil miş olmaktadır [3].

#### 4.6.2 Denim Yıkamada Kullanılan Enzimler

Denim kuşaklarının rengini açmak ve değişik bir görünüm kazandırmak için yıkama esnasında taş kullanımı 1982 yılında başlamıştır. Makinaların aşırı bir hızla yıpranması, drenaj hatlarında tıkanıklıklar, yıkanan kuşakların aşırı yıpranması ve kırık izlerinin ortaya çıkması, taşların depolanması için yeni alanlara ihtiyaç duyulması gibi problemler nedeniyle daha sonra bu taşların yerini alabilecek yeni materyaller aranmış fakat başarılı oluna nı nıştır. Ancak 1986 yılında selülaz enzimlerinin bu amaçla ortaya çıkması çok şey değiştirmiştir. Her şeyden önce kullanılan taş miktarını azaltmış veya tamamen ortadan kaldırmıştır [3].

Denim mallarının yıkama işlemlerinde kullanılan enzimler nötral ve asit selülaz enzimleridir. Reçetelerin geliştirilmesi ve enzim seçiminde üreticisinin ihtiyaç duyduğu yıkama ve aşınma miktarı, istenilen son görünüm özellikleri, üretim koşullarının sabitliği, ürün dayanıklılığı ve emniyeti ile işlem maliyetleri gibi faktörlere dikkat etmek gerekir.

Asit selülazların daha fazla kullanıldığı Amerika'da yıkama reçeteleri kısa süreli dir (20-45 dak.) ve yardımcı maddeler ayrı olarak satılmaktadır. Avrupa'da ise daha çok nötral selülaz kullanılır ve daha uzun yıkama sürelerine ihtiyaç duyulmaktadır (45-120 dak.). Yardımcı maddeler genellikle ürünle birlikte dir ve parça başı maliyeti daha yüksektir. Amerika'daki son eğilimler; yıkamalarda hem asit hem de nötral selülazı kullanma yönündedir. Özel dizayn edilmiş makinalarda her iki ürünün de avantajlarından yararlanan yıkamalar, araştırma aşamasındadır. Asit ve nötral selülaz enzimleri sıvı ya da granül formda bulunabilir. Asit selülazların aynı zamanda toz formları da mevcuttur. Depolama dayanıklılıkları iyidir ve endüstriyel kullanıma uygun enzimlerdir. Toz ve granül formdaki enzimlerin stabilitelelerini sağlanması için nemden korunmaları gerekir. Nenden bir kez etkilendiklerinde sıvı formdaki den daha az stabil olurlar. Bütün enzimlerin her kullanımdan sonra bidonların kapatılması, stabilitelelerini koruma açısından yardımcı olacaktır [3].

#### 4.6.3 Geri Boyama

Denim kuşaklarda son görünüm kalitesi istenilen aşınma miktarı kadar önemlidir. Enzimatik yıkama sırasında denim kuşaktan uzaklaşan indigo boyası kuşağa ve kuşağın beyaz iplikleri üzerine tekrar çökebilir. Bu durum geri boyama

olarak tanımlanır ve denim maddelerinin görünümünü bozar. Proses esnasında geri boyama düzeyini kontrol etmek oldukça önemlidir. İdeal bir enzimatik yıkama mümkün olduğunca az geri boyama ile yüksek aşınma etkinliği sağlanmalıdır. Geri boyamayı önlemek amacıyla yardımcı madde üreticileri piyasaya dispersiyon esaslı yardımcı maddeler sunmaktadır. Bu maddeler ya enzimatiği işlem adımlarında ya da durulama adımlarında flotteye ilave edilmekte ve denim kumaştan ayrılan indigo boyasının flottede kalarak kumaşa tekrar çökmesini engellemektedir.

Birkaç yıl önce, Genencor firmasından bir grup araştırmacı konvensiyonel asit selülozlerde bulunan proteinlerden bazılarının indigo boya çökmesine neden olduğunu ortaya koymuştur. Selüloz ile işlem adımlarında veya durulama adımlarında flotteye bir proteaz enzimi ilavesinin geri boyamayı azalttığı ve kontrastta artışa neden olduğu, selüloz proteinlerine bağlanarak renkli partiküllerin tekrar denim kumaş yüzeyine dönüşümünü engellediği görülmüştür.

Bu çalışmalara dayanarak M. Y. Yoon ve arkadaşları geri boyamayı gidermek ve selüloz enziminin aktivitesini yok etmek amacıyla geliştirilmiş bir proteaz enzimiyle deneyler yapmışlardır [3].

Cavaco-Paulo ve arkadaşları endoglukonaz (EG) ile sellülobiyohidrolaz (CBH) enzimlerini mekanik etkiyle birlikte, indigo geri boyama üzerine etkilerini araştırıldıkları bir çalışmada, EG aktivitesi zengin (sellülobiyohidrolaz aktivitesi yok edilmiş) iktipenzimi kullanılmışlardır. Asetat tamponu kullanılarak pH 4.8'de 1:7.5 flotte oranında 20°C'ta enzimle muamele edilen kumaşlara mekanik etki uygulanmış, işlem sonrası %10 sodyumkarbonat çözeltisiyle yıkama sıcak-soğuk durulama yapılmıştır. Daha sonra aynı işlem taburlu yıkama makinesinde maksimum devirde 50 °C'ta 90 dakika tekrarlanmıştır. Mekanik etki ve enzim uygulanmadığı durumda denim kumaşın ön yüzünde önemli bir boya uzaklaşması olmuştur, ancak enzimle işlem sonrasında hem iç hem de dış yüzeyde önemli miktarda boyar maddenin uzaklaştığı görülmüştür. Mekanik etkiye maruz kalan denim kumaşlarda yüzeydeki fibrillerin de uzaklaşması nedeniyle renkte oldukça fazla açılmalar olmuştur. Sonuçlar, geri boyama olayının selüloz ile işlem adımlarında meydana geldiğini ve CBH aktivitesi zengin olan selülozlerde daha kuvvetli olduğunu göstermiştir [43].



Denim yıka mayaya ilişkin aynı araştırmacının bir başka çalışmasında aktifleri farklı selüloz enzimleri, farklı oranlarda karıştırılarak denim maddelerini yıkanmış ve aynı koşullarda tek adımlı işlemlerde %40 renk kaybı olurken, işlem ve yıkamaları ayrı ayrı uygulandığı proseslerdeki renk kaybı %20 oranında olmuştur [44].

Genecor International enzim firması tarafından yapılan bir çalışmada piyasadaki enzimlere ilave olarak aktivitesi artırılmış enzim bileşikleri ile çalışılmıştır. Konvensiyonel asit selüloz A patojenik olmayan mantar organizmadan elde edilen endo ve ekzo aktif karışımıdır. Aktivitesi artırılmış bileşikleri olan B ve D de yine aynı mantarlardan (*Trichoderma longibrachiatum*) elde edilmiştir. Konvensiyonel nötral selüloz C ise patojenik olmayan mantar organizması *Hemicella insolens*ten sağlanmıştır. Test edilen bu 4 bileşik ile elde edilen aşınma değerleri Genecor International tarafından geliştirilen bir skalayla belirlenmiştir. Yeni geliştirilen selülozların endo-ekzo proteinlerini sinerjik etkilerinin olması nedeniyle, kumaşa daha az zarar verdikleri görülmüştür [3].

## **BÖLÜM 5. Ğ HAZ ve MALZEMELER**

## **BÖLÜM 5. Ğ HAZ ve MALZEMELER**

### **5.1 Ğ haz lar**

#### **5.1.1 Su Banyosu**

Dene ylerde kullanılan tampon çö zelti rin çalışma sıcaklı ğ na getirilmesi ve bu sıcaklık ta tutulması için elektro- mag marka termostatlı su banyosu kullanılmıştır. İstenilen sıcaklık su banyosunun ön tarafındaki göst erge üzeri nden ayarlanır. İstenilen sıcaklı ğ a ulaşıncaya kadar ön panel üzeri ndeki dü ğ ne de kırmızı ışık yanar. İstenilen sıcaklı ğ a ulaşıldı ğ nda bu ışık otomatik olarak söner ve daha sonra do ğ acak ısı kayıpları ndan dolayı su banyosunun sıcaklı ğ düşecek olursa sistemtekrar istenilen sıcaklı ğ a ulaşana kadar ısı alacaktır. Herhangi bir anda banyo sıcaklı ğ sistem üzeri ndeki dereceden okunabilir.

#### **5.1.2 pH Metre**

pH ölçümleri WpH320 marka pH metre ile yapılmıştır. Ğ hazın kalibrasyonu için önce pH1 4 olan standart çö zelti, daha sonra da pH1 10 olan standart çö zelti ölçülür. İstenilen çö zelti lerin pH ölçümü yapılırken sıcaklık değeri de ekrandan dijital olarak okunur.

#### **5.1.3 Isıtıcı M anyetik Karıştırıcı**

Enzimatik muamele işlemleri IKA yellowline MSH basic marka ısıtıcı manyetik karıştırıcı kullanılarak yapılmıştır. İstenilen çalışma sıcaklı ğ ve devri cihazın ön paneli üzeri ndeki göst ergeler üzeri nden ayarlanır. İstenilen sıcaklı ğ a ulaşılana kadar ön panel üzeri ndeki ışık kuvvetlice yanar. İstenilen sıcaklı ğ a ulaşıldı ğ nda bu ışık daha zayıf yanmaya başlar. Daha sonra do ğ acak ısı kayıpları ndan dolayı sıcaklık düşecek olursa sistemtekrar istenilen sıcaklı ğ a ulaşana kadar ısı alacaktır.

