

## Giresun Yöresinde Yetişen Fındık Mantarı (*Lactarius pyragalus*)'ndan Katalaz Enziminin Saflaştırılması Ve Karakterizasyonu

Bahar BİLGİN SÖKMEN<sup>1\*</sup>, Ahmet AHISKALI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Giresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 28100, Giresun, TÜRKİYE

\*Sorumlu Yazar: bahar.sokmen@giresun.edu.tr

Geliş Tarihi: 03.05.2017  
Kabul Tarihi: 06.06.2017

### Özet

Katalaz (E.C. 1.11.1.6), kararlı ve güçlü bir yükseltgen olan hidrojen peroksidin su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyerek parçalanmasını sağlayan enzimdir. Bu çalışmada, Giresun İli ve çevresinde yetişen Fındık Mantarı (*Lactarius pyragalus*)'ndan katalaz enzimi ilk defa saflaştırıldı ve kinetik özellikleri incelendi. Optimum pH ve sıcaklık değerleri, pH ve sıcaklık stabiliteyi, optimum reaksiyon süresi, uygun enzim ve substrat konsantrasyonu belirlendi. Fındık mantarından saflaştırılan katalazın optimum pH'sının 8,0 ve optimum sıcaklığının 20 °C olduğu bulundu. SDS-PAGE elektroforezi sonucunda saflaştırılan enzimin molekül ağırlığının 30 kDa olduğu bulundu. *L. pyragalus* katalaz enziminin optimum pH ve sıcaklıkta hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) substratı için K<sub>m</sub> ve V<sub>max</sub> değerleri Linewear-Burk yöntemi ile bulunmuştur. K<sub>m</sub> ve V<sub>max</sub> değerleri sırasıyla 0,310 mM ve 62,112 U olarak bulundu.

**Anahtar Kelimeler:** Fındık Mantarı (*Lactarius pyragalus*), Enzim, Katalaz, Saflaştırma, Karakterizasyon.

## Purification And Characterization of Catalase Enzyme From Fiery Milkcap Mushrooms (*Lactarius pyragalus*) Growing In Giresun Region

### Abstract

Catalase (E.C. 1.11.1.6) is enzyme provided hydrogen peroxide, a stable and strong oxidizing agent, to be broken down by catalyzing the conversion of water and molecular oxygen. In this study, the catalase enzyme was first purified from Fiery Milkcap Mushrooms (*Lactarius pyragalus*) grown in and around Giresun province and its kinetic properties were investigated. Optimum pH and temperature values, pH and temperature stability, optimum reaction time, , appropriate enzyme and substrate concentration were determined. The optimum pH of catalase purified from bovine mushroom was found to be 8.0 and the optimum temperature to be 20 °C. The purified enzyme, which determined SDS-PAGE, had a molecular weight of 30 kDa. The K<sub>m</sub> and V<sub>max</sub> values for the hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) substrate at the optimum pH and temperature of *Lactarius pyragalus* catalase enzyme were determined by Linewear-Burk method. The K<sub>m</sub> and V<sub>max</sub> values were found to be 0.310 mM and 62.112 U.

**Keywords:** Fiery Milkcap Mushroom (*Lactarius pyragalus*), Ezyme, Catalase, Purification, Characterization.

## 1. Giriş

Katalaz ( $H_2O_2$ :  $H_2O_2$  oksidoredüktaz, E.C. 1.11.1.6), hidrojen peroksitin su ve oksijene parçalanmasını sağlayan ve *hem* grubu içeren bir oksidoredüktaz sınıfı bir enzimdir. Katalaz enzimi, bitki, hayvan ve mikroorganizmalar gibi birçok canlı organizmada yaygın olarak bulunmaktadır. Biyolojik ve biyokimyasal sistemlerde katalaz antioksidan etkiye sahip bir enzim olup toksik ve yükseltgen etkiye sahip hidrojen peroksidin hücrelerden uzaklaştırılmasında önemli rol oynar. Katalaz, dokuları  $H_2O_2$  ve kısmen indirgenmiş oksijen türlerinin toksik hasarlarından koruma görevi üstlenmektedir (Aydemir ve Kuru, 2003). Antioksidan savunma sistemi, hücreyi serbest radikal veya diğer reaktif moleküllerin oksidatif etkilerinden korur. Katalaz enzimi canlı organizmanın eritrosit, karaciğer, böbrek, kemik iliği ve çeşitli dokularında da bulunan bir enzim olup hücrelerin özellikle peroksizomlarında yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Çimen ve ark., 2005).

Katalaz, kararlı ve güçlü bir yükseltgen olan hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyerek parçalanmasını sağlar. Katalaz enzimi sadece hidrojen peroksiti katalizleyerek parçalanmasını sağlamakla (detoksifiye etmekle) kalmaz aynı zamanda da fenoller, formik asit, formaldehit ve alkoller içeren toksik etkili bileşikler okside etmede görev alır ve yine substrat olarak hidrojen peroksidi kullanır. Katalaz enzimi, ağartıcı, oksitleyici veya sterilizasyon amaçlı kullanılan hidrojen peroksidin uzaklaştırılmasında, hidrojen peroksit veya glukoz biyosensörlerin analitik amaçlı ölçümlerinde oldukça yaygın kullanılan bir enzimdir (Çimen ve ark., 2005).

