

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİTKİLERDEN ELDE EDİLECEK BAZI ENZİMLERİN
TEKSTİL PROSESLERİNDE KULLANILMASI**

DOKTORA TEZİ
Ayşe USLUOĞLU

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : BİYOKİMYA
Tez Danışmanı : Doç. Dr. Gülnur ARABACI

Eylül 2016

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BİTKİLERDEN ELDE EDİLECEK BAZI ENZİMLERİN
TEKSTİL PROSESLERİNDE KULLANILMASI**

DOKTORA TEZİ

Ayşe USLUOĞLU

Enstitü Anabilim Dalı : KİMYA
Enstitü Bilim Dalı : BİYOKİMYA

Bu tez .../.../2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği / oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr.
Jüri Başkanı

Doç. Dr.
Üye

Doç. Dr.
Üye

Doç. Dr.
Üye

Doç. Dr.
Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Ayşe USLUOĞLU
21.06.2016

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araŐtırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tđm aŐamalarında yardımlarını esirgemeyen, teŐvik eden, aynı titizlikte beni yđnlendiren değerli danıŐman hocam Doç. Dr. Gđlnur ARABACI'ya teŐekkđrlerimi sunarım.

Hayatım boyunca hiçbir fedakârlıktan kaçınmadan beni destekleyen aileme teŐekkđr ederim.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Őniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon BaŐkanlıđına (Proje No: FBDTEZ-2011-50-02-021) teŐekkđr ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	vii
ŞEKİLLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xii
SUMMARY	xiii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Enzimler.....	3
2.1.1. Enzimlerin yapısı.....	4
2.1.2. Enzimlerin adlandırılması ve sınıflandırılması	4
2.1.3. Enzimlerin spesifikliği.....	5
2.1.4. Enzim aktivitesine etki eden faktörler	6
2.1.4.1. pH.....	6
2.1.4.2. Sıcaklık.....	6
2.1.4.3. Enzim konsantrasyonu	7
2.1.4.4. Substrat konsantrasyonu.....	7
2.1.4.5. Zaman.....	7
2.1.4.6. İyonik şiddet.....	7
2.1.5. Enzim aktivite birimleri.....	7
2.1.6. Enzim kinetiği	8

2.2. Enzim İmmobilizasyonu.....	10
2.2.1. İmmobilizasyon parametreleri.....	12
2.2.2. İmmobilizasyon yöntemleri.....	13
2.2.2.1. Adsorpsiyon ile immobilizasyon	13
2.2.2.2. Kovalent bağlama ile immobilizasyon.....	14
2.2.2.3. İyonik bağlama ile immobilizasyon.....	14
2.2.2.4. Tutuklama ile immobilizasyon.....	14
2.2.3 Enzim immobilizasyon yöntem seçimi.....	15
2.3. Pamuk	15
2.3.1. Olgun pamuk lifinin anatomik yapısı	16
2.3.1.1. Kütikula ve mumlu tabaka	16
2.3.1.2. Primer çeper	16
2.3.1.3. Sekonder çeper.....	17
2.3.1.4. Lumen	17
2.3.2. Pamuk lifinin kimyasal yapısı	17
2.4. Tekstil Terbiye İşlemleri.....	18
2.5. Pamuk Elyafına Uygulanan Genel Ön Terbiye İşlemleri.....	19
2.5.1. Yakma.....	19
2.5.2. Haşıl sökme	19
2.5.3. Merserizasyon.....	20
2.5.4. Pişirme	20
2.5.5. Kasar	21
2.6. Renklendirme (Boya ve Baskı).....	21
2.6.1. Pamuk elyafının boyanması.....	21
2.6.2. Reaktif boyarmaddelerin boyama yöntemleri	24
2.6.3. Çektirme yöntemine göre reaktif boyama	24
2.6.4. Çektirme yöntemine göre boyama avantaj ve dezavantajları ...	25
2.6.5. Çektirme yöntemine göre boyama adımları	26
2.6.5.1. Reaktif boyarmaddelerin elyaf üzerine alınması.....	26
2.6.5.2. Reaktif boyarmaddelerin elyafa fiskeşi.....	27
2.6.5.3. Boyama sonrası ard işlemler	27
2.7. Bitim (Apre) İşlemleri	28

2.7.1. Mekanik apre	28
2.7.2. Kimyasal apre	28
2.8. Renk Ölçümü ve CIELAB Renk Sistemi	28
2.9. Tekstil Terbiye İşlemlerinde Enzim Kullanımı	29
2.9.1 Amilaz	30
2.9.2. Pektinaz	31
2.9.3. Selüloz	31
2.9.4. Lipazlar	32
2.9.5. Glikoz Oksidaz	33
2.9.6. Proteaz	34
2.9.7. Katalaz	34
2.9.8. Lakkaz (Polifenol Oksidaz)	36
2.10. Tekstil Proseslerinde Enzim Kullanımına Yönelik Çalışmalar	37

BÖLÜM 3.

MATERYAL VE YÖNTEM	40
3.1. Materyal	40
3.2. Yöntem	40
3.2.1. Kullanılan araç-gereç ve cihazlar	43
3.2.2. Kullanılan kimyasal maddeler	43
3.3. Analizler	44
3.3.1. Katalaz (CAT) enzim izolasyonu	44
3.3.1.1. Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz	44
3.3.1.2. Kromotografik yöntem	45
3.3.1.3. Katalaz (CAT) enziminin karakterizasyonu	46
3.3.1.4. Katalaz (CAT) enzimi için optimum substrat konsantrasyonu	46
3.3.1.5. İnhibitör etkisi	46
3.3.2. Katalaz (CAT) enzim immobilizasyonu	46
3.3.2.1. Serbest ve immobilize CAT enzime pH etkisi	47
3.3.2.2. Serbest ve immobilize CAT enzime sıcaklığın etkisi	47
3.3.2.3. Serbest ve immobilize CAT enzim kinetiği	47

3.3.2.4. CAT enziminin depolama kararlılığı	47
3.3.2.5. Tekrar kullanılabilirlik	48
3.3.3. İmmobilize katalaz enziminin tekstil prosesinde kullanımı	48
3.3.4. Polifenol oksidaz (PPO) enzim izolasyonu	49
3.3.4.1. Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz	50
3.3.4.2. Kromotografik yöntem.....	51
3.3.4.3. Polifenol oksidaz (PPO) enziminin karakterizasyonu..	52
3.3.4.4. Substrat spesifikliğı.....	52
3.3.4.5. Optimum substrat konsantrasyonu.....	52
3.3.5. PPO enzim immobilizasyonu	52
3.3.5.2. Serbest ve immobilize PPO enzime sıcaklığın etkisi	54
3.3.5.3. Serbest ve immobilize PPO enzim kinetiğı.....	54
3.3.6. İmmobilize polifenol oksidaz (PPO) enziminin tekstil prosesinde kullanımı	55
3.3.7. Haslık testleri.....	59
3.3.7.1. Yıkama haslığı testi.....	59
3.3.7.2. Sürtme haslığı testi.....	60
3.3.7.3. Ter haslığı testi.....	60
3.3.7.4. Su haslığı testi	61
3.3.8. Renk giderimi	61

BÖLÜM 4.

ARAŞTIRMA BULGULARI	63
4.1. Katalaz (CAT) Enziminin İzolasyonu ve Saflaştırılması	63
4.2. Serbest ve İmmobilize Katalaz (CAT) Enziminin Karakterizasyonu. 63	
4.2.1. pH etkisi.....	63
4.2.2. Sıcaklığın etkisi	64
4.2.3. Serbest ve immobilize katalaz (CAT) enzim kinetiğı	65
4.3. Katalaz Enziminin Tekstil Sektöründe Kullanımı	68
4.4. Polifenol oksidaz (PPO) Enziminin İzolasyonu ve Saflaştırılması ...	69
4.5. Serbest ve İmmobilize PPO Enziminin Karakterizasyonu	69
4.5.1. pH etkisi.....	69

4.5.2. Sıcaklığın etkisi	71
4.5.3. Enzim kinetiği	72
4.6. Reaktif Boyama İşlemi	73
4.7. Reaktif Boyama Sonunda Yapılan Yıkamaların Sonuçları	75
4.7.1. Reçete A'nın renk ve test değerlendirme sonuçları.....	75
4.7.2. Reçete B'nin renk ve test değerlendirme sonuçları.....	78
4.7.3. Reçete C'nin renk ve test değerlendirme sonuçları.....	82
4.7.4. Reçete D'nin renk ve test değerlendirme sonuçları.....	85
4.7.5. Reçete E'nin renk ve test değerlendirme sonuçları	88
4.7.6. Reçete F'nin renk ve test değerlendirme sonuçları	92
4.7.7. Reçete G'nin renk ve test değerlendirme sonuçları.....	95
4.8. Renk Giderimi	98
BÖLÜM 5	
TARTIŞMA VE SONUÇ	103
KAYNAKLAR	110
ÖZGEÇMİŞ	115

