

**BİYOTEKNOLOJİK OLARAK
FENOLİKLERİN GİDERİMİ**

Güner SAKA
Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı
Aralık 2007

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Güner SAKA'nın "Biyoteknolojik Olarak Fenoliklerin Giderimi" başlıklı **Kimya** Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans tezi **19.11.2007** tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Doç. Dr. ARZU ERSÖZ
Üye	: Prof. Dr. RIDVAN SAY
Üye	: Yard. Doç. Dr. LÜTFİ GENÇ

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
.....tarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BİYOTEKNOLOJİK OLARAK FENOLİKLERİN GİDERİMİ

Güner SAKA

**Anadolu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Arzu ERSÖZ
2007, 72 sayfa**

Bu çalışmada, simektit (S), kuartamin modifiye organosimektit (QS) ve polistiren modifiye organosimektit (PS/QS) kullanarak atık sulardan bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), 4-aminofenol (AF), 4-aminotiyofenol (ATF), 4-merkaptofenol (MF) ve pentaklorofenol (PKF) fenoliklerinin enzim temelli polimerizasyonla giderimlerine pH, zaman, horseradish (yaban turbu) peroksidaz (HRP) miktarı gibi parametrelerin etkileri ortaya konulmuştur. Bu amaçla, fenoliklerin sulu çözeltilerinden HRP enzimi varlığında polimerleştirilmeleri yoluyla giderimleri, sulu çözeltilerde azalan BHA, AF, ATF, MF ve PKF derişimleri ortaya konularak belirlenmiştir. Ayrıca model fenolik olarak seçilen ATF için FTIR, ¹³C CP/MAS NMR ve MALDI-TOF-MS ile karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fenolik, Organo kil Nanokompozit, Atıksu, Horseradish Peroksidaz

ABSTRACT

Master of Science Thesis

BIOTECHNOLOGICAL REMOVAL OF PHENOLICS

Güner SAKA

**Anadolu University
Graduate School of Sciences
Chemistry Program**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Arzu ERSÖZ
2007, 72 pages**

In this study, It has been exhibited the effects of parameters such as pH, time, the amount of horseradish (HRP) peroxidase on the enzyme based polymerization for the removal of Butylated Hydroxyanisole (BHA), 4-Aminophenol, 4-Aminothiophenol, 4-Mercaptophenol and Pentachlorophenol phenolics from wastewater using Smectite (S), Quartamine modified Organosmectite (QS) and Polystyrene Modified Organosmectite (PS/QS). For this purpose, the removal of polymerized phenolics from aqueous solutions in the presence of HRP enzyme has been investigated considering the decreased amount of BHA, AF, ATF, MF and PKF in aqueous solutions. In addition, FTIR, ¹³C CP/MAS NMR and MALDI-TOF-MS characterization studies have been done for the model phenolic ATF.

Keywords: Phenolic, Organo-clay Nanocomposite, Wastewater, Horseradish Peroxidase

TEŞEKKÜR

Çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen, beni yönlendiren ve karşılaştığım sorunlarda fikirleriyle bana yol gösteren başta danışman hocam sayın Doç. Dr. Arzu ERSÖZ'e,

Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi (AÜBİBAM) olanaklarından yararlanmamı sağlayan ve her türlü desteği esirgemeyen Merkez Müdürü Sayın Prof. Dr. Rıdvan SAY'a,

Fen Fakültesi Kimya Bölümü olanaklarından yararlanmamı sağlayan Kimya Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Lale ZOR'a,

104 Y 313 nolu proje kapsamında bu tezi destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'a

Çalışmam boyunca yardım ve desteklerinden dolayı Sevgili arkadaşlarım Rüstem KEÇİLİ, Özlem YILMAZ, Özlem YALÇINKAYA ve Araş. Gör. Özer GÖK, İsmail Veli SEZGİN, Çetin ATASOY ve Sertan ARKAN'a

MALDI-TOF-MS çalışmasını gerçekleştiren Sevgili arkadaşım Uzm. Sibel BÜYÜKTİRYAKI'ye,

Tez çalışmam süresince destekleriyle hep yanımda olan Sentetik Reseptörler Araştırma Grubu (SYNREG) üyeleri'nden Yard. Doç. Dr. Deniz HÜR, Yard. Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ, Dr. Ayça ATILIR ÖZCAN, Dr. Ebru BİRLİK, Dr. Muharrem KARABÖRK'e,

Uzakta olmalarına rağmen maddi-manevi destekleri ile varlıklarını devamlı yanımda hissettiğim AİLEME en içten teşekkürlerimi sunarım.

Güner SAKA

Aralık-2007

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Fenolikler	3
1.1.1. Fenoliklerin sağlığa etkileri.....	4
1.1.2. Fenollü atıksuların kaynakları.....	6
1.1.3. Fenol giderme yöntemleri	6
1.2. Killer	7
1.2.1. Sorbent olarak kil mineralleri.....	7
1.2.1.1. Oktahedral ve tetrahedral tabakalar.....	8
1.2.1.2. Kaolinit ve montmorillonit.....	9
1.2.1.3. İllit ve muskovit.....	10
1.2.1.4. Simektit.....	11
1.2.2. Kil minerallerinin sınıflandırması	13
1.2.3. Türkiye’de kil yatakları.....	15
1.2.4. Killerde özellikler ile yapının ilgisi.....	16
1.2.5. Organo-killerin genel özellikleri	17
1.2.6. Organo-killerin sınıflandırılması.....	17
1.2.7. Organo-kil kompleksleri ve etkileşimleri.....	18
1.2.8. Organo-kil kompleksleri ve çevredeki etkileşimleri	19
1.2.8.1. Endüstriyel ve laboratuvar işlemlerinde organo-kil kompleksleri ve etkileşimleri.....	20
1.2.8.2. Kil minerallerinin yüzeyindeki organik maddenin adsorpsiyon yerleri.....	21
1.2.8.3. Organo-kil polimer nanokompozitler.....	22

1.2.8.4. Organo-kil komplekslerinin nükleer manyetik rezonans spektroskopisi.....	24
1.3. Peroksidaz Enzimlerinin Özellikleri	25
1.3.1. Oksidatif dehidrojenasyon	26
1.3.2. Oksidatif halojenasyon.....	27
1.3.3. H ₂ O ₂ dönüşümü	27
1.3.4. Oksijen-transfer reaksiyonları.....	27
1.3.4.1. Heteroatom oksidasyonu.....	28
1.3.4.2. Epoksidasyon.....	29
1.3.4.3. Karbon-hidrojen bağı oksidasyonu.....	29
1.3.5. HRP'nin yapısı, mekanizması ve substratları	29
1.4. Konuyla İlgili Yapılmış Çalışmalar	33
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	37
2.1. Materyal	37
2.1.1. Kullanılan kimyasallar	37
2.1.2. Kullanılan cihazlar	37
2.2. Yöntem.....	38
2.2.1. Nanokompozitlerin hazırlanması	38
2.2.2. Killerin nanotabakalarında fenoliklerin polimerleştirilmesi çalışmaları..	39
2.3. Karakterizasyon Çalışmaları	39
2.3.1. FTIR analizi	39
2.3.2. ¹³ C CP/MAS NMR analizi.....	39
2.3.3. MALDI-TOF-MS analizleri.....	40
2.3.4. X-ışınları difraktometresi analizi	40
3. BULGULAR.....	41
3.1. Killerin Karakterizasyonu	41
3.1.1. FTIR analizi	41
3.1.2. X-ışınları difraktometre (XRD) çalışmaları.....	43
3.1.3. Fenoliklerin giderimine ilişkin model olarak seçilen ATF'nin karakterizasyon çalışmaları.....	44
3.1.3.1. FTIR analizi.....	44

3.1.3.2. ¹³ C-CP-MAS katı-NMR analizi.....	46
3.1.3.3. MALDI-TOF-MS analizi.....	51
3.2. Fenoliklerin Giderim Çalışmaları	53
3.2.1. ATF giderimi çalışmaları	53
3.2.1.1. ATF'nin HRP katalizli giderimine pH etkisi.....	54
3.2.1.2. ATF'nin HRP katalizli giderimine reaksiyon süresinin etkisi.....	54
3.2.1.3. ATF'nin HRP katalizli giderimine HRP konsantrasyonunun etkisi.....	55
3.2.2. BHA'nın giderim çalışmaları.....	56
3.2.2.1. BHA'nın HRP katalizli giderimine pH etkisi.....	57
3.2.2.2. BHA'nın HRP katalizli giderimine reaksiyon süresinin etkisi.....	57
3.2.2.3. BHA'nın HRP katalizli giderimine HRP konsantrasyonunun etkisi.....	58
3.2.3. AF giderimi çalışmaları	59
3.2.3.1. AF HRP katalizli giderimine pH etkisi.....	60
3.2.3.2. AF'ün HRP katalizli giderimine reaksiyon süresinin etkisi.....	60
3.2.3.3. AF'ün HRP katalizli giderimine HRP konsantrasyonunun etkisi.....	61
3.2.4. MF giderimi çalışmaları.....	62
3.2.4.1. MF'nin HRP katalizli giderimine pH etkisi.....	63
3.2.4.2. MF'ün HRP katalizli giderimine reaksiyon süresinin etkisi.....	63
3.2.4.3. MF'ün HRP katalizli giderimine HRP konsantrasyonunun etkisi.....	64
3.2.5. PKF giderim çalışmaları	65
3.2.5.1. PKF'nin HRP katalizli giderimine pH etkisi.....	66
3.2.5.2. PKF'nin HRP katalizli giderimine reaksiyon süresinin etkisi.....	67
3.2.5.3. PKF'nin HRP katalizli giderimine HRP konsantrasyonunun etkisi.....	68
4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER	69
KAYNAKLAR	70

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
1.1. (a) Bir tek oktahedral birim ve (b) oktahedral birimlerin Alümina tabaka yapısı.....	8
1.2. (a) Bir tek silika tetrahedron ve (b) silika tetrahedronlarının tabaka yapısının hekzagonal ağ şeklinde düzenlenmesi	8
1.3. Simektit Minerallerinin Yapı Diyagramı	12
1.4. Alkil amonyum iyonunun tabakalı killerde farklı tabakalar halinde yönelmesi	23
1.5. Organik olarak modifiye killerin polimerik öncül gruplar ile etkileşimi.....	23
1.6. Polimer ve tabakalı killerin etkileşimi sonucu olabilecek kompozit yapılar	24
1.7. Peroksidazların gerçekleştirdiği reaksiyonlar	26
1.8. HRP 'nin yapısı. Hem (mavi) iki kalsiyum iyonu (kırmızı), arjinin yeşildir. Proximal bölgedeki histidin hemin altında ve distal bölgedeki histidin hemin üstündedir. Histidinler sarı olarak gösterilmiştir	31
1.9. HRP enziminin mekanizması.....	31
3.1. (a) Simektit, (b) kuartamin modifiye organosimektit (QS), (c) klorometilstiren ve stiren içeren kuartamin modifiye organosimektit (PS/QS) FTIR spektrumları	42
3.2. Simektit (S), organosimektit (QS) ve polistiren/organosimektit (PS/QS) yapılarının XRD spektrumları.....	44
3.3. Sırasıyla 4-Aminotiyofenol (a), Kilsiz ortamdaki P(ATF) (b), Organosimektitli ortamdaki P(ATF)'nin (c) FT-IR Spektrumları	45
3.4. Organosimektitin (QS) ¹³ C CP/MAS NMR spektrumu	46
3.5. Simektit kilin 4-aminotiyofenolle etkileştiğinde ¹³ C CP/MAS NMR spektrumu.....	47
3.6. Organosimektitin nanogalerilerinde polimerleşen 4-aminotiyofenol'e ilişkin ¹³ C CP/MAS NMR spektrumu.....	48
3.7. Polistiren bazlı nanokompozitin (PS/QS) nanogalerilerinde polimerleştirilen 4-aminotiyofenol yapısının ¹³ C CP/MAS NMR spektrumu	49
3.8. Nanokatmanlarda gerçekleştirilen modifikasyonlar	50

3.9. P(ATF) oligomerinin MALDI-TOF MS spektrumu (m/e:49-2001,0).....	52
3.10. P(ATF) oligomerinin MALDI-TOF MS spektrumu (m/e:50-50001).....	52
3.11. 4-Aminotiyofenol'ün gideriminin Simektit (S), Organosimektit (QS) ve polistiren organosimektit (PS/QS) kullanılarak karşılaştırılması.....	53
3.12. 4-Aminotiyofenol'ün sulu çözeltideki enzimatik polimerizasyonunun şematik gösterimi	54
3.13. pH'ın 4-Aminotiyofenol'ün giderimine etkisi	54
3.14. 4-Aminotiyofenol'ün giderimine zamanın etkisi	55
3.15. HRP miktarının 4-Aminotiyofenol'ün giderimine etkisi	56
3.16. BHA'nın giderimine kilsiz, simektit (S), organosimektit (QS) ve polistiren organosimektit (PS/QS) ortamlarının etkisi	56
3.17. BHA'nın sulu çözeltideki enzimatik polimerizasyonunun şematik gösterimi	57
3.18. pH'ın BHA'nın giderimine etkisi	57
3.19. BHA'nın giderimine zamanın etkisi	58
3.20. HRP miktarının BHA'nın giderimine etkisi	59
3.21. 4-Aminofenol'ün gideriminin Simektit (S), Organosimektit (QS) ve polistiren organosimektit (PS/QS) kullanılarak karşılaştırılması.....	59
3.22. 4-Aminofenol'ün sulu çözeltideki enzimatik polimerizasyonunun şematik gösterimi.....	60
3.23. pH'ın 4-Aminofenol'ün giderimine etkisi	60
3.24. 4-Aminofenol'ün giderimine zamanın etkisi	61
3.25. HRP miktarının 4-Aminofenol'ün giderimine etkisi	62
3.26. 4-Merkaptofenol'ün gideriminin Simektit (S), Organosimektit (QS) ve polistiren organosimektit (PS/QS) kullanılarak karşılaştırılması.....	62
3.27. 4-Merkaptofenol'ün sulu çözeltideki enzimatik polimerizasyonunun şematik gösterimi.....	63
3.28. pH'ın 4-Merkaptofenol'ün giderimine etkisi	63
3.29. 4-Merkaptofenol'ün giderimine zamanın etkisi.....	64
3.30. HRP miktarının 4-Merkaptofenol'ün giderimine etkisi.....	65

3.31. Pentaklorofenol'ün gideriminin Simektit (S), Organosimektit (QS) ve polistiren organosimektit (PS/QS) kullanılarak karşılaştırılması.....	66
3.32. Pentaklorofenol'ün sulu çözeltideki enzimatik polimerizasyonunun şematik gösterimi.....	66
3.33. pH'ın Pentaklorofenol'ün giderimine etkisi	67
3.34. Pentaklorofenol'ün giderimine zamanın etkisi	67
3.35. HRP miktarının Pentaklorofenol'ün giderimine etkisi	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

1.1. Simektit minerallerinde tabaka boyunca yük dağılımı	12
--	----

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AF	: 4-Aminofenol
ATF	: 4-Aminotiyofenol
BHA	: Bütillenmiş Hidroksi Anisol
BOİ	: Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı
CCP	: Coprinus Cinereus Peroksidaz
CE	: Elektrokimyasal Kapiler Elektroforez
CPO	: Kloro Peroksidaz
CP/MAS	: Çapraz Polarize-Sihirli Açık Dönmesi
CHCA	: α -siyano-4-hidroksi sinnamik asit
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EPA	: Çevre Koruma Kurumu
FTIR	: Fourier Transform Infrared Spektroskopisi
GC	: Gaz Kromatografisi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HRP	: Horseradish (yaban turpu) Peroksidaz
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
MALDI-TOF-MS	: Matris Yardımcılı Lazer Desorpsiyon İyonizasyon Uçuş Zamanlı Kütle Spektroskopisi
MF	: 4-Merkaptofenol
MIP-ES	: Mikrodalga İndüklenmiş Plazma Emisyon Spektroskopisi
MS	: Kütle Spektroskopisi
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
PEG	: Polietilen Glikol
PS/QS	: Polistiren Modifiye Organosimektit
PKF	: Pentaklorofenol
QS	: Kuartamin Modifiye Organosimektit
S	: Simektit
TO	: Tetrahedral-Oktahedral
TOT	: Tetrahedral-Oktahedral-Tertahedral
UV	: Ultra-Viyole Spektroskopisi

XRD : X-Işını Difraksiyonu

1. GİRİŞ

Suyun, hastalık yapıcı mikroorganizmalardan, toksik maddelerden, organik maddelerin ve minerallerin aşırı miktarlarından yoksun olması istenir. Ayrıca koku, tat ve renk açısından da uygun olmalıdır. Kimyasal maddelerin pek çoğu, içme suyu kaynaklarında belirli derişimlerin üzerinde bulunurlarsa sağlık açısından tehlike oluşturabilirler. Sudan kirlilik verici maddelerin uzaklaştırılması problemi önemlidir ve hızlı sanayileşme sonucunda su kaynaklarının endüstriyel atıklarla her geçen gün artarak kirlenmesi nedeniyle daha da önemli hale gelmektedir. Endüstriyel atıklar arasında özel bir yeri olan toksik özelliklere sahip fenoliklerin çevre sularında bulunması birçok yaşam türü için önemli tehlike oluşturmaktadır. Sularda bulunan organik kirleticiler biyolojik bozunmaya uğrarlar. Fenol ve fenol bileşiklerinin plastik, boya, ilaç, antioksidan, kâğıt ve petrokimya sanayinde çok kullanılması, bu bileşiklerin sulu ortamda bulunmasına neden olmaktadır. Bu bileşiklerin çok az miktarının bile su ve balıkların koku ve tatlarını etkilemeleri ve toksisiteleri nedeni ile tayinleri ve uzaklaştırılmaları oldukça büyük önem taşımaktadır.

Fenoliklerle kirlenmiş atıklar için iyileştirici prosesler kimyasal çöktürme, membran filtrasyonu, iyon değişimi, karbon adsorpsiyonu ve birlikte çökme adsorpsiyonu olarak verilebilir. Büyük miktarlarda kullanılabilir doğal maddeler, endüstriyel ve zirai operasyonlardan belli atık ürünler potansiyel ucuz sorbentler olabilirler. Bunlar düşük maliyetlerine rağmen kullanıldıktan sonra pahalı rejenerasyon işlemleri gerektirirler. Maliyet, sorbent maddeleri karşılaştırırken önemli bir parametredir. Buna karşın, maliyet bilgileri nadiren belirtilir ve bireysel sorbentlerin fiyatı uygulanması gereken proseslerin derecesine ve yerel kullanılabilirliğine bağlı olarak değişir. Genel olarak bir sorbent çok az işlem gerektiriyorsa, doğal olarak bolsa, yan ürün veya atık olarak başka bir endüstriden elde ediliyorsa düşük maliyetli olarak tanımlanabilir.

Kuzey Anadolu killeri ağırlıklı olarak simektit grubu minerallerinden oluşmaktadır. Simektit anyon ve katyonları adsorplama ve onları değiştirilebilir halde tutma özelliğine sahiptir. Simektit mineralleri bir sulu çözelti içinde benzer türdeki iyonlarla muamele edildiklerinde bu iyonlar diğer anyon ve katyonlar için

değiştirilebilirlerdir. Değişim reaksiyonu stokiyometriktir ve bu yüzden basit tutunmadan farklıdır. Bu değiştirilebilir iyonlar silika-alümina kil mineral yapı birimlerinin dış çevresinde tutunurlar ve değişim reaksiyonu genellikle silika-alümina paket yapısını etkilemez. Doğal olarak oluşmuş bazı kil mineralleri fenoliklerin uzaklaştırılması için maliyeti düşük, işe yarar sorbentler olarak kullanılabilir. Kil minerallerinin adsorpsiyon kapasitesi genellikle sentetik sorbentlerden daha düşük olduğundan adsorpsiyon kapasitelerini arttırmak gereklidir ve inorganik ile organik bileşikler, asitler ve bazlarla muamele edilerek modifiye edilebilirler. Organo killer ve son zamanlarda özellikle polimer kil nanokompozitleri, yeryüzü suyundaki organik kirlilik adsorbanları, kaplama ve boya gibi birçok uygulamalarda dikkat çekmektedir. Kilin inorganik nanokatmanlarına yerleştirilebilen fonksiyonel gruplar ve monomerler sayesinde kompozitlere dayalı primer fonksiyonel materyallerin yeni bir sınıfı oluşturulabilir.

Nanokompozitler monomerlerin organik moleküllerle modifiye edilmiş kil nanokatmanlarında ve doğrudan çözültiden ilave edilerek polimerizasyonu ile elde edilirler. Bu malzemeler yeni katalizler, yeni algılama materyalleri ve gelişmiş ayırma ortamlarının tasarımında gerçekleştirilebilecek potansiyel uygulamalar için faydalı ve yeni bir teknolojik malzeme sınıfını oluşturmuşlardır.

Diğer yandan enzimatik polimerizasyonda, Horseradish Peroksidaz (HRP) hidrojen peroksitle fenoliklerin oksidasyonunu katalizler ve fenoksi radikalleri oluşur. Bu radikaller daha büyük oligomerler için birleşirler ki bunlar suda çözünmez ve filtrasyon ya da çökme ile kolaylıkla ayrılabilir.

Bu tezde, simektit (S), kuartamin modifiye organosimektit (QS) ve polistiren modifiye organosimektit (PS/QS) kullanarak sulu çözültülerden bütillenmiş hidroksi anisol (BHA), 4-aminofenol (AF), 4-aminotiyofenol (ATF), 4-merkaptofenol (MF) ve pentaklorofenol (PKF) fenoliklerinin enzim temelli polimerizasyonla giderimlerine pH, zaman, horseradish (yaban turbu) peroksidaz (HRP) miktarı gibi parametrelerin etkileri ortaya konulmuştur. Bu amaçla, fenoliklerin sulu çözültülerinden HRP enzimi varlığında polimerleştirilmeleri yoluyla giderimleri, sulu çözültülerde azalan BHA, AF, ATF, MF ve PKF

derişimleri ortaya konularak belirlenmiştir. Ayrıca model fenolik olarak seçilen ATF ile karakterizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

1.1. Fenolikler

Benzen hidrojenlerinden biri veya birkaçı yerine hidroksil (-OH) gruplarının girmesiyle türeyen bileşiklere fenoller denir. Karbolik asit veya hidroksi benzen de denilen fenoller, çok yönlü organik bileşiklerdir. Benzen molekülünden bir hidrojen çıkarılmasıyla geriye kalan köke (C₆H₅-) alkil ismine izafeten "Fenil" ismi verilir. Fenil kökü, alkil kökünün tersine asitleştirici gruptur. Girdiği molekülün eşitlik özelliğini artırır. Bu bakımdan fenollerin bünyelerinde hidroksil grupları bulunmasına rağmen, eşitlik özelliği gösterirler.

Basit fenoller maden kömürü katranından elde edilirse de bugün ucuz olarak benzenden sentez edilmektedir. Fenollerin değeri molekülündeki hidroksil sayısına bağlıdır. Bir hidroksil varsa 1, iki hidroksil varsa 2 değerlidir. Fenollerin en basiti Fenik asit (C₆H₅OH) dir. İsmine sadece "fenol" de denir. Sıvı ve buhar halinde iken özel kokuya sahip zehirli bir maddedir. Dezenfektan olarak kullanılır.

Fenollerin sudaki eriyikleri, demir (3) klorür eriyiği ile mavi renk meydana getirir. Fenolün sudaki eriyiğine brom suyu damlatılırsa (2, 4, 6) tribrom fenolden ibaret renksiz, kristal yapılu bir çökelek meydana gelir. Bu ayırım fenol için hassastır.

Fenoller aromatik bileşikler arasında en önemlisi olarak bilinir. Başlıca 3 tipte bulunabilirler.

Monohidroksifenoller: Aromatik bileşikler arasında en önemli organikler olarak bilinirler. Bu madde içerdiği hidroksil nedeniyle ilk bakışta alkol izlenimi verse de suda çok sınırlı olan ($K_a=1,2 \cdot 10^{-10}$) hidrolizi sırasında az miktarda H⁺ ve fenil köküne ayrışır ve bu nedenle zayıf bir asit gibi davranır. Derişik çözeltilerde bakteriler için şiddetli zehir olduğundan, eskiden böcek öldürücü ve dezenfektan maddelerin öldürücü gücü fenole kıyasla verilmekteydi.

Kresoller: Fenollerin diğeri homolog serisi kresollerdir. Kömür katranında bulunurlar ve böcek öldürücü özellikleri vardır. Kresollerin 3 türü

mevcuttur; ortokresoller, metakresoller ve parakresoller. Bazı kresollerin karışımı olan lizol, dezenfeksiyon maddesi olarak satılır. Bu öldürücü etki nedeniyle kresol içeren sanayi sularının biyolojik yöntemlerle arıtılması güç olup, 250 mg/L'ye kadar zehirli etkisi yoktur.

Polihidroksifenoller: Dihidroksifenollerin 3 izomer şekli vardır. Hepsin de fenole alıştırılmış aktif çamur tesislerinde kolaylıkla okside edildikleri gösterilmiştir. Trihidroksifenollere örnek olarak Pirogallol (1,2,3, trihidroksibenzen) verilebilir (Anonim, 2006).

1.1.1. Fenoliklerin sağlığa etkileri

Doğal ve antropojenik bileşiklerin biyolojik özelliklerinin önemi, günlük yaşamda insanların maruz kaldığı etmenlerin olası sağlık riskleri ve faydalı etkilerine bağlıdır. Bütün bitkilerde bulunan, gıda katkı maddesi olarak ve miligram mertebesinde yemeklerde kullanılan fenolik bileşikler bu görüş açısından dolayı karmaşık bir sistemdir. Diğer taraftan fenoller test sistemlerinin büyük bir kısmında DNA çift sarmal bozunması, DNA bileşenleri, mutasyon ve kromozom hatalarına sebep olur. Başka bir deyişle bunlar in vivo olduğu gibi in vitro çalışmalarda kansere yol açan bileşiklerin genotoksik aktivitesini baskılar. Beslenmeyle ilgili fenollerin kanserojenik çalışmalarından veya tam tersi antikanserojenik potansiyellerinden dolayı çift işlevleri vardır. Bazı fenoller prekanseröz doku yapısı değişikliklerini, papillom ve kanser veya yardımcı kanser yapıcı olarak hareket etmelerini teşvik ederler. Ancak başlama ve yükselme safhalarında karsinogenezin güçlü inhibitörleri gibi diğer türleri de vardır (Rappoport, 2003).