Fındık Mantarı (*Lactarius pyragalus*), fındık ağaçları altında yetişen, sonbahar aylarında görülen, grimsi rengi ve sarı renkli seyrek lamelleriyle diğer *Lactarius* türlerinden farklılık gösteren bir mantardır. Özellikle Samsun, Giresun ve Ordu halkı tarafından çok sevilerek tüketilen ve bölgede pazarlarda satılan bir mantar türüdür. *L. pyragalus* protein ve mineral maddeler yönünden zengin olması yanında, tıbbi olarak da kullanımı olan bir türdür. Taze ya da salamurası yapılarak değerlendirilmektedir. Türkiye gibi gelişmekte olan ülke insanların beslenmesindeki protein ve mineral açığını kapatmada bu mantar türlerinden yararlanılabileceği görülmektedir (Pekşen ve ark., 2007).

Bu çalışmada, Giresun yöresinde yetişen Fındık Mantarı (*L. pyragalus*)'ndan katalaz enzimi ilk kez saflaştırıldı ve bazı kinetik özellikleri incelendi.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Kullanılan Kimyasallar

Fındık Mantarı (*L. pyragalus*)'ndan ham ekstre hazırlanmasında dipotasyum hidrojen fosfat (Merck) ve potasyum dihidrojen fosfat (Merck)'tan yararlanıldı. Amonyum sülfat kesiti için amonyum sülfat (Sigma) ve Sigma marka {D-9527 genişliği 43 mm (1,7"), çapı 27 mm (1,1")} dializ kesesi kullanıldı. DEAE-selüloz kolon kromatografisinde, kolon dolgu maddesi olarak DEAE-selüloz (Sigma) kullanıldı. Ham ekstrede, amonyum sülfat ve DEAE-selüloz kolon kromatografisinden elde edilen fraksiyonlarda, enzim aktiviteleri ve protein tayinlerinde hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Merck), sığır serum albumini (Merck), Folin ayırıcı (Merck), bakır sülfat (Sigma), dipotasyum tartarat (Sigma), sodyum karbonat (Merck), sodyum hidroksit, dipotasyum hidrojen fosfat ve potasyum dihidrojen fosfat (Merck)'tan yararlanıldı. Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE)'nde jellerin hazırlanmasında Tris (hidroksimetilaminometan), hidroklorik asit, N,N'-metilen-di-akrilamid akrilamid, β-merkaptto etanol, brom timol mavisi, glisin, Coomassie Brilliant Blue R250, metanol, asetik asid (Merck), SDS, N,N,N',N'-tetrametil etilen diamin (TEMED), amonyum persülfat, gliserin ve marker kiti (Sigma) kullanıldı.

### 2.2. Kullanılan Cihazlar

Hazırlanan ekstrelerin ve DEAE-selüloz kolon kromatografisi çıkışında elde edilen fraksiyonların saklanması için Arçelik marka Nofrost ve dondurucusu kullanıldı. Absorbans ölçümleri, Shimadzu UV Mini-1240 model UV-VIS Spektrofotometrede okundu. Blender King, pH metre Butech, hassas terazi Sartorius, manyetik karıştırıcı Chiltern Hotplate HS 31, vorteks Velp Scientifica, su banyosu Memmert, sonik su banyosu Selectra, soğutuculu santrifüj Sigma 3K 30, Molekül ağırlığı tayini Bio-Rad Marka elektroforez cihazıyla yapıldı.

### 2.3. Fındık Mantarı Ham Ekstresinin Hazırlanması

Blender yardımıyla parçalanmış Fındık Mantarı'ndan ham ekstre hazırlamak üzere 1:5 (w/v) oranında 50 mM fosfat tamponunda (pH= 7,0) +4°C'de manyetik karıştırıcı ile 1 saat karıştırıldıktan sonra, bir gece bekletildi. Ertesi gün homojenizat iki kat bezden süzüldü. 0°C'de 18000 rpm'de, 30 dakika santrifüj edildi. Üstteki berrak kısım alındı. Bu işlemlerin sonucunda Fındık Mantarı ham ekstresi elde edildi. Ham ekstrede katalaz aktivitesi ve protein miktar tayinleri yapıldı.

## 2.4. Amonyum Sülfat Çöktürmesi, Dializ, Dietilaminoetil (DEAE)-Selüloz Kolon Kromatografisi

Fındık Mantarı için en uygun amonyum sülfat konsantrasyonunu saptamak üzere % 10-90 arasında çöktürme yapıldı. Amonyum sülfatı uzaklaştırmak amacıyla dializ kesesine (Sigma D-9527 {genişliği 43 mm (1,7"), çapı 27 mm (1,1")}) konuldu. +4 °C'de, 0,01 M fosfat tamponu (pH=7,0) ile çözelti sık sık değiştirilerek ve manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak, çözeltide sülfat iyonu kalmayınca kadar dializ işlemine devam edildi. DEAE-selüloz kolonuna yaklaşık 200 mg/mL protein olarak %60 amonyum sülfat kesiti uygulandı. Kolondan sırasıyla yaklaşık 200 mL 0,5 mM fosfat tamponunda çözölmüş 10 mM, 20 mM, 50 mM, 100 mM, 200 mM, 300 mM ve 500 mM NaCl gradienti uygulandı. Fraksiyonlar her tüpte eşit hacim olacak şekilde toplandı (4-5 mL). Tüplerdeki özeltilerin absorbansları, elüe edilen tampona karşı spektrofotometrede, 280 nm'de okunarak elüsyon grafiği çizildi. Ayrıca elüsyonlardaki katalaz aktivitesi tayin edilerek aktivite değerleri de aynı grafikte gösterildi. Enzimatik aktivite gösteren tüplerdeki çözeltiler bir araya toplandı ve bu çözeltinin katalaz aktivitesi ve protein miktar tayini yapıldı. Çözelti uygun hacimlere bölünerek, daha sonra kinetik özellikleri incelemeye kullanılmak üzere derin dondurucuda saklandı.