#### **5.1.4 Etüv**

Enzimatik muamele öncesinde ve sonrasında yapılan tüm kurutma işlemlerinde elektro-mag M420P marka etüv kullanılmıştır. İstenilen çalışma sıcaklığı ve çalışma süresi cihazın ön paneli üzerindeki göstergeler üzerinden ayarlanır. İstenilen sıcaklığa ulaşılan kadar ön panel üzerindeki ışık yanar. İstenen sıcaklığa ulaşıldığında bu ışık söner. Daha sonra doğacak ısı kayıplarından dolayı sıcaklık düşecek olursa sistem tekrar istenilen sıcaklığa ulaşana kadar ısı alacaktır. Çalışma sıcaklığı ve kalan çalışma süresi dijital olarak okunabilmektedir.

#### **5.1.5 Tartı**

Enzimatik muamele işlemleri öncesinde ve sonrasında kuru ağırlıkların tespiti için Precisa 125 A SCS marka tartı kullanıldı. Ölçülen ağırlık dijital olarak okunabilmektedir. Tartının hassasiyeti 0.1 mg seviyesindedir.

#### **5.1.6 SEM**

Enzimatik muamele sonucu lif zararlı olduğunu görsel olarak anlaşılması için JEOL JSM 840 marka SEM kullanılmıştır.

İncelenecek numune iletkenliği sağlamak ve böylece SEM altında daha iyi görüntü alılabilmesi için altın ya da paladyum gibi bir metalle kaplanır. Numunelerin üzerine yerleştirildiği silindir parça ile numunelerin sınır noktalarına daha net görüntü elde etmek için gümüş kaplanır.

Cihaz  $10^4$  bar vakum altında çalışmaktadır. Numune cihaza yerleştirilirken bir ön vakum odasına alınır ve buranın vakumu cihazın vakumıyla eşitlendiğinde cihazla ön vakum odası arasındaki kapak açılarak numune içeri alınır. Böylece her yeni ölçümde cihazın tam vakumlanmak zorunda kalınmaz.

### **5.2 Malzemeler**

#### **5.2.1 Kuşak**

Deneylerde kullanılmış olan kuşak; № 30 numara iplikten namul, gramajı 152.5 g/m<sup>2</sup> olan pamuklu süprem kuşaktır.

## 5.2.2 Kimyasal Maddeler

Congo Red (Kongo Kırmızısı)	: Boyar madde, Aeks Kimya
Nonyl Phenol 10 Hilen Oksit	: Yüzeyaktif madde, Tekpar Kimya
Hidroklorik Asit	: %37'lik çözelti, Merck
Pectinase (pektinaz)	: Enzim Merck
Ruteni um Red (Rutenyum Kırmızısı)	: Boyar madde, Merck
Sudan III	: Boyar madde, Aeks Kimya
Titrisol	: Tampon Çözelti, pH4'lük, Merck

## BÖLÜM 6. DENEYSEL ÇALIŞMA

### 6.1 Pekti naz Enzimiyle Hidrofilleştirme

Gerekli maddeler çözeltilerini hazırlanması gerekse hidrofilleştirme flottesini hazırlanmasında saf su kullanılmıştır. Önceden hazırlanmış pH 4'lük Titrisol tampon çözeltisine 1N HCl çözeltisinden yeterli miktarda eklenir. Oluşan son çözeltinin pH 4.2'ye ayarlanır. Enzimik muamelelerde kullanılacak olan flottenin pH'nın 40°C'de 4.2 olması istendiğinden 40°C'deki 50 ml saf suyun pH 4.2'ye ayarlanır ve oda sıcaklığına soğutulur. pH'nın 4.17'ye düştüğü tespit edilir ve deneylerin tamamında kullanılacak üzere yeterli miktarda flotte, hazırlanan pH 4'lük tampondan yeterli miktarda eklenerek oda sıcaklığında pH 4.17'ye getirilir. Hazırlanan flotte deneysel çalışmalar boyunca 45°C'a ayarlanmış olan su banyosunda bekletilir ve her deney için yeterli miktarda flotte buradan alınır. Her 5 deneyde bir flottenin pH'nın değişip değişmediği kontrol edilir.

50 ml'lik beherin içerisine belirlenen miktarda yüzeyaktif madde konulduktan sonra 20 ml toplam hacim verecek şekilde pH 4'ye ayarlanmış saf su konulur. Daha sonra, işlemden hemen önce enzim ilave edilir.

Kuru ağırlığı 5 g olacak şekilde hazırlanmış kumaş numunesi ön yüzü dışta kalacak şekilde ikiye katlanarak üç tarafından pol yester iplikle elde edilir ve manyetik balık kumaş numunesinin içerisine deney süresince çıkarılacak biçimde ve kumaş zedelenmeden dikkatlice yerleştirilerek flotte içine atılır ve kullanılan beher üzeri bir saat camıyla örtülerek manyetik karıştırıcının üzerine yerleştirilir. İşleme başlanır. Deney süresi sona erdiğinde kumaş bir başka behere alınır ve önceden 100°C'ye ısıtılmış olan saf suyla durulanır, kağıt havluyla sıkılır ve dikişi sökülür. Manyetik balık kumaştan çıkarılıp saf suyla yıkanır ve kurumaya bırakılır. Durulama ve sıkma işlemleri sırasıyla biri sıcak biri de soğuk suda olacak şekilde 2 kez daha tekrarlanır. Kumaş 1 saat süreyle etüvde kurutulur ve 1 saat süreyle desikatörde soğumaya bırakılır. İşlemler sonrasında da ağırlık tespiti için tartılır.

## 6.2 Testler

### 6.2.1 Su Emiciliği ve Ağırlık Kaybı

AATCC 39-1980'e göre yapılmıştır.

Öçüm yapılacak numuneler standartta belirtildiği gibi kasnak üzerine tutturulur. Damalılık kasnak yüzeyinden 1 cm yukarıda olacak şekilde yerleştirilir ve 1 dakika su kumaş yüzeyine damlatılır. Su damlasının kumaş yüzeyine teması ile tana men emilmesi arasında geçen süre kronometreyle ölçülür.

### 6.2.2 Selüloz, Pektin, Protein, Yağ ve Vaks Miktarlarının Kalitatif Analizi

Congo Red, Ruthenium Red ve Sudan III boyar maddeleri kullanılarak lekelenme yöntemiyle kalitatif madde analizi yapılmıştır. Congo Red; selüloz, Ruthenium Red; pektin ve protein, Sudan III ise yağ ve vaks tayini için kullanılan boyar maddelerdir. Lekelenme prosedürü Rollins ve de Gruy'un önerdiği yöntemle göre yapılmıştır [45].

### 6.2.3 SEM

Enzimatik muameleli lifte hasara sebep olup olmadığının tespiti için istatistiksel olarak en iyi ve en kötü ürün özelliği gösteren numuneler ve ham kumaş örneği نیز SEM kullanılarak kumaş halinde incelenip değişim gözlenmek istendi.

## 6.3 Deneysel Dizayn

Değişken parametrelerin önem sıralarını belirleyebilmek için tam faktöriyel dizayn yapılmıştır.

Deneysel dizaynın yapılması, sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi ve grafiklerinin eldesi için SPSS paket programı kullanılmıştır. Standart deney prosedürü uygulandığında elde edilecek deneysel verinin istatistiksel olarak anlaşılabilir olup olmadığına lineer regresyon, MANOVA (Çok Yönlü Varyans Analizi) ve ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) istatistiksel yöntemleri kullanılarak bakılmıştır [46].

Deneysel dizaynda kabul edilen değişken parametreler yüzeyaktif madde ve pektin miktarı ile işlem süresi dir. Tam faktöriyel dizayn kapsamında oluşturulmuş reçetelerde değişken parametreler -1, 0, +1 temel seviyelerinde kullanılmış olup diğer proses parametreleri sabit tutulmuştur. Değişken parametrelerin -1, 0, +1 seviyeleri

klasik yöntemle yapılmış ön deneylerde tespit edilmiştir. Sabit tutulan diğer parametreler ise Tablo 6.1’de verilmiştir.

Tablo 6.1 Sabit parametreler

Sabit Parametreler	Değerleri
Ku maş Ağırlığı	0,5 g
F. O	1:40
PH	4,2

Yapılan her bir deney 3 kez tekrarlanmış olup tam faktöriyel deneysel dizayn 3 tekrar sayısı için kodlanmış olarak Tablo 6.2’te verilmiştir.