Türk içme suyu standartlarında suda bulunabilecek fenol miktarının maksimum değeri 0,002 mg/L olarak verilmiştir (Anonim, 2006). Fenoller protoplazmik zehir olduklarından tüm canlı hücre türlerine zarar verirler. Fenollerin öldürücü dozları deri tarafından adsorplanabilir. Fenol varlığı suda tat ve koku olarak anlaşılabilir (0,01–0,1 mg/L). Fenol içeren suların içilmesi şiddetli böbrek bozukluklarına, ağır sarsıntılara ve hatta ölümlere neden olabilir. Klor içeren fenollerin zehirleyici etkisi ise izomere bağlı olarak değişim gösterir.

Klorlu fenollerin çoğu deride ve gözde oldukça yıpratıcı özelliğe sahiptir ve zehirleyici miktarları deriden adsorplanabilir (Yener, J. ve Aksu Z., 1999).

Fenol ve bağlı (substituted) fenoller çevre kirlenmesi açısından önemli yer tutmaktadır. Bu kimyasallar plastikler, boyalar, ilaç ve antioksidan üretimi, kâğıt ve kâğıt hamuru gibi bir çok endüstriyel sürecin bir bileşeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Pek çok fenol bileşiği biyolojik sistemler üzerinde zehirli ve tehlikeli etkiye sahip olup sular vasıtasıyla besin zincirine girmektedir. Fenollerin 1 ppb'den düşük seviyeleri bile suyun tat ve koku özelliklerini değiştirebilmektedir. Endüstriyel atıkların yüzey sularına karışması ile tabiatta doğal fenol polimerlerinin biyolojik parçalanma dengesi de olumsuz yönde etkilenmektedir. Bu anlamda daha çok çiftlik atıkları içerisinde bulunan humik asit, tannin ve lignin gibi doğal fenol polimeri yapıları ek olarak çeşitli pestisitlerden organofosforlu insektisitler, klorlu fenoksi asitlerin parçalanma ürünleri olarak klorlu ve nitrolu bileşikler sulara karışmaktadır. Fenolik bileşiklerin canlı türler için ne kadar zararlı oldukları gayet iyi bilinmektedir. Fenoller doğal membran yapısına kolaylıkla nüfuz ederek genotoksik, mutajenik ve hepatoksik etkiler göstermekte, respirasyon ve fotosentezin kataliz mekanizmasını olumsuz yönde etkilemektedir. Tüm bu nedenlerle fenollerin çevre açısından buldukları ortamda miktarlarının ve yerine göre türünün belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Fenollerin kantitatif analizi için kullanılan başlıca standart metotlar; yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC), elektrokimyasal kapiler elektroforez (CE), kâğıt elektroforezi, ince tabaka kromatografisi, gaz kromatografisi (GC), gaz kromatografisi kütle spektrometri metodu (GC-MS), UV ölçümlü ince tabaka kromatografisi ve mikrodalga indüklenmiş plazma emisyon spektroskopisi (MIP-ES) teknikleridir.

Fenolün geri kazanımı gerek suların arıtımı gerekse endüstrinin çeşitli kollarında kullanılan bir madde olarak, üretim ekonomisine yeniden kazandırılmasını sağlamakla birlikte oldukça pahalı bir işlemdir. Yalnızca fenol arıtımının önerildiği durumlarda biyolojik yöntemler kullanılır. Biyolojik arıtma; biyofiltreler, aktif çamur yöntemi, uzun havalandırılmalı aktif çamur sistemleri ve doğal sulama yatakları şeklinde farklı yöntemlerle uygulanabilmektedir.

1.1.2. Fenollü atıksuların kaynakları

Fenollü atıksuların oluşmasına yol açan endüstriyel faaliyetler arasında, yağ rafinerileri, kimyasal tesisler, patlayıcı üreticileri, reçine üretimi ve kok fırınları önemli yer tutmaktadır. Fenol içeren atıksuların diğer kaynakları arasında orlon üretimi, kâğıt üretim tesislerinde kostik havalı temizleyiciler, azot işleme, tekstil fabrikaları, fiberglas üretimi, dökümhaneler ve kullanılmış kauçukların geri kazanıldığı tesisler gösterilebilir. İçme ve besin endüstrisi sularında fenolün bulunması suyun tadını bozar. Fenol içeren su klorlandığında zehirli poliklorlu fenoller oluşur. Çevre Koruma Kanunu (EPA) yüzey sularının 1 ppb'den az fenol içerebileceğini belirtmektedir. Karbonizasyon prosesi sırasında suya önemli miktarda fenol karışmaktadır. Demir çelik fabrikaları, kok ve havagazı üretim tesisleri karbonizasyon prosesi ile işletilmektedir.

1.1.3. Fenol giderme yöntemleri

Fenollü atıksuların arıtılması için çeşitli arıtma teknolojileri vardır ve çoğu zaman bu metotların uygulanması birbiri içine girmektedir. Hem fizikokimyasal hem de biyolojik arıtım yöntemleri endüstriyel ölçekli tesislerde başarıyla uygulanmakta ve oldukça iyi arıtım verimlerinin elde edildiği bildirilmektedir. Biyolojik arıtım, çözünmüş organik maddelerin mikroorganizmalar tarafından parçalanarak giderilmesi işlemidir. Birçok bakteri ve mantar aromatik bileşikler karbon ve enerji kaynağı olarak kullanmaktadır. Yeterli bir biyolojik arıtım verimi elde edilebilmesinin temel koşulu, toksik madde konsantrasyonunu belirli bir seviyede tutmaktır. Tesislerdeki en önemli işletme problemlerinden biri buradan kaynaklanır. Toksik madde limit değerleri tesisin toplam organik madde içeriğine ve işletme verimine bağlıdır. Yapay biyolojik arıtma yöntemleri için 150–160 mg/L'lik bir fenol konsantrasyonu limit olarak verilmektedir. Doğal biyolojik arıtma (sulama ve filtre yatakları) için limit 125–500 mg/L fenoldür. Bununla birlikte iyi bir arıtma veriminin elde edilebilmesi için katran ve yağların tamamen, azotlu bileşiklerin ise kısmen

giderilmesi gerekir. Gerek yağ gerekse bazı azot bileşikleri mikroorganizmaların gelişimi açısından olumsuz etki yaratabilirler.

Kok ve havagazı fabrikalarından kaynaklanan fenollü atıksuların arıtımında iki kademeli damlatmalı filtreler kullanılır. Filtre yatağı yüksek fırın cürufu veya granit mıcırı ile doldurulur. Birinci filtre yatağına gelen maksimum fenol yükü 800 mg/L'yi aşmamalıdır.

Fenollü atıksuların arıtımında aktif çamur yöntemi de kullanılmaktadır. Bunun için fenollü atıksulara evsel atıksu ilavesi gereklidir. Fenol içeriğinin artmasına bağlı olarak gerekli hava miktarı ve havalandırma süresi de artar. Fenollü atıksuların yapay biyolojik arıtımında, organik madde konsantrasyonu, pH ve başlangıçta belirtilen arıtma derecesi önemli faktörlerdir. Havalandırma havuzlarına gelen fenol yükü 600 mg/L'ye kadar yükselmektedir. Fenollü atıksuların arıtımı için biyolojik arıtma sistemleri dizayn edilirken sadece fenol değil Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı (BOİ) ve Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) değerleri de dikkate alınır. Biyolojik arıtıma verilebilecek maksimum fenol konsantrasyonu tesisin tipine ve kapasitesine bağlıdır. Organik yükleme, damlatma filtrelerinde günlük olarak 400–500 g BOİ/m³, aktif çamur tesislerinde ise 1000–1200 g BOİ/m³ değerlerini aşmamalıdır. Biyolojik ve biyokimyasal fenol giderme yöntemleri daha önce bahsedilen geri kazanım proseslerine göre daha pahalıdır. Kimyasal oksidasyon yöntemlerine göre ise daha ekonomiktirler. Yine de endüstriyel atıksuların arıtımında en az tercih edilen yöntemler olarak bilinirler (Anonim, 2006).

1.2. Killer

1.2.1. Sorbent olarak kil mineralleri

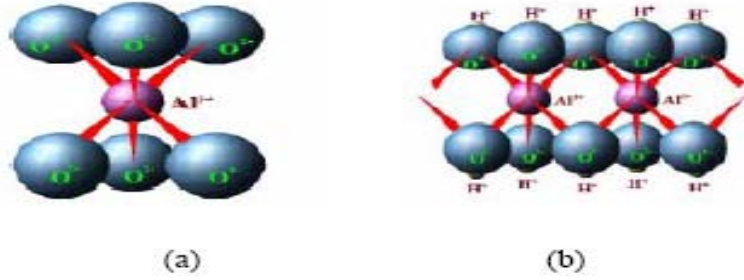
Kil mineralleri kimyasal olarak sulu alüminyum silikatlar şeklinde tanımlanırlar. Alüminyuma ilave olarak killer özellikle magnezyum ve demir de içerir. Bazıları ise hiç alüminyum bulundurmaz. Killerin basit formülleri H₄Al₂Si₂O₉ (kaolin) ve HAlSi₂O₉ (montmorillonit) şeklinde yazılabilir. Ancak bunlar pratik olarak minerallerin yapısı hakkında hiçbir şey ifade etmez. Killerin

basit formülleri Si/Al oranındaki değişimi, su miktarı değişimini ve genellikle magnezyum, demir, kalsiyum ve alkali metallerin bağıl miktarlarını gösterir. Bileşim ve özellikler arasındaki bağımlılık küçüktür. Çeşitli elementleri benzer oranda olan iki kil farklılıklar gösterebilirken diğer taraftan çok farklı bileşimlerdeki killer çarpıcı şekilde benzer özellik gösterebilirler. Yalnızca kimyasal analizler killerin tanımlanmasında yeterli olmadığından yapısal inceleme de gerekmektedir.

Karakteristik olarak kil mineralleri aşırı derecede ince tanelidir, bu nedenle adi mikroskoplar kristal morfoloji çalışmaları için yetersizdir. Killeri hakkında modern bilgilerin çoğu XRD kameraları ve elektron mikroskopları yardımıyla elde edilmiştir. Bu cihazlar ile kil yapısının genel modelleri yorumlanmakta, kimyasal bileşimdeki anormallikler açıklanmakta ve kil minerallerinin sınıflandırılması yapılmaktadır (Krauskopf, Bird, 1995).

1.2.1.1. Oktahedral ve tetrahedral tabakalar

Kil mineralleri (birkaç istisna ile) mikalar gibi sürekli tabakalı yapıdaki fillosilikatlardır.



Şekil 1.1. (a) Bir tek oktahedral birim ve (b) oktahedral birimlerin Alümina tabaka yapısı



Şekil 1.2. (a) Bir tek silika tetrahedron ve (b) silika tetrahedronlarının tabaka yapısının hegzagonal ağ şeklinde düzenlenmesi

Killer iki tür tabakadan oluşan karakteristik bir yapıya sahiptirler. İlk tabaka Al^{3+} , O^{2-} , ve OH^- iyonlarından ibarettir. Negatif iyonlar Al^{3+} etrafında oktahedral oluşturur, tüm yapının valanslarını ayarlamak için bağlı sayıdaki O^{2-} , ve OH^- bitişik oktahedraller arasında paylaşılmıştır. Böylece yapı iki boyutta süreklidir (Şekil 1.1).

Bu model gibbsitin $[Al_2(OH)_6]$ yapısı ile aynıdır. Bu nedenle sık sık kilin yapısı “gibbsit tabakası” veya “oktahedral tabaka” şeklinde söylenir. İkinci tür tabaka Si^{4+} , O^{2-} ve OH^- iyonlarından oluşmuştur. Her bir Si^{4+} , oksijen iyonlarının oluşturduğu bir tetrahedronun merkezindedir. Tetrahedron’un tüm yüzeyi aynı yönde ve oksijenler onların bazılarında hegzagonal halkaları oluşturmak üzere bağlıdır (Şekil 1.2).

Bu tabaka kil yapısının “silika tabakası” veya “tetrahedral tabakası”dır. Kompleks kil yapısı oktahedral ve tetrahedral tabakaların birkaç olası bileşiminden ibarettir. En basit bileşim kaolinitin katman yapısıdır; bir tek oktahedral tabaka bazı oksijen atomlarının paylaşımı ile bir tek tetrahedral tabakaya bağlanmıştır. İki katman sınırsız olarak iki boyutta genişler ve bu katmanların bir dizisi üst üste gelerek kil kristali oluşmuştur (Krauskopf, Bird, 1995).

1.2.1.2. Kaolinit ve montmorillonit

Kaolinit için geleneksel formülün, $Al_4Si_4O_{10}(OH)_8$, henüz tartışılan katman düzenlemesinin bir kısaltması olduğu açıktır. Montmorillonit için geleneksel formül $Al_4(Si_4O_{10})_2(OH)_4$ ’dür, ancak daima adsorplanan suyun olması sebebiyle daha doğru bir formül, $Al_4(Si_4O_{10})_2(OH)_4.nH_2O$ şeklindedir.

Kil yapısının birim katmanları birbirinin üzerinde sıralanmıştır. Sıralanma geometrisindeki farklılıklar, farklı özellikte killeri ortaya çıkarmıştır. Örneğin hidrotermal kil mineralleri dicket, nacrite ve kaolinit gibi aynı iki katmanlı yapıya sahiptir, fakat bir katmanın pozisyonu diğerine göre farklıdır.

Kil minerallerinin yapılarında teorik olarak birçok izomorfik yer değiştirme olabilir, bunun nedeni görünüşte koordinasyon sayıları 4 ve 6 olan Si^{4+} ve Al^{3+} ’ün diğer iyonlarla yer değiştirebilmeleridir. Bu düşünce montmorillonit

killerinde tam olarak doğru olmasına karşın kaolinitte böyle değildir. İzomorfik yer değiştirmenin miktarındaki bu farklılık, iki yapı türü arasındaki diğer önemli farklılıklardandır. Kaolinit daima yaklaşık ideal formülü $Al_4Si_4O_{10}(OH)_8$ olan bir bileşime sahiptir fakat montmorillonit aşırı yer değiştirme sebebiyle asla $Al_4(Si_4O_{10})_2(OH)_4$ ideal formülüne sahip değildir. Genel yer değiştirme montmorillonitin tetrahedral tabakalarındaki Si^{4+} yerine Al^{3+} 'ün geçmesidir ve yer değiştirme miktarı yaklaşık %15 ile sınırlıdır. Oktahedral tabakalarda daha fazla yer değiştirme mümkündür ve herhangi bir yerde yer değiştirme miktarı çok küçükten %100'e kadar değişebilir. En genel yer değiştirmeler Mg^{2+} ve Fe^{3+} ve daha nadir olanlar Zn^{2+} , Ni^{2+} , Li^+ ve Cr^{3+} 'dür. Montmorillonit için idealden daha gerçekçi bir formül, $(Al, Mg, Fe^{3+})_4(Si, Al)_8O_{20}(OH)_4.nH_2O$ olabilir.

Si^{4+} yerine Al^{3+} ve Al^{3+} yerine Mg^{2+} 'nin geçmesi montmorillonit katmanlarında bir pozitif yük eksikliğine neden olur. Bu eksiklik OH^- ile O^{2-} 'in yer değiştirmesiyle, oktahedral katmanlar içine fazla katyonların girişiyle (Al^{3+} etrafında ideal yapıda mevcut pozisyonların yalnızca üçte ikisi doludur) ve bireysel katmanların yüzeyi üzerine katyonların adsorpsiyonuyla dengelenebilir. Dengeleme çoğu zaman ikinci yol ile gerçekleşir. Bu yüzden çok sayıda adsorplanmış iyonun varlığı montmorillonit killerinin sabit bir karakteristiğidir. Bu iyonlar kil yapısına zayıf olarak tutunmuşlardır ve diğerleriyle hemen yer değiştirebilirler. Bu yüzden montmorillonit kili tipik olarak iyon değişimi için yüksek bir kapasiteye sahiptir.

1.2.1.3. İllit ve muskovit

Montmorillonit tarafından çok kuvvetli olarak tutulan iyonlardan biri de potasyumdur. K^+ , kil yapısının katmanları arasında sıkıca tutunabilecek büyük bir iyondur. Killerde bir pozitif yükün eksikliği nedeniyle tetrahedral tabakalarda özellikle K^+ sıkıca tutunur, bu sebeple bunun yalnızca bir kısmı diğer iyonlarla yer değiştirebilir. Bu killer ardıl katmanlar ile K^+ iyonlarını tuttuklarından montmorillonit'ten farklı özelliklere sahiptir ve bunlara illit ismi verilmiştir. (Avrupa literatüründe sıkça kullanılan "hydromica" terimi pratik olarak eş anlamlıdır). İllit yapısı muskovit'e geçiştir. Muskovit'in K^+ miktarı daha fazladır,

Si ve Al'un miktarları sabit bir ilişkiye dayanır. Montmorillonit, illit ve muskovit arasında yapı farklılığı aşağıdaki ideal formüllerle sembolize edilebilir.

Montmorillonit: $Al_4Si_8O_{20}(OH)_4$

İllit: $K_{0.2}Al_4(Si_{8.6}Al_{0.2})O_{20}(OH)_4$

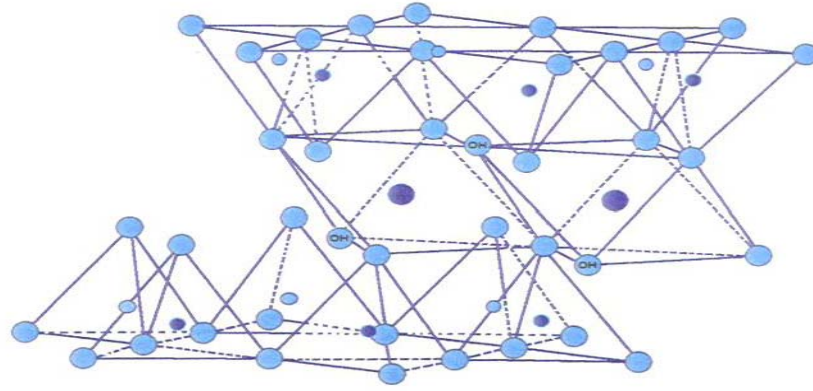
Muskovit: $K_2Al_4(Si_6Al_2)O_{20}(OH)_4$

Bundan dolayı "illit" terimi belirli bir mineral için kullanılan bir isimden daha çok montmorillonit ve muskovit arasında orta bileşimlerdeki maddeler grubunun adıdır. Gerçekte son çalışmalarda, ya ince tanecikli montmorillonit ve muskovitin mekanik bir karışımı ya da montmorillonit ve muskovit yapısını içeren karışık katmanlara sahip bir kilin illit olarak adlandırılması önerilmiştir. Bununla birlikte mika, formülüne göre daha az potasyum içeren kil minerallerini belirtmek için genel bir terim olarak uygundur (Albayrak, 1990).

1.2.1.4. Simektit

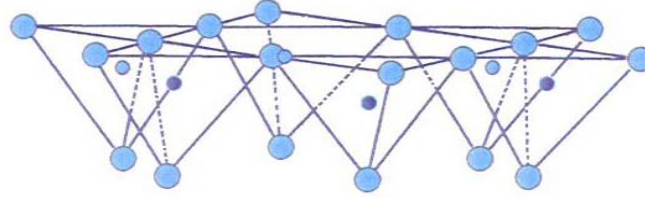
Simektit bir merkez oktahedral alüminyum tabakası ile iki tetrahedral silika tabakalarından yapılmış birimlerden oluşur. Tetrahedronlar'ın bütün tepeleri aynı yönü gösterir ve birimin merkezine doğrudur. Tetrahedral ve oktahedral tabakalar ortak bir tabaka oluşturmak için her bir silika tabakasının tepe noktaları ve oktahedral tabakaların her ikisinde ortak bulunan atomlar OH yerine O olur. Silika-alümina-silika birimlerinin birleşmesinde her birim birbirlerinin oksijen tabakalarına komşudur.

Simektit yapısının sıra dışı özelliği, su ve diğer polar moleküllerin örneğin belli organik moleküllerin latis genişlemesine neden olan birim tabakaların aralarına girebilmeleridir. Şekil 1.3'de simektit'in bu yapısı diyagramatik çizim olarak gösterilmektedir.



Değişebilir katyonlar

$n.H_2O$



- Oksijen ● Hidroksil
- Alüminyum, Demir, Magnezyum
- ve ● Silikon, bazen Alüminyum

Şekil 1.3. Smektit Minerallerinin Yapı Diyagramı

Tabaka boyunca latis süstituentlerini düşünmeksizin teorik yük dağılımı Çizelge 1.1’de verildiği gibidir.

Çizelge 1.1. Smektit minerallerinde tabaka boyunca yük dağılımı

Tabakada bulunan iyon	Toplam yükü
$6O^{2-}$	12-
$4Si^{4+}$	16+
$4O^{2-}$	10- (Tetrahedral ve oktahedral tabakalardaki ortak tabaka)
$4Al^{3+}(2OH)$	12+
$4O^{2-}(2OH)$	8-
$4Si^{4+}$	16+
$6O^{2-}$	12-
Tabakalar arası H_2O tabakaları veya diğer polar moleküller	

Latis sübtütüsyonunu düşünmeksizin teorik formül $(OH)_4Si_8Al_4O_{20}.nH_2O$ (tabakalar arası) ve tabakalar arası maddeler olmadan teorik bileşim % 66,7 SiO_2 , % 28,3 Al_2O_3 , % 5 H_2O 'dur (Krauskopf, Bird, 1995).

1.2.2. Kil minerallerinin sınıflandırması

Kil mineralleri iki-katmanlı ve üç-katmanlı tipler olmak üzere ikiye ayrılır. Bunlar (kaolinit gibi) bir tetrahedral ve bir oktahedral tabakadan ibaret olanlar ve (montmorillonit ve illit gibi) iki tetrahedral tabaka arasında bir oktahedral tabakaya sahip olanlardır. Genelde kaolinit killeri birbiriyle daha sıkıca bağlı katmanlara sahiptirler ve Si ve Al ile diğer iyonların yer değiştirmesine daha az izin verirler. Kaolinit killeri için bu yapısal farklılıklar daha az iyon değişim kapasitesi ve su adsorplama kapasitesi olarak yansımaktadır. Su adsorplama kapasitesi daha küçük olduğundan plastisite de daha azdır.

İki-katmanlı killer daha ileri olarak gibbsit tabakasında oktahedral alanların dolma derecesine göre sınıflandırılmıştır. Kaolinit mineral gruplarında Al^{3+} etrafında mevcut pozisyonların üçte ikisi doludur (Bu nedenle bunlar 'dioktahedral' killer olarak adlandırılır). Serpentin (veya septechlorite) grubunda Mg^{2+} ve diğer katyonlar etrafında tüm pozisyonlar doludur (yarım birim hücre başına üç, 'trioktahedral' killer). Kaolinit grubu daha ileri olarak ardıl katmanların yığılış şekline göre [kaolinit (bu grubun büyük farkla en genel minerali), dickite, nacrite ve haloysite gibi] alt bölümlere ayrılmıştır.

Üç-katmanlı killer arasında sınıflandırma, tabakaların birbirinden ayrılabilme kolaylığına dayanarak yapılır. İllit ve muskovit gibi bazı killerde tabakalar arasında bulunan K^+ iyonları (-) yüklü katmanların birbirlerine sıkıca tutunmasını sağladığından bu killerin katmanlarının birbirinden ayrılması daha zordur. Montmorillonitlerde ise ardışık katmanlar arasında daha az çekim vardır ve tabakalar birbirinden kolayca ayrılabilir. Çünkü bu tür killerde tabakalar arasında yalnızca Van der Waals kuvvetleri bulunmaktadır.

Simektit grubu olarak adlandırılan bazı killer, katmanları arasında çok miktarda adsorplanmış su bulunduğundan genleşebilir örgülere (latise) sahiptirler. Bu yüzden montmorillonitin suda (veya diğer polar sıvılarda) şişmesi ve çok

büyük iyon değişim kapasitesi dikkat çekecek şekilde görülmektedir. Simektitin bu değişiklikleri bileşimin temeli üzerinde özellikle oktahedral tabakalardaki prensip katyonun doğası ile ayırt edilebilir: montmorillonit (Al), nontronit (Fe^{3+}), saponit (Mg), saukonit (Zn), hektorit (Li). Üç katmanlı killerle ilgili bir mineral vermikulittir. Tüm oktahedral pozisyonları Mg^{2+} ve Fe^{2+} tarafından işgal edilmiştir ve simektitteki olağan halden daha fazla, Si yerine Al yer değişmesi gerçekleşmiştir. Vermikulit daha az şişer, fakat benzer yüksek iyon değişim kapasitesine sahiptir.

Genel bir sınıflandırma olarak yüzeysel bozunma (weathering) ve yakın-yüzey süreçleri (near-surface process) ile üretilmiş diğer birkaç sulu-silikat mineralleri kil mineralleri ile birlikte gruplandırılabilir. Özellikle klorit mineralleri önemlidir, bunların yapısı mika şeklinde katmanlar, [bileşimi, $(Mg,Fe)_6(Si,Al)_8O_{20}(OH)_4$], ile almasıık brusit, [bileşimi, $(Mg,Al)_6(OH)_{12}$], yapısına sahip katmanlardan ibarettir. Bu yapıya diğer bir bakış yolu illit'e benzer şekildedir, ardıl katmanlar K^+ yerine $(Mg, Al)(OH)^+$ iyonları ile bağlıdır. Glaukonit illitin bir değişik halidir. Oktahedral tabakanın alüminyumunun Fe^{3+} ile ve katmanlar arasındaki K^+ 'un Ca^{2+} ve Na^+ ile yer değiştirdiği düşünülebilir. Diğer bir sulu-silikat grubu paligorskit, sepiolit ve attapulgit isimleri ile tanınır. Bunların yapısı tam olarak bilinmemektedir, fakat muhtemelen mika şeklinde katmanlardan daha çok amfibollerin yapısına benzer, silikon-oksijen çift zinciri şeklindedir. Bu minerallerin lifli yapısı, zincir yapının bir yansımasıdır.

Yapının bir diğer karmaşıklığı, kil minerallerinin kristallerinin farklı türde almasıık katmanlardan ibaret olması "karışık katmanlı killer" yüzündendir. Arakatmanlaşma (interlayering) ya düzenli bir modeli izler ya da diğer katmanlardan daha çok tek tür katman veya tamamen gelişigüzel gerçekleşir.