## 2.5. Protein Miktar Tayini

Fındık Mantarından katalazın saflaştırılması sırasında, ham ekstre ve % 60'lık amonyum sülfat fraksiyonunun elde edilmesi evrelerinde, protein miktarı Lowry ve arkadaşlarının yöntemine göre tayin edildi (Lowry ve ark., 1951). DEAE-selüloz kolon kromatografisi ile elde edilen fraksiyonlardaki protein miktar tayinlerinde ise  $E_{280}/E_{260}$  Warburg Yöntemi (Warburg ve Christian, 1941) kullanıldı.

## 2.6. Katalaz Aktivitesinin Tayini

Çalışmadaki tüm katalaz aktivitesi tayinleri, Sigma Yöntemine göre yapıldı. UV küvetlerinin birine 50 mM pH=7,0 fosfat tamponu içerisinde özönmüş 10 mM hidrojen peroksit çözeltisinden 5 mL ve üzerine 10 µL enzim çözeltisi, diğer küvete ise yine aynı hidrojen peroksit çözeltisinden 5 mL ve üzerine 10 µL 50 mM pH=7,0 fosfat tamponu konuldu. 2 dakika oda sıcaklığında inkübasyondan sonra 1 M HCl çözeltisinden 1 mL eklenerek reaksiyon durdurulmuştur. Oda sıcaklığında 240 nm'de absorbanslar okunmuştur. Bu sıcaklıkta absorbansın 0,450'den 0,400'e düşmesi için geçen süre belirlenmiştir (Seriner, 2012).

## 2.7. SDS - PAGE İle Enzim Saflığının Kontrolü

Fındık Mantarı katalaz DEAE-selüloz kolon kromatografisi ile saflaştırılmasından sonra iki farklı akrilamid konsantrasyonunda; yığıma jeli % 3, ayırma jeli % 10 konsantrasyonlarında olacak şekilde kesikli SDS-PAGE jel elektroforezi, Laemmli tarafından belirtilen yöntemle enzimin saflık derecesi kontrol edildi (Laemmli, 1970). Fındık Mantarı katalaz enzimi molekül ağırlığı standart proteinlerin molekül ağırlıkları yardımıyla grafikten hesaplandı.

## 2.8. Fındık Mantarından Elde Edilen Katalazın Enzim Aktivitesine Göre Kinetik Özelliklerinin İncelenmesi

### 2.8.1. Katalaz Aktivitesi Üzerine pH'nın Etkisinin İncelenmesi

Fındık Mantarından elde edilen katalazın optimum pH'sını belirlemek amacıyla enzimin pH = 4-10 aralığında gösterdiği katalaz aktivitesi ölçüldü. Belirlenen pH aralıklarında hazırlanan 50 mM'lık tampon çözeltilerde 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> olacak şekilde substratlar elde edildi ve Sigma yöntemine göre aktivite tayinleri yapıldı (Seriner, 2012).

### 2.8.2. Katalaz Aktivitesi Üzerine Sıcaklığın Etkisinin İncelenmesi

Enzim çözeltisinden 3'er mL alınarak 20 °C-70 °C arasında, sıcaklık her defasında 10 °C arttırılarak, su banyosunda 30 dakika süre ile tutuldu. Oda sıcaklığına getirilen çözeltilerde katalaz aktivitesi tayinleri yapıldı. Oda sıcaklığında yapılan denemelerin aktiviteyi 100 kabul edilerek (kontrol) her bir sıcaklık için % aktivite değerleri hesaplandı.

### 2.8.3. Uygun Reaksiyon Süresinin Bulunması

Katalaz aktivitesinin uygun reaksiyon süresinin bulunması amacıyla, substrat, enzim ve tampon çözeltilerden aktivite tayin yönteminde belirtilen miktarlarda alınarak reaksiyonun 1, 2, 3, 4, 5, 15 ve 20. dakikalarında katalaz aktivitesi tayin edildi.

### 2.8.4. Katalaz Aktivitesi Üzerine Substrat Konsantrasyonunun Etkisinin İncelenmesi

Fındık Mantarından saflaştırılan katalaz enziminin sadece hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ilgisinin fazla olduğu saptandığından bu enzimin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> için K<sub>m</sub> ve V<sub>max</sub> değerleri tayin edildi. Bu amaçla 50

mM pH:7,0 fosfat tamponunda çözülmüş  $H_2O_2$ 'in 0,00125-0,00025 mM aralığındaki çözeltileri hazırlandı. Lineweaver–Burk doğru denkleminde ve grafikten  $H_2O_2$  için  $K_m$  ve  $V_{max}$  değerleri hesaplandı.

### **2.8.5. Enzim Konsantrasyonunun Katalaz Aktivitesine Etkisi**

Enzim konsantrasyonunun katalaz aktivitesine etkisini incelemek amacıyla enzim çözeltisi, 5, 10, 15, 20L ve 50  $\mu$ L arasında değişen hacimlerde alınarak katalaz aktivitesi tayin edildi (Seriner, 2012).