Tablo 6.2 Kodlanmış olarak tam faktöriyel deneysel dizayn

Deney no	Yüzey aktif (gl)	enzim (gl)	işemsüresi ( dakika)
1D	-1	-1	-1
2D	-1	-1	-1
3D	-1	-1	-1
4D	-1	-1	0
5D	-1	-1	0
6D	-1	-1	0
7D	-1	-1	+1
8D	-1	-1	+1
9D	-1	-1	+1
10D	-1	0	-1
11D	-1	0	-1
12D	-1	0	-1
13D	-1	0	0
14D	-1	0	0
15D	-1	0	0
16D	-1	0	+1
17D	-1	0	+1
18D	-1	0	+1
19D	-1	+1	-1
20D	-1	+1	-1
21D	-1	+1	-1
22D	-1	+1	0
23D	-1	+1	0
24D	-1	+1	0
25D	-1	+1	+1
26D	-1	+1	+1
27D	-1	+1	+1
28D	0	-1	-1
29D	0	-1	-1
30D	0	-1	-1
31D	0	-1	0
32D	0	-1	0
33D	0	-1	0
34D	0	-1	+1



Tablo 6.2 (devam) Kodlanmış olarak tam faktöriyel deneysel dizayn

Deney no	Yüzey aktif (gl)	Enzim (gl)	işlemsüresi (dakika)
35D	0	-1	+1
36D	0	-1	+1
37D	0	0	-1
38D	0	0	-1
39D	0	0	-1
40D	0	0	0
41D	0	0	0
42D	0	0	0
43D	0	0	+1
44D	0	0	+1
45D	0	0	+1
46D	0	+1	-1
47D	0	+1	-1
48D	0	+1	-1
49D	0	+1	0
50D	0	+1	0
51D	0	+1	0
52D	0	+1	+1
53D	0	+1	+1
54D	0	+1	+1
55D	+1	-1	-1
56D	+1	-1	-1
57D	+1	-1	-1
58D	+1	-1	0
59D	+1	-1	0
60D	+1	-1	0
61D	+1	-1	+1
62D	+1	-1	+1
63D	+1	-1	+1
64D	+1	0	-1
65D	+1	0	-1
66D	+1	0	-1
67D	+1	0	0
68D	+1	0	0
69D	+1	0	0
70D	+1	0	+1
71D	+1	0	+1
72D	+1	0	+1
73D	+1	+1	-1
74D	+1	+1	-1
75D	+1	+1	-1
76D	+1	+1	0
77D	+1	+1	0
78D	+1	+1	0
79D	+1	+1	+1
80D	+1	+1	+1
81D	+1	+1	+1

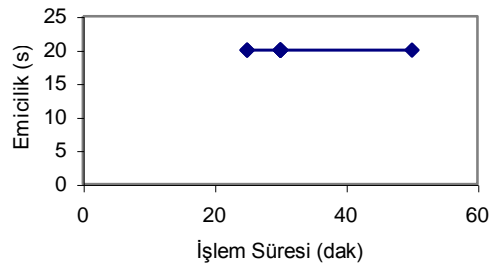


## BÖLÜM 7. SONUÇLAR

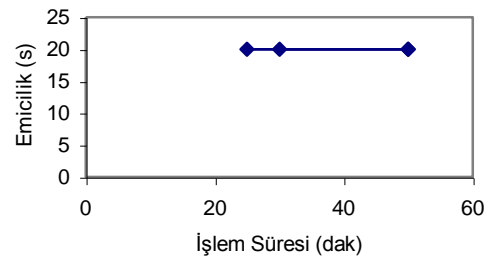
### 7.1 Ön Dene m el er

Uygulanacak deney dizaynındaki  $-1, 0, +1$  temel seviyelerini tespit edebilmek için klasik yöntemle yani bir parametre değiştirilip diğer parametreler sabit tutularak yapılmış ön dene m el erden elde edilmiş sonuçlar Şekil 7.1-Şekil 7.8’de verilmiştir.

Ön dene m el erde kullanılan başlangıç değerleri literatüre uygun olarak  $0,15$  g/l enzim miktarı,  $0,27$  g/l yüzeyaktif madde miktarı ve  $30$  dakika işlem süresi olarak kabul edilmiştir. Bu değerler için klasik yöntemle yapılan ön dene m el erden elde edilen sonuçlar Şekil 7.1 ve Şekil 7.2’de verilmiştir.



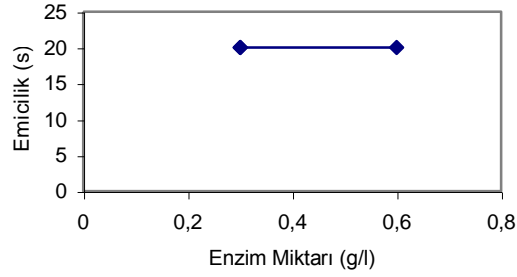
Şekil 7.1 Isıtıcılı manyetik karıştırıcıda yüzeyaktif madde miktarı =  $0,27$  g/l ve enzim miktarı =  $0,15$  g/l işleme koşullarında işlem süresi ile emicilik arasındaki ilişki



Şekil 7.2 Isıtıcılı manyetik karıştırıcıda yüzeyaktif madde miktarı =  $0,27$  g/l ve enzim miktarı =  $0,3$  g/l işleme koşullarında işlem süresi ile emicilik arasındaki ilişki

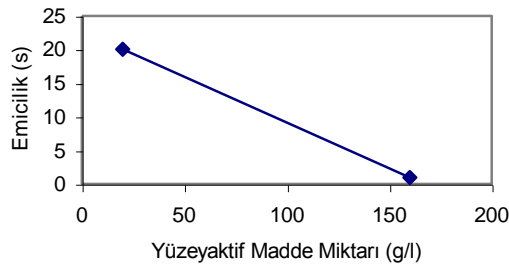
Şekil 7.1 ve Şekil 7.2’de görüldüğü gibi;  $15$  g/l enzim miktarı,  $0,27$  g/l yüzeyaktif madde miktarı ve  $30$  dakika işlem süresi değerleri için klasik yöntemle yapılan ön

dene meler sonucunda istenen emicilik seviyesi olan 1 s de ğerine ulaşıla nı mıştır. İstenen emicilik seviyesine ulaşabil nık için yüzeyaktif madde miktarı 11 g/l de ğerine ıkarıl mıştır. İşlem süresi 30 dak ol mak üzere yapılan dene meler e ait sonuçlar şekil 7.3'te veril miştir.



şekil 7.3 Isıtıcılı manyetik karıştırıcıda yüzeyaktif madde miktarı = 11 g/l ve işleme süresi = 30 dak işleme koşullarında enzim miktarı ile emicilik arasındaki ilişki

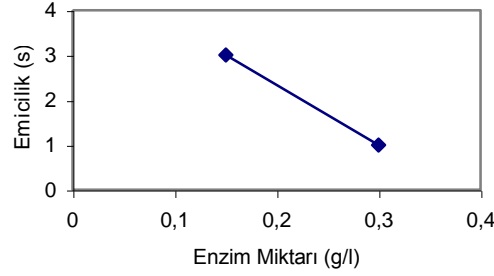
şekil 7.3'te görüldü ğibi 11 g/l yüzeyaktif madde miktarı ve 30 dakika işleme süresi de ğerleri için klasik yöntemle yapılan ön dene meler sonucunda istenen emicilik seviyesi olan 1 s de ğerine ulaşıla nı mıştır. İstenen emicilik seviyesine ulaşabil nık için enzim miktarı 0,6 g/l de ğerine ıkarıl mıştır. İşlem süresi 20 dak ol mak üzere yapılan dene meler e ait sonuçlar şekil 7.4'te veril miştir.



şekil 7.4 Isıtıcılı manyetik karıştırıcıda enzim miktarı = 0,6 g/l ve işleme süresi = 20 dak işleme koşullarında yüzeyaktif madde miktarı ile emicilik arasındaki ilişki

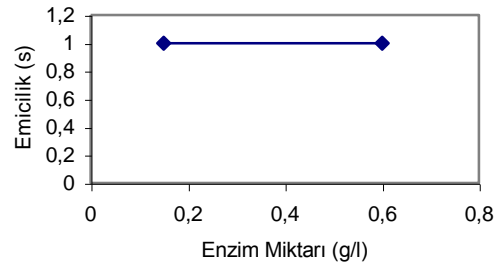
şekil 7.4'te görüldü ğibi 0,6 g/l enzim miktarı ve 20 dakika işleme süresi de ğerleri için klasik yöntemle yapılan ön dene meler sonucunda 160 g/l yüzeyaktif madde miktarı seviyesinde istenen emicilik seviyesi olan 1 s de ğerine ulaşıl mıştır. Ancak kullanılan yüzeyaktif madde miktarı literatürdeki seviyenin üzerindedir. Bu sebeple

yüzeyaktif madde miktarı 80 g/l seviyesine düşürülmüştür. İşlemsüresi 20 dak ol mak üzere yapılan dene meler e ait sonuç lar Şekil 7.5'te veril miştir.



Şekil 7.5 Isıtlı cılı manyetik karıştı rıcı da yüzeyaktif madde miktarı = 80 g/l ve iş le m süresi = 20 dak iş le mkoşullar ında enzim miktarı ile emicilik arasındaki ilişki

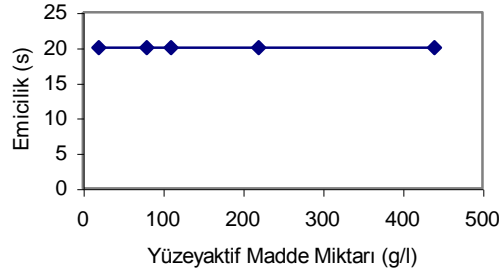
Şekil 7.5'te gör üldüğü gibi 80 g/l yüzeyaktif madde miktarı ve 20 dakika iş le m süresi değerleri için klasik yöntemle yapılan ön dene meler sonucunda 0,3 g/l enzim miktarı seviyesinde istenen emicilik seviyesi olan 1 s değerine ulaşı lmıştır. Enzim fiyatının yüzeyaktif maddeye kıyasla çok daha yüksek ol ması sebebi yle, daha düşük miktar da enzim kullanılarak istenen emicilik seviyesine ulaşabilirlili ğ in incelenmesi amacıyla 160 g/l yüzeyaktif madde miktarı seviyesi ve 20 dakika iş le m süresi koşullar ında farklı enzim miktarı seviyelerinde dene meler yapı lmıştır. Bu dene meler e ait sonuç lar Şekil 7.6 da veril miştir.