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

ALG	: Alginat
CAT	: Katalaz
CMC	: Karboksimetilselüloz
CM-Sephadex	: Karboksimetil-Sephadex
CTS	: Chitosan
Ea	: Aktivasyon enerjisi
E.C	: Enzim komisyonu
EU	: Enzim ünitesi
FPLC	: Fast protein liquid chromatography
K _M	: Michealis-Menten sabiti
PA	: Poliamid
PES	: Polyester
PPO	: Polifenol oksidaz
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SDS-PAGE	: Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez
HOBT	: 1-Hydroxybenzotriazole hydrate

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Enzimlerin substratlarına spesifikliğı	6
Şekil 2.2. Michaelis-Menten grafiğı	9
Şekil 2.3. Lineweaver-Burk grafiğı.....	10
Şekil 2.4. Pamuk lifinin morfolojik yapısı	16
Şekil 2.5. Bir reaktif boyarmaddenin karakteristik yapısı.....	22
Şekil 2.6. Reaktif Black 5'in kimyasal yapısı	22
Şekil 2.7. Reaktif boyama reaksiyonu.....	22
Şekil 2.8. Nişastanın amilaz enzimi ile parçalanma reaksiyonu	30
Şekil 2.9. Selülazın glukoza hidrolizi	32
Şekil 2.10. Lipaz enzimininkataliz ettiğı reaksiyonlar.....	33
Şekil 2.11. Peptid bağlarının proteazlar tarafından katalizi	34
Şekil 2.12. Lakkaz enziminin genel kataliz reaksiyonu	36
Şekil 3.1. İzlediğimiz deney planı.....	42
Şekil 3.2. Kovansiyonel peroksit kasarı işlem akışı.....	48
Şekil 3.3. Reaktif boyama prosesi.....	56
Şekil 4.1. Ebegümecei CAT enzimi için optimum pH grafiğı.....	63
Şekil 4.2. Ebegümecei CAT enzimi için optimum sıcaklık grafiğı	63
Şekil 4.3. CAT enzimine inhibitör etkisi	65
Şekil 4.4. CAT enzimi +4°C'de depolama kararlılığı.....	66
Şekil 4.5. CAT enzimi +25°C'de depolama kararlılığı.....	66
Şekil 4.6. İmmobilize CAT enzimi tekrar kullanımı.....	167
Şekil 4.7. PPO enzimi için katekol substratı ile optimum pH grafiğı.....	69
Şekil 4.8. PPO enzimi için katekol substratı ile optimum sıcaklık grafiğı	70
Şekil 4.9. Boyama yaptığımız reçetelerin boyama işlem sonu renkleri.....	74
Şekil 4.10. Reçete E'nin boya giderimi	99
Şekil 4.11. Reçete D'nin boya giderimi	99

Şekil 4.12. Reçete G'nin boya giderimi	99
Şekil 4.13. Reçete C'nin boya giderimi	101
Şekil 4.14. Reçete F'nin boya giderimi.....	102



TABLULAR LİSTESİ

Tablo 3.1. A kasar kimyasal maddeleri ve kullanım miktarı	49
Tablo 3.2. C ya da D antiperoksit enzimleri ve kullanım miktarı.....	49
Tablo 3.3. 0,1 M sitrik asit tamponun hazırlanması.....	53
Tablo 3.4. 0,1 M tris tamponunun hazırlanması	54
Tablo 3.5. Boyama reçeteleri	55
Tablo 3.6. 1. Standart ard yıkama prosesi işlem akışı.....	56
Tablo 3.7. 2. Alternatif yıkama prosesi işlem akışı.....	57
Tablo 3.8. 3. Alternatif yıkama prosesi işlem akışı.....	58
Tablo 3.9. 4. Alternatif yıkama prosesi işlem akışı.....	58
Tablo 4.1. Serbest ve immobilize ebeğümeci CAT enzimin kinetik özellikleri	65
Tablo 4.2. PPO enziminin her bir substrat için pH ve sıcaklık değerleri.....	70
Tablo 4.3. PPO enzimlerinin substrat spesifikliği ile ilgili toplu bulgular.....	72
Tablo 4.4. PPO enzimin katekol substratına karşı kinetik özellikleri.....	73
Tablo 4.5. Reçete A'nın renklerinin spektrofotometre sonuçları.....	75
Tablo 4.6. Reçete A'nın yıkama haslığı test sonuçları.....	76
Tablo 4.7. Reçete A'nın bazik ter haslığı test sonuçları	76
Tablo 4.8. Reçete A'nın asidik ter haslığı test sonuçları	77
Tablo 4.9. Reçete A'nın su haslığı test sonuçları.....	77
Tablo 4.10. Reçete A'nın Kuru/Yaş sürtme haslığı sonuçları.....	78
Tablo 4.11. Reçete B'nin renklerinin spektrofotometre sonuçları.....	79
Tablo 4.12. Reçete B yıkama haslığı sonuçları.....	79
Tablo 4.13. Reçete B'nin bazik ter haslığı sonuçları.....	80
Tablo 4.14. Reçete B'nin asidik ter haslığı sonuçları.....	80
Tablo 4.15. Reçete B'nin su haslığı sonuçları	81
Tablo 4.16. Reçete B'nin kuru/yaş sürtme haslığı sonuçları.....	81
Tablo 4.17. Reçete C'nin renklerinin spektrofotometre sonuçları.....	82

Tablo 4.18. Reçete C'nin yıkama haslığı sonuçları	83
Tablo 4.19. Reçete C'nin bazik ter haslığı sonuçları	83
Tablo 4.20. Reçete C'nin asidik ter haslığı sonuçları	84
Tablo 4.21. Reçete C'nin su haslığı sonuçları.....	84
Tablo 4.22. Reçete C' nin kuru/yaş sürtme haslığı sonuçları	85
Tablo 4.23. Reçete D'nin renklerinin spektrofotometre sonuçları.....	85
Tablo 4.24. Reçete D'nin yıkama haslığı sonuçları	86
Tablo 4.25. Reçete D'nin bazik ter haslığı sonuçları	86
Tablo 4.26. Reçete D'nin asidik ter haslığı sonuçları	87
Tablo 4.27. Reçete D'nin su haslığı sonuçları	87
Tablo 4.28. Reçete D' nin kuru/yaş sürtme haslığı sonuçları	88
Tablo 4.29. Reçete E'nin renklerinin spektrofotometre sonuçları	89
Tablo 4.30. Reçete E'nin yıkama haslığı sonuçları	89
Tablo 4.31. Reçete E'nin bazik ter haslığı sonuçları	90
Tablo 4.32. Reçete E'nin asidik ter haslığı sonuçları	90
Tablo 4.33. Reçete E'nin su haslığı sonuçları.....	91
Tablo 4.34. Reçete E' nin kuru/yaş sürtme haslığı sonuçları.....	91
Tablo 4.35. Reçete F'nin renklerinin spektrofotometre sonuçları	92
Tablo 4.36. Reçete F'nin yıkama haslığı sonuçları.....	92
Tablo 4.37. Reçete F'nin bazik ter haslığı sonuçları.....	93
Tablo 4.38. Reçete F'nin asidik ter haslığı sonuçları.....	93
Tablo 4.39. Reçete F'nin su haslığı sonuçları	94
Tablo 4.40. Reçete F' nin kuru/yaş sürtme haslığı sonuçları.....	94
Tablo 4.41. Reçete G'nin renklerinin spektrofotometre sonuçları.....	95
Tablo 4.42. Reçete G'nin yıkama haslığı sonuçları	95
Tablo 4.43. Reçete G'nin bazik ter haslığı sonuçları	96
Tablo 4.44. Reçete G'nin asidik ter haslığı sonuçları	96
Tablo 4.45. Reçete G'nin su haslığı sonuçları	97
Tablo 4.46. Reçete G' nin kuru/yaş sürtme haslığı sonuçları	97
Tablo 4.47. Boya giderim oranları	98

ÖZET

Anahtar kelimeler: İmmobilize enzim, polifenol oksidaz, katalaz, tekstil, haslık

Çevre bilincinin artmasıyla birlikte tekstil sektöründe üretimin daha az miktarda su, kimyasal madde ve enerji tüketerek daha az çevre kirliliğine yol açacak şekilde yapılmasını sağlayacak alternatif biyoteknolojik yaklaşımlar ön plana çıkmış ve çevre dostu yeni proseslerin geliştirilmesi önem kazanmıştır.

Çalışmamızda, tekstil endüstrisinde kullanılan mikrobiyel kaynaklı enzimlerin yerine bitki kaynaklı enzimlerin kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Çalışmamızın ilk bölümünde, ebegümeci bitkisinden katalaz, ayva yaprağından polifenol oksidaz enzimlerini izole edip, daha zor şartlarda kullanılmasını sağlayacak şekilde çitosan ve alginata immobilize ettik.

Çalışmamızın diğer bölümlerinde ise immobilize ettiğimiz bitki kaynaklı enzimlerin tekstil sektöründe uygulanabilirliklerinin araştırılması hedeflenmiştir. İmmobilize katalaz enzimini pamuk kasar işleminden sonra peroksiti gidermek amacı ile mikrobiyel kaynaklı ticari enzime karşı alternatif olarak kullanımını araştırdık. İmmobilize PPO enzimi kullanılarak, reaktif boyama işlemi sonunda yapılan konvansiyonel ard yıkama işlemi yerine çevre dostu olabilecek alternatif ard yıkama proses çalışmaları yapıp, performansları değerlendirilmiştir.