### **2.8.6. Substrat Konsantrasyonunun Katalaz Aktivitesine Etkisi**

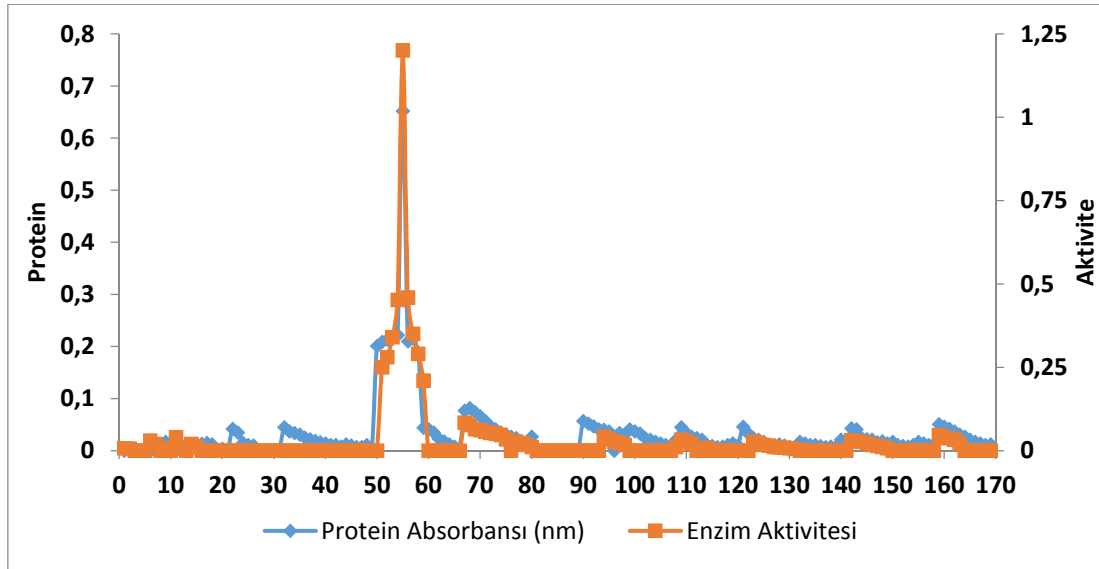
Substrat konsantrasyonunun katalaz aktivitesine etkisini araştırmak amacıyla 50 mM pH: 7,0 fosfat tamponunda çözülmüş  $H_2O_2$  çözeltisinden 10  $\mu$ L, 1 mL, 2,5 mL, 5 mL, 7,5 mL ve 10 mL arasında değişen hacimlerde alınarak yukarıda belirtilen şekilde katalaz aktivitesi yöntemine göre tayin edildi (Seriner, 2012).

## **3. Bulgular ve Tartışma**

### **3.1. Uygun Amonyum Sülfat Konsantrasyonu ve DEAE-Selüloz Kolon Kromatografisi**

Fındık Mantarı ham ekstresinde katalazı çöktüren uygun amonyum sülfat konsantrasyonunun % 60 olduğu belirlendi.

Dializatın DEAE-selüloz kolonuna uygulanması sonucunda katalazın 100 mM NaCl/0,5 M sodyum fosfat tamponu ile tek pik şeklinde olduğu gözlemlendi (Şekil 1).



**Şekil 1.** Fındık mantarı ham ekstresinin % 60 amonyum sülfat fraksiyonunun DEAE-selüloz kolon kromatografisi elüsyon grafiği

(Kolon Boyutu: 1.4x10 cm; Kolona uygulanan protein: 200 mg/mL; Elüsyon tamponları: pH'sı 7,0 olan 0,5 mM sodyum fosfata çözülmüş 10, 20, 30, 50, 100, 200, 300 ve 500 mM NaCl)

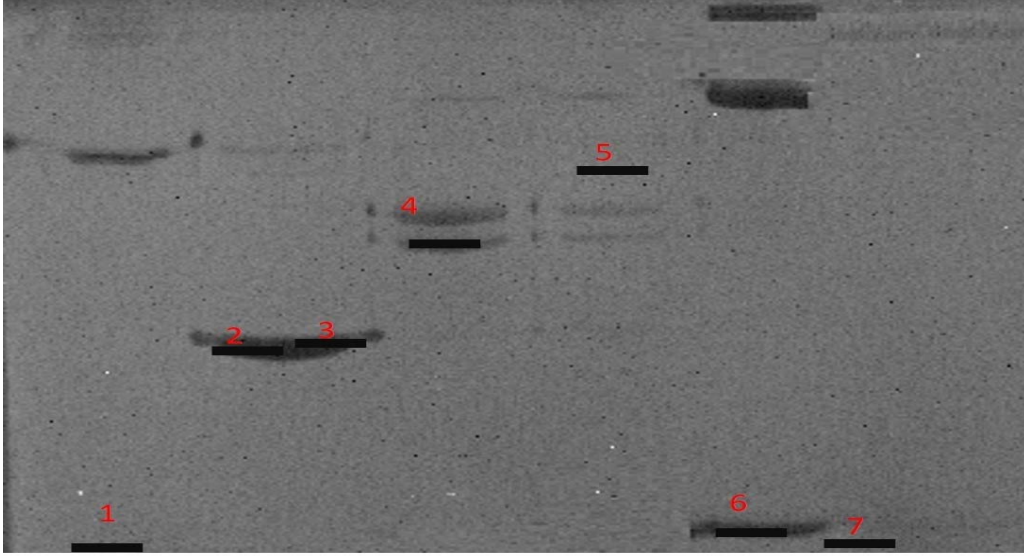
Fındık Mantarından katalazın saflaştırılma evreleri ve bu evrelere ait sonuçlar Tablo 1'de gösterildi. Çalışmamızda Fındık mantarı ham ekstresi hazırlama, amonyum sülfat kesiti, hidroksilapatit ve DEAE-selüloz kolon kromatografisi evrelerinde katalaz aktivitesi tayin edildi. Fındık mantarından katalaz enzimi DEAE-selüloz kolon kromatografisi sonucu 29,44 kez saflaştırıldı (Tablo 1) .