Şekil 7.6 Isıtlı cılı manyetik karıştı rıcı da yüzeyaktif madde miktarı = 160 g/l ve iş le m süresi = 20 dak iş le mkoşullar ında enzim miktarı ile emicilik arasındaki ilişki

Şekil 7.6 da gör üldüğü gibi 20 dakika iş le m süresi ve 160 g/l yüzeyaktif madde miktarı için yapılan tüm dene melerde istenen emicilik seviyesi olan 1 s değerine ulaşı lmıştır. Bu sonuca göre literatürde kullanılan enzim miktarı olan 0,15 g/l seviyesinde istenen emiciliğe ulaşılabil di ğ i gör ülmektedir. Ancak emiciliği sağ layan

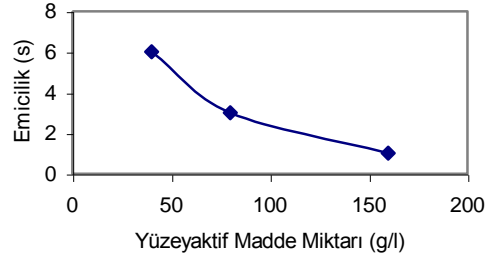
etkinin enzimden mi, yüzeyaktif maddeden mi kaynaklandığı sorusunu akla getirir. Bu sebeple 30 dakikalık işleme süresi için enzim kullanılmadan 20-440 g/l yüzeyaktif madde miktarı aralığında deneyler yapılmıştır. Bu deneylere ait sonuçlar Şekil 7.7'de verilmiştir.



Şekil 7.7 Isıtıcı manyetik karıştırıcıda enzim miktarı = 0 g/l ve işlem süresi = 30 dak işleme koşullarında yüzeyaktif madde miktarı ile emicilik arasındaki ilişki

Şekil 7.7'de görüldüğü gibi enzim kullanılarak yapılan deneylerdeki miktarlardan çok daha yüksek seviyelerde yüzeyaktif madde kullanılarak yapılan deneylerde bile istenen emiciliğe ulaşılamamıştır. Bu da göstermektedir ki, istenen emicilik seviyesine ulaşması için yüzeyaktif madde ortamda enzim bulunduğunda etkin bir emicilik sağlamaktadır. Yüzey aktif madde, enzimin muamele çözeltisinde dağılmasını sağlayarak aktivitesinin artmasına sebep olmaktadır. Buna ilaveten yüzeyaktif madde pamuk lifinin kütülasında en dışta bulunan vaks tabakasındaki kırık ve çatlakları genişletip enzime bağlanarak enzimin daha içteki pektin tabakasına kolayca ulaşmasına yardımcı olmaktadır [16].

Uygulanacak deney dizaynındaki -1, 0, +1 temel seviyelerini tespit edebilmek için klasik yöntemle yapılan son deneyde ise deneyler sonucunda tespit edilen 0, 15 g/l enzim miktarı ve 20 dakikalık işlem süresi seviyelerinde istenen emiciliği sağlayan minimum yüzeyaktif madde miktarı bulunmaya çalışılmıştır. Bu deneylere ait sonuçlar Şekil 7.8'de verilmiştir.



Şekil 7.8 Isıtlıclı manyetik karıştırıcı da enzim miktarı = 0,15 g/l ve işlem süresi = 20 dak işleme koşullarında yüzeyaktif madde miktarı ile emicilik arasındaki ilişki

Şekil 7.8’de görüldüğü gibi 0,15 g/l enzim miktarı ve 20 dakika işlem süresi seviyelerinde istenen emicilik olan 1 s seviyesini sağlayan yüzeyaktif madde miktarı yaklaşık 150 g/l’dir. Bu değerler ışığında belirlenen değişken parametrelerin -1, 0, +1 seviyeleri Tablo 7.1’de verilmiştir.

Tablo 7.1 Değişken parametrelerin -1, 0, +1 seviyeleri

Değişken Parametre	-1	0	+1	Birim
Yüzeyaktif madde	100	150	200	g/l
Enzim	5	7,5	10	g/l
İşlem Süresi	15	20	25	dak

## 7.2 Su Emiciliği ve Ağırlık Kaybı

Yapılan su emiciliği testlerinin sonuçları ve enzimatik muamele sonucu ortaya çıkan ağırlık kaybı değerleri Tablo 7.2’de verilmiştir.

Tablo 7.2 Hdedilen emicilik ve ağırlık kaybı değerleri

Deney no	yüzey aktif (g/l)	enzim (g/l)	İşlem süresi (dak)	ağırlık kaybı (%)	emicilik süresi (s)
1D	100	0,1	15	3,4	6,500
2D	100	0,1	15	4,3	2,770
3D	100	0,1	15	4	2,243
4D	100	0,1	20	3,8	6,613
5D	100	0,1	20	4,5	1,107
6D	100	0,1	20	4,7	8,620
7D	100	0,1	25	3,9	0,830
8D	100	0,1	25	4,3	4,417
9D	100	0,1	25	4,7	0,287

Tablo 7.2 (devam) Hedeflenen emicilik ve ağırlık kaybı değerleri

Deney no	yüzey aktif (g/l)	enzim (g/l)	İşlemsüresi (dak)	ağırlık kaybı (%)	emicilik süresi (s)
10D	100	0,15	15	3,9	3,533
11D	100	0,15	15	4,3	7,240
12D	100	0,15	15	4,3	0,823
13D	100	0,15	20	3,9	12,807
14D	100	0,15	20	4,1	0,957
15D	100	0,15	20	4,4	1,873
16D	100	0,15	25	3	15,117
17D	100	0,15	25	4,2	2,887
18D	100	0,15	25	4,1	1,203
19D	100	0,2	15	3,8	3,030
20D	100	0,2	15	4,5	2,873
21D	100	0,2	15	4,4	0,307
22D	100	0,2	20	3,6	0,343
23D	100	0,2	20	4,6	0,753
24D	100	0,2	20	4,1	0,353
25D	100	0,2	25	3,9	2,23
26D	100	0,2	25	4,6	3,833
27D	100	0,2	25	3,5	1,633
28D	150	0,1	15	3,1	0,657
29D	150	0,1	15	4,7	3,113
30D	150	0,1	15	4,1	3,043
31D	150	0,1	20	3,4	13,137
32D	150	0,1	20	4,3	0,62
33D	150	0,1	20	4,1	1,42
34D	150	0,1	25	3,6	9,987
35D	150	0,1	25	4,2	0,697
36D	150	0,1	25	4	1,15
37D	150	0,15	15	4,1	6,133
38D	150	0,15	15	4,5	1,177
39D	150	0,15	15	3,6	1,103
40D	150	0,15	20	4,3	0,793
41D	150	0,15	20	4,5	0,55
42D	150	0,15	20	4,3	0,28
43D	150	0,15	25	4,3	3,423
44D	150	0,15	25	4,5	0,273
45D	150	0,15	25	4,5	0,333
46D	150	0,2	15	4,3	2,607
47D	150	0,2	15	4	1,833
48D	150	0,2	15	4,2	0,25
49D	150	0,2	20	4,1	6,3
50D	150	0,2	20	4,5	0,503



Tablo 7.2 (devam) Elde edilen emicilik ve ağırlık kaybı değerleri

Deney no	yüzey aktif (g/l)	enzim (g/l)	İşlemsüresi (dak)	ağırlık kaybı (%)	emicilik süresi (s)
51D	150	0,2	20	4,2	1,23
52D	150	0,2	25	4,2	1,353
53D	150	0,2	25	4,4	0,443
54D	150	0,2	25	4,3	0,407
55D	200	0,1	15	4,3	1,28
56D	200	0,1	15	4,2	0,283
57D	200	0,1	15	4,9	0,277
58D	200	0,1	20	4,1	1,323
59D	200	0,1	20	4,4	0,313
60D	200	0,1	20	5	0,223
61D	200	0,1	25	4,2	0,783
62D	200	0,1	25	4,2	0,65
63D	200	0,1	25	4,6	0,283
64D	200	0,15	15	4,5	0,26
65D	200	0,15	15	3,9	0,737
66D	200	0,15	15	4,8	0,22
67D	200	0,15	20	3,7	0,25
68D	200	0,15	20	4,3	1,517
69D	200	0,15	20	4,7	1,437
70D	200	0,15	25	4,4	0,75
71D	200	0,15	25	4,3	0,337
72D	200	0,15	25	4,5	0,21
73D	200	0,2	15	4,5	0,79
74D	200	0,2	15	4,3	0,217
75D	200	0,2	15	4,5	0,423
76D	200	0,2	20	4	0,217
77D	200	0,2	20	4,2	0,213
78D	200	0,2	20	4,7	0,29
79D	200	0,2	25	4,2	0,203
80D	200	0,2	25	4,3	0,44
81D	200	0,2	25	4,5	0,407

Elde edilen bu verilere lineer regresyon analizi uygulanmıştır. Yüzeyaktif madde ile enzim miktarı ve işlemsüresi değerleri tek tek, ikili kombinasyonlar halinde ve her üçü dikkate alınarak 0.99 güven aralığında yapılan 4 farklı MANOVA testinin sonuçları Tablo 7.3'te verilmiştir. Tablo 7.3'teki önemseviyelerine bakıldığında 0.99 güven aralığında yalnızca yüzeyaktif madde miktarındaki değişimin ağırlık kaybı ve emicilik seviyelerine etkisi olduğu görülmektedir.