Araştırmada elde edilen bulgulara göre, alternatif proseslerin uygulandığı kumaşların haslık sonuçları iyidir.

THE TEXTILE APPLICATIONS OF SOME ENZYMES PLANTS

SUMMARY

Keywords: Immobilized enzyme, polyphenol oxidase, catalase, textile, fastness

The production in the textile sector with increasing environmental awareness, less amounts of water, chemicals and energy consuming will lead to less pollution manner that allows for alternative biotechnological approaches come to the fore and the development of environmental friendly new process has become important.

In our study, the availability of plant derived enzymes, instead of microbial derived enzymes used in the textile industry, was investigated. In the first part of our study, the enzymes, catalase from mallow plant and polyphenol oxidase from the quince leaves, were isolated. Then, the isolated enzymes were immobilized into chitosan and alginate molecules to provide their use of harsher conditions in the industrial process.

In other parts of our study, we aimed to investigate the plant-derived immobilized enzyme whether has any applications in the textile industry. We also investigated, the use of the immobilized catalase enzyme in order to resolve the peroxide after cotton bleaching process as an alternative to commercial microbial enzyme. The applications of environmentally friendly alternative washing process instead of the conventional washing process made after reactive dyeing process were investigated with immobilized PPO enzyme and the performances were evaluated.

According to the findings obtained in the study, the results of fastness of fabrics implemented by alternative processes were good.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Tekstil üretiminin insan ve çevre sağlığını tehdit etmeden sürdürülebilmesi, her geçen gün daha da önemli olmaya başlamıştır. İnsanların ekoloji konusunda gittikçe hassaslaştığı günümüzde, sıfır atık politikasına giden yolda moda öncülük eden markaların halihazırda kullanmakta ve atık olarak üretmekte olduğu kimyasallar ve prosesler hakkında şeffaf olmayı da içermektedir. Bu kapsamda; 2011 yılında birçok markanın deklarasyonları ile hayata geçen 'Zero Discharge' kavramı ve prensipleri tüm tekstil üreticilerinin önceliği haline gelmiştir. Çevre dostu ürünlerin kullanılması atık oluşumunu engellediği gibi çevreci kimlikli firmalardan ürün alınması ile sektörü de destekleyen bir çalışmadır.

Ağırlaşan bu rekabet koşulları altında tekstil sektöründeki firmaların hayatta kalmaları için gelişen teknolojiyi iyi takip ederek, kullandıkları proseslere uyarlamaları önem kazanmıştır. Tekstil terbiye firmalarında, yıkama, boyama, durulama, haşıl sökme, kaynatma, ağartma, fiksatorleme gibi yaş terbiye işlemlerinin büyük miktarlarda su, enerji, uzun işlem süreleri gerektirmeleri ve çevreye ağır atık yükü vermeleri gibi sakıncaları bulunmaktadır. Tekstil endüstrisi firmalarının daha az enerji ve su kullanarak, daha az zararlı kimyasallarla ve tabii daha az atık yükü sağlayacak prosesler geliştirmesi gerekmektedir. Bu bağlamda, çevre dostu olan biyoproseslere olan ilgi artmıştır. Enzimlerin esnek ve güvenli kullanımları, su ve enerji tasarrufu ve çevresel sorumluluklarımız için tekstil endüstrisinde yaş işlemlerde ve boyama sonu ard işlemlerinde enzimatik uygulamalar ve bu konudaki araştırmalar hız kazanmıştır.

Pamuklu mamüllere uygulanan haşıl sökme, bio-parlatma, hidrofilleştirme, hidrojen peroksit giderimi, denim yıkama gibi proseslerde enzimlerin kullanımı yaygınlaşmıştır.

Tekstil endüstrisi, çevreye karşı daha duyarlı, doğal kaynakları daha az tüketen ve kirlüten, tekrar tekrar kullanılabilen teknoloji ve yöntemlerin araştırılıp geliştirilmesine ağırlık vermek zorundadır. Bu tez kapsamında, ebegümece bitkisinden katalaz enzimini ve ayva yaprağından polifenol oksidaz enzimini izole edip, immobilize ettik. İmmobilize katalaz enzimini, pamuk ön terbiye prosesinde boya banyosunda kalan peroksiti uzaklaştırmak için ve immobilize polifenol oksidaz enzimini de reaktif boyama sonu ard yıkama işlemlerinde kullanılabilirliklerini araştırdık.



BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Enzimler

Enzimler, biyolojik sistemlerdeki reaksiyonların canlılığa zarar vermeyecek ılımlı koşullarda gerçekleşmesini sağlayan biyokatalizörler olarak tanımlanırlar. Katalitik RNA moleküllerinin (ribozimler) küçük bir grubu hariç olmak üzere, bütün enzimler protein yapısındadır.

Biyolojik katalizör olan enzimler hücre içerisinde üretilmelerine rağmen yeterli koşulların sağlanması durumunda birçoğu hücre dışına salınarak aktivitelerine devam ederler. Enzimlerin bu özellikleri doğal ortamların dışındaki pek çok alanda da yararlanabilme imkanı ortaya çıkarmıştır ve çeşitli amaçlarla kullanılmak üzere gündelik ve endüstriyel hayata girmiştir. Enzimler, binlerce yıldır içecek, ekmek ve peynir yapımı gibi işlemlerde varlığı ve görevi bilinmeden kullanılmıştır.

Buna karşılık enzimler hakkında bilimsel denebilecek araştırma ve bulgular ancak geçtiğimiz yüzyılda görülmeye başlanmıştır. 1783 yılında Spallanzani'nin atmaca mide suyunun eti çözebileceğini bulması, 1811 yılında Kirrchoff'un buğday nişastasının zamanla dekstrin ve diğer bileşiklerine dönüştüğünü belirlemesi enzimoloji konusundaki ilk çalışmalar olarak gösterilebilir (Telefoncu 1997). Enzim terimini ilk kullanan ise 1878 yılında Kühne olmuştur.

2.1.1. Enzimlerin yapısı

Enzimlerin etki ettiği madde karışımına substrat denir. Diğer bir ifadeyle bir enzim etkisi altında, biçim değiştiren maddeye substrat, elde edilen maddeye de ürün denir (Pamuk, 2000).

Bazı enzimler katalizör olarak tek başlarına etki edebildikleri halde bazıları proteinlerden farklı yapıda gruplara ihtiyaç duyarlar. Enzimlerin aktivitesini gösterebilmesi için gereken bu maddelere “kofaktör” adı verilir (Pamuk, 2000). Kofaktör bir metal iyonu olabildiği gibi “koenzim” adı verilen kompleks bir organik bileşik de olabilir. Bazen aktivite için ikisi de gerekebilir (Keha ve Küfrevioğlu, 2004). Kofaktör-enzim kompleksine “holoenzim”, kofaktör ayrılınca kendi başına aktiflik göstermeyen protein kısmına ise “apoenzim” denir. Bazı kofaktörler enzime gevşek bağlanır ve diyalizle ayrılabilir; bazıları ise enzimle kovalent bağ yapar ve kolayca ayrılmazlar. Bu tip kofaktörlere “prostatik grup” denir (Pamuk, 2000; Özata ve Kutlu, 2000). Apoenzimlerin protein yapısındaki aminoasit türleri ve dizilişleri her enzimde farklılık göstermektedir. Bu nedenle enzimin özelliği ve özgüllüğünü belirleyen kısım apoenzimdir (Önez 2006).

2.1.2. Enzimlerin adlandırılması ve sınıflandırılması

Enzimlerle ilgili yapılan ilk çalışmalarda, enzimin etki ettiği substrat adının sonuna – az eki getirilerek veya genel adlarıyla isimlendirme yapılmıştır. Zamanla, birçok enzimin daha ortaya çıkması sonucu sistematik bir isimlendirmeye ihtiyaç duyulmuştur. Bunun üzerine Biyokimya Cemiyeti tarafından bir Uluslararası Enzim Komisyonu (IEC) kurulmuştur (Tüzün 1997). Buna göre her enzime bir sistematik kod numarası verilmiştir. Bu numara E.C (Enzyme Code) harflerinden sonra gelen dört rakamdan oluşur. Birinci rakam enzimin bağlı olduğu grubu gösterirken, ikincisi alt grubu, üçüncüsü daha alt grubu ifade eder. Dördüncü rakam ise, enzimin aynı üç rakama sahip enzimler arasındaki sırasını verir (Keha ve Küfrevioğlu, 2004).