**Tablo 1.** Fındık mantarından katalazının saflaştırılma basamakları

İşlem Evreleri	Total Protein (mg)	Total Aktivite (U)	Spesifik Aktivite (U/mg)	Saflaştırma Oranı
Ham Ekstre	5302	305461	57,61	1
%60 Amonyum Sülfat Kesiti	444	31118	70,17	1,22
Dializat	334	52779	158,21	2,75
DEAE-Selüloz Kolon Kromatografisi	8,16	13838	1696	29,44

### 3.2. SDS-PAGE Elektroforezi

Safılaştırılan katalaz enziminin SDS-PAGE uygulanarak tek protein bandı içerdiği saptandı. Molekül ağırlığı tayininde kullanılan standart proteinler ile çizilen eğriden katalaz molekül ağırlığının 30 kDa olduğu saptandı. (Şekil 2).



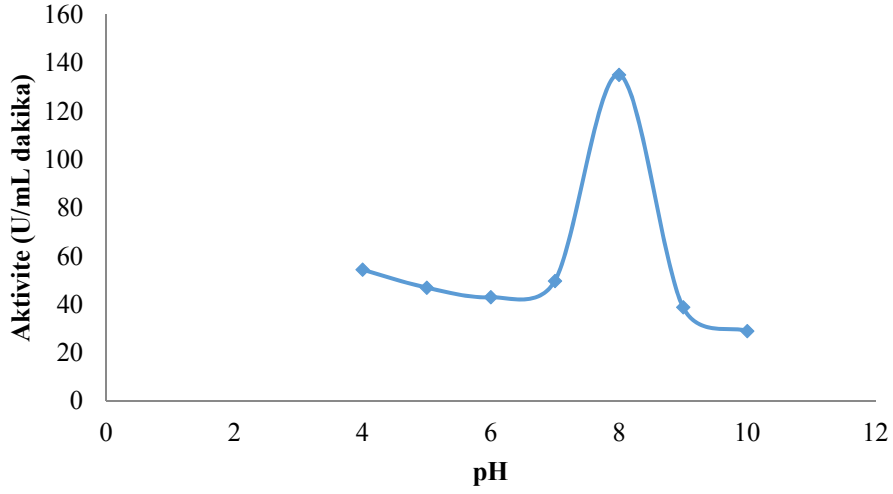
**Şekil 2.** SDS-PAGE jel elektroforezi

(1. Bovine serum albumin ( $M_r = 14.2$  kDa), 2. Karbonik anhidraz ( $M_r = 29$  kDa), 3. Serum albumin ( $M_r = 45$  kDa), 4. A-laktalbumin ( $M_r=132$  kDa), 5. Üreaz ( $M_r= 272$  kDa), 6. Ham ekstre, 7. DEAE-selüloz kolon çıkışı enzim çözeltisi)

### 3.3. Katalaz Aktivitesine pH'nın Etkisi

Katalaz enziminin maksimum aktivite gösterdiği optimum pH değerini belirlemek amacı ile değişik 50 mM fosfat tamponunda çözünmüş 10 mM  $H_2O_2$ 'nin 4,0-10,0 aralığındaki pH çözeltileri kullanılarak reaksiyon hızları belirlendi. Elde edilen değerlerden yararlanılarak aktiviteler hesaplandı. Böylece katalaz enzimi için optimum pH değeri tespit edildi (Şekil 3).