Klorit mineralleri, mika ve brusit katmanlarının düzenli bir değişimine (alternation) sahip karışık katmanlı yapı olarak düşünülebilir. Bazı illitler mika ve montmorillonit'in karışık katmanlı yapısındadır.

Son olarak bazı killerin X-ışınlarına dahi amorf olduğu söylenebilir, bunlara genel olarak "allafon" ismi verilir. Hatta bu killerde bazen oktahedral modeller içinde O ve Al'un ve tetrahedral modeller içinde O ve Si'un sıralanması

mümkündür, fakat bu birimler öyle küçüktür ve biri diğerine göre öylesine zayıf olarak yönlendirilmiştir ki, X-ışınları kırınımını elde edilemez (Albayrak, 1990).

1.2.3. Türkiye’de kil yatakları

Yurdumuz kil yatakları bakımından oldukça zengindir. İstanbul, Bilecik, Zonguldak, Ankara ve Amasya’da dağınık biçimde ve karışık yapıda bulunan kil yataklarının toplam rezervi 225 milyon ton dolayındadır. Marmara bölgesinde; İstanbul, Çanakkale, Balıkesir ve Bursa’da önemli kaolin yatakları bulunmaktadır. En değerli kaolin yatakları Çanakkale’de Çan ve Dumanköy yakınlarında olup rezervi altıyüzbin ton kadardır. İstanbul’daki kaolin rezervleri ise bir milyon ton civarındadır. Seramik sanayimiz de bu bölgelerde yoğunlaşmıştır. Balıkesir’in Bayramiç ve İvrindi ilçelerinde yüksek arılıkta ancak düşük rezervde kaolin yatakları mevcuttur. Bursa Kemalpaşa’da bulunan alümitli kaolin beyaz çimento fabrikalarında kullanılmaktadır. Eskişehir’in Mihaliççik ilçesinde çıkarılan kaolin porselen sanayinde kullanılmaktadır.

Ülkemizde 2-3 milyon ton olarak belirlenen kaolin rezervinin dörtte biri kullanılabilir özelliktedir. Bilecik’in Söğüt ilçesinde İnhisar bucağında çıkarılan plastik özellikte 3 milyon ton kadar geniş bir yatak vardır. Refrakter malzeme, kiremit ve porselen yapımında ve Zonguldak’taki 5-6 milyon ton rezervli plastik olmayan killer, refrakter malzeme yapımında kullanılmaktadırlar.

Önemli bentonit yataklarımız Tokat, Ordu, Çankırı, Edirne, Zonguldak, Nevşehir, Ankara, Amasya, Eskişehir, Kütahya, Balıkesir, Elazığ ve Diyarbakır’dadır. En büyük bentonit yatağı Tokat Reşadiye’dedir. Yurdumuzdaki toplam bentonit rezervi 100 milyon ton dolayındadır.

Doğu Karadeniz bölgesinde Ordu, Giresun, Trabzon, Gümüşhane’de ve Bursa Gemlik’te geniş illit yatakları yanında hektorit de bulunmaktadır. Eskişehir’in Mihaliççik ilçesinde bulunan saponitli killer plastik özellikte olup çanak çömlek yapımında kullanılırlar.

Eskişehir ve yakınlarında dünyanın en önemli sepiolit yatakları bulunmaktadır. Lületaşının çıkarıldığı tek bölge yine Eskişehir’dedir. Türkiye’de

sepiolit Eskişehir ilinden başka Çanakkale, Bursa, Kütahya ve Konya illerinde de bulunmaktadır (Tekin, 1973).

1.2.4. Killerin özellikleri ile yapının ilgisi

Genelde killerin özellikleri tanecik boyutuna bağlıdır. Kil parçacıkları tamamen veya kısmen kolloidal boyutlara sahip olduğundan su içinde uzun periyotlar boyunca süspansiyon halinde kalabilirler. Elektrolitler tarafından floküle edilebilir, çözeltiden iyonları adsorplayabilir ve adsorplanan iyonlar çözelti derişiminde bir değişiklik olduğunda diğerleri ile yer değiştirebilirler. Aynı zamanda küçük boyutlarının etkisi ile kil partikülleri su ve organik maddeleri adsorplama yetenekleri sebebiyle plastik olurlar, diğer bir deyişle ıslandığında biçimlendirilebilirler. Tüm killer belirli derecede bu özelliklere sahip olmasına rağmen kil mineralleri birbirinden önemli ölçüde farklıdır. Kaolinit mineral gurupları yapıdaki katmanların karşılıklı O^{2-} ve OH^- ile sıkıca tutunması, Al^{3+} ve Si^{4+} ile diğer katyonların az yer değiştirmesi sebebiyle diğer killere göre su ve adsorplanabilecek iyonlar için daha düşük kapasite gösterirler. Montmorillonit katmanları daha kolay ayrılabilir ve daha fazla yer değiştirme ile çok miktarda adsorplanmış iyonla sahiptir. Su adsorplama kapasitesi de daha çok olduğundan montmorillonit kaolinit'ten daha plastiktir ve plastisitesi adsorplanan iyonların türüne bağlıdır. Sodyum ve hidrojen montmorillonitlerinin plastisitesi kalsiyum montmorillonitlerinden daha büyüktür. İllit killeri ve kloritlerin yapısal katmanları, kısmen değişmez katyonlarla bağlıdır, orta değerde plastisite ve iyon değişim kapasitesi gösterirler. Vermikulit, montmorillonit kadar iyon adsorplama yeteneğine sahiptir, fakat suyun adsorpsiyonu ile şişme kapasitesi daha sınırlıdır.

Doğadaki birçok kil iki veya daha çok kil mineralinin karışımıdır ve özellikleri ekstremler arasındadır. Bununla birlikte küçük miktardaki bir bileşen tarafından kilin özellikleri büyük ölçüde etkilenebilir. Özellikle bir kilde az bir montmorillonit yüzdesi onun plastisitesini önemli ölçüde değiştirebilir.

Killerin davranışı hakkındaki bilgilerin birçoğu özellikle farklı kil minerallerinin karışımı hakkındadır. Belirgin özellikler genel terimlerle kristal

yapıya bağlanabilir, fakat bileşim ve yapı ile özellikler arasında ayrıntılı bir korelasyon kurulması henüz mümkün değildir (Albayrak, 1990).

1.2.5. Organo-killerin genel özellikleri

Kil mineralleri izomorfoz substitüsyonla meydana gelen silikat tabakalarından oluşur. Alüminyum ve bazen demir tetrahedral tabakada silikonun yerine geçerken demir veya magnezyum oktahedral tabakada alüminyumun yerine geçer. İzomorfoz substitüsyonun bir sonucu olarak killerin sahip olduğu bir negatif yük hidrofilik çevredeki yüzeylerde Ca^{2+} , K^+ ve Na^+ gibi inorganik katyonlar tarafından dengelenir. Tabakalar arası boşluk, kil örnekleri organik maddeler ile organo-kil şeklinde modifiye edildiğinde, kalabalık polar organik moleküller veya organik katyonlar için kullanışlıdır. Kil minerallerini modifiye etmek için birçok işlem vardır: organik katyonlarla iyon değişimi, katyonik komplekslerle ve inorganik katyonlarla iyon değişimi, adsorpsiyon, organik bileşik aşılması. Primer ve kuaternar alkilamonyum, katyonik yüzey aktif maddeleri farklı organo-killere çevirmek için kullanılır. Organik katyonlar mineral yüzeyindeki metal iyonlarını değiştirdiği için metal iyonları çözelti içine serbest bırakılır. Organik katyonlar, tabakalar arasında değişebilen katyonlarla iyon-değişim reaksiyonlarına girebilir. Bu işlemin sonucunda şişme olur. Dağılılabirlik ve arakatman şişme derecesi oktahedral katmanlardan başka aratabakalara göç tarafından etkilenmektedir. Özellikle organo-kil hidrofobik çevrelerinden dolayı nötral organik kirleticilerin uzaklaştırılmasında kullanılır.

1.2.6. Organo-killerin sınıflandırılması

Organo-killer, organofilik killer ve adsorptif killer olmak üzere iki grupta toplanabilirler. Bu sınıflandırma sorpsiyon mekanizması ve sorbent özellikleri bakımından yapılmıştır. Organofilik killer büyük alkil hidrokarbon R gruplarını kapsayan kuaternar amonyum katyonlarının eklenmesiyle sentezlenmiştir. Sentezler organik faza benzer parafinin oluşumuna sebep olur ve tabakalar

arasında ve mineral yüzeyinde sabit kalır. Küçük kuaternar amonyum katyonları kullanıldığı zaman bunlar adsorptif organo-killer olarak tanımlanabilir.

Kil-su sistemlerinde organik maddelerin sorpsiyonunu göstermek için iki mekanizma verilmiştir. Birincisi killerle iyon değişimi, protonasyon, hidrojen bağı, koordinasyon/iyon dipol reaksiyonlarını kapsar. İkinci mekanizma organik madde ve nötral organik kirleticiler arasındaki nonpolar etkileşimleri içeren dağılım proseslerini tanımlar. Kil organik madde içeriği arttığında nötral organik materyal sorpsiyonu da artar (Seki, 2002).

1.2.7. Organo-kil kompleksleri ve etkileşimleri

Kil mineralleri ve organik maddeler arasındaki etkileşimler doğadaki çok yaygın reaksiyonlar arasındadır. Kil mineralleri tarafından organik maddelerin adsorpsiyonu son on yıldır yaygın olarak araştırılmış ve geniş ölçüde incelenmiştir. Etkileşimler polar ve nonpolar moleküllerin adsorpsiyonu ve katyon değişimini içerir. Bu etkileşimlerde ilk işlem adsorpsiyon, fiziksel veya kimyasal bağlarla (sırasıyla uzun ya da kısa mesafe etkileşimleri) organik madde ile mineral arasındadır. Adsorpsiyon reaksiyonlarının çoğunda organik maddeler ve substratlar adsorbe olan türler olarak kil minerallerine yardım ederler. Bu durum organik maddelerden daha büyük kil parçacıkları için doğrudur. Ancak, selüloz gibi çok yüksek molekül ağırlıklı büyük polimerlerin olduğu durumlarda kil parçacıkları organik örgüye yerleşebilir (örneğin; kâğıt).

Birinci adsorpsiyon reaksiyonlarını ikinci işlemler takip eder:

1. Sistemin kolloidal durumu ve kil parçacıklarının kolloidal özellikleri adsorpsiyon sonucunda değişebilir. Organik madde/kil oranı ve organik bileşiğin tipine bağlı olarak parçacıklar, kolloid içinde dağılmış veya topaklanmış olabilir ya da bir macun veya jel şeklinde olabilir.
2. Birinci adsorpsiyondan sonra kil minerallerinin adsorpsiyon özellikleri değişebilir. Kil minerallerinin doğal şekli inorganik değiştirme katyonu ile belli olur ve bu hidrofiliğe katkıda bulunur. Organik katyonlar tarafından inorganik katyonların yer değiştirmesi sonucunda kil hidrofiliği azalır ve organofiliklik artar. Bu yüzden organik katyonların birinci adsorpsiyonunu

nonpolar organik bileşiklerin ikinci adsorpsiyonu takip eder. Başka bir deyişle kil mineralleri tarafından organik moleküllerin adsorplama yetenekleri organik katyonlarla metalik katyonların yer değiştirmesiyle gerçekleşir.

3. Adsorbe olmuş organik bileşiklerin gerçekleştirdiği farklı reaksiyonların aktivasyon enerjileri kil minerallerine adsorpsiyonu sonucunda değişir. Aktivasyon enerjileri azalabilir de artabilir de ve bu nedenle kil substratları farklı organik reaksiyonlarda sırasıyla katalizör veya inhibitör olarak hizmet edebilir (Yariv, S. ve Cross, H., 2002a).

1.2.8. Organo-kil kompleksleri ve çevredeki etkileşimleri

Topraktaki alümina-silikat killeri ve amorf veya kristalin hidrozoksitler başlıca inorganik fazlardır. Doğal organik madde-toprak komplekslerinin kararlılığı ve yapısı Pefferkorn tarafından incelenmiştir (1997). Organik maddeler biyolojik kaynaklardan kaynaklanabildiği gibi endüstriyel insan yapımı atıklardan da kaynaklanabilir. Organo-kil kompleksleri okyanuslar, göller ve nehirler gibi su kitlelerindeki topraklardan ve çökeltilerden elde edilirler. Kil minerallerine organik maddelerin adsorpsiyonu pıhtılaşmayı ve kil minerallerinin kolloidal özelliklerini çok büyük ölçüde etkiler ve bu nedenle çöktürme sistemlerinde meydana gelen aşınma, çöktürme proseslerinde çok önemli bir rol oynar. Mevcut organo-kil komplekslerinin kolloidal durumu, çökeltilerin ve toprakların mekanik özelliklerinde ve morfolojilerinde önemli rol oynarlar. Toprakların geciktirme kapasiteleri parçacık boyutunun azalmasıyla artar.

Toprak-kil bariyerleri altyüzey göçünü minimize etmek veya engellemek için ya da başka bir deyişle uygunsuz kirleticileri çıkarmak için sık sık kullanılırlar.

1.2.8.1. Endüstriyel ve laboratuvar işlemlerinde organo-kil kompleksleri ve etkileşimleri

Bazı endüstriyel proseslerde organik madde ve kil mineralleri arasında etkileşimler meydana gelir. Eski zamanlardan beri killeri giysi temizlemede çoğunlukla da yünlü giysi temizlemek için ve işlenmemiş killeri ve asit aktive killeri tarafından organik maddelerin adsorpsiyonu temizleme, ağartma ve içme suyundaki mineral, bitkisel ve hayvansal yağ, şarap ve diğer içeceklerden kötü tatlı bileşenleri uzaklaştırmaya yardımcı olmak için kullanılır. Genellikle pozitif yüklü aromatik bileşiklere veya pozitif fonksiyonel gruplara sahip organik türler, kil mineralleri tarafından adsorbe edilirler ve sonra organo-kil kompleksleri tarafından ayrılır.

Kil mineralleri organik endüstrisinin farklı ürünlerinde örneğin kaolinit kağıt endüstrisinde kağıt hamuru ipleri ile karıştırılmasında dolgu malzemesi olarak kullanılır. Ayrıca kaolinitin de plastik ve lastik endüstrilerinde dolgu malzemesi olarak kullanılabilme özelliği vardır.

Killer hem yağlı hem de sulu sistemlerde çeşitli organik ürünlerin süspansiyonlarında viskoziteyi kontrol etmek için kullanılır. Ayrıca su veya organik çözücüler ve pigmentler, boyalar viskozite kontrolörleri ve opaklaştırıcı pigmentleri olarak formülasyonlarında killeri bulundururlar.

Çeşitli organofilik simektitler (organo-kil olarak bilinir) genelde boyalarda, yağ bazlı tutkallarda, gres yağlarında ve kozmetik endüstrisi ürünlerinde kıvamlaştırıcı olarak ve aynı zamanda çeşitli organik katılarda jel olarak kullanılır.

Sodyum poliakrilat veya lignin sülfonat gibi organik bileşikler koloidal sistemlerin viskozitesini düzeltmek için delinen balçığa (hectorit veya montmorillonit) eklenir. Kilin viskozitesindeki gelişme kil minerallerinin yüzeyinde kırılan bağlarda lignin sülfonatın veya sodyum poliakrilatın adsorpsiyonuyla sonuçlanır (Yariv, S. ve Cross, H., 2002a).

1.2.8.2. Kil minerallerinin yüzeyindeki organik maddenin adsorpsiyon yerleri

İdeal bir kil minerali kristali paralel TO ve TOT (sırasıyla 1:1 veya 2:1) birim tabakalarından oluşmuş bir hegzagonal bölgedir. Burada T ve O sırasıyla tetrahedral ve oktahedral tabakalardır. Tekli bir kristaldeki birim tabakaların kesin sayısı çeşitli faktörlere bağlıdır. Bunlar; mineralin tipi, oluşumu, kristalin bulunduğu yerdeki jeolojik çevre ve kristal için mekanik davranış uygulamalarıdır.

Kil mineralleri tarafından organik maddelerin adsorpsiyonu organik moleküllerin veya iyonların katı kil mineral partiküllerinin yüzeyine bir gaz veya sıvı fazdan toplandığı bir süreçtir. Bu kation değişimini ve polar ve nonpolar moleküllerin adsorpsiyonunu kapsar. Organik iyonların veya moleküllerin adsorpsiyonu aşağıdaki yüzey yerlerinin birinde veya daha fazlasında meydana gelir:

- (1) TO ve TOT kil minerallerinde açıktaki oksijen kırılma düzlem yüzeylerinde (dış yüzey);
- (2) TO kil minerallerindeki açıktaki hidroksil kırılma düzlem yüzeylerinde;
- (3) “Kırılmış bağlar” yüzeyinde (bütün kil minerallerinde);
- (4) Şişen TOT kil mineralleri ve dioktahedral TO kil minerallerinde tabakalar arasındaki boşluklarda;
- (5) Dış yüzeyde ve kanallarda.

Organik moleküller ya da iyonlar aynı zamanda topaklanmış kil partiküllerinin partikül arası boşluklarında da birikir. Adsorpsiyon işlemi katı yüzeylerinde tutunma yerlerinin yüksek kimyasal potansiyeli sonucu olur.

Adsorpsiyon sürecinin analizinde iki farklı aşama göz önünde tutulmalıdır. Birinci aşama kil yüzeyindeki organik türlerin birikmesidir. Bu aşama kantitatif veriler tarafından analiz edilir ve adsorpsiyon izotermi tarafından ifade edilir. İkinci aşamada etkileşimler kil yüzeyinde adsorbe türler ve fonksiyonel gruplar arasında gerçekleşir. Etkileşimler kovalent, koordinasyon ve H-bağları gibi kısa mesafe tipinde veya elektrostatik (iyon-iyon, dipol-dipol ve

iyon-dipol etkileşimleri), veya Van der Waals etkileşimleri gibi uzun mesafe etkileşimleri olabilir.

Simektit mineralleri bunların yüksek şişme kabiliyetleri sayesinde karakterize edilir. Bunların yüksek adsorpsiyon kapasitelerinden dolayı simektit ve özellikle montmorillonit bütün killerin en çok çalışılan mineralleridir. Bu mineraller şişebilir ve polar organik bileşikler tabakaları arasındaki boşluklarda adsorplayabilirler (Yariv, S. ve Cross, H., 2002a).

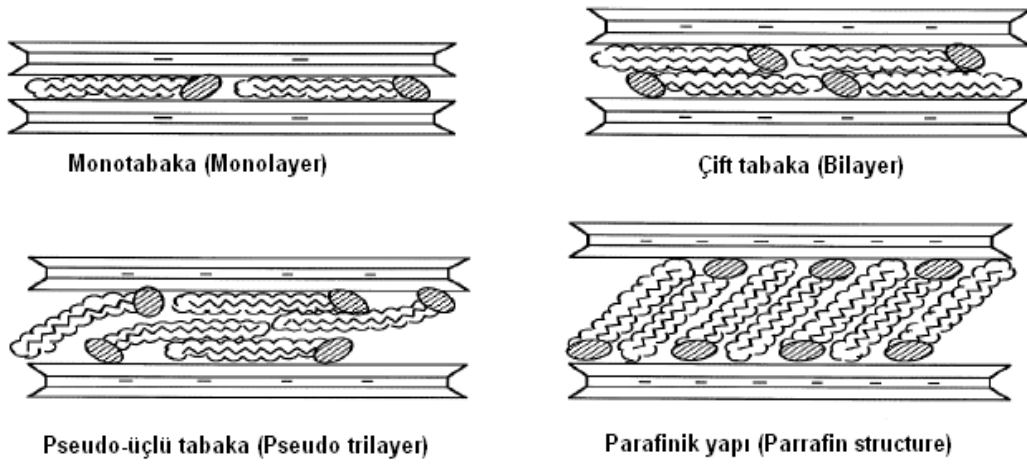
1.2.8.3. Organo-kil polimer nanokompozitler

Polimer-kil nanokompozitler, 1 ila 100 nm boyut aralığına sahip olup üstün termal ve mekanik özellikler gösteren yeni bir malzeme grubudur (Yu vd., 2004-a; Chang vd., 2001;Yano vd., 1997; Hsiao vd., 2001). Nano boyutlara getirilmiş olan inorganik bir maddenin (kil) organik bir matriks (polimer) içerisinde homojen olarak dağıtılmasıyla elde edilen bu malzemeler, düşük termal genişleme özelliğine sahip olmaları nedeniyle genel olarak yüksek sıcaklıklarda oldukça iyi mekanik dayanım göstermektedirler. Ayrıca diğer üstün özellikleri sayesinde son 15 yıldır birçok malzemeye alternatif olarak kullanılmaktadırlar (Nah vd., 2004-a; Chang vd., 2001).

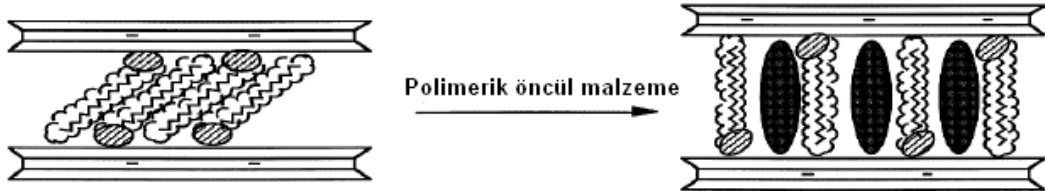
Nanokompozit üretimine yönelik olarak yapılan ilk öncül çalışmalar, 1990 yılında Toyota araştırma grubu tarafından poliamit (Naylon-6) içerisinde simektit türü killerin kullanılmasıyla başlamıştır (Yano vd., 1993; Yeh vd., 2004). Toyota araştırma grubu, poliamitin sentezlenmesi için gerekli olan organik grupların in-situ (yerinde) polimerizasyonu sırasında sisteme ilave ettikleri simektit minerallerinin davranışlarını incelemiştir. Sonuç olarak, kil minerallerinin bu organik gruplarla etkileşime girdiği ve poliamitin termal kararlılığını ve mekanik dayanımını artırdığını gözlemlemiştir (Yano vd., 1993; Yeh vd., 2005).

Şekil 1.3'de şematik olarak görülen simektit minerali ise tabakalı silikatlar içerisinde 2:1 grubuna ait önemli bir kil mineralidir. Tabakalarının arasında ise Na^+ ve Ca^{2+} gibi değişebilir iyonlar bulunmaktadır. Bu iyonlar, simektit kilinin organik olarak modifiye edilmesi durumunda ortamdaki organik

kasyonlarla yer değiştirebilmektedir. Bu yer değiştirme sonucu kil tabakalarının polaritesi değişmekte ve tabakalar arası genişlemektedir. Dolayısıyla, ortamdaki polimer molekülleri veya öncül polimerik gruplar, genişleyen bu tabakalar arasına kolayca girebilmektedir. Killerin alkil amonyum ile parafinik ortamda organik olarak modifiye edilmesi sonucu, kilin sahip olduğu yük yoğunluğuna ve kullanılan yüzey aktif maddelerin özelliklerine göre, polimer molekülleri tabakalar içerisinde değişik şekillerde yönelmektedirler (Şekil 1.4 ve Şekil 1.5).

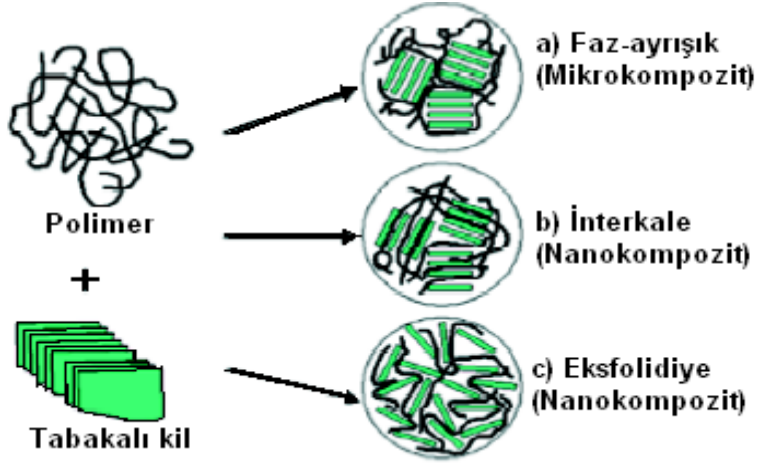


Şekil 1.4. Alkil amonyum iyonunun tabakalı killerde farklı tabakalar halinde yönelmesi



Şekil 1.5. Organik olarak modifiye killerin polimerik öncül gruplar ile etkileşimi

Modifiye killerin bir polimer matriks içerisindeki dağılımı; (a) tabakaların yeterince genişlemediği ve aralarına polimer matriksin yeterince kolay girmediği faz-ayrışık yapılar, (b) tabakaların iyice genişlediği ve aralarına polimer matriksin kolayca girebildiği interkalasyon yapılar veya (c) tabakalı yapının parçalanarak polimer matriks içerisinde homojen olarak tamamen dağıldığı eksfolide yapılar olmak üzere 3 değişik şekilde olmaktadır (Şekil 1.6) (Seçkin ve Köytepe, 2006).



Şekil 1.6. Polimer ve tabakalı killerin etkileşimi sonucu olabilecek kompozit yapılar (Gacitua, Balerini, Zhang, 2005).

1.2.8.4. Organo-kil komplekslerinin nükleer manyetik rezonans spektroskopisi

Nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi kil organik etkileşimleri ve kil mineralleri çalışmalarında başarıyla kullanılır. NMR spektroskopisi atomların lokal çevresi için hassastır ve ^{29}Si ve ^{27}Al spektrumundan kristallografik yerler, koordinasyon sayısı, tetrahedral tabaka bozulmaları ve kation dağılımı hakkında bilgi verir. Difraktometrik metotların sınırlı bilgi verdiği sütunlu killerde NMR, killerin tabakaları arasındaki sütun düzeni çalışmalarında kullanılır. ^1H , ^{13}C ve ^{31}P NMR spektrumu (ve diğer atomların) kil minerallerinin katmanları arasındaki boşluklarda sorbe olan türlerin değişkenliği, etkileşimi ve yönelimleri hakkında da bilgi verir.