Tablo 7.3 Verilere uygulanan MANOVA istatistiksel analiz testinin sonuçları

Et ki	Yönt em	De ğer	F	H ipot ez Serbestlik Derecesi	Hat a Ser. Der.	Anl a m
YÜZEYAKTİ F MADDE	Pill ai's Trace	0,228	3,469	4	108	0,01
	Wil ks' Lambda	0,773	3,638	4	106	0,008
	Hot elli ng's Trace	0,292	3,8	4	104	0,006
	Roy's Largest Root	0,288	7,788	2	54	0,001
ENZİ M	Pill ai's Trace	0,065	0,909	4	108	0,461
	Wil ks' Lambda	0,935	0,907	4	106	0,463
	Hot elli ng's Trace	0,07	0,904	4	104	0,465
	Roy's Largest Root	0,068	1,84	2	54	0,169
İŞLEM SÜRESİ	Pill ai's Trace	0,014	0,184	4	108	0,946
	Wil ks' Lambda	0,986	0,181	4	106	0,948
	Hot elli ng's Trace	0,014	0,178	4	104	0,949
	Roy's Largest Root	0,014	0,367	2	54	0,695
YÜZEYAKTİ F MADDE - ENZİ M	Pill ai's Trace	0,145	1,055	8	108	0,4
	Wil ks' Lambda	0,859	1,045	8	106	0,407
	Hot elli ng's Trace	0,159	1,035	8	104	0,415
	Roy's Largest Root	0,119	1,608	4	54	0,186
YÜZEYAKTİ F MADDE - İŞLEM SÜRESİ	Pill ai's Trace	0,034	0,237	8	108	0,983
	Wil ks' Lambda	0,966	0,234	8	106	0,984
	Hot elli ng's Trace	0,035	0,231	8	104	0,984
	Roy's Largest Root	0,033	0,439	4	54	0,78
ENZİ M- İŞLEM SÜRESİ	Pill ai's Trace	0,046	0,319	8	108	0,957
	Wil ks' Lambda	0,954	0,316	8	106	0,959
	Hot elli ng's Trace	0,048	0,312	8	104	0,96
	Roy's Largest Root	0,043	0,58	4	54	0,678
YÜZEYAKTİ F MADDE - ENZİ M- İŞLEM SÜRESİ	Pill ai's Trace	0,148	0,538	16	108	0,921
	Wil ks' Lambda	0,857	0,531	16	106	0,925
	Hot elli ng's Trace	0,161	0,524	16	104	0,929
	Roy's Largest Root	0,11	0,744	8	54	0,652

Enzim miktarı = 0.15 g/l için yüzeyaktif madde miktarının emiciliğe etkisini incelemek için yapılan regresyon analizi sonucunda R değerinin 0.5 olduğu görülmektedir. Aynı değer için yapılan ANOVA testinde 0.99 güven aralığı içinde

kalındığı görülmektedir. Farklı yüzeyaktif madde miktarlarıyla yapılan deneyler sonucu ortaya çıkan emicilik değerleri arasında anlamlı bir fark olduğu da anlaşılmaktadır.

Tablo 7.4 Enzim miktarı 0,15 g/l olduğunda yüzeyaktif madde miktarının emiciliğe etkisi

Model	Kareler Toplam	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kare	F	Anlam
Regresyon	92,127	1	92,127	8,323	,008
Artık	276,710	25	11,068		
Toplam	368,836	26			

Enzim miktarının 0,15 g/l olduğu durumlar için emicilikle yüzeyaktif madde miktarı arasında;

$$\text{Emicilik} = 9,24 - 0,05 \text{ yüzeyaktif madde miktarı}, \quad (7.1)$$

denklemlerde edilmiştir.

Enzim miktarından bağımsız olarak yüzeyaktif madde miktarının emiciliğe etkisi incelendiğinde R değerinin 0,4 olduğu görülmüştür. Ancak yapılan ANOVA testi sonucunda F değerinin yüksek olduğu, yani yüzeyaktif madde miktarındaki farkların emiciliği önemli ölçüde etkilediği anlaşılmaktadır. Ayrıca önem seviyesinin 0'a çok yakın bir değerde olması da sonuçlarının 0,99 güven aralığında bulduklarını göstermektedir.

Tablo 7.5 Yüzeyaktif madde miktarının emiciliğe etkisinin ANOVA istatistiksel yöntemiyle değerlendirilmesi

Model	Kareler Toplam	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kare	F	Anlam
Regresyon	121,047	1	121,047	15,065	,000
Artık	634,759	79	8,035		
Toplam	755,807	80			

Yüzeyaktif madde miktarı ile emicilik arasında;

$$\text{Emicilik} = 6,619 - 0,03 \text{ yüzeyaktif madde miktarı}, \quad (7.2)$$

denklemlerde edilmiştir.

Yüzeyaktif madde miktarının ağırlık kaybına etkisi incelendiğinde R değerinin düşük olmasına rağmen, ANOVA testi sonucu 0.99 güven aralığı seviyesinin sağlandığı görülmektedir. Yüzeyaktif madde miktarı ile ağırlık kaybı arasında;

$$\text{Ağırlık kaybı} = 3,811 + 0,0027 \text{ yüzeyaktif madde miktarı}, \quad (7.3)$$

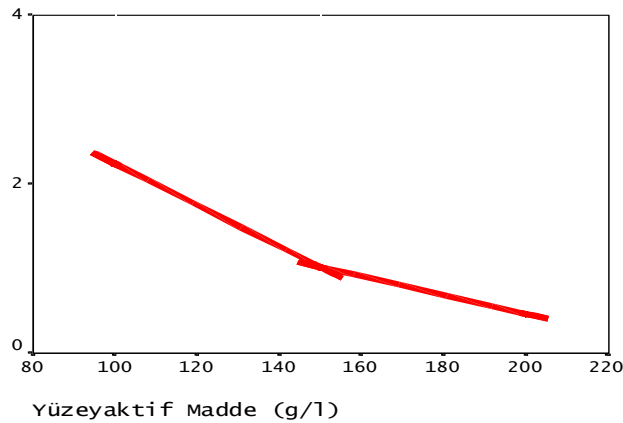
denklemlerde edilmiştir. Bu denklemlerden yüzeyaktif madde miktarındaki artışın ağırlık kaybını artırdığı görülmektedir.

Yüzeyaktif madde miktarı ile emicilik arasındaki etkileşimi en iyi açıklayabilecek modelin bulunması amacıyla tüm modeller için  $R^2$  değerlerine bakılmıştır. En büyük  $R^2$  değerini üstel fonksiyon ilişkisinin sağladığı görülmüştür.

Tablo 7.6 Yüzeyaktif madde miktarı ile emicilik arasındaki ilişkiyi gösteren üstel fonksiyon olarak ifadesi

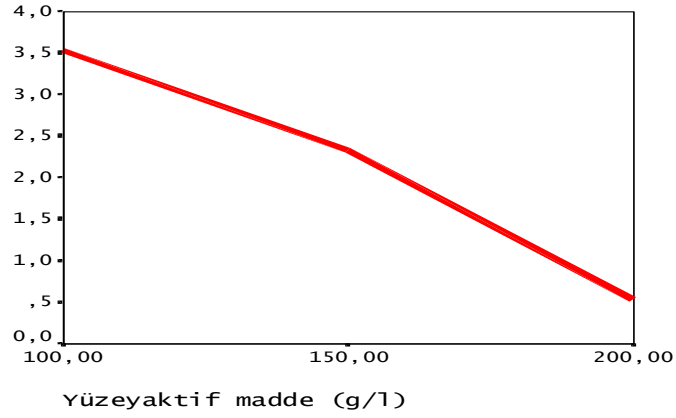
Bağımsız Değişken: YÜZEYAKTİF MADDE MİKTARI							
Bağımlı	Metod	$R^2$	Ser. Der.	F	Anlam	b0	b1
EMİCİLİK	EXP	0,301	79	34,04	0,000	10,9342	-0,0159

Buna göre elde edilen grafik aşağıdaki gibidir;

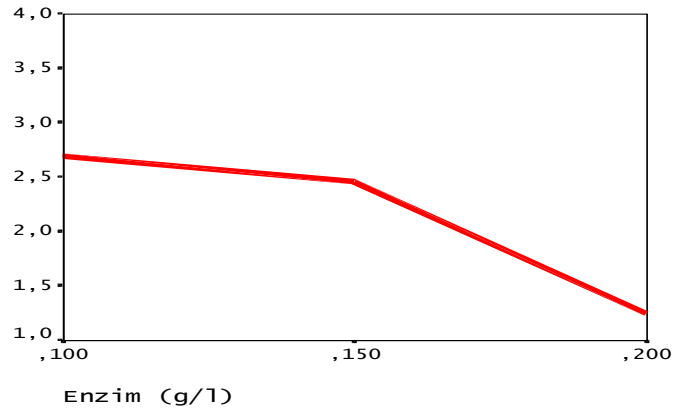


Şekil 7.9 Yüzeyaktif madde miktarı ile emicilik arasındaki üstel fonksiyon ilişkisi