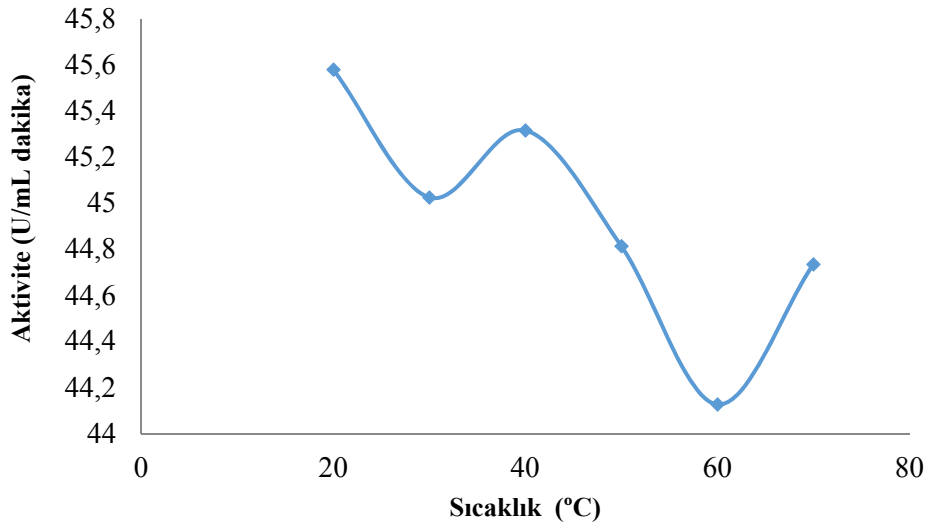




Şekil 3. Katalaz aktivitesi üzerine pH'nın etkisi

### 3.4. Katalaz Aktivitesine Sıcaklığın Etkisi

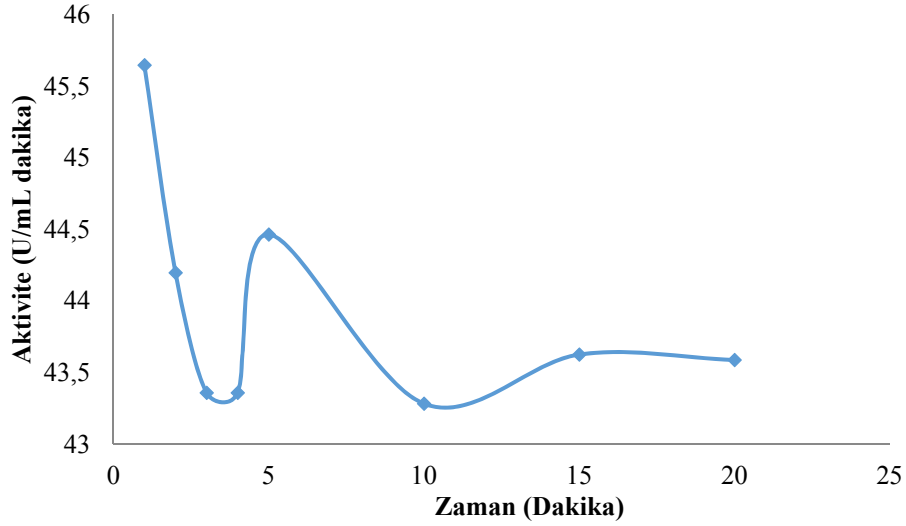
Katalaz enziminin aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisinin belirlenmesi amacıyla  $H_2O_2$  substratı kullanılarak 20-70 °C'deki reaksiyon hızları belirlendi. Elde edilen verilerden yararlanarak aktiviteler hesaplandı. Böylece katalaz enzimi için optimum sıcaklık değerleri belirlendi.



Şekil 4. Katalaz aktivitesi üzerine sıcaklığın etkisi

### 3.5. Uygun Reaksiyon Süresinin Bulunması

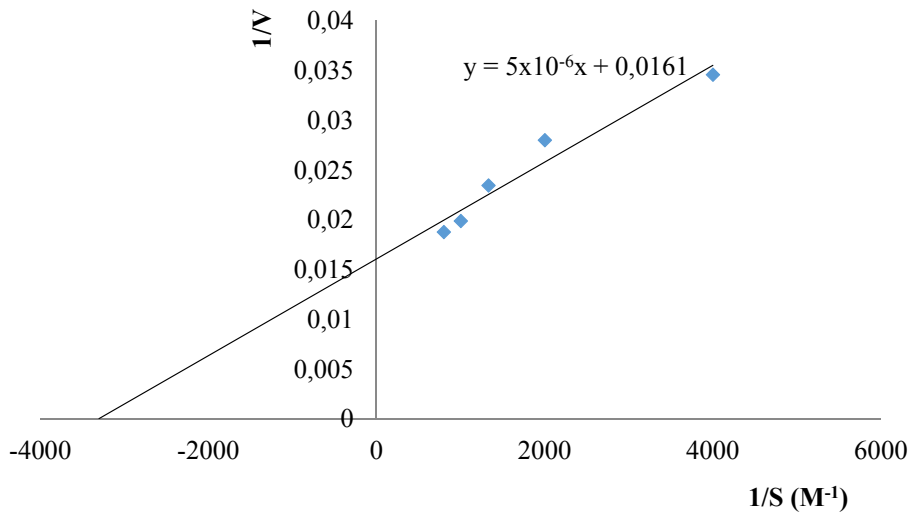
Katalaz aktivitesinin 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 ve 20. dakikalarındaki reaksiyonlar sonucunda aktivitenin zamana bağlı olarak arttığı saptandı. Ancak aktivitede artışın 2. dakikada başlaması nedeni ile aktivite tayininde 5 dakikada ölçümlerin yapılmasına karar verildi (Şekil 5).



Şekil 5. Zamanın katalaz aktivitesine etkisi

### 3.6. Katalaz Enziminin $K_m$ ve $V_{max}$ Değerlerinin Bulunması

Katalaz enziminin  $K_m$  ve  $V_{max}$  değerleri Lineweaver-Burk denkleminde yararlanılarak hesaplandı. Katalazın  $K_m$  değeri 0,310 mM;  $V_{max}$  değeri 62,112 U olarak belirlendi (Şekil 6).