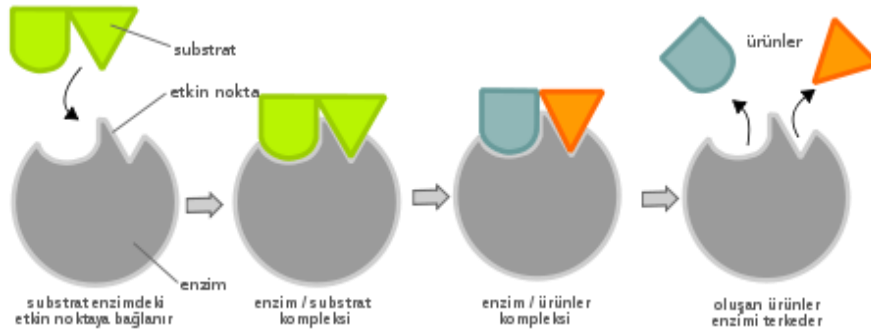
IEC katalizledikleri reaksiyon tipine göre enzimleri altı ana grupta toplamıştır. Bunlar:

1. Oksidoredüktazlar: İndirgenme ve yükseltgenme olayını katalizleyen enzimlerdir.
2. Transferazlar: Fonksiyonel grup transferinin olduğu reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir.
3. Hidrolazlar: Hidrolitik reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir.
4. Liyazlar: C-C, C-O ve C-N arasında çift bağ oluşturarak substrattan bazı grupların ayrılmasını katalizleyen ya da tam tersi işlev yapan enzimlerdir.
5. İzomerazlar: Bir molekül içindeki geometrik ve yapısal değişiklikleri yani izomerizasyon reaksiyonlarını katalize ederler.
6. Ligazlar: Bağ oluşumunun gerçekleştiği reaksiyonları katalizleyen enzimlerdir (Tüzün 1997).

2.1.3. Enzimlerin spesifikliği

Enzimler hem katalizledikleri reaksiyon tiplerine, hem de ürüne dönüştürdükleri substrata karşı son derece spesifiktirler (Keha ve Küfrevioğlu, 2004). Birbirine çok benzeyen maddeler, hatta aynı maddenin stereoizomerlerini bile dönüşüme uğratmazlar. Bu yüksek seçicilik sayesinde en basit hücrede bile aynı anda binlerce biyokimyasal reaksiyon meydana gelmektedir.

Substratlar enzimlerde aktif bölge denilen bir bölgeye bağlanırlar. Çoğunlukla asimetric bir oyuk veya cep şeklinde olan aktif merkezin geometrik yapısı substrat molekülünün şekline ve onun bu bölgeye bağlanmasına uygundur. Fiziksel yapı uygunluğunun yanı sıra, aktif bölge polarlık ve elektriksel yük bakımından da substrat molekülünün kolayca bağlanmasını sağlayacak özelliktedir. Substrat molekülündeki yüklü kısımlar aktif merkezdeki zıt yüklü bölgelerle elektrostatik etkileşimler yaparlar (Ziyan, 1998; Önez, 2006).



Şekil 2.1. Enzimlerin substratlarına spesifikliğı (Cerrahoğlu, 2013).

2.1.4. Enzim aktivitesine etki eden faktörler

2.1.4.1. pH

Enzimler katalitik etki gösterirken ortamın hidrojen iyonu konsantrasyonuna bağlı olarak aktiviteleri değişir (Özata ve Kutlu, 2000). pH etkisi enzimlerin yapılarındaki amino asitlerin ve substratların yapılarındaki iyonik kısımların değişmesinden kaynaklanır. Yüklerdeki bu değişiklikler substratın bağlanmasını ve reaksiyonun gerçekleşme oranını değiştirir (Holme ve Peck, 2005). Enzimin maksimum aktivite gösterdiği pH'a o enzimin optimum pH'ı adı verilir. Bu değerlerin üzerinde ve altında aktivite düşer (Keha ve Küfrevioğlu, 2004).

2.1.4.2. Sıcaklık

Sıcaklık artışı bütün kimyasal reaksiyonlarda olduğu gibi enzim kataliz reaksiyonlarında da artırıcı etki yapmaktadır. Enzimin maksimum aktivite gösterdiği sıcaklığa optimum sıcaklık adı verilir. Artan sıcaklıkla enzimatik reaksiyon hızı artar fakat 50-60 °C üzerine çıktığında aktivitede düşüş gözlenir. Bu durum yüksek sıcaklıkta enzim yapısında meydana gelen denatürasyondan kaynaklanır (Keha ve Küfrevioğlu, 2004).

2.1.4.3. Enzim konsantrasyonu

Enzimatik reaksiyonun hızı, enzimin substratına doymun olduğu koşullarda enzim konsantrasyonuna bağlı olarak artmaktadır. Ortamdaki enzim molekülü ne kadar çoksa reaksiyon o kadar hızlı yürür. Reaksiyon belli bir düzeye vardığında ise azalır (Keha ve Küfrevioğlu, 2004).

2.1.4.4. Substrat konsantrasyonu

Enzimle katalizlenen bir reaksiyonun hızı, enzim konsantrasyonunun sabit olması koşulu ile substrat konsantrasyonu arttıkça artar. Ancak enzim substratına karşı doymunluğa ulaştığında reaksiyon hızı değişmeden devam eder. Bu durumda enzim maksimum (V_{max}) ile çalışıyor demektir (Özata ve Kutlu, 2000).

2.1.4.5. Zaman

Bir enzim tarafından katalize edilen reaksiyon sürerken hız giderek düşer. Bunun nedeni reaksiyon devam ederken oluşan ürünlerin aksi yönde bir reaksiyon oluşturmaları, enzimin zamanla inaktive olması, substratın tükenmesi gibi olaylardır (Özata ve Kutlu, 2000).

2.1.4.6. İyonik şiddet

Protein yapısında olan enzimlerin üzerinde bulunan yüklü gruplar ile ortamda mevcut olan iyonlarla etkileşerek, enzimin katalizleme fonksiyonuyla ilgili rollerine tesir edebilir. Bundan dolayı, enzim aktivitesinin maksimum olduğu bir optimum iyonik şiddet söz konusudur (Keha ve Küfrevioğlu, 2004).

2.1.5. Enzim aktivite birimleri

Turnover sayısı: Birim zamanda bir mol enzimi ürüne dönüştüren substratın mol sayısıdır.

Enzim aktivitesi: Optimum koşullarda, birim zamanda substratı ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır.

Enzim ünitesi (IU): 25 °C’de, bir dakikada, optimum koşullarda 1 mikromol substratı ürüne çeviren enzim miktarıdır.

Katal: 1 saniyede 1 mol substratı reaksiyona sokan enzim miktarıdır.

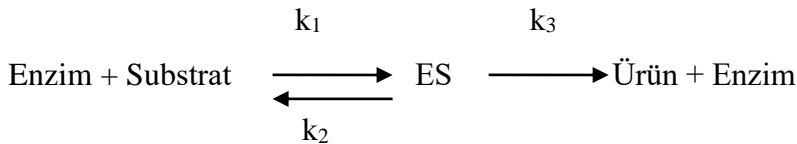
Spesifik aktivite (IU/mg protein): 1 miligram protein başına düşen enzim aktivitesine denir (Roby ve White, 1990).

2.1.6. Enzim kinetiği

Enzim kinetiği, enzimler tarafından katalizlenen reaksiyonların hızlarının incelendiği bir konudur.

Enzim, substratı ürüne dönüştürürken önce onunla bir “Enzim-Substrat kompleksi” oluşturur, daha sonra da bu kompleks ürün ve enzime dönüşür.

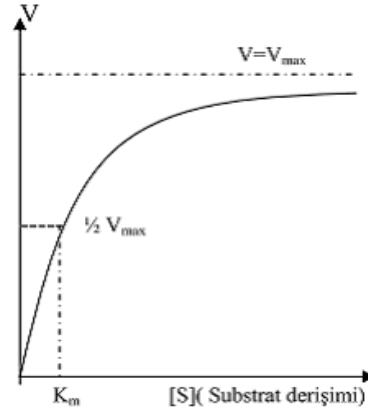
Enzim kinetiği mekanizması şu şekilde gösterilir:



Burada ES kompleksi, E ve S’den k_1 hızı ile oluşur. ES’nin ayrışması ise k_2 hızındaki geri reaksiyonla ve k_3 hızı ile ürün ve enzime ayrışması ile olur. Reaksiyon kararlı duruma ulaştınca “Kararlı Durum İlkesine” göre ES’nin oluşması ayrışmasına eşit olur, yani derişimi değişmez.

Enzim reaksiyonları üzerinde ilk geniş kinetik çalışmalar 1913 yılında Michaelis-Menten tarafından yapılmıştır. Michaelis-Menten kinetiğine göre başlangıç enzim derişimi sabit alınıp reaksiyon hızının substrat derişimine bağlılığı incelenir. Sonuçta

hiperbolik bir fonksiyon ve eğri elde edilir (Şekil 2.2.). Bunun çözümü ile de Michaelis-Menten bağıntısı bulunur.



Şekil 2.2. Michaelis-Menten grafiği

Michaelis-Menten Bağıntısı Denklem 2.1. e göre tanımlanır.

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]} \quad (2.1)$$

V_{\max} ; hiperbol asimtodunun y eksenini kestiği noktadır ve maksimum hız olarak belirtilir. Maksimum hızın yarısına ($V_{\max} / 2$) karşılık gelen substrat derişimi K_M (Michaelis-Menten sabiti) olarak belirtilir. V_{\max} ve K_M , bir enzimin aktivitesini belirleyen önemli enzim sabitleridir.