Kasyon değişim veya adsorpsiyon olgusu spektroskopik metotlar olmadan zorlukla analiz edilebilir. Çok ayrıntılı olarak, yardımcı adsorbe moleküller arasındaki veya adsorbe türler ve substratlar arasındaki reaksiyonlarda kızılötesi ve/veya yüksek çözünürlüklü NMR (MAS ve CP-MAS) teknikleri ile çalışılabilir. Ancak, silikata göre adsorbe olmuş moleküllerin yapı çalışmaları ve bu türlerin hareketliliği halen geleneksel düşük çözünürlüklü NMR spektroskopisinin kullanımını gerektirir (Yariv ve Cross,2002b).

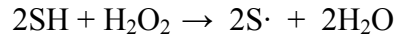
1.3. Peroksidaz Enzimlerinin Özellikleri

HRP, acı turp (horseradish) bitkisinin köklerinden izole edilir. Peroksidazlar alkil hidroperoksitler veya H₂O₂ ile aktive olan oksidoredüktaz enzim grubuna girer. Peroksidazlar hayvanlar, bitkiler, mikroorganizmalarda bulunur ve çeşitli substratların oksidasyonunu etkili şekilde katalizler. Yapı-fonksiyon ilişkisinin ve peroksidazların katalitik mekanizmalarının anlaşılması büyük ölçüde HRP üzerine yapılan çalışmalara dayanır.

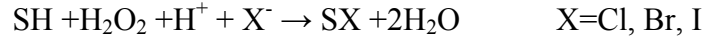
Peroksidazların karakteristik aktiviteleri elektron oksidasyonudur (Şekil 1.7). Peroksidaz indirgenmesi için iki elektrona ihtiyaç duyulur. Elektronlardan biri Fe⁺³ 'ten gelirken diğeri porfirin 'den gelir ve porfirin radikal katyonu oluşur. HRP-I bir elektron alarak HRP-II'yi oluşturur ve porphyrin indirgenir. Genel olarak HRP-II ile substrat reaksiyonu HRP-I'inkinden 10–20 kat daha yavaştır.

Peroksidaz katalizli reaksiyonlar dört ana sınıfa ayrılır. Bunlar;

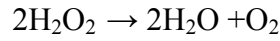
1) Oksidatif dehidrojenasyon:



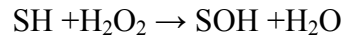
2) Oksidatif halojenasyon:

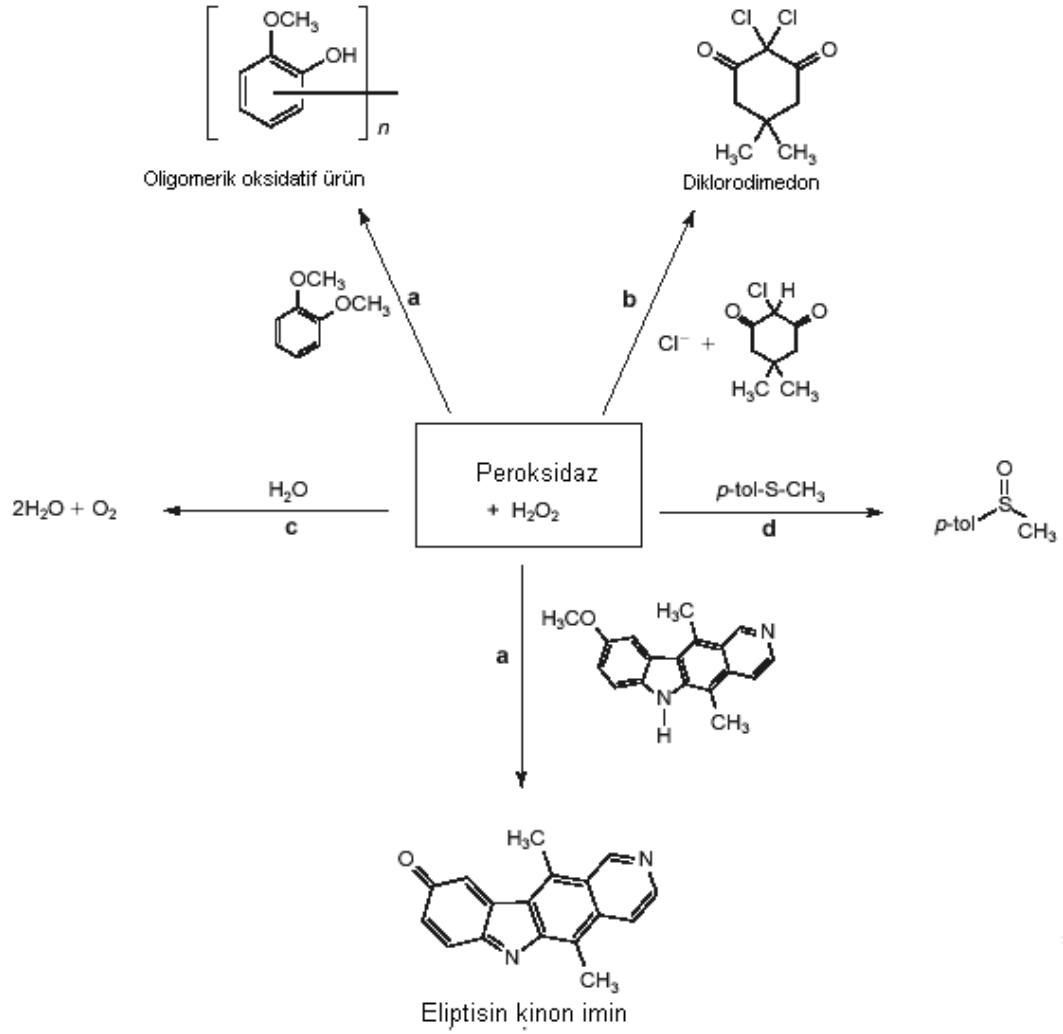


3) H₂O₂ dönüşümü:



4) Oksijen –transfer reaksiyonu:





Şekil 1.7. Peroksidazların gerçekleştirdiği reaksiyonlar

1.3.1. Oksidatif dehidrojenasyon

HRP özellikle oksidatif dehidrojenasyon için spesifiktir. Ticari olarak önemli olan bu enzim geniş bir izoenzim ailesine sahiptir. HRP-C'nin kristal yapısı son yıllarda yapılan çalışmalarla çözülmüştür. Bu durum aromatik substratların tahmini olarak enzime bağlandıkları bölgeyi belirlemede faydalı olmuştur. Peroksidaz kataliziyle ilgili önemli bir görüş substratın aktif merkeze bağlanmasıdır. Hem monoksijenazlarda substratın ferril oksijene bağlandığı düşünülür. Klasik peroksidazlarda ise hem merkezine elektron transferi ile substratı yükseltger ve hem kenarına substrat bağlandığı görülür. Fenollerin peroksidaz katalizli oksidasyonunda fenolik radikaller oluşur. Bu reaksiyon türünde oligomerik oksidatif ürünlerin kompleks bir karışımı oluşur.

Anilinlerin peroksidaz katalizli polimerizasyonu zorlayıcı olmayan koşullarda gerçekleşir ve polimerik aminler elde edilir. Elektron transferi ile peroksidazlı ortamdaki N- ve O- dealkilasyon reaksiyonları zorlayıcı koşullarda gerçekleşir.

Bu enzimlerin biyoteknolojide geniş kullanım alanları, endüstriyel atıklardan toksik organik maddelerin dönüşümüdür (Colonna, Gaggero, Richelmi ve Pasta, 1999).

1.3.2. Oksidatif halojenasyon

Bazı hem grubu içeren peroksidazların substrattaki (AH) karbon atomunun halojenasyonu halojenür iyonları ve H_2O_2 gerektirir. Bu enzimatik halojenasyon reaksiyonları tersinirlik, dar substrat aralığı ve yüksek ürün seçiciliği gibi tipik enzimatik reaksiyonların özelliklerini göstermezler.

Bazı alkenler, anilinler, fenoller ve heterosiklikler gibi aromatik bileşiklerin halojenasyonunu katalizleyen CPO (chloroperoxidase) tarafından α , β halohidrinlere dönüştürülebilirler.

1.3.3. H_2O_2 dönüşümü

Bazı peroksidazlar H_2O_2 'nin, H_2O ve O_2 'ye parçalanmasını katalizler. CPO ve HRP bu enzimlere örnek olarak verilebilir (Colonna, Gaggero, Richelmi ve Pasta, 1999).

1.3.4. Oksijen-transfer reaksiyonları

Bu reaksiyonlarla ilgili uygulamaların özelliği düşük maliyetli olması ve çevresel olarak uygun oksidantların (H_2O_2 ve dioksijen) kullanımlarıdır.

Organik substratların etkili oksidasyonunu sağlayan enantiomerik seçici olan enzimatik proseslerin gelişimi büyük bir endüstriyel ve bilimsel alan oluşturur. Bu transformasyonlarda peroksidazlar monooksijenazlar gibi davranırlar.

Oksijenaz tipi reaksiyonlar:

a) Heteroatom oksidasyonu

- S-Oksidasyonu
- N-Oksidasyonu

b) Epoksidasyon

c) Karbon-Hidrojen bağı oksidasyonu

- Benzillik/ Alillik oksidasyon
- Alkol ve indol oksidasyonu

1.3.4.1. Heteroatom oksidasyonu

a) Sülfür oksidasyonu

Enantiomerik saf sülfoksitler asimetrik sentezlerde önemlidir. Sülfoksit fonksiyonel grubu farklı biyolojik aktiviteler gerektirir ve optik olarak saf sülfoksitler farmakolojik olarak önemlidir. HRP, sitokrom-c peroksidaz, mikroperoksidaz ve laktoperoksidaz gibi bazı hem peroksidazlar alkil aril nantomer seçici olan sülfoksidasyonunu katalizlerler. H_2O_2 ile bazı aril metil sülfidlerin HRP katalizli oksidasyonunun enantiomerik seçiciliğinin önemi belirlenmiştir.

Leucive-modifiye HRP, stirenin ve β -metil stirenin epoksidasyonunu katalizlerler. CPO, HRP'ye göre daha fazla alkil, aril, dialkil ve heterosiklik sülfidleri yüksek kimyasal dönüşümle yükseltir.

b). Azot oksidasyonu

Aril CPO ve H_2O_2 ile yükseltgenir. N-oksidasyonu HRP-I'den oksijen transferi yolu ile gerçekleşir. Birkaç amidoksimler biyolojik olarak aktiftirler ve bu bileşiklerin oksidasyonunda HNO_3 oluşumunda artış olur.

Arilamidoksimlerin HRP varlığında ve H_2O_2 aracılığıyla %30–70 verimle oksidasyonları gerçekleşir (Colonna, Gaggero, Richelmi ve Pasta, 1999).

1.3.4.2. Epoksidasyon

Optik aktiviteye sahip epoksitler çok faydalıdır. Çünkü stereospesifiklik halka açılmasını gerçekleştirerek bifonksiyonel bileşikler verirler. Doğal HRP genellikle epoksidasyon reaksiyonunu katalizlemez. Ancak optikçe aktifliğe sahip stiren-oksit türevlerinde olumlu sonuçlar alınmaktadır. Bu reaksiyon yan ürün olarak aldehitlerin büyük miktarlarda oluşumuyla sınırlıdır. Benzer sonuçlar stirenin sitokrom-c peroksidaz ile katalizlendiği epoksidasyonda da görülür.

1.3.4.3. Karbon-hidrojen bağı oksidasyonu

a). Benzillik/allillik hidroksilasyon

HRP hidrojen verici olarak dihidroksifumarik asit varlığında moleküler oksijen aracılığıyla bazı aromatik bileşiklerin hidroksilasyonunu katalizler. Üç önemli ilaç % 70 verimle bu enzimatik hidroksilasyonla üretilir. Bunlar; L-DOPA L-epinefrin ve D-(-)-3,4- dihidroksifenilglisindir.

b).Alkol ve indol oksidasyonu

Genellikle fenollerin oksidasyonunun sınırlandığı klasik serbest radikal ortamlarda diğer peroksidazlara karşı CPO, oksidant olarak H₂O₂'nin kullanımı ile allilik, propargillik veya benzillik alkollerin aldehitlere dönüşümlerini sağlar.

Süstitüentlere sahip oksiindoller ilginç biyolojik özelliklere sahiptirler. Üretimleri için uygun kimyasal metodlar çok basamaklı prosedürler gerektirir. CPO, H₂O₂ ile 4,5,6 pozisyonundan direkt indol oksidasyonu ve süstitüentli indoller oksiindollerini verirler (Colonna, Gaggero, Richelmi ve Pasta, 1999).

1.3.5. HRP'nin yapısı, mekanizması ve substratları

Peroksidazlar yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir. Enzim sınıflandırılmasında oksidoredüktaz grubuna girerler.

HRP bir hem peroksidazdır (Şekil 1.8). HRP globular protein olup iki kalsiyum iyonu; yüzeyine bağlı glikanlar ve prostatik gruplardan oluşur. Aprotein içinde birbirine benzer eş iki bölge (domain) vardır. Her bir bölgede yapı kararlılığını ve enzim aktivitesini sağlayan birer kalsiyum iyonu bulunur. Bu iki bölge hem uzantısının hidrofobik kısımlarını kuşatırlar. Hem yapısının üstündeki bölge distal ve alt kısmındaki bölge proksimal olarak adlandırılır

Birincil yapı: Bir peroksidaz diğerinden aminoasit sayısı ile ayrılır. HRP monomeri üçyüzaltı aminoasit ve bir hem grup içerir.

İkincil Yapı: Çoğu peroksidaz monomerleri genellikle alfa-heliks yapısı içerirler. Tipik bir zincir on alfa-heliks segment içerir.

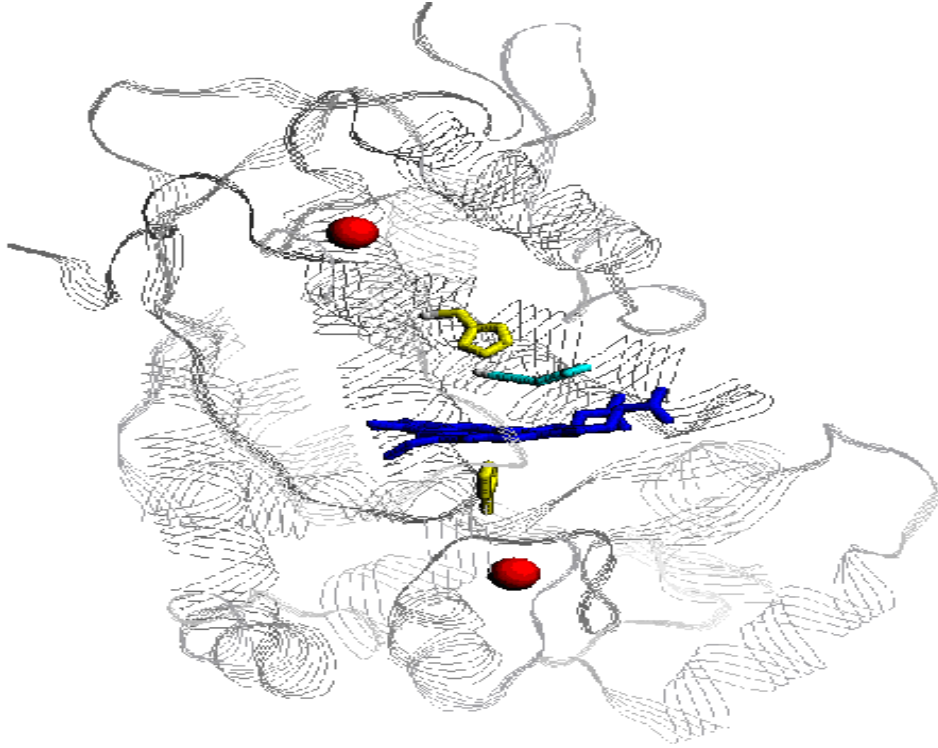
Üçüncül Yapı: HRP monomeri iki bölgeden oluşur. Herbir bölgeden iki antiparalel heliks bir boşluk oluşturur. Bu boşluğa hem grup yerleşmiştir.

Dördüncül Yapı: HRP izosimi altı tanımlı zincir veya monomer içerir.

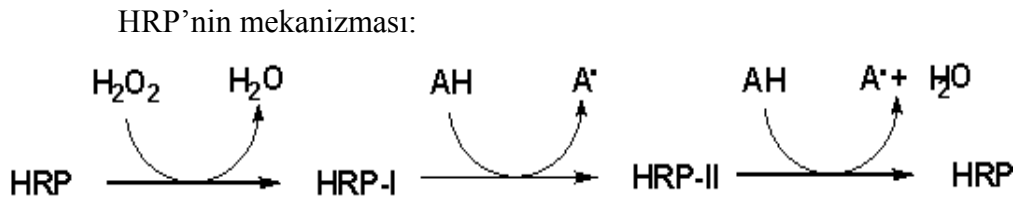
HRP'nin aktif merkezi hem grubudur. Hem kısmı sustratların aktif merkeze bağlanabildikleri yerdir. Bir heliks yapısı hem grup için elli demir ligandı içerir. HRP'deki hem demiri histidin 170 imidazol halkasındaki azota kovalent bağlarla bağlıdır. Hem porphyrin yüzeyi imidazol halkasına diktir.

Histidinden başka üç farklı aminoasit daha vardır. Bunlar hem'in distal bölgesinde bulunurlar. Bu aminoasitler H₂O₂'nin heterolitik katalizlenmesinden sorumludur. Bunlar Arg38, His42, Phe41'dir.

Hem bu aminoasitlerle HRP'nin aktif bölgesini oluşturur.



Şekil 1.8. HRP 'nin yapısı. Hem (mavi) iki kalsiyum iyonu (kırmızı), arjinin yeşildir. Proximal bölgedeki histidin hemin altında ve distal bölgedeki histidin hemin üstündedir. Histidinler sarı olarak gösterilmiştir



Şekil 1.9. HRP enziminin mekanizması

Genel olarak Şekil 1.9'daki reaksiyon açıklanırsa; H_2O_2 indirgenirken enzim yükseltgenir ve HRP-I bileşiği oluşur. HRP-I bir organik substratı (AH) bir substrat radikali vermek üzere yükseltir. İkinci elektron HRP-II'nin oluşumu için gereklidir. Son olarak HRP-II başka bir substratla reaksiyona girerek başka bir substrat molekülü oluşturur. Bu reaksiyon HRP-II'deki demirin Fe^{+3} durumuna gelmesine kadar devam eder.

İlk aşamada H_2O_2 'nin oksijenlerinden biri ayrılarak H_2O 'ya dönüşür. Yani HRP H_2O_2 'yi H_2O 'ya indirger. Diğer ferril grup olarak alıkonulur. HRP-I serbest HRP durumuna iki oksidasyon dengesiyle ulaşır. Bunlardan biri ferril grup

üzerinden gerçekleşirken diğeri porphyrin üzerindedir. Böylelikle porphyrin bir radikal katyona dönüşür. HRP-I substrat molekülü AH'tan HRP-II'yi oluşturmak üzere bir elektron alır.

HRP-II elektron alıcı bir ferril grup içerir. Fakat porfirin radikal katyonu yoktur. HRP-II ikinci substrat molekülünden bir elektron alır ve enzim ilk haline (HRP) döner. HRP-I ve HRP-II indirgen substratlardır. HRP-II oluşum reaksiyonu genellikle reaksiyon hızını belirleyici basamaktır.

Reaksiyon Histidin42'nin H_2O_2 'den bir proton almasıyla başlar. Distal bölgeden proksimal bölgeye negatif yük transferi gerçekleşir. Distal bölgede iki pozitif yük fazlalığı bulunurken proksimal bölge üzerinde negatif yük fazlalığı bulunduğundan dolayı proksimal bölgedeki histidin deprotonasyona uğrar. Bu durumun sonucu olarak proksimal bölgeden distal bölgeye negatif yük gider. Bu mekanizmaya itme-çekme adı verilir. Sebebi ise proksimal bölgedeki histidin gerçekte elektronları distal bölgeye iterken His42 ve Arg38'i çeker. İki basamak HRP-I oluşumunda gerçekleşir. Benzer mekanizmalar bazı porfirin model sistemleri içinde geçerlidir.

HRP-II iki şekilde oluşur. Asidik HRP-II oluşumundaki pH aralığında distal bölgedeki histidin deprotonasyona uğrar. HRP-I kolaylıkla HRP-II'ye dönüşür. Asidik form bazik forma göre daha reaktif ve kararsızdır.

HRP'nin üçüncü olarak önemli reaktif durumu HRP-III'tür. HRP-III aşırı H_2O_2 veya süperoksit varlığında oluşur. HRP-III yavaş bir şekilde HRP-I'e bozunur ve her iki peroksidaz bileşiğine göre daha az reaktiftir. HRP-III Fe(II)- O_2 ve Fe(III)- O_2 arasında bir rezonans hibrit olarak kabul edilir.

HRP katalizli reaksiyonlar oksijen transferinden ziyade elektron transferi reaksiyonlarıdır. HRP ikiyüzün üzerinde substrata sahiptir. Bunların bazıları;

Hidrokinon, o-fenilendiamin, 4-aminoantipirin, fenol, gallik asit, o-kresol, p-kresol, m-kresol, 1-naftol, p-bromofenol, 2, 6-diklorofenol (Saka, 2004).

1.4. Konuyla İlgili Yapılmış Çalışmalar

Cheng ve arkadaşları fenolik atıksuların katalitik oksidasyonu için alüminyum sütunlu tabakalaşmış kile (Al-PILC) horseradish peroksidaz (HRP) immobilize etmişlerdir. Bu çalışmada Horseradish peroksidaz (HRP) fenolik bileşikle kirlenmiş atıksuyun iyileştirilmesi için enzim-kil kompleksi elde edilerek alüminyum-sütunlu tabakalaşmış kile başarıyla immobilize etmişlerdir. İmmobilize olmuş HRP çöktürme veya 4,5 dan 9,3 gibi daha geniş pH aralığında diğer ürünlere dönüştürmeyle mükemmel bir fenol giderimini sağlamaya çalışılmıştır. Polietilen glikol (PEG) eklenmesiyle fenol giderim etkinliği önemli şekilde arttırılabilir ve %90'ın üzerinde yüksek bir giderim etkinliğine ulaşmak için immobilize enzimin miktarını azaltmak gerekmiştir. PEG/Fenol'ün kütle oranı ve Hidrojen peroksit/Fenol'ün molar oranı sırasıyla 0,4 ve 1,5 olduğunda, fenolün oksidasyonu tampon olmadığında reaksiyonun başlatılmasından sonra kısa alıkonma zamanı içinde tamamlanabilmiştir. Al-PILC'ye immobilize olmuş HRP serbest enzimle kıyaslandığında depolama kararlılığı daha iyi olmuştur. Ancak immobilize enzimin tekrar kullanılabilirliği çok tatmin edici değildir. Dördüncü tekrarlama testinde immobilize enzim katalitik performansını kaybetmiştir (Cheng, Yu, Zuo, 2006).

Dalal ve arkadaşları biyoaffinite tabakası tarafından HRP immobilize edilerek fenolik atıksuların iyileştirilmesini çalışmışlardır. Bu çalışmada HRP biyoaffinite tabakasıyla immobilize edilmiştir ve p-klorofenol içeren atıksuların iyileştirilmesi için kullanılmıştır. Bu amaç için lectin Concanavalin A, Sephadex tanelerine tutturulmuştur. Glikoenzim peroksidaz bu Con A tabakası üzerinde tabakalaşır. Sonra Con A ve enzimin değişimli tabakaları uygulanır. En etkin tasarımı her bir Con A ve peroksidazın üç tabakadan oluşmuş olanıdır. Bu immobilize enzimin hazırlanmasında immobilizasyon için kullanılan serbest peroksidazın aktivitesinin %80'i tutulur. İşlem süresi artmasına rağmen ürün tarafından enzim inaktivasyonunu önlemek için PEG konsantrasyonu 0,1 mg/ml 'da bulundurulur. Bunun için enzimin 60 U/ml'i PEG bulunmadığında 4 dakikada p-klorofenolü tamamıyla dönüştürür. Başka bir deyişle PEG'nin varlığında bu amaç için yalnızca enzimin 0,05 U/ml'si gereklidir ama işlem 60 dakikada

gerçekleşir. Peroksidaz, fenol moleküllerini serbest radikallere dönüştürür. Sonra bu serbest radikaller polimerize olurlar ve çökelti elde edilir. Tekrar kullanılabilirliğin artırılması ve serbest radikaller için enzimin minimumunun açığa çıkmasının geniş bir anlamı olarak 10 dakikadan sonra reaksiyon ortamından enzimin uzaklaştırılmasına karar verilmiştir. Bu stratejiyle, biyoaffinite tabakalı peroksidaz hazırlanması hiç aktivite kaybı olmadan 5 kez tekrar kullanılabilmiştir (Dalal, Gupta, 2007).

Tong ve arkadaşları HRP varlığında atıksulardan toksik fenol ve klorofenolün uzaklaştırılmasının kinetik çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada HRP katalizli olarak atıksulardan fenol ve klorofenol'ün uzaklaştırılması bu reaksiyonun kinetik özelliklerini anlamak için çalışılmıştır. Kirliliğin uzaklaştırılmasında substratın tipi ve H₂O₂ konsantrasyonunun etkisi ayrıntılı olarak ele alınmıştır. Sonuçlar HRP katalizli olarak fenol ve klorofenol'ün uzaklaştırılması için bir optimum H₂O₂ konsantrasyonu varlığını göstermiştir. Eğer H₂O₂ konsantrasyonu optimum değerden yüksek olursa, reaksiyonun engelleme etkisi düşük olmasına rağmen fenolün uzaklaştırılması engellenmiş olur. Reaksiyonun parametrelerinden dolayı birkaç substratın HRP'li affiniteleri karşılaştırılmıştır. Sonuçlar en kolay reaksiyon verenin 4-klorofenol ardından fenol ve 3-klorofenol olduğunu göstermiştir. Ayrıca HRP katalizli oksidasyon reaksiyonu Ping-Pong reaksiyonunun karakteristiği olduğu sonucuna varılmıştır (Tong, Qingxiang, Hui, Qin, Yi, 1998).

Masuda ve arkadaşları reaksiyon koşulları ve fenolün giderim etkinliği arasındaki kantitatif ilişkiler *Coprinus cinereus* peroksidaz kullanarak incelemişlerdir. Hidrojen peroksitin fenolle en etkili oranı yeterli enzim dozunda yaklaşık 1/1 (mol/mol)'dir. Hazırlanan peroksidaz kullanıldığında fenolün 1 mg'ının giderimi için 12,2 U enzime ihtiyaç vardır. Peroksidaz dozunun yetersizliğinde optimum pH değeri 9,0'dır ve reaksiyon sıcaklığının düşmesi giderim etkinliğinin artmasına yol açar. Peroksidaz dozunun fazlalığında hemen hemen %100 fenol giderimi geniş bir pH (5-9) ve sıcaklık (0-60 °C) aralığında elde edilmiştir. Bununla birlikte kültür ortamı bileşenlerinin varlığında *Coprinus cinereus* peroksidaz, HRP veya *Arthromyces ramosus* peroksidaz gibi aynı fenol polimerizasyon performansını göstermiştir (Masuda, Sakurai, Sakakibara, 2001).