Lineer modelleme yapıldığında yüzeyaktif madde miktarı ile emicilik arasında ve enzimle emicilik arasında aşağıdaki grafikler ortaya çıkmaktadır;



Şekil 7.10 Yüzeyaktif madde miktarı ile emicilik arasındaki lineer ilişki



Şekil 7.11 Enzimle emicilik arasındaki lineer ilişki

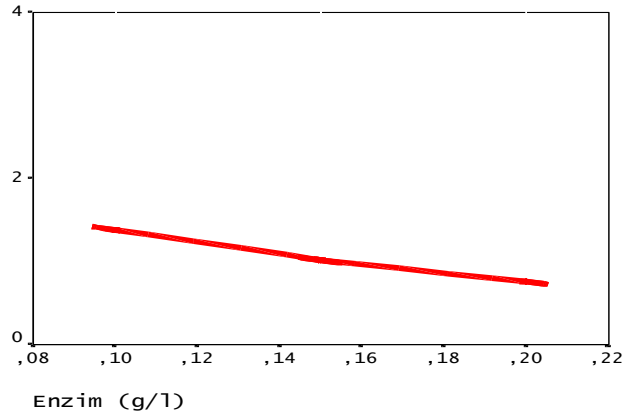
Şekil 7.10 ve Şekil 7.11’de görüldüğü gibi gerek yüzeyaktif madde miktarının gerekse enzim miktarının artırılması emicilik süresini düşürmektedir.

Enzim miktarı ile emicilik arasındaki etkileşimi en iyi açıklayabilecek modelin bulunması amacıyla tüm modeller için  $R^2$  değerlerine bakılmıştır. En büyük  $R^2$  değerini yüzeyaktif madde miktarı için olduğu gibi üstel fonksiyon ilişkisinin sağladığı görülmüştür.

Tablo 7.7 Enzimle emicilik arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan üstel fonksiyon olarak ifadesi

Bağımsız Değişken: ENZİM							
Bağımlı	Metod	$R^2$	Ser. Der.	F	Anlam	b0	b1
EMİCİLİK	EXP	0,045	79	3,71	0,058	2,5353	-6,1224

Buna göre elde edilen grafik Şekil 7.12' de görülmektedir;



Şekil 7.12 Enzimle emicilik arasındaki üstel fonksiyon ilişkisi

Bu veriler ışığında yüzeyaktif madde ve enzim miktarlarının emicilik süresi üzerindeki etkileri görülmüştür.

İstatistiksel olarak en iyi ürün özelliği veren numunelerin bulunması için her bir bağımsız değişkenin her bir seviyesinde diğer iki bağımsız değişkenin su emiciliği ve ağırlık kaybına etkileri regresyon analiziyle incelenmiştir. Enzim miktarı için yapılan inceleme sonucunda temel seviye olan 0,150 g/l enzim miktarının diğer enzim miktarı seviyelerinden istatistiksel olarak daha anlamlı sonuçlar verdiği görülmüştür. Yüzeyaktif madde miktarı için aynı analiz yapıldığında yine temel seviye (150 g/l) istatistiksel olarak en anlamlı sonucu vermiştir. İşlem süresi için ise bu değer 15 dakika seviyesidir. Her bir deney 3 kez tekrarlandığından istatistiksel olarak en iyi ürün özelliğini veren numune; belirtilen yüzeyaktif madde ile enzim miktarlarında, belirtilen sürede işlem görmüş 3 numune arasından emiciliği en iyi olan numunedir. Benzer şekilde istatistiksel olarak en kötü ürün özelliği veren numune de tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak diğer seviyelere göre daha az anlamlı sonuçlar veren bağımsız değişken değerleri enzim için; 0,1 g/l, yüzeyaktif madde için; 100 g/l ve işlem süresi için; 25 dakika olarak tespit edilmiştir ve bu seviyelerde en düşük emiciliğe sahip olan numune istatistiksel olarak en kötü ürün özelliği veren numune olarak seçilmiştir. Tablo 7.8'de istatistiksel olarak en iyi ürün özelliği veren numunenin muamele değerleri verilmiştir.

Tablo 7.8 İstatistiksel olarak en iyi ürün özelliğini veren numunenin muamele değerleri

Enzim miktarı (g/l)	Yüzeyaktif madde miktarı (g/l)	İşlem süresi (dak)	Flotte oran	Sıcaklık (°C)	pH
0,15	150	15	1:40	40	4,20

### 7.3 Selüloz, Pektin, Protein, Yağ ve Vaks Miktarlarının Kalitatif Analizi

Congo Red ile yapılan lekelenme testi neticesinde muamele görmüş numuneler arasında ayırt edici bir farka rastlanmamıştır. Ancak test edilen ham kumaş örneğinin boyar maddeyi emmediği görülmüştür. Basınç uygulandığında ham kumaş örneği boyar maddeyi emmiştir ve muamele görmüş olan numunelerle aynı renk derinliğinde, fakat düzensüz lekelenmiştir. Düzensüz lekelenmenin sebebi ham kumaş numunesinde bulunan ve selülozik olmayan safsızlıklardır. Ayrıca ham kumaş numunesinin muamele görmüş numunelerle aynı renk derinliğinde lekelenmesi göstermektedir ki, muamele sonucunda kumaşların selülozik yapıları bozunmamıştır. Ruteni um Red ile yapılan lekelenme testi neticesinde de muamele görmüş numuneler arasında ayırt edici bir farka rastlanmamıştır ve ham kumaş örneğinin boyar maddeyi emmesi için basınç uygulamak gerekmiştir. Ham kumaş örneğinin muamele gören kumaşlara kıyasla daha derin lekelenmediği görülmüştür. Bunun sebebi ham kumaş örneğimizin içerdiği pektin ve proteindir. Bundan da anlaşılmalıdır ki, enzimatik muamele pektin ve proteini uzaklaştırmıştır.

Sudan III ile yapılan lekelenme testleri sonucunda tüm numunelerin boyar maddeyi hızlıca emdiği kaydedilmiştir. Muamele görmüş numunelerin lekelenmeleri arasında ayırt edici bir fark tespit edilememiştir. Ancak, ham kumaş örneğimizin renk derinliğinin daha fazla olması göstermektedir ki, muamele sonucu yağ ve vaks miktarı uzaklaştırılmaktadır.

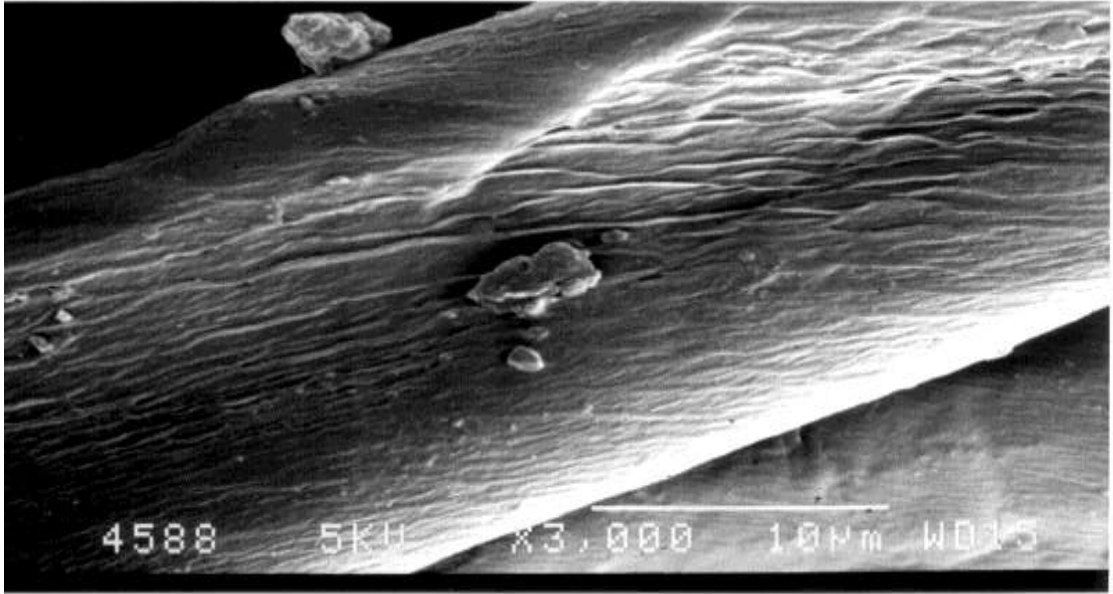
Alınan tüm bu sonuçlara rağmen her 3 boyar maddeyle yapılan lekelenme testi de istatistiksel olarak en iyi ve en kötü ürün özelliği gösteren muamele görmüş numuneler

arasında kıyaslanma yapabilecek görsel kanıt sunamamıştır. Bu amaçla kullanıldığında test yöntemi işlevsizdir.

#### 7.4 SEM ile Lif Yapısının İncelenmesi

Şekil 7.13, Şekil 7.14 ve Şekil 7.15'te görüldüğü gibi SEM altında incelenen her üç numunede de enzimatik muel eden kaynaklanan lif zararına rastlanmıştır. Bu üç numune sırasıyla Şekil 7.13'teki ham kumaş örneği, Şekil 7.14'teki istatistiksel olarak en iyi ürün özelliği gösteren numune ve Şekil 7.15'teki istatistiksel olarak en kötü ürün özelliği gösteren numunedir.