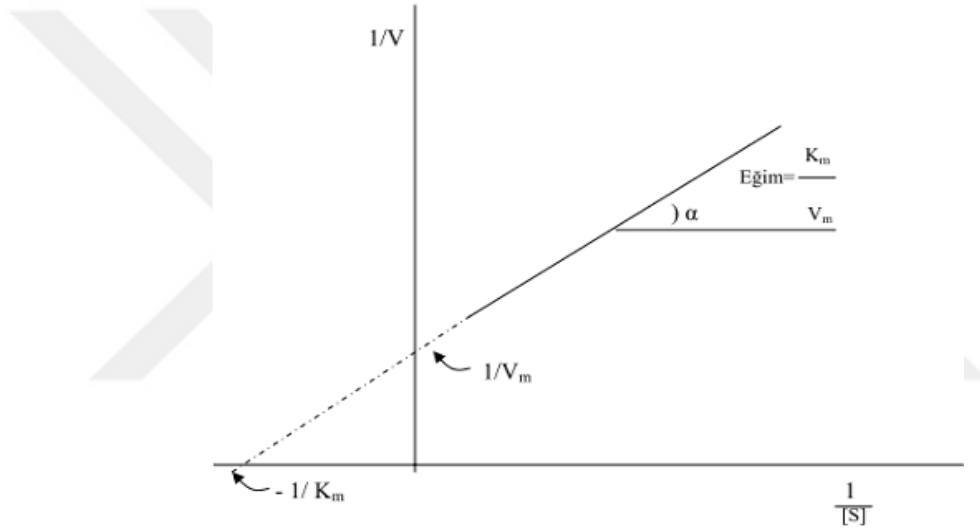
Michaelis-Menten grafiği 3 bölgeden oluşmaktadır. Birinci bölgede substrat konsantrasyonu düşük olacağından ($[S] \ll K_M$) grafik doğrusaldır. İkinci bölgede oldukça büyük substrat konsantrasyonlarında herhangi bir ihmal yapılamaz ve reaksiyon karışık dereceden yürür. çnc bölgede $[S] \gg K_M$ 'dir. $V = V_{\max}$ olur ve reaksiyon sabit bir hızla devam eder.

Michaelis-Menten grafiği ile bir hiperbol elde edildiğinden, uygulamalarda kolaylık sağlamak amacı ile bunun bir doğru denklemi haline getirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla eksen ölçekleri uygun şekilde değiştirilerek, değişik yollardan doğru

denkleminde dönüştürülebilir. Bunlardan en çok kullanılanı Lineweaver-Burk Denklem 2.2.'dir.

$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (2.2)$$

Bu denkleme göre ordinatta $1/V$, apsiste $1/[S]$ değerleri olmak üzere bir doğru elde edilir. Bu doğrunun eğimi ise K_M / V_{\max} 'tır (Şekil 2.4.).



Şekil 2.3. Lineweaver-Burk grafiği

2.2. Enzim İmmobilizasyonu

Biyokatalizörlerin kimya ve biyoteknolojide çeşitli amaçlarla kullanılmaya başlanması bilim adamlarını bu katalizatorlerin daha ekonomik ve kullanışlı hale getirilme olanaklarının araştırılmasına yöneltmiştir.

İmmobilizasyon kelime anlamı olarak, tutuklanmış, hareketi sınırlandırılmış, çözünmez hale getirilmiş demektir. Enzim immobilizasyonu, katalitik proseslerde enzim moleküllerinin katalitik aktifliğini koruyarak tekrar ve sürekli kullanımını sağlamak amacıyla bir destek maddesine fiziksel veya kimyasal tutturulması olarak ifade edilebilir (Köse, 2010).

Enzimlerin, tepkimeleri spesifik ve yüksek bir hızla katalizlemelerinden faydalanmak amacıyla onları canlı organizma dışında kullanabilmek düşüncesi bilim adamlarını harekete geçirmiştir. İlk olarak 1926 yılında Sumner tarafından üreaz enzimi kristal halde elde edilmiştir. Daha sonraları çok sayıda enzim çeşitli kaynaklardan izole edilmiş ve oldukça saf preparatlar şeklinde ve çoğu kristalize halde piyasaya sürülmüştür. Enzim saflaştırılması özel teknikler gerektirdiğinden maliyeti de oldukça yüksektir. Bunun yanı sıra, serbest enzimin aktifliğini kaybetmeden istenildiği anda tepkime ortamından uzaklaştırılması çok güçtür. Bu durum pahalı olan enzimlerin tekrar tekrar kullanılmasına engel olur. Tepkimenin istenilen anda durdurulması için inhibitör katılması durumunda ise zaten enzim tarafından kirletilmiş olan tepkime ürünlerine yeni bir kirlilik unsuru eklenmiş olacaktır. Ürünlerin bu kirlilikten arıtılması için kompleks ayırma işlemlerine gerek vardır ki bu da maliyeti bir kat daha artırır. Yukarı da sayılan teknik ve ekonomik problemlerden dolayı serbest enzim yerine tutuklanmış enzim kullanılmasının daha uygun olabileceği düşünülmüştür. İmmobilizasyonla ilgili ilk çalışmalar 1916 yılında, Nelson ve Griffin sakkorozu hidrolize etmek için maya invertaz enzimini mangal kömürüne adsorbe ederek enzimi immobilize etmişler ve immobilizasyonun temelini atmışlardır. Gerçek anlamda ilk enzim immobilizasyon denemelerinin sonuçları 1950'li yıllarda birçok çalışma grubu tarafından aynı anda yayınlanmıştır. Daha sonra bu alandaki çalışmalar dünyanın her tarafından popülerite kazanmış olup enzimler değişik amaçlarla immobilize edilmiştir (Telefoncu, 1997).

İmmobilizasyonun serbest enzim kullanımına göre sağladığı avantajlar şöyle sıralanabilir;

1. Reaksiyon sonunda ortamdan kolayca uzaklaştırılabilir ve ürünlerin enzim tarafından kirletilmesi gibi bir problem yaşanmaz,
2. Çevre koşullarına (pH, sıcaklık vb.) karşı daha dayanıklıdır,
3. Birçok kez ve uzun süre kullanılabilir,
4. Sürekli işlemlere uygulanabilir,
5. Doğal enzime göre daha kararlıdır,

6. Ürün oluşumu kontrol altında tutulabilir,
7. Birbirini izleyen çok adımlı reaksiyonlar için uygundur,
8. Bazı durumlarda serbest enzimden daha yüksek bir aktivite gösterebilir,
9. Enzimin kendi kendini parçalaması olasılığı azalır.

Enzimlerin immobilize edilmelerinin bazı dezavantajları da vardır. Bunların başlıcaları;

1. İmmobilizasyon işlemi boyunca enzim aktivitesi azalabilir veya kaybolabilir.
2. Çok basamaklı immobilizasyon işlemlerinde enzim kararlılığı sınırlıdır.
3. Enzim taşıyıcılarının maliyeti yüksektir.

2.2.1. İmmobilizasyon parametreleri

Diğer fiziksel ve kimyasal proseslerde olduğu gibi, immobilizasyonun hızı ve verimi özellikle taşıyıcının cinsine, immobilizasyon yöntemine, konsantrasyona, pH'a, sıcaklığa ve reaksiyon süresine bağlıdır.

Çözünmez gözenekli taşıyıcılar kullanılarak enzim bağlanması yöntemi, laboratuvar çalışmaları ve endüstriyel uygulamalar için standart bir yöntemdir. Enzim dış yüzeyinin ve taşıyıcının fonksiyonel gruplarının özellikleri taşıyıcılara kimyasal bağlanma esnasında önemli rol oynar. Adsorpsiyon, yüzeyin hidrofobik ya da hidrofilik olma durumuna bağlıdır. Hakim olan iyonik gruplar ve grupların aminoasitlerle olan etkileşimleri çözeltinin pH'ı ile değişen ve tüm yüzeyin karakteristiğini belirleyen elektriksel yüke ve iyonik grupların yoğunluğuna bağlıdır (Taşdelen, 2006).

Kovalent bağlanma metodunda, protein yüzeyine erişebilir olan çok sayıda fonksiyonel grup kullanılabilir. Bununla beraber özellikle lizin ve arjininin amino grupları, aspartik ve glutamik asidin karboksil grupları gibi az sayıda amino karboksil grup pratik olarak kullanılabilir.

Enzim ile taşıyıcı yüzey arasındaki iyonik, hidrofilik veya hidrofobik ve hidrojen bağlarıyla olan güçlü etkileşimler enzimin kararlılığını etkiler. Çok sayıdaki güçlü etkileşimler taşıyıcı yüzeyinde istenmeyen tersinmez adsorpsiyona neden olabilir, bu da enzim aktivitesinde kayba neden olur. Bu ayrıca proteinin üç boyutlu yapısında konformasyonel değişikliklere neden olabilir.

Bazı durumlarda uygun bir miktar boşluk yaratıcı ajan olarak bilinen kimyasalların kullanılması taşıyıcıyı immobilizasyona elverişli hale getirerek enzimi korur ve enzimin inaktivasyonunun engeller (Taşdelen, 2006).

2.2.2. İmmobilizasyon yöntemleri

Enzim immobilizasyonunda doğal ve sentetik birçok inorganik ve organik materyal kullanılmaktadır. Taşıyıcı membran, suda çözünmeyen katı veya polimer olabilir. Bir taşıyıcıda hidrofilik karakter, suda çözünme, gözenekli yapı, mekanik stabilite ve uygun partikül formu, kimyasal ve termal stabilite, mikroorganizmalar karşı dirençlilik, ucuzluk, dejenere olma gibi özellikler aranır (Uruç, 2007).