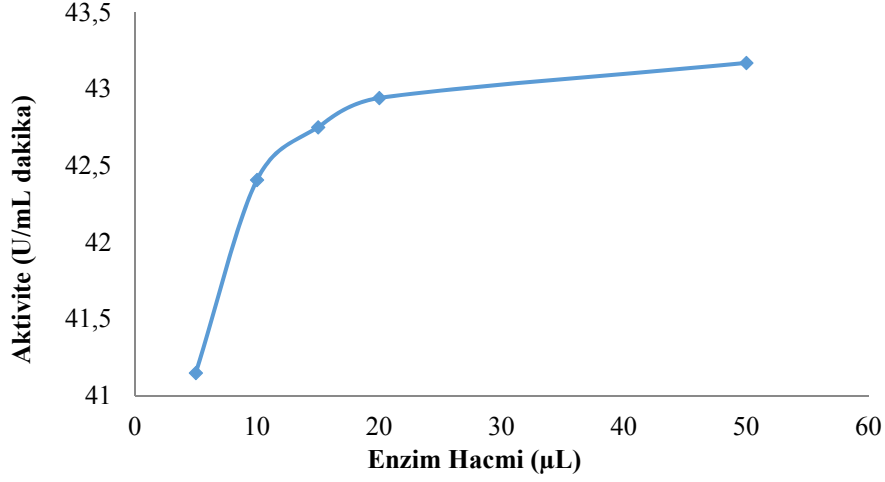


Şekil 6. Katalazın  $K_m$  ve  $V_{max}$  değerleri

### 3.7. Enzim Konsantrasyonunun Katalaz Aktivitesine Etkisi

5  $\mu$ L-50  $\mu$ L arasında değişen hacimlerde alınan enzim çözeltileriyle katalaz aktivitesi ölçümleri yapıldı. Enzim hacminin artması ile katalaz aktivitesinin arttığı görüldü. Ancak 10  $\mu$ L enzim

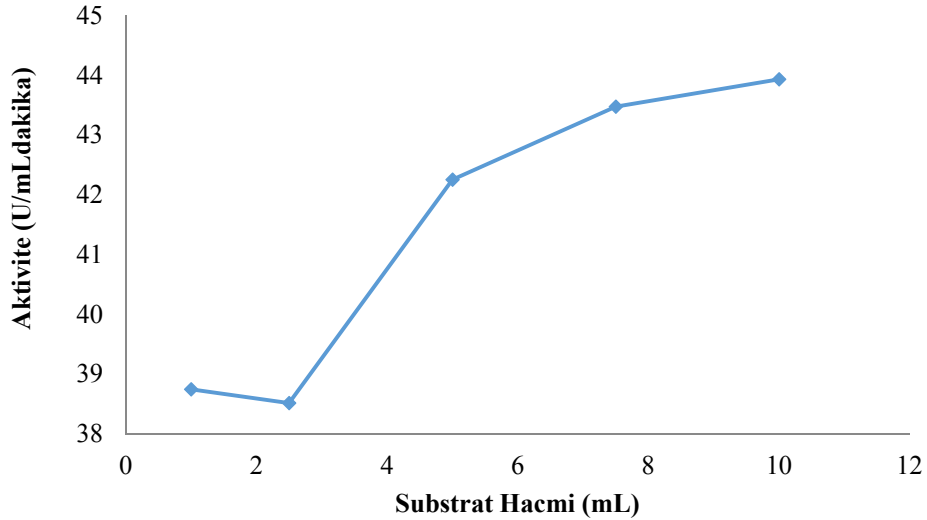
hacminde aktivitenin belli bir değerde dengelendiği, yine de enzim hacminin artması ile aktivitenin çok fazla artış göstermediği saptandı (Şekil 7).



Şekil 7. Enzim konsantrasyonunun katalaz aktivitesine etkisi

### 3.8. Substrat Konsantrasyonunun Katalaz Aktivitesine Etkisi

Farklı miktardaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> substratına karşı katalaz aktivitesi ölçüldü. En yüksek aktivitenin 10 mL substrata karşı olduğu bulundu. (Şekil 8).



Şekil 8. Substrat konsantrasyonunun katalaz aktivitesine etkisi

Çeşitli endüstriyel işlemlerde kullanım alanlarına sahip olan katalazların, çeşitli bitki, hayvan ve mikroorganizmalardan saflaştırıldığı ve bazı kinetik özelliklerinin incelendiği tespit edilmiştir. Katalazın Fındık Mantarı'ndan saflaştırılması ile ilgili literatürde herhangi bir çalışmaya

rastlanmamıştır. Bu çalışmada, Fındık Mantarı katalazı ilk kez saflaştırılmış ve bazı kinetik özellikleri incelenmiştir.

Yapılan çalışmalarda katalaz, hıyar (*Cucumis sativus*)’dan 14,72 kat (Seriner, 2012), aşotu yaprakları (*Coriandrum sativum*)’ndan 64,06 kat (Demir, 2006) saflaştırılmıştır. Bu çalışmada ise Fındık Mantarı (*L. pyragalus*)’ndan katalaz enzimi 29,44 kat saflaştırılmıştır.

Literatürde keten tohumu (*Linum usitatissimum*)’ndan saflaştırılan katalaz enziminin spesifik aktivitesinin 15,94 U/mg (Bozdemir, 2007), aşotu (*Coriandrum sativum*) yapraklarından saflaştırılan katalaz enziminin spesifik aktivitesinin 89,68 EU/mg protein (Demir, 2006) olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada ise fındık mantarı (*L. pyragalus*)’ndan saflaştırılan katalaz enziminin spesifik aktivite değeri 1696 U/mg protein olarak bulunmuştur.