Şekil 7.13'te görülen ham kumaş numunesinden alınan lif görüntüsünde fiziksel olarak tutunuyor görünen birkaç safsızlığın varlığı dikkat çekicidir. Numuneden görüntü alınırken yapılan taramada numunenin genelinde irili ufaklı benzer safsızlıklara rastlanmıştır.

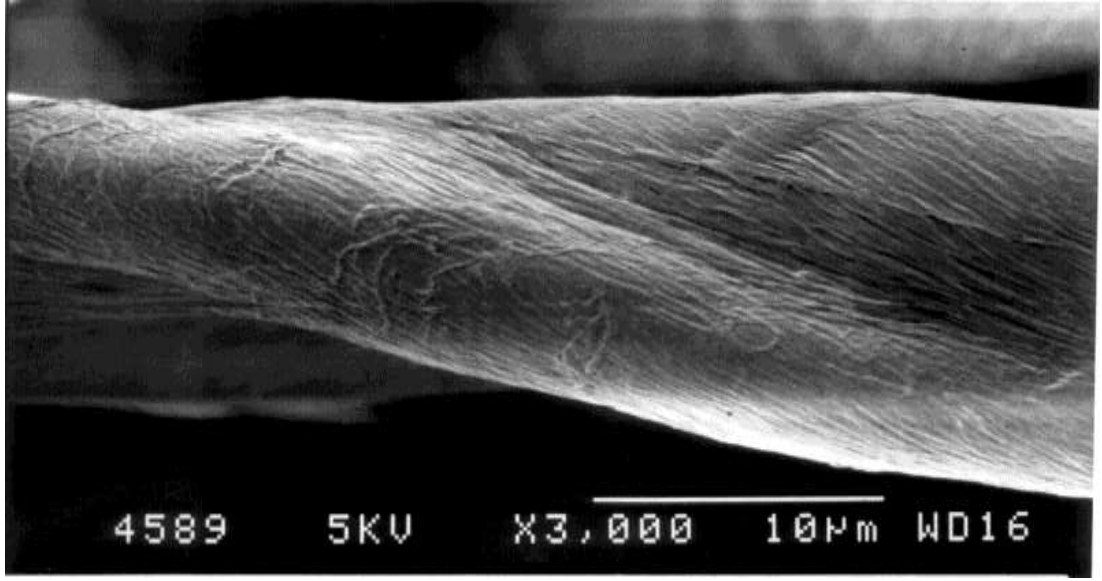


Şekil 7.13 Ham kumaş numunesinin SEM altındaki lif görünüşü

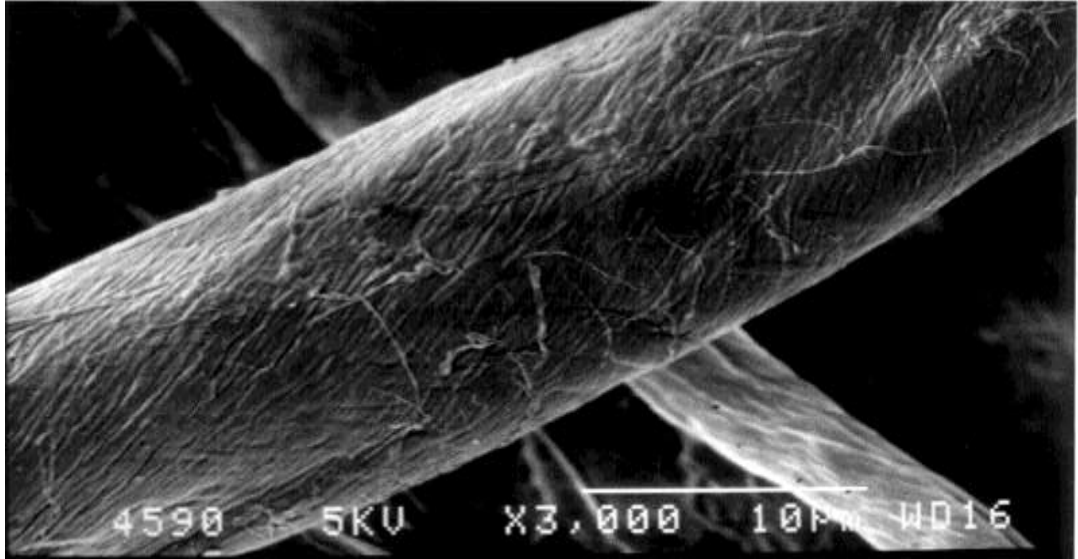
Şekil 7.14'te görülen lif 150 g/l yüzeyaktif madde ve 0.15 g/l enzim kullanılarak 15 dakika süre ile muel edilmiş kumaş olup emicilik değeri en yüksek olan numunedir. Şekil 7.14'te verilen lif görüntüsü Şekil 7.13'te görülen ham kumaştan alınan lif numunesiyle karşılaştırılarak incelendiğinde iki numune arasında yapısal bir farka



rastlanmadığı yani lif yapısında enzimatik işlemden sonra bir bozunma olmadığı görülmüştür.



Şekil 7.14 İstatistiksel olarak en iyi ürün özelliği veren numunenin SEM altındaki lif görünüşü



Şekil 7.15 İstatistiksel olarak en kötü ürün özelliği veren numunenin SEM altındaki lif görünüşü

Şekil 7.15'te görülen lif 100 g/l yüzeyaktif madde ve 0.1 g/l enzim kullanılarak 25 dakika süre ile muamele edilen kumaş olup emicilik değeri en düşük olan numunedir. Şekil 7.15'te görülen lif numunesi de yine ham kumaştaki lif yapısıyla karşılaştırılarak incelenirse aynı lif yapısının enzimati işleminde korunduğu görülmektedir.



## BÖLÜM 8. TARTIŞMA

Li ve Hardin'in 1998 yılında enzim aktivliği 11.8 U mg olan pektinaz enzimiyle yapmış oldukları çalışmada neticesinde pamuklu örnek kumaş için 1 s ve altında emicilik değerleri elde edildiğinden, bu çalışmada kullanılan 1 U mg enzim aktivliğine sahip pektinaz enzimiyle benzer emicilik değerleri elde edilmiş ve çalışılmıştır. Bu çalışmada neticesinde ulaşılan en iyi emicilik değeri 0.203 s olup bu değer 200 g/l yüzeyaktif madde, 0.2 g/l enzim ve 25 dak işlem süresinde gerçekleşmiştir. Böylelikle istenen hidrofilite değerine ulaşıldığı görülmektedir.

Yapılmış deneysel dizayn istatistiksel olarak değerlendirildiğinde yüzeyaktif madde dışındaki diğer parametrelerin yani enzim miktarı ve işlem süresinin test sonuçları yani emicilik ve ağırlık kaybı üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olmadığı görülmüştür. Ancak bu durum enzim miktarının hidrofilite üzerinde gerçekten anlamlı bir etkiye sahip olduğunu göstermez. Burada ifade edilen durum yalnızca çalışılan aralık için söz konusudur. Hedefimiz optimum değere ulaşmak olduğundan temel seviyelere yakın aralıklarda çalışılmıştır.

Congo Red ile yapılan lekelenme testi neticesinde muamele görmüş numuneler arasında ayırt edici bir farka rastlanmıştır. Ancak test edilen ham kumaş örneğini boyar maddeyi emmediği görülmüştür. Basınç uygulandığında ham kumaş örneği boyar maddeyi emmiştir ve muamele görmüş olan numunelerle aynı renk derinliğinde, fakat düzensüz lekelenmiştir. Düzensüz lekelenmenin sebebi ham kumaş numunesinde bulunan ve selülozik olmayan safsızlıklardır. Ayrıca ham kumaş numunesinin, muamele görmüş numunelerle aynı renk derinliğinde lekelenmesi göstermektedir ki, muamele sonucunda kumaşların selülozik yapıları bozulanmıştır. Ruteniyum Red ile yapılan lekelenme testi neticesinde de muamele görmüş numuneler arasında ayırt edici bir farka rastlanmıştır ve ham kumaş örneğinin boyar maddeyi emmesi için basınç uygulamak gerekmektedir. Ham kumaş örneğinin muamele gören kumaşlara kıyasla daha derin lekelenmediği görülmüştür. Bunun sebebi ham kumaş örneğini içeren pektin ve proteindir. Bundan da anlaşılmalıdır ki enzimatiği muamele pektin ve proteini uzaklaştırmıştır. Sudan III ile yapılan lekelenme testleri sonucunda tüm numunelerin boyar maddeyi hızlıca emdiği kaydedilmiştir. Muamele görmüş numunelerin lekelenmeleri arasında ayırt edici bir fark tespit edilememiştir. Ancak, ham kumaş örneğinin renk derinliğini daha fazla olması göstermektedir ki,

mua mel e sonucu yağ ve vaks pa mukt an uzaklaştırıl naktadır. Alı nan t ümbu sonuçlara rağmen her 3 boyar maddeyle yapılan lekelenme testi de istatistiksel olarak en iyi ve en kötü ürün özelliği gösteren mua mel e görmüş numuneler arasında kıyaslama yapabilecek görsel kanıt sunamamıştır. Bu amaçla kullanıldığında test yöntemi işlevsizdir.