2.2.2.1. Adsorpsiyon ile immobilizasyon

Adsorpsiyon ile immobilizasyon enzim ve taşıyıcı arasındaki tersinir yüzey etkileşimleri ile olur. Adsorpsiyon ile immobilizasyonda hidrofobik etkileşimler de söz konusu olsa da en çok Van der Waals, iyonik ve hidrojen bağı etkileşimleri gibi elektrostatik güçler etkindir. Yöntem suda çözünmeyen, adsorpsiyon özelliklerine sahip bir yüzey aktif taşıyıcı ile enzim çözeltisinin uygun koşullarda inkübasyonu ve sonra tutunmamış enzimin yıkanarak uzaklaştırılması şeklinde uygulanır. İmmobilizasyon işleminin basit, hızlı ve ucuz oluşu, değişik biçim ve yükteki taşıyıcıları seçme olanağı vermesi yöntemin avantajlarıdır. Optimum koşulların saptanmasının zor olması, enzim ile taşıyıcı arasında kuvvetli bir bağlanma olmadığında enzimin serbest halde reaksiyon ortamına girme ihtimali ise yöntemin dezavantajlarıdır.

2.2.2.2. Kovalent bağlama ile immobilizasyon

Bu immobilizasyon yöntemi enzim ile taşıyıcı arasındaki kovalent bağ oluşumuna dayanır. Bağlanma taşıyıcı yüzeyindeki fonksiyonel gruplarla enzim yüzeyindeki aminoasitlere ait fonksiyonel gruplar arasında olur. Bağlanma genellikle sulu ortamda gerçekleşir ve kullanılacak taşıyıcıların reaktif olmaması durumunda yardımcı bir reaktif ilave edilerek aktif hale gelmesi sağlanır. İmmobilizasyon ılıman koşullarda gerçekleştirilmelidir. Yöntemin gerçekleşmesi zordur ancak enzim ve taşıyıcı arasındaki bağ kuvvetli olduğundan bazı durumlarda enzimatik aktivitenin artışı söz konusu olmaktadır.

2.2.2.3. İyonik bağlama ile immobilizasyon

Bu yöntem iyon değiştirme yeteneğine sahip olan suda çözünmeyen taşıyıcılara enzimin iyonik bağlanması temeline dayanır. Bazı durumlarda iyonik bağlanma yanında fiziksel adsorpsiyon da etkili olmaktadır.

İyonik bağlanma oldukça ılıman koşullarda gerçekleştiğinden enzimin konformasyonunda ya da aktif merkezinde bir değişikliğe neden olmaz. Ancak enzim ile taşıyıcı arasındaki bağ kovalent bağ kadar kuvvetli olmadığından enzimin serbest kalma olasılığı söz konusudur.

2.2.2.4. Tutuklama ile immobilizasyon

Prensip olarak tutuklama enzim molekülünü belli bir alanda durmaya zorlamaktır. Tutuklama polimer matris içindeki kafeslerde gerçekleştirilebileceği gibi yarı geçirgen membran zarlar içinde mikrokapsülleme miseller ile de gerçekleştirilebilir. Yöntemde enzim molekülü fiziksel veya kimyasal olarak herhangi bir taşıyıcıya bağlanmamaktadır. Enzim molekülleri çözültide serbest olup jelin kafes yapısı tarafından hareketi kısıtlanmış durumdadır. Jel kafesin geçirgenliği enzim veya hücrelerin kaçışını önleyecek ancak substrat ve ürünün serbest hareketine izin verecek kadar sıkı durumdadır.

Polimerizasyon ve çapraz bağlanmanın olduğu ortamda enzim de bulunduğu takdirde enzim çapraz bağlanma sonucu oluşan kafeste tutuklanmaktadır. Kolay uygulanması, fiziksel bir işlem oluşu ve çok az enzimle gerçekleştirilebilmesi yöntemin avantajlarıdır. Tutuklamanın birkaç temel metodu vardır:

1. Çok değerlikli katyonlarla makro moleküllerin iyonotropik değişmesi (örneğin alginat jel)
2. Sıcaklıkla indüklenmiş jelleşme (örneğin jelatin, agaroz jel)
3. Kimyasal/fotokimyasal reaksiyon ile organik polimerleşme (örneğin poliakrilamid jel)
4. Karışmayan bir çözücünden çöktürme (örneğin polistren) (Kocatürk, 2008).

2.2.3 Enzim immobilizasyon yöntem seçimi

Bir enzimin immobilizasyonu için çok değişik yöntemler kullanılabilir. Bunların içinde enzimatif aktivitenin en yüksek düzeyde korunduğu yöntemin seçilmesi önemlidir. Immobilizasyon yönteminde dört ana kriter göz önüne alınmalıdır: güvenilirlik, maliyet, aktivitenin korunması ve kararlılık (Telefoncu, 1997).

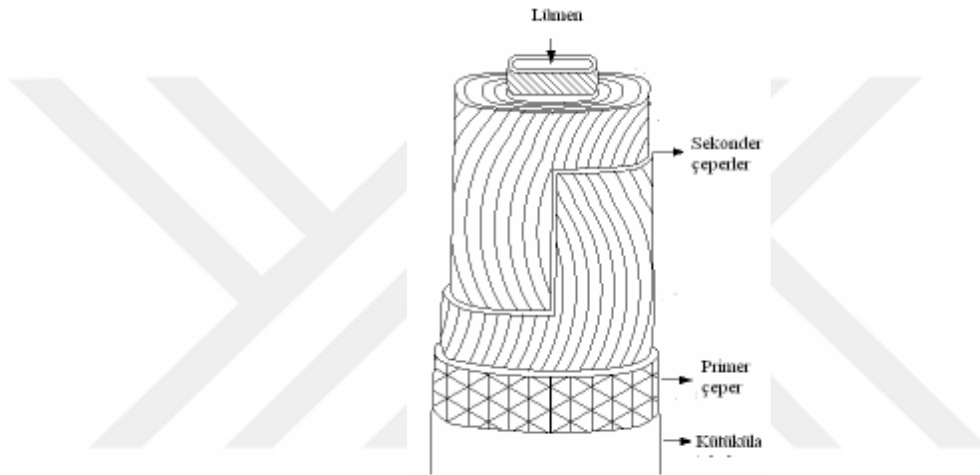
2.3. Pamuk

Pamuk, keten ve yün ile birlikte tekstilde kullanılan en eski elyaflardır. Anavatanı Hindistan'dır ve 5000 yılı aşkın bir süredir dünyada en yaygın kullanılan elyaftır. Günümüzde de hala kullanımını en yüksek elyaf tipidir (Yakartepe ve Yakartepe, 1994). Pamuk, Gossypium ailesine mensup pamuk bitkisinin tohumuna bağlı olarak bulunan doğal bir tek hücreli tohum lifidir. Yüksek oranda selüloz içeren, çok az başka madde bulunduran pamuk lifi selülozik ve selülozik olmayan materyallerden oluşmaktadır (Yazıcıoğlu 1999). Olgun pamuğun yapısı, uzunluğu 10-50 mm ve çapı 10-20 mikron arasında değişen biyolojik tek hücre olarak tanımlanmıştır. Lifi en dış kısmında selüloz olmayan maddelerin bulunduğu kütikula mevcuttur. Bu tabakanın hemen altında sargı şeklindeki primer çeper, ardından sekonder çeper yer almaktadır. Bu iki tabaka yoğun olarak selülozdan oluşmaktadır. Bu tabakalardaki selüloz

fibrillerinin eksene göre yerleşim yönünün farklılık göstermesi, her tabakanın kristalite durumunu etkilemektedir (Li ve Hardin; 1998).

2.3.1. Olgun pamuk lifinin anatomik yapısı

Pamuk lifi içi protoplazma sıvısı ile dolu ince duvarlı bir bitki hücresidir. Lifi enine kesiti incelenirse en dıştan en içe doğru kütikula, primer çeper, sekonder çeper ve lümen katmanlarından oluşmaktadır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Pamuk lifinin morfolojik yapısı (Shore 1995).

2.3.1.1. Kütikula ve mumlu tabaka

Kütikula protein, pektik maddeler, mum ve kütin gibi selulozik olmayan maddelerden oluşur ve lifin dış yüzeyi olarak pamuk lifinin çevresel etkenlerden korunmasını sağlar. Amorf yapıdadır ve kütikulanın ağırlığı, lifin toplam ağırlığının yaklaşık %2,5' u kadardır. Kütikulanın dışı, mum tabakası ile sarılmıştır, pektik maddeler mum tabakanın altında yer alır (Li ve Hardin; 1998).