D'Annibale ve arkadaşları oksiran immobilize *Lentinula edodes* laccase'ın zeytin imalathane atıksuyundaki stabilitesini ve fenolik giderim etkinliğini incelemişlerdir. Bu çalışmada Eupergit C'deki *Lentinula edodes* laccase'ın immobilizasyonu laccase oksidasyon etkinliğinde zayıf modifikasyonlara rağmen pH, termal ve proteolitik kararlılıkla artmıştır. İmmobilize olmuş laccase zeytin imalathane atıksuyu fenoliklerinin gideriminde yeteri kadar kararlı olduğunu ispatlamıştır (D'Annibale, Stazi, Vinciguerra, Sermanni, 2000).

Kauffmann ve arkadaşları *Coprinus cinereus* peroksidaz (CIP) ve hidrojen peroksit tarafından sulu çözeltilerden fenollerin enzimatik giderimini incelemişlerdir. Bu çalışmada fungal bir enzim olan CIP'in sudan toksik fenollerin giderimi için kullanılabilmesini bulmuşlardır. CIP ve H₂O₂ ile fenollerin sulu çözeltileri muamele edildikten sonra fenoller polimerleştirilmiş ve çöktürülmüştür. Fenol konsantrasyonundaki azalma 10 farklı fenol için araştırılmıştır. Nötral pH'da, araştırılan fenollerin genel giderimleri yüksek bir verimle gerçekleştirilmiştir (Kauffmann, Petersen, Bjerrum, 1999).

Lui ve arkadaşları kimyasal modifiyeli HRP ile ısı kararlılığı ve fenol giderim etkinliğini incelemişlerdir. Bu çalışmada HRP glukozamin hidroklorit ve fitalik anhidrit ile modifiye edilmiştir. Doğal ve modifiye HRP tarafından fenoliklerin giderim etkinliği ve ısı kararlılığı denenmiştir. HRP'nin kimyasal modifikasyonu bunların ısı kararlılığını (sırasıyla yaklaşık 9 ve 10 kat civarında) ve bunun yanında fenoliklerin giderimini de arttırmıştır. Fenoliklerin giderim etkinliği ile reaksiyon koşulları arasındaki kantitatif ilişki modifiye enzim kullanılarak incelenmiştir. Fenol giderimi için optimum pH enzimin hem doğal hem de modifiyeli formları için 9,0'dur. Her iki modifiye enzimli fenol giderim reaksiyonunda doğal enzimden daha yüksek sıcaklıklara çıkılmıştır. Fenol için hidrojen peroksidin optimum molar oranı 2,0'dir. Fitalik anhidrit modifiyeli enzim aynı giderim etkinliğine sahip doğal HRP'den daha düşük enzim dozu gerektirmiştir. Her iki modifiyeli HRP büyük bir fenol özgüllüğü ve affinitesi göstermiştir (Lui, Song, Weng, Ji, 2002).

Nazari ve arkadaşları aktive peroksidaz biyokatalizörü kullanarak sulu çözeltilerden peroksidatif fenol giderimini incelemişlerdir. Bu çalışmada HRP'nin

yanında peroksit inaktivasyonunun kontrolü ve hidrojen peroksit varlığında enzimatik polimerizasyon/çöktürme işlemleriyle bazı fenollerin ve kloro fenollerin giderimi için reaksiyon koşullarının optimizasyonunu incelemişlerdir. Fenol giderim koşullarının optimizasyonu deneylerin dizaynı için dikey sıralı Taguchi metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Nazari, Esmaceli, Mahmoudi, Rahimi, Moosavi-Movahedi, 2007).

Yukarıdaki literatür özetlerinde de görüldüğü gibi fenoliklerin sulu ortamlardan modifiye killerin nanotabakaları arasında HRP varlığında enzimatik polimerizasyonla uzaklaştırılması yöntemi ilk defa tarafımızdan gerçekleştirilmiş olup buna benzer bir çalışma literatürde yer almamaktadır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan kimyasallar

Bu çalışmada kullanılan saf HRP ve H₂O₂ Sigma Chemical Company firmasından, Bütillenmiş hidrokşianisol (BHA), 4-Merkaptofenol, pentaklorofenol Aldrich (ABD) firmalarından, 4-aminofenol Reidel-de Haën (UK) firmasından ve 4-aminotiyofenolde Fluka AG firmalarından temin edilmiştir. Diğer tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Merck AG (Darmstadt, Almanya) firmasından sağlanmıştır. Deneylerde kullanılan su, yüksek akışlı selüloz membranlı Barnstead (Dubuque, IA) Ropure LP[®] ters ozmoz ünitesinde işleme tabi tutulduktan sonra Barnstead D3804 NANOpure[®] organik/koloidal uzaklaştırma ve dolgulu iyon değişim sistemi kullanılarak saflaştırılmıştır.

Çalışmanın tamamında kullanılan simektit Kuzey Anadolu'dan sağlanmıştır. Partikül büyüklükleri 200 µm olacak şekilde kırılmış ve elekten geçirilmiştir.

2.1.2. Kullanılan cihazlar

Sulu çözeltilerde BHA tayinleri, fotodiyot sıralı dedektörle donatılmış Dionex Bio-LC model HPLC sistemiyle ve 293 nm'de absorbans ölçümüyle gerçekleştirilmiştir. 4-Aminotiyofenol, 4-merkaptofenol ve 4-aminofenol sırasıyla, 251, 231, 230 nm de Shimadzu 1601 model UV spektrofotometre ile ve pentaklorofenol ise kapiler elektrokromatografi (CEC) sistemiyle tayin edilmişlerdir.

pH değişimleri Fisher Scientific, Accumet[®] Basic AB 15 pH-metresiyle ölçülmüştür.

Killerin ve bu killerin nanotabakalarında polimerleşen fenoliklerin karakterizasyonunda FTIR Perkin Elmer 2000 (4000-400) marka spektrometresi ve kil tabakaları arasının ne kadar açıldığını anlamak amacıyla Rigaku Rint 2000

X-ışınları difraktometresi (XRD, $\lambda=1.5406 \text{ \AA}$, 40 kV, 30 mA) $\text{CuK}\alpha_1$ radyasyon kaynağı kullanılmıştır. Tarama aralığı $5-40^\circ$ olarak alınmış ve 2θ 'da çekim yapılmıştır. MALDI-TOF-MS analizleri Applied Biosystems Voyager STR cihazı ile yapılmıştır. Analizler Reflector modunda, pozitif, hızlandırma voltajı 20000 V, 100 shot, lazer şiddeti 2083, grid voltajı % 67 koşullarında gerçekleştirilmiştir. Katı NMR analizleri Bruker Biospin model 300 MHz'lik katı NMR cihazıyla gerçekleştirilmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Nanokompozitlerin hazırlanması

Çalışmanın tamamında kullanılan simektit kili Türkiye kökenli olup Kuzey Anadolu simektitlerinden sağlanmıştır. Partikül büyüklükleri $200 \mu\text{m}$ olacak şekilde öğütülmüş ve elekten geçirilmiştir. Simektitin kimyasal ve bazı fiziksel özellikleri Arpa ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır (Arpa, Say, Şatıroğlu, Bektaş, Yürüm, Genç, 2000).

Polimer/organo nanokompozit partikülleri aşamalı bir işlemlerle hazırlanmıştır: Birinci aşamada 20 g simektit tartılmış ve bunun üzerine 500 mL deiyonize su ilave edilerek magnetik karıştırıcıda 24 saat karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi bittikten sonra simektit siyah bant süzgeç kağıdından süzülmüştür. İkinci aşamada, birinci aşamadan süzölmüş halde elde edilen simektit üzerine 0,05 mol kuartamin[dimetil(dihidrojen tallow)amonyum klorür], 5,0 mL hidroklorik asit ve 500 mL deiyonize su ilave edilerek magnetik karıştırıcıda 60°C sıcaklıkta 3 saat karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi bittikten sonra kil siyah bant süzgeç kâğıdından süzölmüştür. Üçüncü aşamada ikinci aşamadan süzölmüş halde elde edilen simektit sıcak ve soğuk su ile klor kalmayınca kadar yıkanmıştır. Yıkanmış simektit 55°C sıcaklıktaki etüvde 24 saat kurumaya bırakılmıştır.

Kuartamin modifiye organokil (QS) hazırlandıktan sonra polistiren modifiye kuartamin simektit nanokompozit (PS/QS) sentezlenmiştir. Bu işlemlerde kuartamin modifiye organokil üzerine 12 mL stiren, 0,1 gr azoisobutironitril

(AIBN) ve 50 mL hekzan ilave edilerek elde edilen karışım 65 °C sıcaklıktaki termostatlı su banyosunda 9 saat bırakılmıştır.

2.2.2. Killerin nanotabakalarında fenoliklerin polimerleştirilmesi çalışmaları

Sulu çözeltide fenoliklerin enzimatik polimerizasyonu yoluyla giderimi, sırasıyla kilsiz sulu ortamda, simektit (S), QS ve PS/QS nanokompozit kullanımı ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, genel bir uygulama olarak 20 mL borat-fosfat tamponundaki (geniş pH aralıklarında) fenolik çözeltilerinin ve HRP'den (0,05–0,25U/ml) oluşan karışım içine S, QS ve PS/QS (0,2 g) eklenmiştir. Daha sonra H₂O₂ (%30'luk 0,2mL) dispersiyon ortamına eklenerek reaksiyon karışımları magnetik karıştırıcılar kullanılarak 25 °C 'de belirli zaman aralıklarında karıştırılmıştır. Giderim verimi HPLC, UV ve CEC sistemleri kullanılarak belirlenmiştir.

2.3. Karakterizasyon Çalışmaları

2.3.1. FTIR analizi

Killerin nanotabakalarında polimerleşen fenoliklerin FTIR spektrumları Perkin Elmer 2000 (4000-400) kullanılarak elde edilmiştir. Yaklaşık 0,1 g kuru örnek 0,1 g KBr ile karıştırılarak tablet hazırlanmış ve FTIR spektrumu çekilmiştir.

2.3.2. ¹³C CP/MAS NMR analizi

Killerin ve bu killerin nanotabakalarında polimerleşen fenoliklerin ¹³C CP/MAS NMR spektrumları Bruker Biospin model 300 MHz'lik katı NMR cihazıyla yapılmıştır.

2.3.3. MALDI-TOF-MS analizleri

Fenoliklerin MALDI-TOF-MS analizleri Applied Biosystems Voyager STR cihazı ile yapılmıştır. Analizler Reflector modunda, pozitif, hızlandırma voltajı 20000 V, 100 shot, lazer şiddeti 2083, grid voltajı % 67 koşullarında gerçekleştirilmiştir. ATF nin HRP ile polimerleştirilmesi sonucunda metanolde çözünen örneklerin MALDI-TOF-MS analizleri sırası ile sinapinik asit ve α -siyano-4-hidroksi sinnamik asit (CHCA) matriksleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bunun için 10 mg sinapinik asit 1 mL asetonitril ve % 0,1 TFA çözeltisiyle çözülmüş, önce karışım vortekslenmiş daha sonra çözünmeyen kısım santrifüjlenerek uzaklaştırılmıştır. CHCA matriksi de sinapinik asitle benzer şekilde hazırlanmıştır. Örnekler matriksle 1:25 oranında karıştırılarak vortekslenmiş daha sonra örnek plakasına uygulanmıştır.

2.3.4. X-ışınları difraktometresi analizi

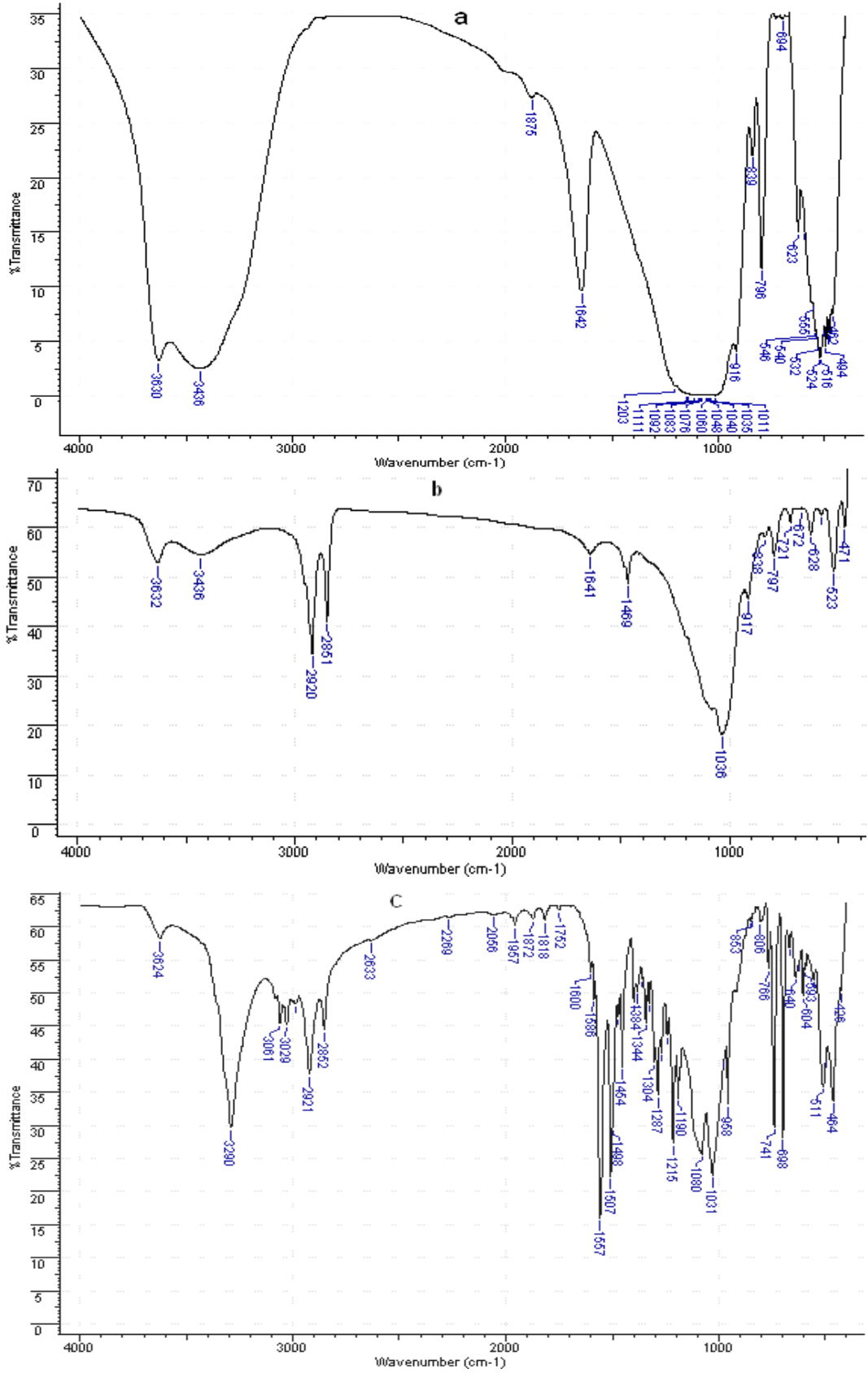
Kil tabakaları arasının ne kadar açıldığını anlamak amacıyla Rigaku Rint 2000 X-ışınları difraktometresi (XRD, $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$, 40 kV, 30 mA) $\text{CuK}\alpha_1$ radyasyon kaynağı kullanılarak elde edilmiştir. Tarama aralığı 5-40° alınmış ve 2 θ 'da çekim yapılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Killerin Karakterizasyonu

3.1.1. FTIR analizi

Simektit (S), klorometilstiren ve stiren içeren kuartamin modifiye organosimektit (PS/QS) ve kuartamin modifiye organosimektitin (QS) FT-IR spektrumları (Şekil 3.1) incelenerek karakterize edilmiştir (Perkin Elmer 2000). Elde edilen spektrumlar incelendiğinde ikinci spektrumun (Şekil 3.1b) birinciden (Şekil 1.3a) farklılığı; 3400 cm^{-1} de gözlenen amonyuma ait N-H gerilmesi, 2920 cm^{-1} de gözlenen C-H gerilmesi, 2840 cm^{-1} de gözlenen C-H gerilmesi (kuartamindeki CH_2 grubuna ait) ve 800 cm^{-1} de gözlenen C-Cl gerilmesine ait piklerdir. 1475, 2855, 2929, 3260 cm^{-1} 'deki yeni ortaya çıkan pikler ise organosimektite ait olan piklerdir (şekil 3.1c). Bu sonuçlara göre (2855 cm^{-1})'deki pik simetrik metil gerilme piki, (1475 cm^{-1})'deki keskin pik $-\text{CH}_2$ titreşim piki, (2928 cm^{-1})'deki pik $-\text{CH}$ gerilme pikini göstermiştir. (3444 cm^{-1})'deki pikin kuarternar amonyum piki olduğu anlaşılmıştır. Şekil 3.1b ve şekil 3.1c spektrumlarından elde edilen değerler karşılaştırıldığında; simektitin, (PS/QS) ve (QS)'e dönüştürülmüş olduğu söylenebilir.

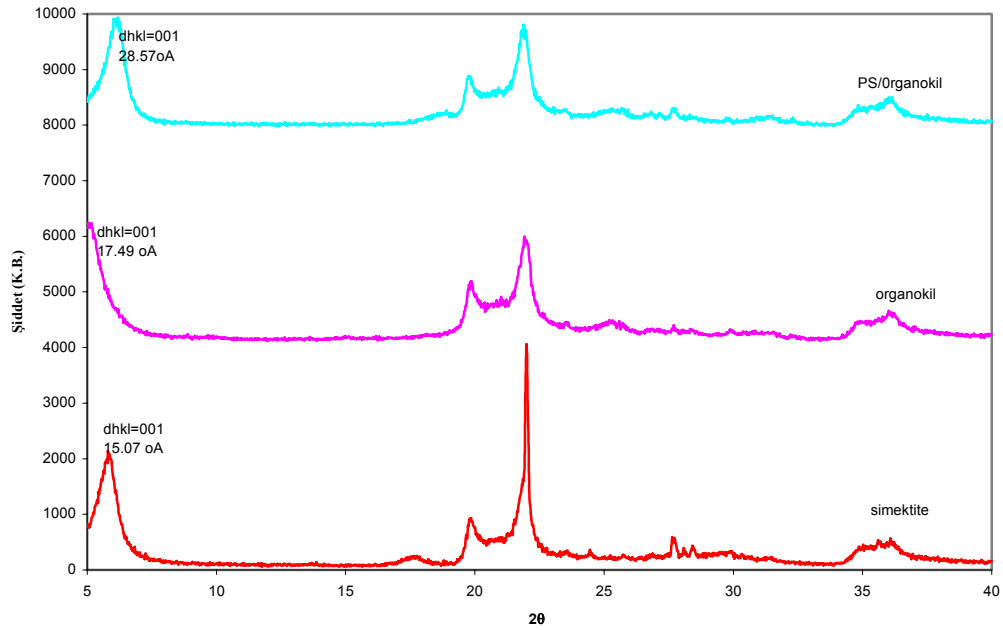


Şekil 3.1. (a) Simektit, (b) kuartamin modifiye organosimektit (QS), (c) klorometilstiren ve stiren içeren kuartamin modifiye organosimektit (PS/QS) FTIR spektrumları

3.1.2. X-Işınları difraktometre (XRD) çalışmaları

XRD, katyon değişimi sonrası surfaktan olarak kullanılan kuartaminin [(HT)₂ (CH₃)₂ N⁺Cl⁻] kil ara uzaylarına (nanogaleriler) sokularak genişletilmesi işlemini ortaya koymak için vazgeçilmez bir karakterizasyon yöntemidir ve simektite ait nanoboyutta ara uzay genişlemesi XRD'nin refleksiyonuyla (d₀₀₁) doğru orantılı kayma gösterir. Bu d₀₀₁ değeri, Bragg kanuna ($n\lambda=2d\sin\theta$) dayanarak Şekil 3.2'de verilen spektrumlarından yararlanarak bulunmuştur.

XRD ölçümleri, kil tabakaları arasının ne kadar açıldığını anlamak amacıyla Rigaku Rint 2000 X-ışınları difraktometresi $\lambda=1,5406 \text{ \AA}$ 40 kV 30 mA CuK α 1 radyasyon kaynağı kullanılarak elde edilmiştir. Tarama aralığı 5-40° 2 θ 'da çekim yapılmış ve simektite ait olan 4-6° arasındaki en yüksek pik değeri baz alınmıştır. XRD spektrumlarına bakılacak olunursa normal simektitin 15,07 Å , organo-kilin 17,49 Å , nanokompozitin 28,57 Å olduğu Bragg denkleminde hesaplanmıştır. Sonuçlardan görüleceği üzere d₀₀₁ uzaylarında simektitin kuartaminle modifikasyonu sonrasında 2,5 Å civarında polistiren ile nanokompozit eldesi sonrasında ise 13,5 Å değerinde bir genişleme gözükmektedir ki bu durum modifikasyonların tutarlı olduğunu ve simektitin nanogalerilerine PS doldurulduğunu net olarak ortaya koymaktadır.

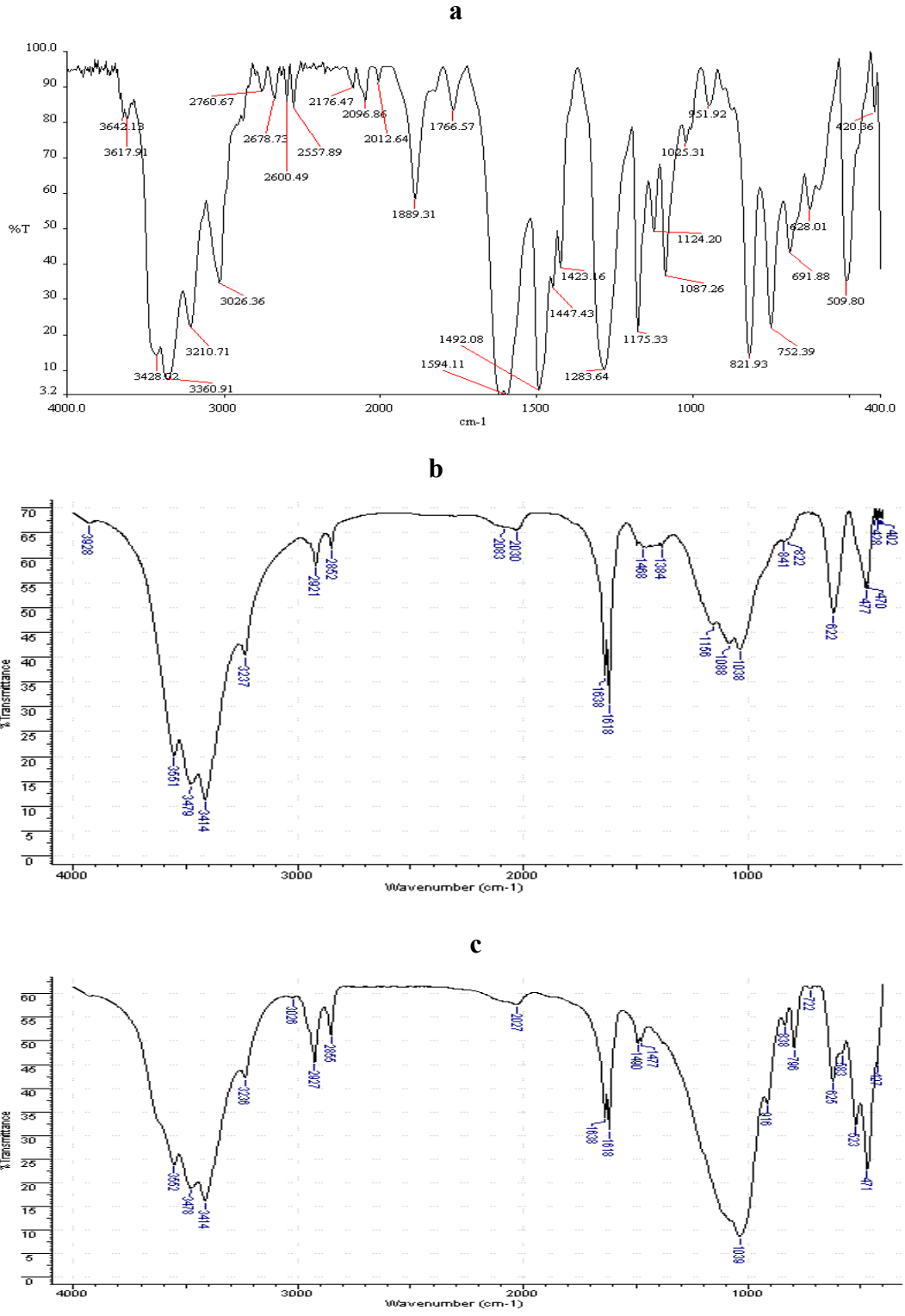


Şekil 3.2. Simektit (S), organosimektit (QS) ve polistiren/organosimektit (PS/QS) yapılarının XRD spektrumları

3.1.3. Fenoliklerin giderimine ilişkin model olarak seçilen ATF'nin karakterizasyon çalışmaları

3.1.3.1. FTIR analizi

Nanogalerilere gerçekten fenollerin oligomerleşip oligomerleşmediğini, oligomerleşmenin hangi fonksiyonel gruplar üzerinden yürüdüğünü anlamak amacıyla FT-IR çalışmalarında bulunulmuş ve bu amaçla model fenolik olarak 4-aminotiyofenol seçilmiştir. Şekil 3.3.a'da saf haldeki 4-aminotiyofenol'e ait, Şekil 3.3.b kilsiz ortamda HRP katalizli olarak polimerleştirilen 4-aminotiyofenol'e ait ve Şekil 3.3.c'de QS ortamında HRP katalizli olarak polimerleştirilen 4-aminotiyofenol'e ait FT-IR spektrumları verilmiştir. Elde edilen spektrumlar incelendiğinde birinci spektrumda (Şekil 3.3.a) 4-aminotiyofenol bileşiğine ait temel piklerin ikinci ve üçüncü spektrumda da yer aldığı görülmüştür. 3400 cm^{-1} 'de gözlenen pik amino grubuna ait N-H gerilmeleri, 2800 cm^{-1} 'de gözlenen pik tiyol grubuna ait S-H gerilmeleri her üç spektrumda bulunmaktadır.