Optimum pH değerleri literatürde, karalahana (*Brassica oleracea L. var. Acephala*)’dan kısmi saflaştırılan katalaz için 7-8 (Köksal, 2003), maydanozdan saflaştırılan katalaz için 7,0 (Öztürk ve ark., 2005) olarak bildirilmektedir. Çalışmamızda Fındık Mantarı (*L. pyragalus*)’ndan saflaştırılan katalaz enziminin optimum pH’ı 8,0 olarak bulunmuş olup literatürdeki değerlerle uygunluk içerisindedir.

Katalaz enziminin optimum sıcaklığını Akar, cevizden (*Juglans regia*) saflaştırdığı katalaz için 25 °C (Akar, 2015); Dinçer, rokadan (*Eruca sativa*) kısmi olarak saflaştırdığı katalaz için 30 °C (Dinçer, 2000); Köksal, karalahanadan (*Brassica oleracea L. var. Acephala*) kısmi olarak saflaştırılan katalaz için 25 °C olduğunu (Köksal, 2003) bildirmişlerdir. Çalışmamızda Fındık Mantarı (*L. pyragalus*)’ndan saflaştırılan katalaz enziminin optimum sıcaklığını 20 °C olarak bulunmuştur.

Belirlenen optimum pH ve sıcaklıkta Lineweaver-Burk grafiği çizilmiş ve kinetik parametreler hesaplanmıştır. Fındık Mantarı (*L. pyragalus*)’ndan saflaştırılan katalaz enziminin  $K_m$  değeri 0,310 mM ve  $V_{max}$  değeri ise 62,112 U olarak bulunmuştur. Sondaş, nane (*Menta spicata*) ve pırasa (*Allium porrum L.*) bitkilerinden katalazı kısmi olarak saflaştırmış olup; nane katalazı için  $V_{max}$  değerini 108,69 EU/mL ve  $K_m$  değerini 1,175 mM; pırasa katalazı için  $V_{max}$  değerini 50 EU/mL ve  $K_m$  değerini 1,172 olarak bildirmiştir (Sondaş, 2005).

#### 4. Sonuçlar ve Öneriler

Elde edilen sonuçlardan, Giresun yöresinde yetişen ve besin maddesi olarak oldukça fazla tüketilen Fındık Mantarının katalaz enzimi için yeni bir bitkisel kaynak olabileceği ve çeşitli endüstriyel alanlarda kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

## Teşekkür

Bu çalışma, Giresun Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FEN-BAP-A-200515-76 nolu proje ile desteklenmiştir.

## Kaynaklar

- Akar, Ç. 2015. Katalaz Enziminin Cevizden (*Juglans Regia*) Saflaştırılması, *Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.
- Aydemir, T. ve Kuru, K. 2003. Purification and Partial Characterization of Catalase from Chicken Erythrocytes and The Effect of Various Inhibitors on Enzyme Activity, *Turkish Journal of Chemistry*, 27, 85-97.
- Bozdemir, Y. 2007. Keten Tohumu (*Linum Usitatissimum*) Ekstraktında Katalaz ve Süperoksit Dismutaz Enzim Aktiviteleri, *Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana.
- Çimen, Ç., Öter Ç., Demir H. ve Savran A. 2005. Rat Eritrositlerinden Elde Edilen Katalaz Enziminin Karakterizasyonu ve Kinetiğinin incelenmesi, *Van YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16,15-20.
- Demir H. 2006. Aşotu (*Coriandraam sativum*) Yapraklarından Katalaz Enziminin Saflaştırılması ve Bazı Kinetik Özelliklerinin Araştırılması, *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, (s. 315-318), Bolu.
- Diñer A. 2000. Roka (*Eruca Sativa*) Bitkisinden Katalaz Enziminin Saflaştırılması, *Yüksek Lisans Tezi, Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Manisa.
- Köksal E. 2003. Katalaz Enziminin Kara Lahana Bitkisinden (*Brassica oleracea L. Var. Acephala D.C.*) Saflaştırılması, Karakterizasyonu Ve Bazı Peptisitler ile Antibiyotiklerin Enzim Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4, *Nature*, 227, 680-685.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. 1951. Protein Measurement with Folin Phenol Reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Öztürk, L., Bülbül, M., Elmastaş, M. ve Çiftçi, M., 2005. Katalaz Enziminin Maydonoz (*Petroselinum Horsente*) Bitkisinden Saflaştırılması ve Karakterizasyonu, *XIX. Ulusal Kimya Kongresi*,(s.418), Kuşadası, İzmir.
- Pekşen, A., Kibar, B. ve Yakupoğlu, G. 2007. Yenilebilir Bazı *Lactarius* Türlerinin Morfolojik Özelliklerinin Protein ve Mineral İçeriklerinin Belirlenmesi, *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22, 301-305.
- Seriner, R. 2012. Katalaz Eniminin Hıyardan (*Cucismus sativus*) Saflaştırılması, *Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 28, 85-94.
- Sondaş, E. 2005. Nane (*menta spicata*) ve pırasa (*allium porrum L.*) bitkilerinden katalaz enziminin kısmı saflaştırılması, karakterizasyonu ve bazı kinetik özelliklerinin araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Tokat.
- Warburg, O., Christian, W. 1941. Isolierung und Kristallinsation Des Garungsferments Enolase. *Biochemische Zeitschrift*, 310, 384-421.