2.3.1.2. Primer çeper

Kalınlığı 1 mikronun altında olan bu çeper, esas hücre çeperidir. Bu çeper bazik boyar maddelerle koyu renk boyanırken kimyasal maddelere karşı daha dayanıklıdır. Lifi ağırlıkça %5' ini oluşturan primer çeperin esas kimyasal yapısı selülozdan

oluşmaktadır. Ayrıca önemli oranda pektin içerir. Primer çeper ile onun üzerindeki kütikula ve mumlu tabaka birlikte incelendiğinde %53' ü selüloz ve hemiselüloz, %5' i pektik maddeler, %7' si mum, %8'i kütin, %3kadarı da küldür. Elektron mikroskobu ile incelendiğinde selulozik fibriller, primer çeperin dış kısmında lif eksenine paralel, iç kısmında ise eksenin etrafında eksene dik sıralanarak bir tür silindirik ağ formu oluştururlar ve böylece lifin dış ekenlerden korunmasına yardımcı olurlar (Yazıcıoğlu 1999). Primer çeperdeki selulozun yaklaşık %30' u kristalin yapıdadır (Li ve Hardin; 1998).

2.3.1.3. Sekonder çeper

Sekonder çeper selülozdan oluşmaktadır. Bu çeperde selüloz lameller halinde bulunur. Sekonder çeper fibrilleri, primer çeperdekilerden farklı olarak lif eksenine boyunca belirli açılarda ilerler, eksene göre helezonlar oluşturarak düzenlenirler. Bir pamuk lifinde sekonder çeper, lif uzunluğu boyunca aynı kalınlıkta değildir. Çünkü selülozun lif içinde depolanması lifin her tarafında eşit olmamaktadır (Yazıcıoğlu 1999).

2.3.1.4. Lumen

Lumen, hücrenin protoplazmik artıklarından oluştuğu için protein karakteri göstermektedir, dolayısıyla amino asitlerden oluşur. Lifin ortasında bir boşluk değildir. Lifler olgunlaştıkça sekonder çeperin içe doğru kalınlaşması ile lumen daralır. Lumenin dar veya geniş oluşu lifin olgunluğuna bağlıdır (Yazıcıoğlu 1999).

2.3.2. Pamuk lifinin kimyasal yapısı

Pamuk liflerinin kimyasal yapısında bulunan başlıca maddeler selüloz, glukoz, pektik maddeler, yağlı ve mumlu maddeler, protein esaslı maddeler, kütin (yağ ve yağ esterleri) ve inorganik maddelerdir. Bu maddelerin liflerdeki miktarı ve oranı lifin olgunluk derecesine bağlı olarak değişmektedir. O nedenle pamuk lifinin kimyasal yapısı içinde bulunan maddelerin oranlarını kesin olarak belirtmek mümkün değildir.

Selüloz sekonder çeperde yoğunlaşmıştır. Sekonder çeperdeki selüloz, primer çeper göre daha kristalin yapıdadır. Primer çeperde %50 oranında selüloz bulunur. Pamuk lifine asıl fiziksel özelliklerini kazandıran selülozun, lifte yüksek oranda olması makbuldür.

Pamuktaki yağlı ve mumlu maddelerin, primer alkoller ve normal yağ asitlerinden oluştuğu belirtilmektedir. Palmitik, stearik ve oleik asitler de pamukta az miktarda bulunur. Mum aynı zamanda az miktarda stosterol ile stosterolin, gliserol, reçineli maddeler, anilin ve hidrokarbonları içerir. Mum, pamuk liflerinin daha kolay eğrilmesine yardımcı olur (Yazıcıoğlu 1999).

Pamuk liflerindeki protein miktarı pamuk tipi ve ortam koşullarına göre değişebilmektedir. Proteinler lumen ve primer çeperde bulunmaktadır lumendeki ölü protoplazma kalıntılarının tripsin ya da papain gibi enzimlerle sindirilmesi bu duruma işaret etmektedir (Li 1998). Pektik madde, galaktronik asit ile karakterize olan kompleks karbohidrat türevidir. Pamuk liflerinde poligalaktronik asidin çözünmeyen kalsiyum, magnezyum ve demir tuzları halinde bulunur (Li ve Hardin, 1998).

Lifteki inorganik madde miktarı pamuk tipine, yetiştirildiği bölgeye ve olgunluğuna göre farklılık göstermektedir. Pamuk liflerinde bulunan başlıca inorganik maddeler K, Mg, Ca, Na, Fe, Mn, Cu, Zn, Al, Si, P' dur. Belirtilen ilk sekiz element, lif gelişiminin ilk devresinde mineral besin maddeleri olarak görev alır (Yazıcıoğlu 1999).

2.4. Tekstil Terbiye İşlemleri

Ham tekstil ürünleri görünüş ve kullanılabilirlik açısından satılabilir durumda değildirler. Bunların albenisini ve kullanılabilirliğini arttırarak satışa hazır duruma getirme işlemlerinin tümüne terbiye denir.

Tekstil terbiyesi tekstil endüstrisinin ana dallarından biridir. Ancak tekstil terbiyesi de kendi içinde, uygulanan işlemlerin yapıları ve özellikle bu işlemlerin amaç birlikteliği bakımından üç ana dala ayrılmaktadır. Buna göre tekstil terbiyesinin ana dalları;

1. Ön Terbiye
2. Renklendirme
3. Bitim işlemleri (apre) olarak sıralanmaktadır.

2.5. Pamuk Elyafına Uygulanan Genel Ön Terbiye İşlemleri

Pamuğun ön terbiyesinde amaç, selülozu üzerindeki safsızlıklardan temizleyerek hidrofıl yapmak ve bileşimindeki doğal boya maddeleri oksitleyerek rengini ağartmaktır. Ön terbiye işlemleri, kumaşı boyanabilir/basılabilir hale gelmesi için yapılır. Bu nedenle ön terbiye özel bir önem taşır. Mümkün olduğu kadar bu işlemler kombine edilerek bir arada ve optimum maliyetle yapılmalıdır (Çoban, 1999).

2.5.1. Yakma

Dokuma tezgahından çıkmış pamuklu kumaşların yüzeyinde, ipliklerdeki liflerin serbest uçlarından dolayı ince bir hav vardır. Kumaş üzerindeki tüyler kumaşı daha mat ve soluk gösterir ayrıca fazla tüyler kumaşın kullanımı esnasında boncuklanmaya neden olur. Bunun için kumaş yüzeyi yakma makinelerinde hafifçe yakılarak, tüyler giderilir.

2.5.2. Haşıl sökme

Dokuma işletmesinde, çözgü ipliklerine haşıl uygulamanın ana amacı düşük kopuşlu optimum çalışma şartları sağlamaktır. Bu işlem için kullanılan haşıl maddelerinin % 75'i nişasta ve türevi haşıl maddeleridir. Nişastanın yanında modifiye nişasta, CMC (Karboksimetil selüloz), doğal reçine, PVA (polivinilalkol) ve poliakrilik asitler haşıl maddesi olarak kullanılabilir. Ancak etkili bir pişirme ve dolayısıyla düzgün

boya/baskı eldesi için uygulanan bu haşılın iyi bir şekilde sökülmesi gerekir. Haşıl sökme işlemi, asitler, su ile bekletme, alkali işlemler, yükseltgen maddeler ve enzimler ile yapılabilir. Günümüzde en çok kullanılan yöntem ucuz ve tehlikesiz olan enzimle haşıl sökme yöntemidir.

2.5.3. Merserizasyon

Merserizasyon işleminin esası pamuklu mamülü gergin bir şekilde soğuk ortamda kuvvetli bazik çözelti ile muamele etme esasına dayanır. Bu işlem pamuklu ürünlere daha fazla parlaklık, daha iyi boyarmadde çekme özelliği, daha fazla mukavemet ve boyutsal stabilite, daha iyi bir tutum kazandırmak için yapılır. Merseizasyon her zaman uygulanmayan, daha çok yüksek kaliteli mamullerde (bluzluk, üst giyim vb.) ilave edilen bir prosestir (Tarakçıoğlu, 1979).

2.5.4. Pişirme

Doğal pamuk lifleri yapısında selüloz ve nem haricinde yağ, vaks, pektin, hemiselüloz, protein gibi safsızlıklar içerirler. Bu safsızlıklar liflere yumuşak ve güzel bir tutum kazandırmakla birlikte liflerin hidrofob bir karakter kazanmasının sağlarlar. Bu sebeple boyama, baskı gibi yaş işlemlerde iyi bir sonuç elde etmek zorlaşır, liflerin ıslanması engellenir. Pişirme işlemi, pamuklu malları seyreltik sıcak sodyum hidroksit çözeltisi ve iyon tutucu, yüzey aktif malzemeler ile muamele ederek ihtiva ettiği safsızlıklardan temizleme işlemidir ve bunun sonucu olarak pamuklu elyaf hidrofil yapı kazanır (Karmakar, 1999; Vigo, 2002).

Hidrofilleştirme işleminde gelişen olaylar şunlardır:

1. Sabunlaşabilen yağ ve vakslar sabunlaştırılır.
2. Pektinler sodyum pektinata dönüştürülür ve suda basitçe çözünür.
3. Mineraller çözünür.
4. Proteinler suda çözünebilen aminoasitlere dönüştürülür veya amonyağa bozunur.