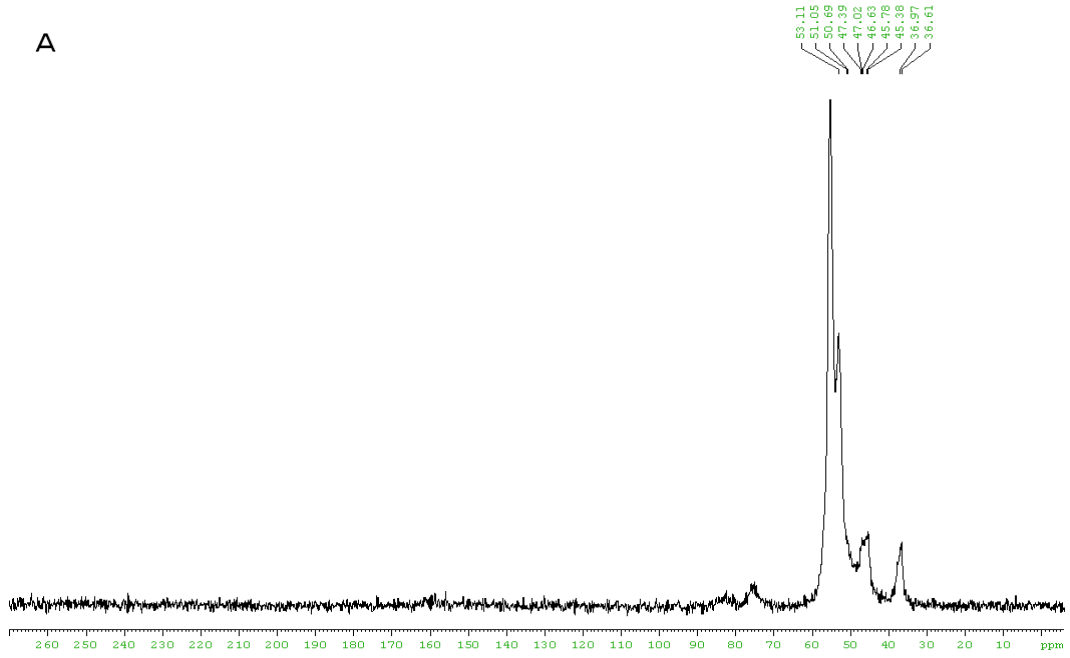


Şekil 3.3. Sırasıyla 4-Aminiyofenol (a), Kilsiz ortamdaki P(ATF) (b), Organosimektitli ortamdaki P(ATF)'nin (c) FT-IR Spektrumları

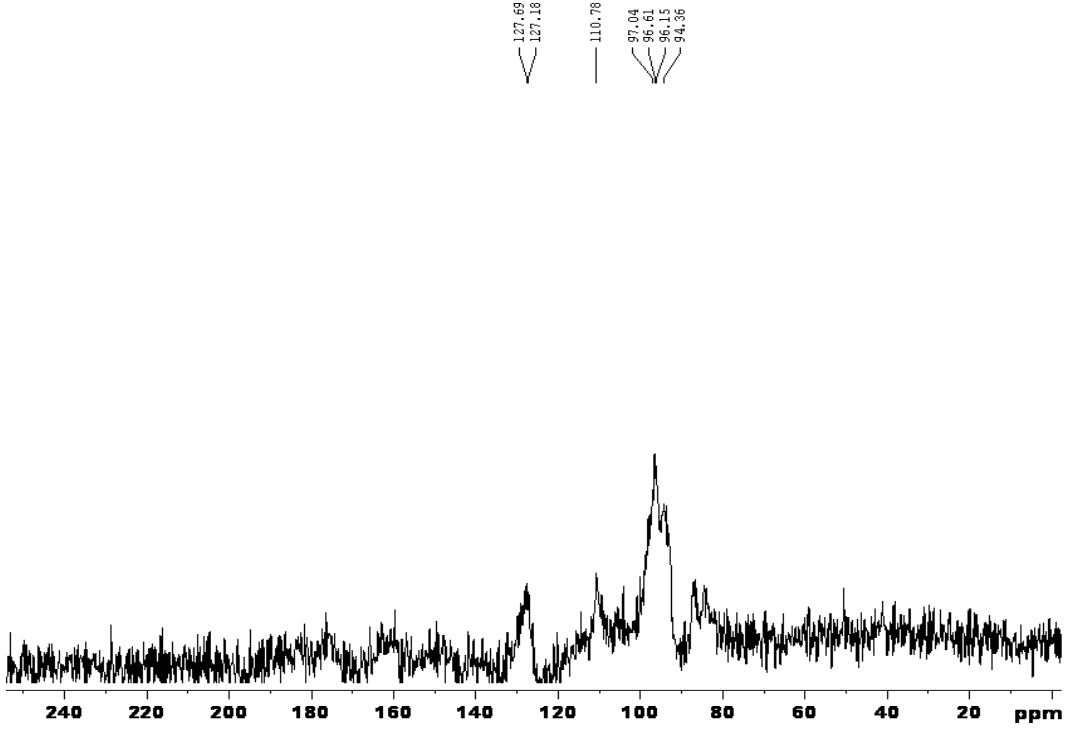
3.1.3.2. ^{13}C -CP-MAS katı-NMR analizi

Nanogalerilere gerçekten fenollerin girip polimerleştğini anlamak amacıyla literatürde ilk defa katı NMR çalışmalarında bulunmuş bu amaçla model fenolik olarak 4- aminotiyofenol seçilmiştir. Şekil 3.4’da organosimektitin hiç bir fenolikle etkinleştirilmeden önceki ^{13}C CP/MAS NMR spektrumu, Şekil 3.5’da simektit kilin 4-aminotiyofenolle HRP eşliğinde etkinleştirildikten sonra partiküllerin ^{13}C CP/MAS NMR spektrumu verilmiştir.

Spektrumda 70–140 ppm arasında gözükten geniş pikler 4-aminotiyofenol bileşiğinin yapısında bulunan aromatik halkaya ait C atomlarından kaynaklanmaktadır.

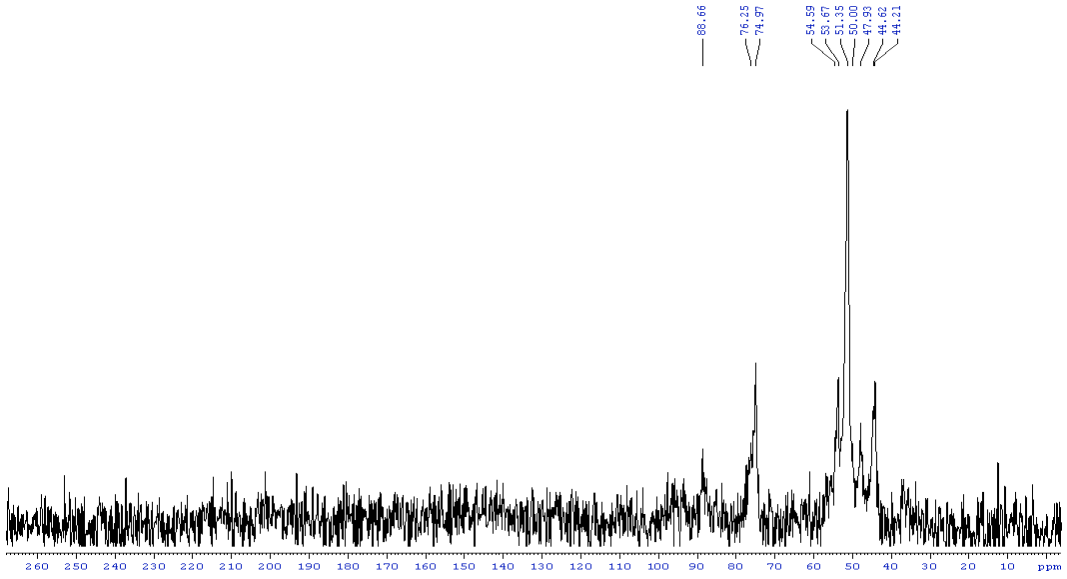


Şekil 3.4. Organosimektitin (QS) ^{13}C CP/MAS NMR spektrumu



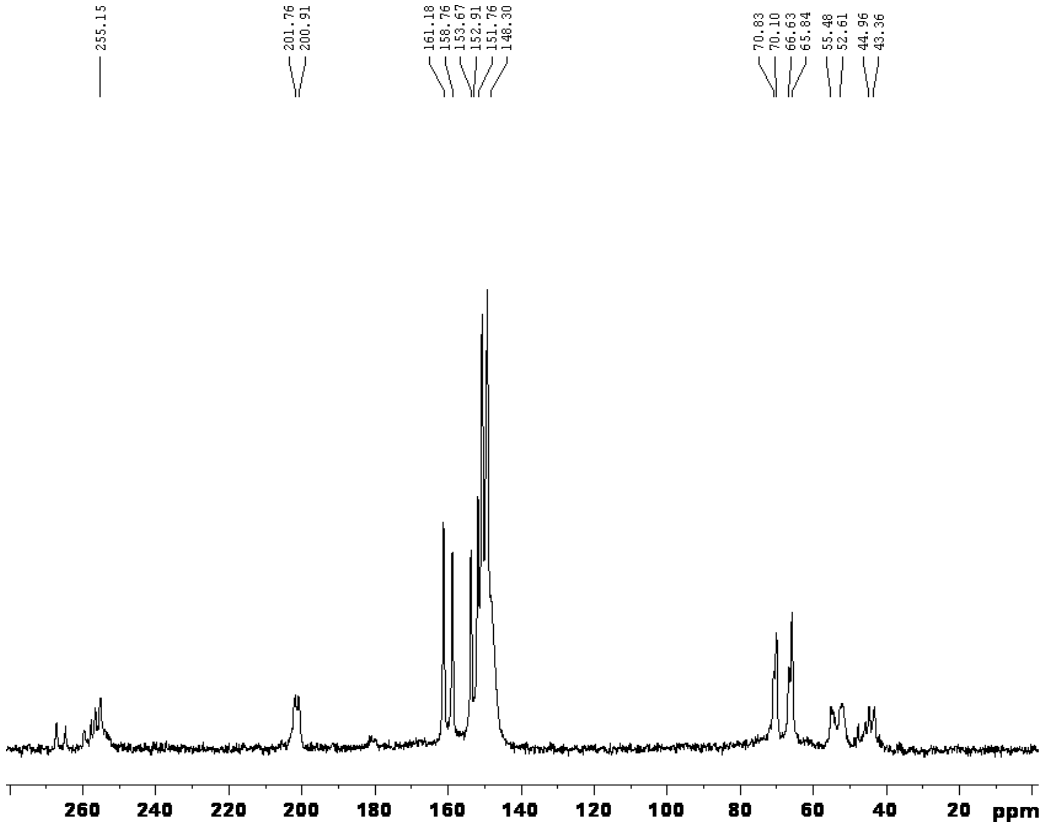
Şekil 3.5. Simenit kilin 4-aminotiyofenolle etkileştiğinde ^{13}C CP/MAS NMR spektrumu

Şekil 3.6’de QS’in nanogalerilerinde polimerleştirilen 4-aminotiyofenol’e ait ^{13}C CP/MAS NMR spektrumu gözükmetedir. 44.21 ppm civarında gelen pik “hidrojene tallow” (HT) yapısındaki CH_2 karbonlarına aittir. Ayrıca 51-54 ppm aralığındaki pikler surfaktanın metil grubu karbonlarını da işaret etmektedir. Şekil 3.5’de de görülen 70–100 ppm arasında gözlenen pikler aminotiyofenol yapısındaki C atomlarına aittir.



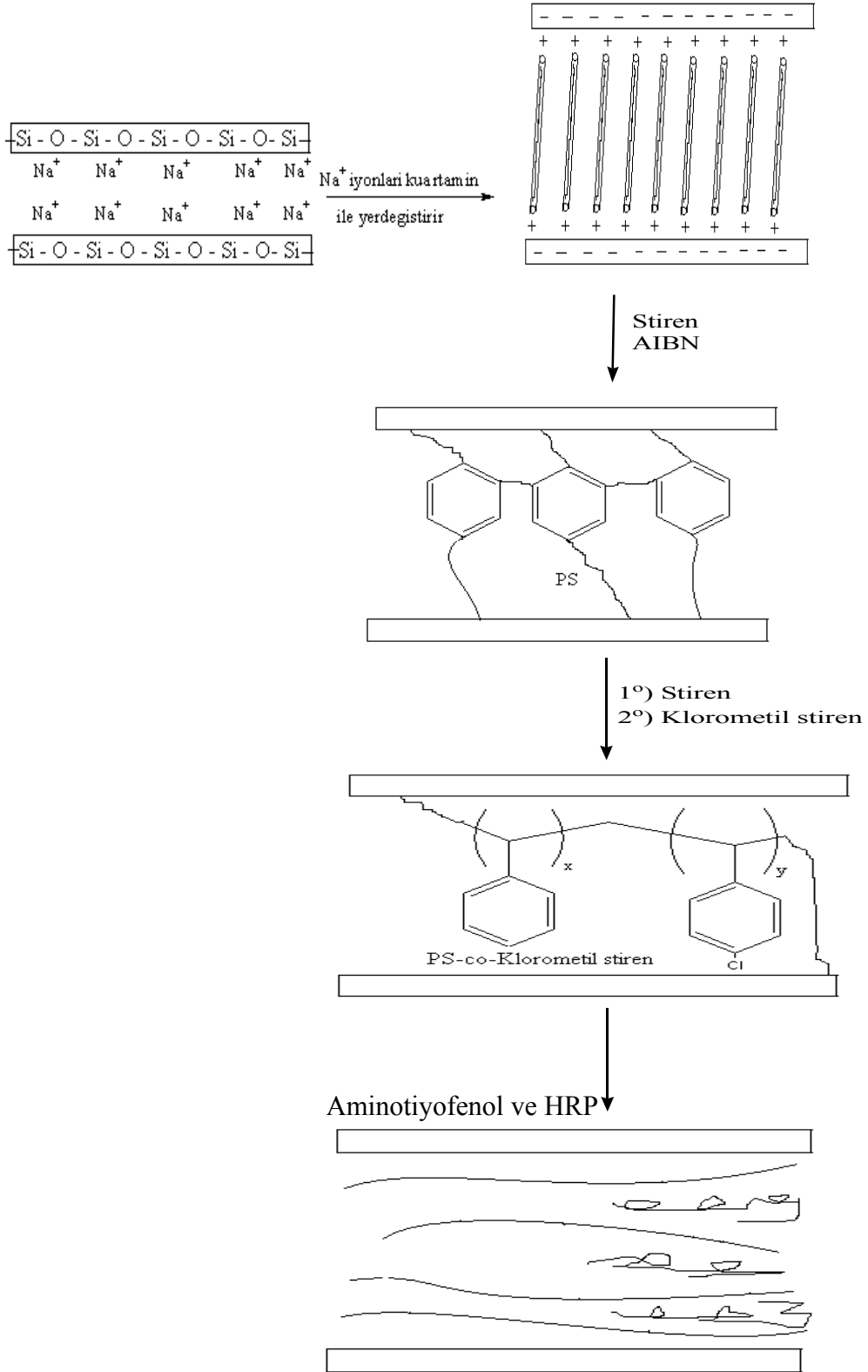
Şekil 3.6. Organosimektitin nanogalerilerinde polimerleşen 4-aminotiyofenol'e ilişkin ^{13}C CP/MAS NMR spektrumu

Polistiren bazlı nanokompozitin (PS/QS) 4-aminotiyofenolle HRP eşliğinde etkileştirilmesine ait ^{13}C CP/MAS NMR spektrumu Şekil 3.7'de verilmiştir. 60–80 ppm arasında saptanan keskin pikler 4-aminotiyofenol bileşiğindeki aromatik halkada bulunan C atomlarına aittir. 40–60 ppm ile 250–270 ppm arasındaki küçük pikler spinning side bantlarıdır. 150-160 ppm civarında gözlenen pikler polistiren yapısından kaynaklanmaktadır. 148.30 ppm civarında gözlenen pik klorometilstirendeki halkalı yapıda kloro bağlı C'ya aittir.



Şekil 3.7. Polistiren bazlı nanokompozitin (PS/QS) nanogalerilerinde polimerleştirilen 4-aminotiyofenol yapısının ^{13}C CP/MAS NMR spektrumu

Tüm bu katı NMR spektrumlarından görüleceği üzere gerek simektit gerek organosimektit gerekse daha açık ifadeyle nanokatmanlarında Poli (Stiren-co-klorometilstiren) bazlı kopolimer oluşturulan organosimektit (nanokompozit) yine nanokatmanları arasına 4-aminotiyofenol model bileşiği HRP eşliğinde polimerleştirilebilmektedir. Özellikle Şekil 3.7’de gözlenen piklerin keskinliği sıvı NMR ile yarışabilecek bir organik bağlanmanın nanokompozitte gerçekleştirildiğini de göstermektedir. Bu sonuçlar ışığında Şekil 3.8’de verilen olası canlandırmaların yaptığımız işlemleri daha net ifade edeceğini söyleyebiliriz.



Şekil 3.8. Nanokatmanlarda gerçekleştirilen modifikasyonlar

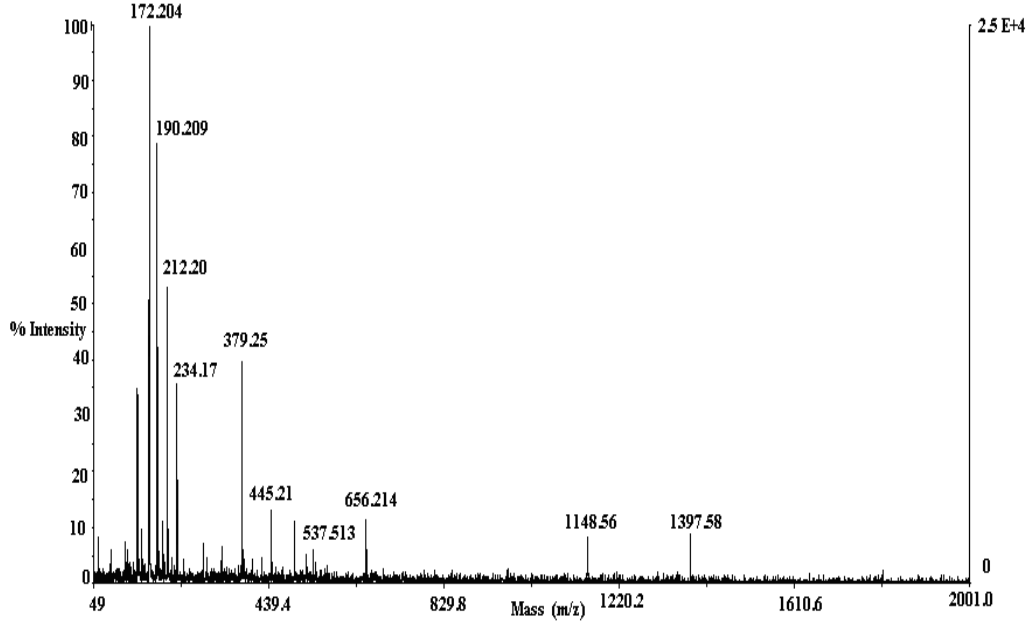
Kuartamin surfaktanının kuaterner amonyum grubu, simektitin sodyum iyonları ile katyon değişimine girdikten sonra ikinci aşamada kuartamin simektit katmanları arasında stirenin polimerizasyonu ve polistiren nanokompozitlerin nanokatmanlarına yerleşimi (intercalate) oluşurken, kuartamin modifiye simektitin katmanlarının genişlemesi sonucu polistiren nanokompoziti oluşmaktadır. d-aralığının artması suretiyle polimer galerilere doğru dağılmakta; bununla birlikte polimer kuyruklarının bazıları matriks hacmi içinde dolaşmayı sürdürmektedir. Klorometilstiren komonomerinin polimerleştirilmesi sonucunda çapraz bağlı ve kararlı bir yapı oluşmaktadır. Bu durum organokilin nanokatmanları arasında bulunan polimerlerin ekstraksiyonunu ve beraberinde molekül ağırlığının bulunmasını güçleştirmektedir. Monomer ve organo kil arasındaki etkileşim nanokompozitlerin mikroyapısının belirlenmesinde kritik faktördür. Gerek stiren gerekse aminotiyofenol monomerlerinin nanokompozitlerde etkileşiminin belirlenebileceği yegâne analiz metodu katı NMR dır ki bu çalışmada uygulanarak mikroyapı çözülmeye çalışılmıştır.

3.1.3.3. MALDI-TOF-MS analizi

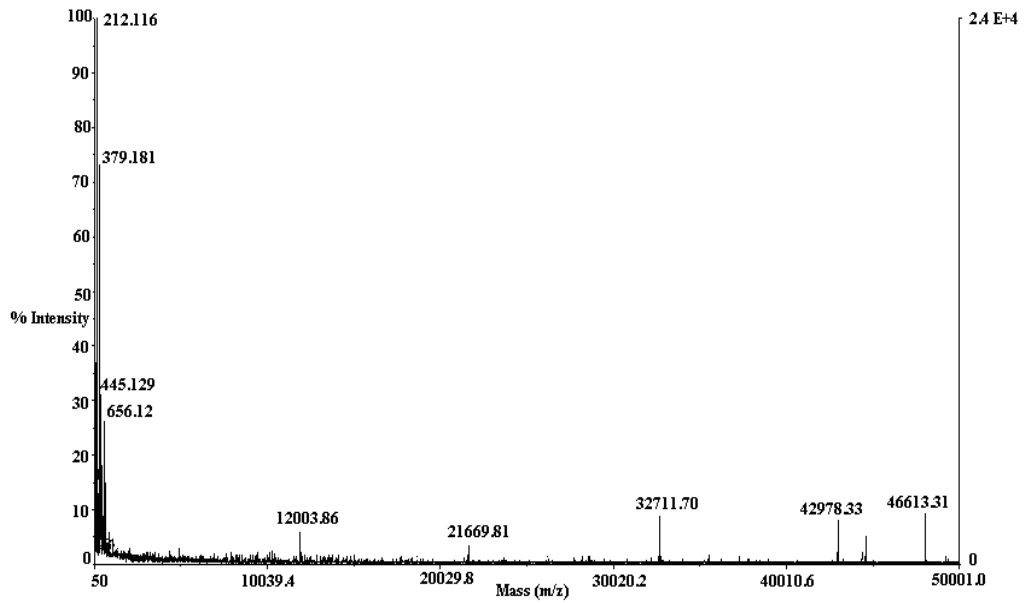
ATF örneğinin MALDI-TOF-MS analizleri Applied Biosystems Voyager STR cihazı ile yapılmıştır. Analizler Reflector modunda, pozitif, hızlandırma voltajı 20000 V, 100 atış, lazer şiddeti 2083, grid voltajı % 67 koşullarında gerçekleştirilmiştir. ATF nin HRP ile polimerleştirilmesi sonucunda metanolde çözünen örneklerin MALDI-TOF-MS analizleri sırası ile sinapinik asit ve α -siyano-4-hidroksi sinnamik asit (CHCA) matriksleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bunun için 10 mg sinapinik asit 1 mL asetonitril ve % 0,1 TFA çözeltisiyle çözülmüş, önce karışım vortekslenmiş daha sonra çözünmeyen kısım santrifüjlenerek uzaklaştırılmıştır. CHCA matriksi de sinapinik asitle benzer şekilde hazırlanmıştır. Örnekler matriksle 1:25 oranında karıştırılarak vortekslenmiş daha sonra örnek plakasına uygulanmıştır. Şekil 3.9'daki spektrumda gözlenen 172.204, 190.209, 212.20, 294.248, 379.2 (m/e) pikleri CHCA molekülüne aittir. 1397 ve 1148 (m/e) pikleri arasındaki farktan 2 ATF fragmentinin uzaklaştığı düşünülmüştür. Şekil 3.10'daki spektrumdan da

görüldüğü gibi ATF molekülü için 46613,31 (m/e) moleküler iyon piki elde edilmiş ve 372 ATF birimli polimerleşmenin söz konusu olduğu anlaşılmıştır.

Bu MS spektrumları model fenolik olarak seçilen ATF'nin yapısının HRP eşliğinde polimerleştiğini ortaya koymaktadır.



Şekil 3.9. P(ATF) oligomerinin MALDI-TOF MS spektrumu (m/e:49-2001,0)

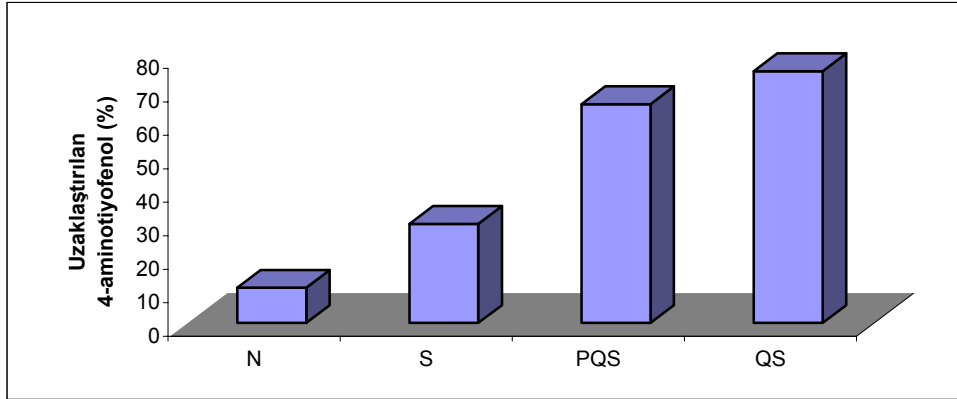


Şekil 3.10. P(ATF) oligomerinin MALDI-TOF MS spektrumu (m/e:50-50001)

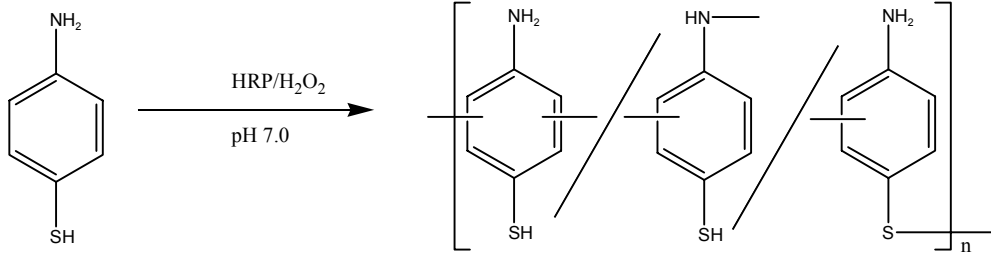
3.2. Fenoliklerin Giderim Çalışmaları

3.2.1. ATF giderimi çalışmaları

Şekil 3.11’de görüldüğü gibi giderilen ATF’nın miktarı sulu çözeltide S, QS ve PS/QS nanokompozit ortamında yapılan enzim aracılı polimerizasyonun etkinliği karşılaştırılarak gerçekleştirilmiştir. QS ve PS/QS nanokompozit malzeme çözeltideki başlangıç ATF konsantrasyonunun % 70-80’ninin ayrılmasını sağlamıştır. Bu durum özellikle kuartamin simektit ve PS/QS nanogalerilerinde hidrofobik etkileşim ile adsorplanan enzimin yaşam süresinin daha uzayabileceğini ve HRP katalizli oksidasyon esnasında üretilen ATF oligomerlerini (Şekil 3.12) QS ve PS/QS nanokatmanlarda çapraz bağlayarak uzaklaştırılabileceğini göstermektedir. ATF’nin hem amino hem de tiyol ucundan polimerleşmesi söz konusu olabilmektedir.