Yapılan SEManalizleri sonucunda pekti naz enzi miyle işlemgörek hidrofilik sağlanmış kuşak numunelerindeki lif yapısında hamkuşakla kıyaslandığında bir bozunma olduğu gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak literatürdeki çalışmalarla bir karşılaştırma yaptığımızda kullandığımız pekti nazın enzi maktifliğini literatürde kullandıktan 11.8 kat daha düşük olmasına rağmen benzer emicilik değerleri elde edilmiş olup selülözün yapısında da bir bozunma olmaktadır.

Bu çevre dostu hidrofilleştirme yöntemi, yine çevre dostu perasit ağartma yöntemleri ile birleştirilerek hipoklorit ağartmaya alternatif soğuk yöntem olarak önerilmek üzere bu çalışmanın devam ettirilmesi için gerek literatüre gerekse sanayi deki çalışmalara katkı sağlayacağı görüşündeyiz.

## KAYNAKLAR

- [1] **Keha, E E ve Kifrevioğlu İ. Ö**, 1997. Byoki mya, Şafak Yayınevi Matbaası, Erzurum
- [2] **Stuart, J B**, 1995. Introduction to Organic and Biological Chemistry, The Macmillan Company Collier-Macmillan Limited, London.
- [3] **Sarışık, M Ö**, 2001. Tekstil Terbiye İşlemlerinde Enzimler, DEÜ Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi, İzmir.
- [4] **Tüzün, C**, 1992. Byoki mya, A Ü Fen Fakültesi Matbaası, Ankara
- [5] **Bhat, MK**, 2000. Cellulases and related enzymes in biotechnology, *Biotechnology Advances.*, **18**, 355-383.
- [6] **Bennett, J W**, 1998. The role of fungi in biotechnology, *J. Biotech.*, **66**, 101-107.
- [7] **Gilbitz, G M**, 2001 Biotechnology in the textile industry- perspectives for the new millennium *J. Biotechnol.*, **89**, 89-90.
- [8] **Fornelli, S**, The enzymatic big bang for the textile industry, Sandoz teknik bülteni, 46.
- [9] **Kashyap, D R, Vohra, P K, Chopra, S, Tewari, R**, 2001. Applications of pectinases in the commercial sector: a review *Bioresource Technology*, **77**, 215-227.
- [10] **Shirai, T, Ishida, H, Noda, J L, Yamane, T, Ozaki K, Hakamada, T And Ito, S**, 2001. Crystal structure of alkaline cellulase: Insight into the alkaline adaptation of an industrial enzyme, *J. Mol. Biol.*, **310**, 1079-1087.
- [11] **Li, Y, Hardin, L R**, 1997. Enzymatic scouring of cotton, Effects on structure and properties, *Textile Chemist and Colorist*, **8**, 71-76.
- [12] **Eiters, J N, Hsain, P A, Langa, N K**, 1999. Alkaline Pectinase *Textile Asia*, **5**, 83-85.
- [13] **Yakartepe, M ve Yakartepe, Z**, 1995. TK MA Tekstil Terbiye Teknolojisi Kasardan- Apreye, **Glt 5**, İstanbul .
- [14] **Duran, K, Zeybekoğlu, G**, 1987. Nşasta haşılıının soğuk bekl et ne yöntemi ne göre enzimatik olarak sökölmesi, *Tekstil & Teknik*, **5**, 44-48.

- [15] **Duran, K, Öneş, M,** 1994. Tekstil terbiyesi nde enzimler ve kullanım. *Tekstil ve Korfeksiyon*, **4**, 318-328.
- [16] **Li, Y, Hardin, L R,** 1998. Enzymatic scouring of cotton: Surfactans, agitation and selection of enzymes, *Textile Chemist and Colorist*, **9**, 23-29.
- [17] **Lange, K, et al.,** 1998. Cotton B o-preparation, Novo- Nordisk Bülteni, 1-12
- [18] **Sarışık, Ö M,** 2000. Pamuklu na mül leri n hidrofilleştir mesi nde enzim kullanım, *Tekstil &Teknik*, **11**, 166-177.
- [19] **Lange, N K,** 1997. Li pase-assisted dezi ng of woven cotton fabrics, *Textile Chemist and Colorist*, **6**, 23-26.
- [20] **Hsieh, Y L,** 1999. Enzyme reactions for removing non-cellulosic cell wall components of cotton fibers, Proceeding of the Bel wı dw Cotton Conference, Vol:2, 1375-1377.
- [21]. **Mınceloğ u, Y Z, Kontart, O, Yarbaş, T,** 1999. Pamuklu ürünlerde çevreci biti miş leri: Enzimler, 1. Uusal Çukurova Kongresi, 6-8 Eki m 1999, ÇÜ, Adana, 503-512
- [22] **Gırszar, C, Szakacs, G, Rusznak, I,** 1998. Combi ni ng tradi tional cotton scouring with cellulase enzymatic treat ment, *Textile Research Journal*, **68, 3**, 163-167.
- [23] **Li, Y And Hardin, L P,** 1998. Treating cotton with cellulases and pectinase: Effects on cuticle and fiber properties, *Textile Research Journal*, **68, 9**, 671-679.
- [24] **Lange, N K, et al .** B o-preparati on of cotton, AATCC Int. Conf., Philadel phi a, 22-25 Septe mber, 463-471.
- [25] **Bach, E, Scholl meyer, E,** 1992. Kinetische untersuchungen zum enzymatischen abbau von baumwollpektin, *Textilveredlung*, **27, 1**, 2-6
- [26] ] **Bach, E, Scholl meyer, E,** 1993. Vergleich des alkalschen abkochprozesses mit der enzymatischen entfernung der begleitsubstanzen der baumwolle, *Textil Praxis Int.*, **3**, 220-224.
- [27] **Rossner, N,** 1995. Enzyme in der baumwoll-vorbehandlung *Textilveredlung*, **30, 3/4**, 82-88.
- [28] **Hartzell, M M, Hsieh, Y L,** 1998. Enzymatic scouring to i mprove cotton fabric wettability, *Textile Research Journal*, **68, 4**, 233-241.
- [29] **Buchert, J, Pere, J.,** 1998. Enzymatic scouring of cotton, AATCC Int. Conf., Philadel phi a, 22-25 Septe mber, 493-499.
- [30] **Htters, J N,** 1998. Dyeing properties of caustic scoured versus alkaline pectinase prepared fabric, Novo Nordisk Bul., 1-9.

- [31] **Hsieh, Y L**, 1999. Proteases as scouring agents for cotton, *Textile Research Journal*, **69**, **8** 590-597.
- [32] **Buchert, J, et al.**, 2000. Scouring of cotton with pectinases, proteases and lipases, *Textile Chemist and Colorist & American Dyestuff Reporter*, **5** 48-52.
- [33] **Lawson, M H, Durrant, K**, 2000. The efficiency of pectinase scouring with agitation to improve cotton fabric wettability, *Textile Chemist and Colorist & American Dyestuff Reporter*, **32**, **8** 86-90.
- [34] **Cavaco-Paulo, A, Almeida, L**, 1998. Hydrolysis of cotton cellulose by engineered cellulase from *Trichoderma reesei*, *Textile Research Journal*, **68**, **4** 273-280.
- [35] **Koe, H, et al.**, 1994. Cellulase treatment of fabrics, *Textile Research Journal*, **64**, **2** 70-74.
- [36] **Buschle-Diller, G, Zeronian, H**, 1994. Enzymatic and acid hydrolysis of cotton cellulose after slack and tension mercerization, *Textile Chemist and Colorist*, **26**, **4** 17-24.
- [37] **Choe, E K, et al.**, 1997. Effects of pre-existing dyes and fabric type on cellulase treatment of cotton fabrics, *Textile Research Journal*, **67**, **3** 155-162.
- [38] **Buchler-Diller, G, Traore, M K**, 1998. Influence of direct end reactive dyes on the enzymatic hydrolysis of cotton, *Textile Research Journal*, **68**, **3** 185-192.
- [39] **Schmitt, B, Prasad, A K**, 1998. Update of indigo denim washing. *Colourage*, October, 20-24.
- [40] **Otulu, T, Manceloğlu, YZ, Anterinen A,L**, 1999. Tekstil endüstrisinde ekolojik çözümler = enzimler, *Tekstil Terbiye Teknik*, **1**, 74-78.
- [41] **Jensen, N P**, 2000. Catalase Enzyme, *Textile Chemist and Colorist & American Dyestuff Reporter*, **32**, **5** 23-24.
- [42] **Schacht, M**, 1995. Enzymes in textile finishing *Melliand International*, **2** 116-118.
- [43] **Cavaco-Paulo, A, et. A.**, 1998. Indigo backstaining during cellulase washing *Textile Research Journal*, **45**, **10** 564-569.
- [44] **Cavaco-Paulo, A, et. A.** 1997. The effect of cellulase treatment in textile washing processes, *Journal of Society Dyers and Colorist*, **113**, **7/8** 218-221.
- [45] **Rollins, ML ve deGruy**, 1972. Instrumental Analysis of Cotton Cellulose and Modified Cotton Cellulose, Marcel Dekker Inc., New York, 145.
- [46] **SPSS**, Software, SPSS Inc., 1997

## **ÖZGEÇMİŞ**

1977 yılında İstanbul'da doğdu. İlk öğrenimini Uzunköprü'de, orta öğrenimini Edirne Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 1999 yılında İ. T. Ü. Maki ne Fakültesi Tekstil Mühendisliği Bölümü'nden mezun oldu ve aynı yıl İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Programı'na başladı. 2001 yılında, mezun olduğu bölümde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı. Halen bu görevine devam etmektedir.