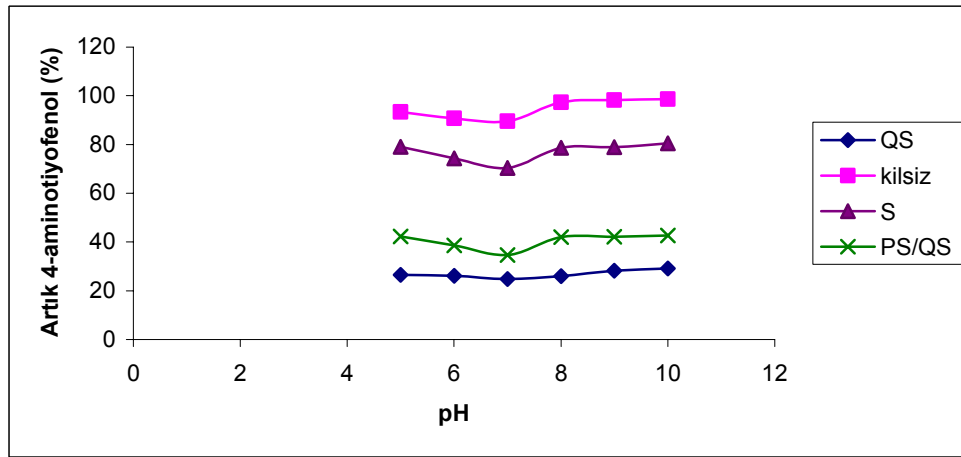


Şekil 3.11. 4-Aminotiyofenol’ün gideriminin Simektit (S), Organosimektit (QS) ve polistiren organosimektit (PS/QS) kullanılarak karşılaştırılması (100 mg/L 4-Aminotiyofenol, 0.1 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂ ile 5 saat, pH=7, 25°C’de)



Şekil 3.12. 4-Aminotiyofenol'ün sulu çözeltideki enzimatik polimerizasyonunun şematik gösterimi

3.2.1.1. ATF'nin HRP katalizli giderimine pH etkisi



Şekil 3.13. pH'nin 4-Aminotiyofenol'ün giderimine etkisi

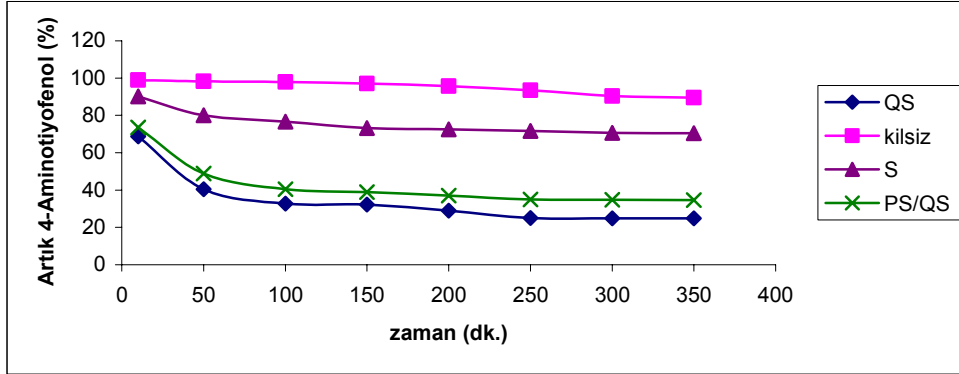
(100 mg/L 4-Aminotiyofenol, 0.1 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂ ile 6 saat, 25°C'de)

HRP tarafından ATF'nin gideriminde pH'nin etkisi 5,0–10,0 pH aralığında 100 mg/L ATF kullanılarak incelenmiştir. Şekil 3.13'de gösterildiği gibi ATF pH 7 aralığında tüm ortamlar için en yüksek oranda giderilmektedir. Bundan sonraki parametre çalışmaları ATF için pH 7'de yürütülmüştür.

3.2.1.2. ATF'nin HRP katalizli giderimine reaksiyon süresinin etkisi

Şekil 3.14, ATF'nin ayrılmasına reaksiyon süresinin etkisini göstermektedir. Bu koşulun etkisi, reaksiyon süresinin 10–360 dk. arasında

değiştirilmesiyle incelenmiştir. Dört deney grubunda 0,1 U/mL HRP'yle ve pH 7 de yürütülmüştür. Şekil 3.14'den de görüleceği üzere reaksiyonda tüm ortamlar için 300 dk. içinde doyuma ulaşılmıştır. Özellikle organokil ve nanokompozit için ilk 60 dk. içinde yüksek oranlarda giderime ulaşılması enzimin aktivitesinin hidrofobik katmanlarda daha iyi işlediğini göstermektedir.

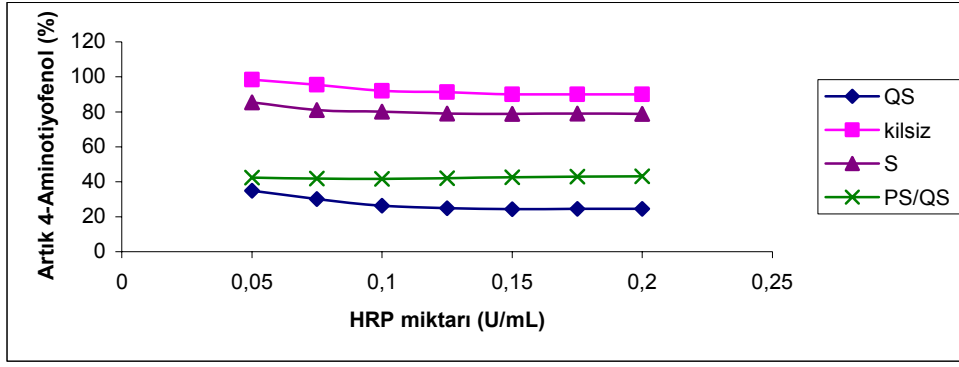


Şekil 3.14. 4-Aminotiyofenol'ün giderimine zamanın etkisi

(100 mg/L 4-Aminotiyofenol, 0.1 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂, pH=7, 25°C'de)

3.2.1.3. ATF'nin HRP katalizli giderimine HRP konsantrasyonunun etkisi

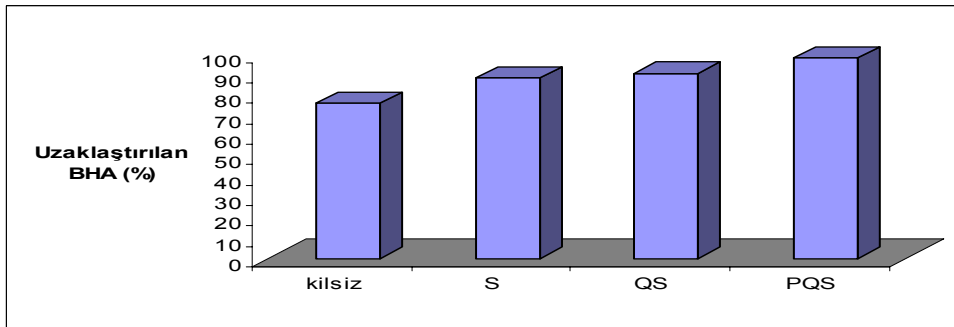
Şekil 3.15'deki sonuçlardan görüleceği gibi organokil ve nanokompozit bulunmadığı ortamda ATF'nin en yüksek giderimi, HRP'nin 0,2 U/mL konsantrasyonunda sağlanmaktadır. PS/QS ortamında ise HRP dozu değişimiyle giderimin etkinliğinde herhangi bir farklılık görülmemektedir. Yani nanokompozit varlığında, ATF fenolik bileşiğinin ayrılması için HRP'nin en az dozu (0,05 U/ml) giderimi %60 oranında gerçekleştirebilmektedir.



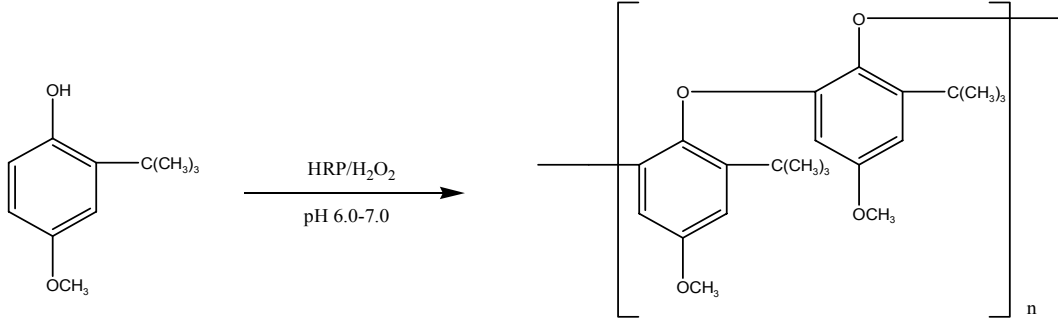
Şekil 3.15. HRP miktarının 4-Aminotiyofenol'ün giderimine etkisi
(100 mg/L 4-Aminotiyofenol ve 0,2 mL H₂O₂ ile 6 saat, pH=7, 25°C'de)

3.2.2. BHA'nın giderim çalışmaları

Şekil 3.16'da görüldüğü gibi giderilen BHA'nın miktarı sulu çözeltide S, QS ve PS/QS nanokompozit ortamında yapılan enzim aracılı polimerizasyonun etkinliği karşılaştırılarak gerçekleştirilmiştir. PS/QS nanokompozit malzeme çözeltideki başlangıç BHA konsantrasyonunun yaklaşık % 99'unun ayrılmasını sağlamıştır. Bu sonuçlar özellikle kuartamin simektit ve PS/QS malzemelerin enzimin yaşam süresinin immobilizasyon yoluyla daha uzun oksidatif çiftleşmiş prosesi yürütme yeteneğine sahip olabileceğini ve HRP katalizli oksidasyon esnasında üretilen BHA oligomerlerini (Şekil 3.17) QS ve PS/QS nanokatmanlarda çapraz bağlayarak uzaklaştırabileceğini göstermektedir.



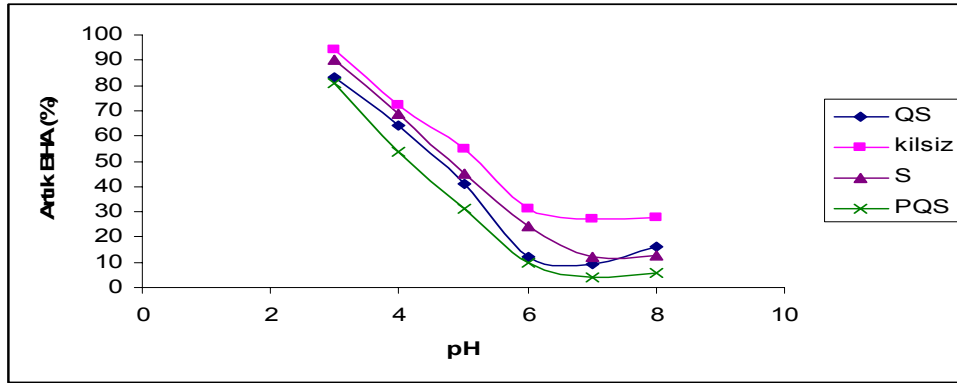
Şekil 3.16. BHA'nın giderimine kilsiz, simektit (S), organosimektit (QS) ve polistiren organosimektit (PS/QS) ortamlarının etkisi
(100 mg/L BHA, 0.2 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂ ile 4 saat, pH=7, 25°C'de)



Şekil 3.17. BHA'nın sulu çözeltideki enzimatik polimerizasyonunun şematik gösterimi

3.2.2.1. BHA'nın HRP katalizli giderimine pH etkisi

HRP tarafından BHA'nın gideriminde pH'ın etkisi 3,0–8,0 pH aralığında 100 mg/L BHA kullanılarak incelenmiştir. Şekil 3.18'de gösterildiği gibi BHA pH 6–7 aralığında yüksek bir oranda giderilmektedir. BHA'nın en yüksek dönüşümü sadece sulu ortam olduğu durumda pH 7 de %73'tür. Bundan sonraki parametre çalışmaları BHA için pH 7'de yürütülmüştür.

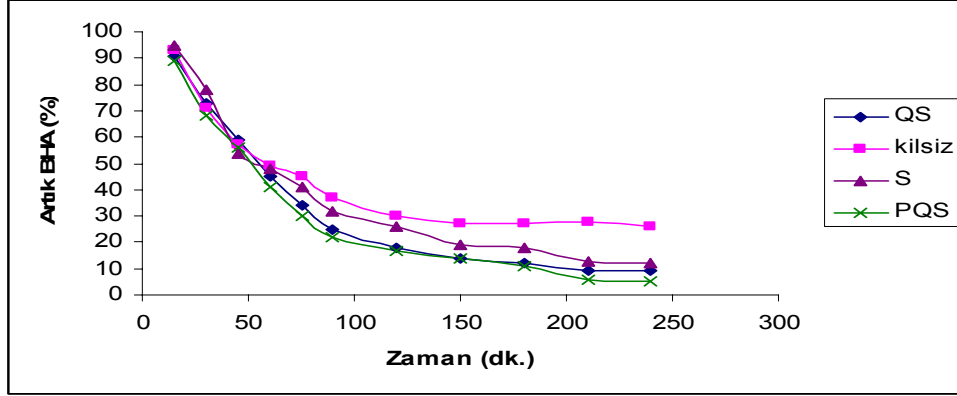


Şekil 3.18. pH'ın BHA'nın giderimine etkisi
(100 mg/L BHA, 0.2 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂)

3.2.2.2. BHA'nın HRP katalizli giderimine reaksiyon süresinin etkisi

Şekil 3.19, BHA'nın ayrılmasına reaksiyon süresinin etkisini göstermektedir. Bu koşulun etkisi, reaksiyon süresinin 15–240 dk. arasında

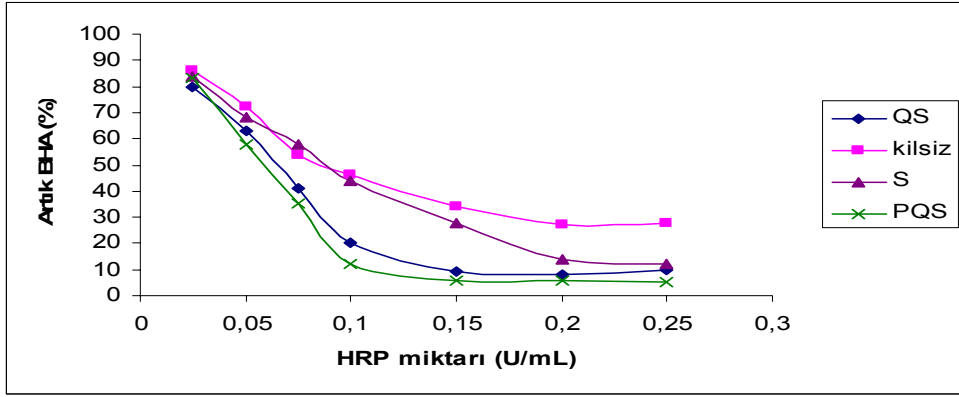
değiştirilmesiyle incelenmiştir. Dört deney grubunda 0,2 U/mL HRP'yle ve pH 7' de yürütülmüştür. Şekil 3.19'dan da görüleceği üzere reaksiyonda 210 dk. içinde doyuma ulaşılmıştır.



Şekil 3.19. BHA'nın giderimine zamanın etkisi
(100 mg/L BHA, 0.2 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂, pH=7, 25°C'de)

3.2.2.3. BHA'nın HRP katalizli giderimine HRP konsantrasyonunun etkisi

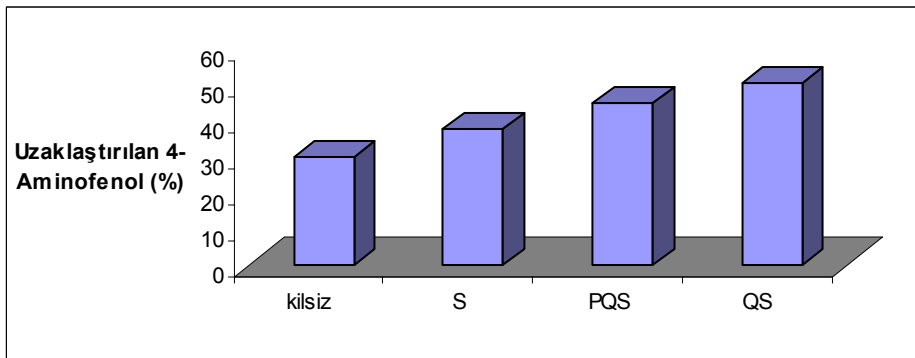
Şekil 3.20'deki sonuçlardan görüleceği gibi nanokompozit bulunmadığı ortamda BHA'nın en yüksek giderimi, HRP'nin 0,2 U/mL konsantrasyonunda sağlanmaktadır. Şekil 3.20'deki sonuçlar göstermiştir ki BHA'nın % 97 giderimini sağlayan HRP dozu, enzimin organosimektitin nanokatmanlarına immobilizasyonundan dolayı 0,15 U/mL miktarında yeterli olmaktadır. Yani organo kil varlığında, BHA fenolik bileşiğinin ayrılması için daha az miktarda HRP'ye ihtiyaç vardır. Bu durum, organo kil nanokatmanlarına immobilizasyonundan dolayı enzimin daha uzun aktivite ömrüne sahip olmasıyla açıklanabilir.



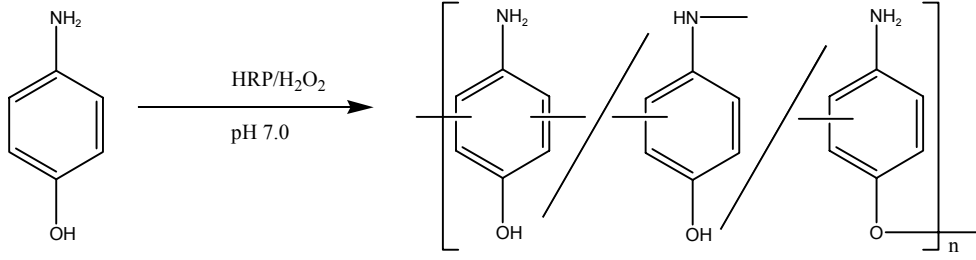
Şekil 3.20. HRP miktarının BHA'nın giderimine etkisi
(100 mg/L BHA ve 0,1 mL H₂O₂ ile 4 saat, pH=7, 25°C'de)

3.2.3. AF giderimi çalışmaları

Şekil 3.21'den görüldüğü gibi giderilen AF'nın miktarı tüm ortamlar için karşılaştırıldığında QS ve PS/QS nanokompozit malzeme çözeltideki başlangıç AF konsantrasyonunun yarısına yakınının ayrılmasını sağlamıştır. Bu durum özellikle QS ve PS/QS nanogalerilerinde HRP katalizli oksidasyon esnasında üretilen AF oligomerlerini (Şekil 3.22) QS ve PS/QS nanokatmanlarda çapraz bağlayarak uzaklaştırılabileceğini göstermektedir. AF'nin hem amino hem de fenoksi ucundan polimerleşmesi söz konusu olabilmektedir.



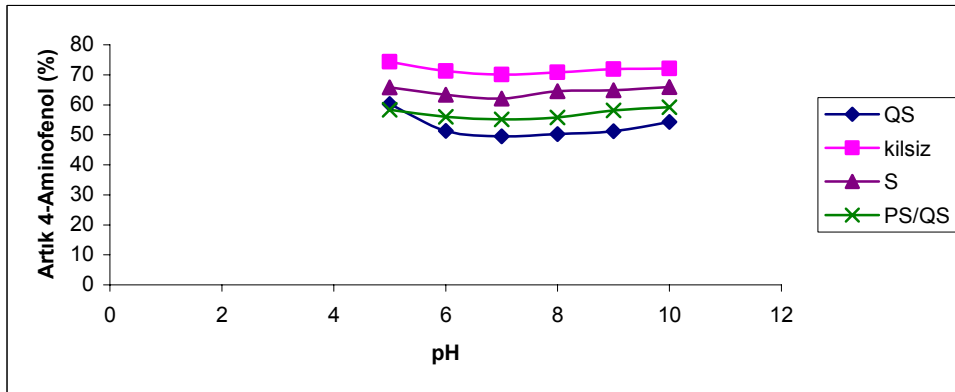
Şekil 3.21. 4-Aminofenol'ün gideriminin Simektit (S), Organosimektit (QS) ve polistiren organosimektit (PS/QS) kullanılarak karşılaştırılması
(100 mg/L 4-Aminofenol, 0.1 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂ ile 6 saat, pH=7, 25°C'de)



Şekil 3.22. 4-Aminofenol'ün sulu çözeltideki enzimatik polimerizasyonunun şematik gösterimi

3.2.3.1. AF'ün HRP katalizli giderimine pH etkisi

Kilsiz, kil, organokil ve nanokompozit varlığında HRP eşliğinde AF'ün gideriminde pH'ın etkisi 5,0–10,0 pH aralığında 100 mg/L AF kullanılarak incelenmiştir. Şekil 3.23'de gösterildiği gibi AF pH 7 aralığında tüm ortamlar için en yüksek oranda giderilmektedir.



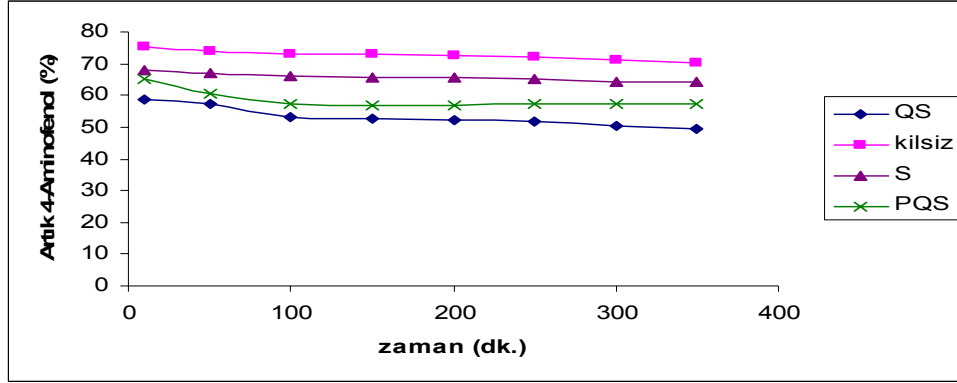
Şekil 3.23. pH'ın 4-Aminofenol'ün giderimine etkisi

(100 mg/L 4-Aminofenol, 0.2 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂ ile 6 saat, 25°C'de)

3.2.3.2. AF'ün HRP katalizli giderimine reaksiyon süresinin etkisi

Şekil 3.24, AF'ün ayrılmasına reaksiyon süresinin etkisini göstermektedir. Bu koşulun etkisi, reaksiyon süresinin 10–360 dk. arasında değiştirilmesiyle incelenmiştir. Tüm deney grupları 0,1 U/mL HRP'yle ve pH 7' de yürütülmüştür. Şekil 3.24.'den de görüleceği üzere reaksiyonda tüm ortamlar

için 300 dk. içinde doyuma ulaşılmıştır. Özellikle ilk 10 dk. içerisinde organokil için % 40 düzeyinde giderime ulaşılması daha sonra enzim kinetiğinin yavaşlaması polimerizasyonun 4-aminofenol için hızlı işlemekle birlikte giderimde çok etkin olmadığı izlenimini vermektedir.

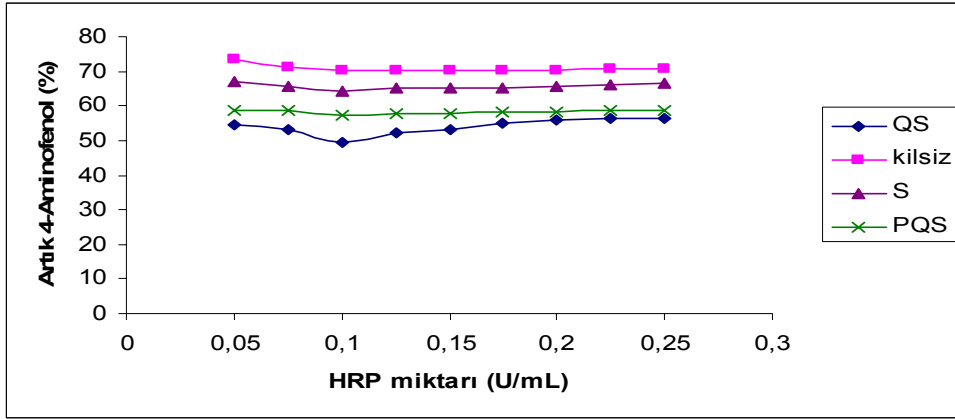


Şekil 3.24. 4-Aminofenol'ün giderimine zamanın etkisi

(100 mg/L 4-Aminofenol, 0.2 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂, pH=7, 25°C'de)

3.2.3.3. AF'ün HRP katalizli giderimine HRP konsantrasyonunun etkisi

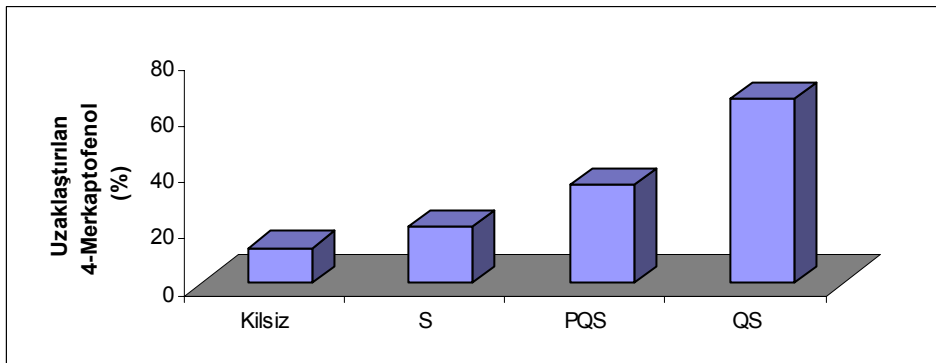
Şekil 3.25'deki sonuçlardan görüleceği gibi tüm ortamlar için AF'ün en yüksek giderimi, HRP'nin 0,1 U/mL konsantrasyonunda sağlanmaktadır. PS/QS ortamında ise HRP dozu değişimiyle giderimin etkinliğinde herhangi bir farklılık gözükmemektedir. Yani nanokompozit varlığında, AF fenolik bileşiğinin ayrılması için HRP'nin en az dozu (0.05 U/ml) giderimi üst düzeyde gerçekleştirmek için yeterlidir.



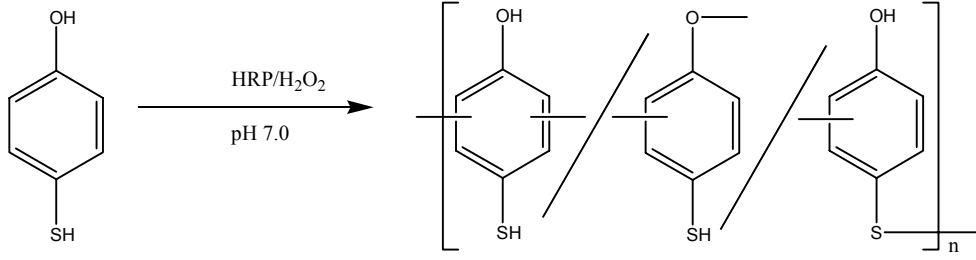
Şekil 3.25. HRP miktarının 4-Aminofenol'ün giderimine etkisi
(100 mg/L 4-Aminofenol ve 0,2 mL H₂O₂ ile 6 saat, pH=7, 25°C' de)

3.2.4. MF giderimi çalışmaları

Şekil 3.26'den görüldüğü gibi giderilen MF'nin miktarı tüm ortamlar için karşılaştırıldığında, organokilin nanokatmanlarında çözeltideki başlangıç MF konsantrasyonunun yaklaşık % 70'inin giderilmesi; nanokompozit ile % 40'lar düzeyinde daha düşük bir giderim sağlanmıştır. Bu durum yani organokilin ATF, AF ve MF için de daha yüksek giderimlere ulaşması not edilecek bir unsurdur. Giderim amacıyla MF'nin hem tiyol hem de fenoksi ucundan polimerleşmesinin olası şematik gösterimi Şekil 3.27' de verilmiştir.



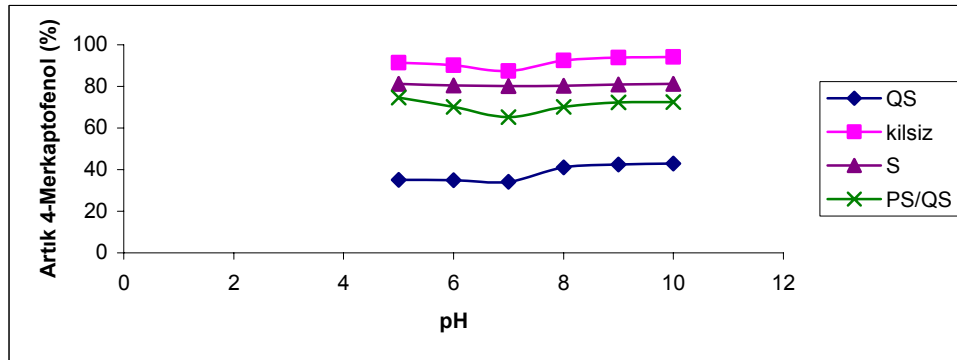
Şekil 3.26. 4-Meraptofenol'ün gideriminin Simektit (S), Organosimektit (QS) ve polistiren organosimektit (PS/QS) kullanılarak karşılaştırılması
(100 mg/L 4- Meraptofenol, 0.1 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂ ile 6 saat, pH=7, 25°C' de)



Şekil 3.27. 4-Merkaptofenol'ün sulu çözeltideki enzimatik polimerizasyonunun şematik gösterimi

3.2.4.1. MF'ün HRP katalizli giderimine pH etkisi

Tüm deney ortamları için HRP eşliğinde MF'ün gideriminde pH'ın etkisi, 5,0–10,0 pH aralığında 100 mg/L MF kullanılarak incelenmiştir. Şekil 3.28'de gösterildiği gibi MF pH 7 aralığında tüm ortamlar için en yüksek oranda giderilmektedir.



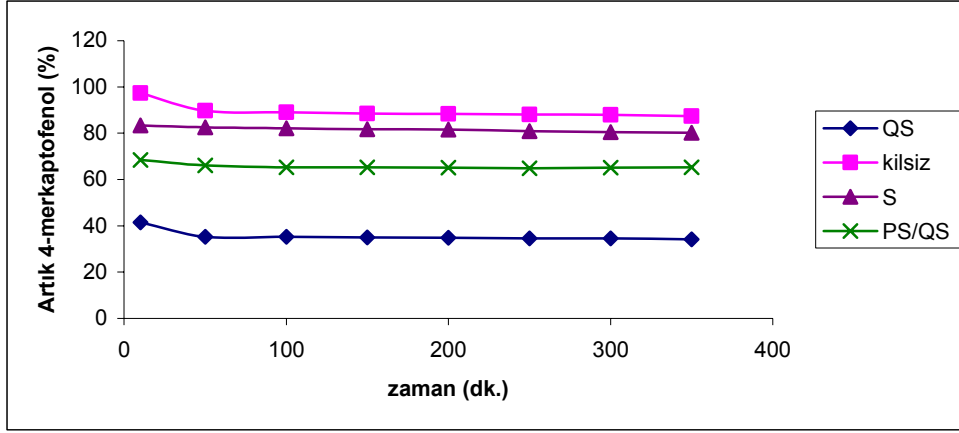
Şekil 3.28. pH'ın 4-Merkaptofenol'ün giderimine etkisi

(100 mg/L 4-Merkaptofenol, 0.2 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂ ile 6 saat, 25°C'de)

3.2.4.2. MF'ün HRP katalizli giderimine reaksiyon süresinin etkisi

Şekil 3.29, MF'ün ayrılmasına reaksiyon süresinin etkisini göstermektedir. Bu koşulun etkisi, reaksiyon süresinin 10–360 dk. arasında değiştirilmesiyle incelenmiş ve tüm deney grupları 0,1 U/mL HRP'yle ve pH 7'de yürütülmüştür. Şekil 3.29'dan da görüleceği gibi reaksiyonda tüm ortamlar için 100 dk. içinde doyuma ulaşılmıştır. Özellikle ilk 10 dk. içerisinde organokil ve

nanokompozit için sırasıyla % 60 ve % 30 düzeyinde giderime ulaşılması daha sonra enzim kinetiğinin yavaşlaması polimerizasyonun merkaptofenol için organokil ortamında hızlı işlediğini göstermiştir.

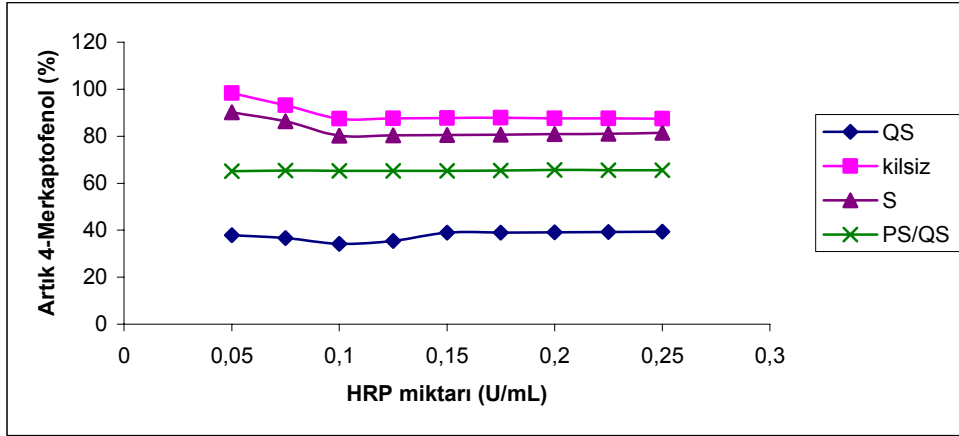


Şekil 3.29. 4-Merkaptofenol'ün giderimine zamanın etkisi

(100 mg/L 4-Merkaptofenol, 0.2 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂, pH=7, 25°C'de)

3.2.4.3. MF'ün HRP katalizli giderimine HRP konsantrasyonunun etkisi

Şekil 3.30'deki sonuçlardan görüleceği gibi tüm ortamlar için MF'ün en yüksek giderimi, HRP'nin 0,1 U/mL konsantrasyonunda sağlanmaktadır. Organokil ve nanokompozit ortamlarında MF fenolik bileşiğinin ayrılması için HRP'nin en az dozu (0.05 U/ml) giderimi üst düzeyde gerçekleştirmek için yeterli olmaktadır.

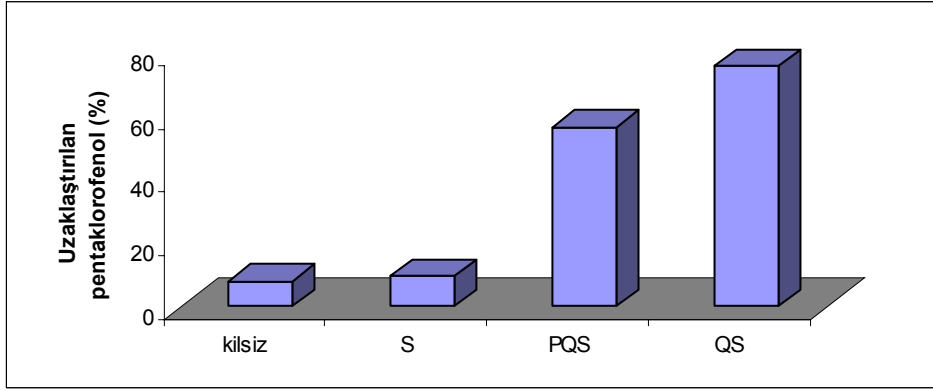


Şekil 3.30. HRP miktarının 4-Meruptofenol'ün giderimine etkisi (100 mg/L 4-Meruptofenol ve 0,2 mL H₂O₂ ile 6 saat, pH=7, 25°C'de)

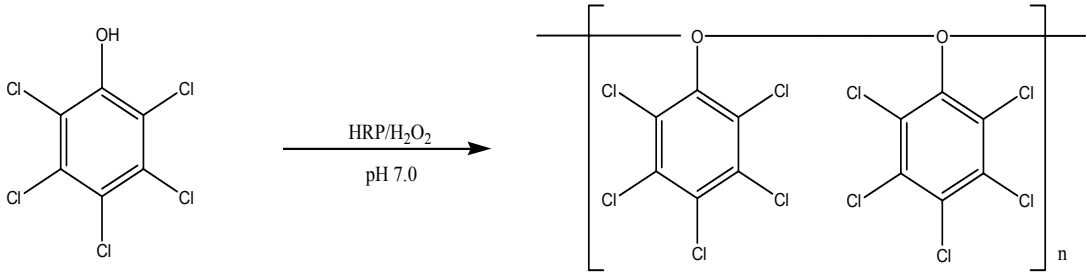
3.2.5. PKF giderim çalışmaları

Şekil 3.31'da görüldüğü gibi giderilen PKF'nin miktarı sulu çözeltide S, QS ve PS/QS nanokompozit ortamında yapılan enzim aracılı polimerizasyonun etkinliği karşılaştırılarak gerçekleştirilmiştir. Organokilin nanokatmanlarında çözeltideki başlangıç PKF konsantrasyonunun yaklaşık % 80'lere yakın bir kısmının, nanokompozitin katmanlarında ise yaklaşık % 60'lar düzeyinde bir giderimin sağlanması sözkonusudur. Kilsiz ve simektit killi ortamda PKF'ün giderimi yok denebilecek kadar azdır ve bu durum enzimin yaşam süresinin immobilizasyon yoluyla daha uzun oksidatif çiftleşmiş prosesi yürütme yeteneğine sahip olabileceğini ve HRP katalizli oksidasyon esnasında üretilen PKF oligomerlerinin QS ve PS/QS nanokatmanlarında çapraz bağlanarak uzaklaştırabileceğini göstermektedir.

PKF'ün fenoksi ucundan polimerleşmesinin olası şematik gösterimi Şekil 3.32'de sergilenmiştir.



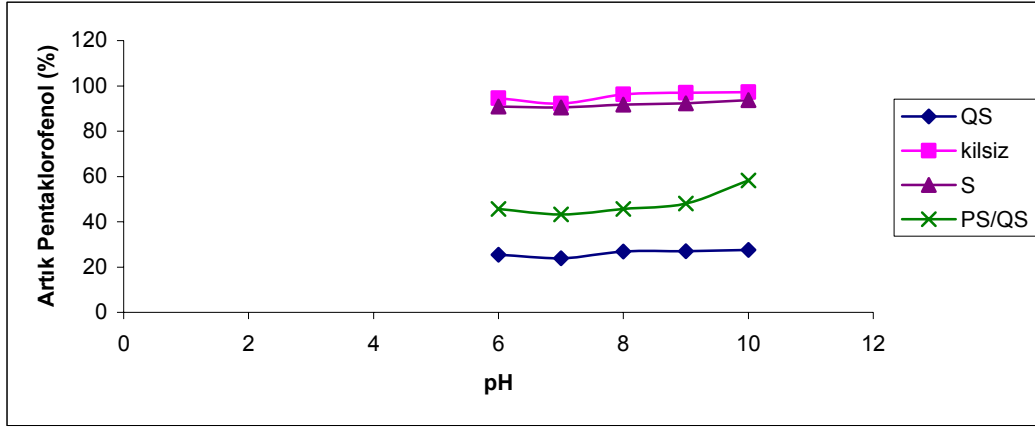
Şekil 3.31. Pentaklorofenol'ün gideriminin Simektit (S), Organosimektit (QS) ve polistiren organosimektit (PS/QS) kullanılarak karşılaştırılması
(100 mg/L Pentaklorofenol, 0.1 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂ ile 6 saat, pH=7, 25°C' de)



Şekil 3.32. Pentaklorofenol'ün sulu çözeltideki enzimatik polimerizasyonunun şematik gösterimi

3.2.5.1. PKF'ün HRP katalizli giderimine pH etkisi

Tüm deney ortamları için HRP eşliğinde PKF'ün gideriminde pH'ın etkisi, pH 5.0'da gözlenen bulanıklık nedeniyle 6,0–10,0 pH aralığında 100 mg/L PKF kullanılarak incelenmiştir. Şekil 3.33'de gösterildiği gibi PKF giderimi pH 6-7 aralığında tüm ortamlar için en yüksek oranda sağlanmaktadır.

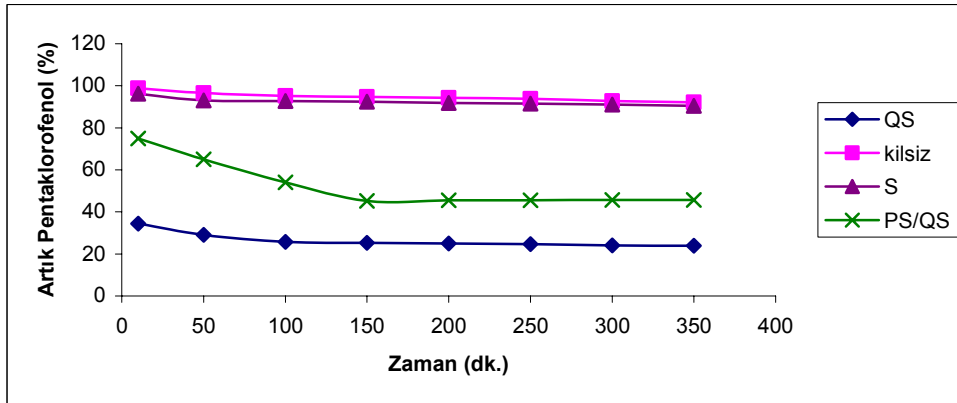


Şekil 3.33. pH'in Pentaklorofenol'ün giderimine etkisi

(100 mg/L Pentaklorofenol, 0.1 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂ ile 6 saat, 25°C'de)

3.2.5.2. PKF'ün HRP katalizli giderimine reaksiyon süresinin etkisi

Şekil 3.34, PKF'ün ayrılmasına reaksiyon süresinin etkisini göstermektedir. Bu koşulun etkisi, reaksiyon süresinin 10–360 dk. arasında değiştirilmesiyle incelenmiş ve tüm deney grupları 0,1 U/mL HRP'yle ve pH 7'de yürütülmüştür. Şekilden de görüleceği üzere reaksiyonda tüm ortamlar için 200 dk. içinde doyuma ulaşılmıştır. Özellikle PKF'ün organokil ortamında ilk 10 dk. içerisinde % 60'lar düzeyinde oldukça yüksek hızla polimerleşerek giderimi not edilmelidir.

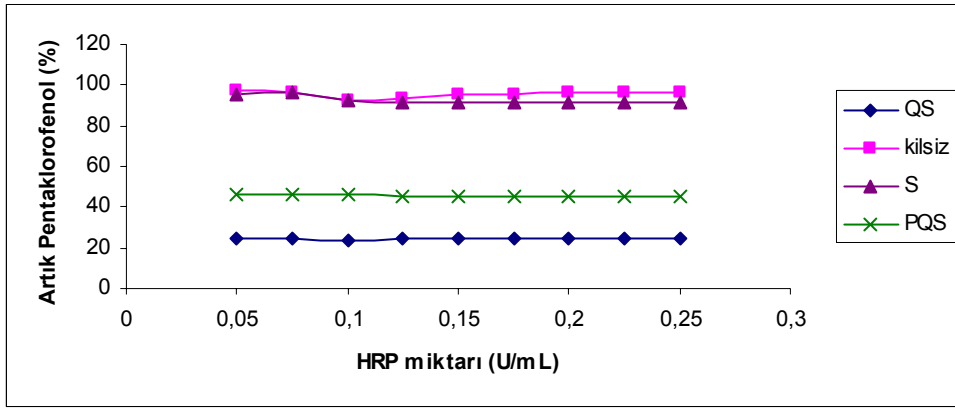


Şekil 3.34. Pentaklorofenol'ün giderimine zamanın etkisi

(100 mg/L Pentaklorofenol, 0.1 U/mL HRP ve 0,2 mL H₂O₂, pH=7, 25°C'de)

3.2.5.3. PKF'ün HRP katalizli giderimine HRP konsantrasyonunun etkisi

Şekil 3.35'deki sonuçlardan görüleceği üzere tüm ortamlar için PKF'ün en yüksek giderimi, HRP'nin 0,1 U/mL konsantrasyonunda sağlanmaktadır. Organokil ve nanokompozit ortamlarında PKF bileşiğinin enzimatik polimerizasyonunun sağlanması için HRP'nin en az dozu (0.05 U/ml) yeterli olabilmektedir.



Şekil 3.35. HRP miktarının Pentaklorofenol'ün giderimine etkisi
(100 mg/L Pentaklorofenol ve 0,2 mL H₂O₂ ile 6 saat, pH=7, 25°C'de)

4. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma, mikroyapıları XRD ve ¹³C-CPMAS-NMR karakterizasyonları ile ortaya konan kuartamin modifiye simektit ve polistiren bazlı kuartamin modifiye simektit nanokompozitin BHA, ATF, AF, MF ve PKF bileşiklerinin gideriminde etkin bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Tüm fenolik türler için farklı giderim miktarlarının gözlendiği çalışmalarda pH 7.0 civarında en yüksek giderim miktarlarına ulaşılmıştır. Bu sonuç, HRP enziminin (isoelektrik noktası: 7.2) kendi doğal pH'ında etkin olduğunu göstermektedir. ATF, AF, MF ve PKF gibi fenolikler organokilin katmanlarında diğer ortamlara göre en yüksek giderimle ayrılırken BHA için nanokompozit ortamında en yüksek giderime ulaşılması, BHA'nın daha hidrofobik olması ve nanokatmanlarda polimerizasyonla giderim yanında BHA'nın polistiren bazlı nanokompozite adsorpsiyon olayının da artı bir giderim sağlaması nedeniyle açıklanabilir. Genelde tüm türler için organokil ve nanokompozit ortamlarında ilk 10 dk. içinde hızlı bir giderim sağlanırken 100 dk. sonrasında doyuma ulaşılması not edilmelidir.

Ayrıca organokil ve nanokompozit ortamında 0.05 U/mL gibi oldukça düşük bir HRP miktarında dahi yüksek giderimler sağlanması, HRP'nin nanokatmanlara immobilizasyonundan dolayı enzimin ömrünün uzamasıyla açıklanabilir. Bu sonuçlar organokil ile nanokompozit malzemelerin enzimin katalitik ömrünü arttırarak enzimatik yöntemi avantajlı duruma getirdiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Albayrak, F., (1990), *Killerde ağır metal adsorpsiyonlarının incelenmesi ve çözüldüden adsorpsiyon yöntemiyle yüzey alanı belirlenmesi*, Yüksek lisans tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Anonim (2006), *YTÜ Çevre Mühendisliği Bölümü, Çevre Kimyası 2 Laboratuvarı* http://89.149.198.191/dosyalar/belgeler/ders_notlari/2006-07-2/ck_II/ck2-df10.pdf.
- Cheng, J., Yu, S.M., Zuo, P., (2006), "Horseradish peroxidase immobilized on aluminum-pillared interlayered clay for the catalytic oxidation of phenolic wastewater," *Water research*, **40**, 283-290.
- Colonna, S., Gaggero, N., Richelmi, C., Pasta, P., (1999) Recent biotechnological developments in the use of peroxidases, *TIBTECH*, **17**, 163-168.
- Arpa, Ç., Say, R., Satiroglu, N., Bektas, S., Yürüm, Y., Genç, Ö., (2000), Heavy-Metal Removal from Aquatic Systems by Northern Anatolian Smectites, *Turkish Journal of Chemistry*, **24**, 209-215,
- Dalal, S., Gupta, M.N., (2007),"Treatment of phenolic wastewater by horseradish peroxidase immobilized by bioaffinity layering," *Chemosphere*, **67**, 741-747.
- D'Annibale, A., Stazi, S. R., Vinciguerra, V., Sermanni, G.G., (2000), "Oxirane-immobilized Lentinulaedodes laccase: stability and phenolics removal efficiency in olive mill wastewater," *Journal of Biotechnology*, **77**, 265-273.
- Gacitua, W. E., Balerini, A. A., Zhang J., (2005). "Polymer Nanocomposites: Synthetic and Natural Fillers Maderas" *Ciencia y Tecnologia* **7**(3), 159-178.
- Kauffmann, C., Petersen, B. R., Bjerrum, M. J., (1999),"Enzymatic removal of phenols from aqueous solutions by Coprinus cinereus peroxidase and hydrogen peroxide," *Journal of Biotechnology*, **73**, 71-74.
- Krauskopf, K. B., Bird, D. K., (1995), "Weathering and soils," *Introduction to geochemistry*, 3. Baskı, McGraw-Hill Book Co., New York, A.B.D. 325-355.

- Lui, J. Z., Song, H. Y., Weng, L. P., Ji, L. N., (2002), "Increased thermostability and phenol removal efficiency by chemical modified horseradish peroxidase," *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **18**, 225-232.
- Masuda, M., Sakurai, A., Sakakibara, M., (2001), "Effect of reaction conditions on phenol removal by polymerization and precipitation using *Coprinus cinereus* peroxidase," *Enzyme and Microbial Technology*, **28**, 295-300.
- Nazari, K., Esmaili, N., Mahmoudi, A., Rahimi, H., Moosavi-Movahedi, A. A., (2007), "Peroxidative phenol removal from aqueous solutions using activated peroxidase biocatalyst," *Enzyme and Microbial Technology*, **41**, 226-233.
- Tong, Z., Qingxiang, Z., Hui, H., Qin, L., Yi, Z., (1998), "Kinetic study on the removal of toxic phenol and chlorophenol from wastewater by horseradish peroxidase," *Chemosphere*, **37**, No. 8 1571-1577.
- Rappoport, Z., (2003) "Environmental effect of substituted phenols", *The Chemistry of Phenols*, (Ed: Rappoport, Z), John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, İngiltere, 1347-1363.
- Saka, G., (2004), *Bütillenmiş Hidroksianisolin moleküler baskılama yöntemiyle uzaklaştırılması*, Bitirme Ödevi, Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Eskişehir.
- Seçkin, T., ve Köytepe, S., (2006), "Poliimit-Simektit Nanokompozitlerin Hazırlanması ve Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi," *Kibited* **1** (1) 7-16.
- Seki, Y., (2002), *Adsorption of some herbicides onto Organo-clay from aqueous solution*, Yüksek Lisans tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Tekin, C., (1973), *Lületaşının ekonomik analizi*, Eskişehir Sanayi Odası yay. No:9, Eskişehir.
- Yariv, S. ve Cross, H., (2002a), "Introduction to Organo-clay Complexes and Interactions," *Organo-clay Complexes and Interactions*, (Ed: Yariv, S. ve Cross, H) Marcel Dekker, Inc., New York, A.B.D., 39-112.

- Yariv, S. ve Cross, H.,(2002b), “Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Organo-Clay Complexes,” *Organo-clay Complexes and Interactions*,(Ed: Yariv, S. ve Cross, H) Marcel Dekker, Inc., New York, A.B.D., 223-272.
- Yener, J. ve Aksu Z. (1999), “Atıksulardaki fenol ve klorofenollerin aktif karbon ve kurutulmuş aktif çamura adsorpsiyonu.” *Tr. J. of Engineering and Environmental Science.*, **23**, 93-104.