5. Sabunlaşmayan yağlar, sabunlaşabilen vaksların hidrolizi esnasında emülsiyeye edilebilir.
6. Haşıl sökümünde uzaklaştırılmayan haşıl uzaklaştırılır.
7. Hemiselülozlar ve küçük selüloz molekülleri çözünür.
8. Ağartma prosesinde kumaş yapısındaki bitçiklerin uzaklaştırılması kolaylaşır.
9. Dokumadan gelen makine yağları Pamuk/Pes kumaşlarda, Pes iplik çekiminde ilave edilen eğirme yağları uzaklaştırılır.

2.5.5. Kasar

Ağartma işleminin birinci amacı pamuğa arzu edilmeyen esmerliği veren renkli safsızlıkları (boyarmaddeleri) gidermektir. Yüksek beyazlık derecesi, bittin arındırma, iyi hidrofilite, kumaşın yüzeyinin homojen hale getirilmesi için ağartma yapılır. Ağartma işleminde oksidatif ağartma maddeleri kullanılır. Bu tür maddelerle çalışıldığında ağartma olayı atomik oksijenin açığa çıkmasıyla başlar. Oksidatif ağartma maddelerinin en önemlileri hidrojen peroksit, sodyum hipoklorit ve sodyum klorittir. Bugün ise hidrojen peroksitin pamuk ağartılmasında daha çok kullanılmaktadır. sodyum klorit ve diğer kimyasallara göre avantajı daha az çevre yükü oluşturmaktadır (Aniş, 1998; İnkaya ve ark., 2007).

2.6. Renklendirme (Boya ve Baskı)

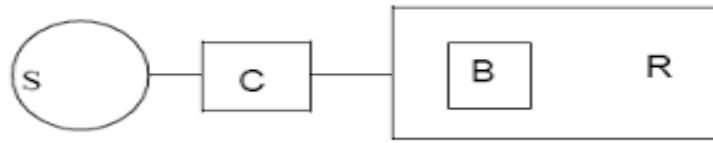
Bu işlemlerle ise tekstil ürünleri istenilen renkle ve desenlerle donatılır. Renklendirmenin asıl amacı kumaşa ilk bakış, ilk etki için çekicilik ve albeni kazandırmaktır. Renklendirme son derece geniş, çok sayıda ve çeşitte işlemlerden oluşmaktadır. Renklendirme işlemleri; moda, göz zevki ve çekicilik için mutlaka gereklidir. Ürüne değer artışı kazandıran işlemlerdir (Çoban, 1999).

2.6.1. Pamuk elyafının boyanması

Terbiyede yüksek haslıkları, renk tonlarındaki canlılığı, kesikli, yarı kesikli ve kesiksiz çalışan birçok metoda uygun olmaları nedeniyle pamuk elyafının

renklendirilmesinde reaktif boyarmaddelerin kullanımı Türkiye’ de yaygın hale gelmiştir. Ayrıca reaktif boyarmaddelerin selüloz esaslı liflerin yarıdan çoğunun boyanmasında kullanılması, günümüzde bu boyarmadde sınıfının diğer boyarmaddelerden daha hızlı bir büyüme trendine sahip olmasını sağlamıştır.

Bütün reaktif boyarmaddelerde ortak olan özellik, hepsinin kromoforu taşıyan renkli bir molekül yanında, bir reaktif ve bir de moleküle çözünürlük sağlayan grup ihtiva etmesidir. Kromoforu taşıyan moleküller ekseriya azo, antrakınon ve ftalosiyanın türevleridir. Boyama tekniği bakımından reaktif grup sorumludur. Çünkü boyarmaddenin reaksiyon kabiliyetini ve reaksiyon hızını bu grup tayin eder. Bir reaktif boyarmaddenin karakteristik yapısı aşağıda şematik olarak verilmiştir (Kayar, 2003).



Şekil 2.5. Bir reaktif boyarmaddenin karakteristik yapısı (Kayar, 2003)

S : (suda çözünebilir grup)

Protein elyafı ve selülozu boyayabilen reaktif boyarmaddelerde 1-4 adet sülfonik asit grubu bulunur. Bu grup moleküle çözünürlük sağlar.

C : (moleküle renk veren grup)

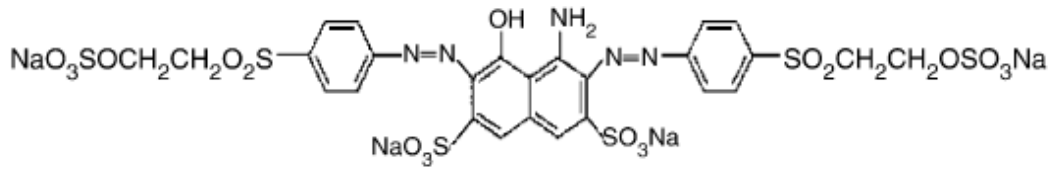
Reaktif boyarmaddenin molekülünde, renk verici grup olarak kimyasal sınıflamada görülür. Kromofor kısmı; uygulama ile ilgili özelliklerden (substantivite, difüzyon hızı, boyama özellikleri, yıkanabilirlik özellikleri) ve ayrıca renk ve haslık özelliklerinden sorumludur.

B : (köprü bağları)

Reaktif grup ile moleküldeki renkli grubu birbirine bağlayan $-NH-$, $-CO-$, $-SO_2-$ gibi gruplardır. Köprü görevi görmekten başka reaktif grubun reaktivitesi üzerine etki eder. Bir amino köprüsünün dissosiyasyonu reaktiviteyi on kat düşürebilir. Bu durumda substantivite ve buna bağlı olarak bağlanma hızı düşer. Köprü bağlarının önemli bir özelliği boyarmadde ile elyaf bağının ayrılmasını önlemesidir.

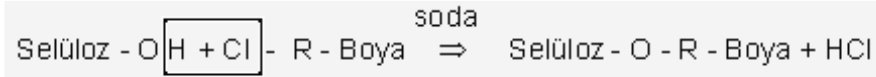
R : (reaktif grup)

Elyaftaki fonksiyonel grup ile kovalent bağ oluşturan gruptur. Reaktif grup ise; lifin boyarmaddeye bağlanmasını sağlamaktadır ve bu yüzden de yaş haslıklardan sorumludur. Reaktif grupların cinsi; reaksiyon hızını, sabunlaşmaya karşı eğilimini, hidrolizi ve alkali-asitlere karşı dayanımını belirlemektedir. Şekil 2.6.'da bizimde denemelerimizde kullandığımız Remazol Black B (Reaktif Black 5) boyarmaddesinin kimyasal yapısı verilmiştir.



Şekil 2.6. Reaktif Black 5'in kimyasal yapısı (Dokuzoğlu ve ark., 2008)

Alkali ortamda, reaktif boyarmaddenin lif ile kovalent bağ oluşturarak bağlanmaktadır. Bu reaksiyon, reaktif gruba bağlı olarak eter veya ester formunda olabilmektedir. Şekil 2.7.'de reaktif boyama mekanizması görülmektedir.



Şekil 2.7. Reaktif boyama reaksiyonu (Bozok, 2005)

Ortama alkali konduğu zaman, boyarmadde selülozun -OH grubu ile reaksiyona girerken, bir kısımda banyoda bulunan -OH iyonları ile birleşir ve aktivitesini yitirir. Bu reaksiyona hidroliz olmuş boya denir.



Hidroliz olmuş boyarmadde, elyaf ile reaksiyona girmez. Elyaf-boyarmadde bağlanma reaksiyonu ile su-boyarmadde hidroliz reaksiyonu birbirleri ile yarışma halinde olduğundan şartlar bağlanma reaksiyonu yararına olacak şekilde hazırlanmalıdır. İkinci olarak reaktif boyarmaddelerle boyamanın başarısı elyaf-

boyarmadde arasındaki kovalent bağıın stabilitesine de bağılıdır. Bu bağıın yıkama ve apre işlemlerinde hidrolize karşı dayanıklı olması önemlidir (Başer ve İnanıcı,1990). Hidrolize olmuş boyarmaddeyi uzaklaştırmak için düzgün bir şekilde ard yıkamalar yapılmalıdır (Abeta ve ark., 1984).

2.6.2. Reaktif boyarmaddelerin boyama yöntemleri

Reaktif boyarmaddelerle hem diskontinü (çektirme), hem de yarı kontinü ve kontinü emdirme metotları uygulanabilmektedir. Emdirme metotlarının uygulanması çok yaygındır. Bir boyarmaddenin hangi boyama metoduna uygun olup olmadığının seçimi; boyarmaddenin içerdiği reaktif gruplar, boyarmaddenin difüzyon hızı (difüzyon kabiliyeti) ve substantivitesi ile saptanır (Yakartepe ve Yakartepe, 1994). Bu özellikler, boyarmadde bünyesinde renk veren grupların özelliklerine bağılıdır ve bunlar boyarmaddeler arasında farklı bir durum gösterirler. Yani, bazı reaktif boyarmaddeler sıcak çektirme metoduna, bazıları soğuk bekleme metoduna uygun iken bazıları da her iki metoda uyum gösteren özelliklere sahiptir.

2.6.3. Çektirme yöntemine göre reaktif boyama

Çektirme yöntemi, tekstil materyalinin uzun flotte oranında bir banyo içerisinde uzunca bir süre muamele edilmesi esasına dayanır. Bu sırada applike edilmek istenen terbiye maddesinin veya boyarmaddenin, tekstil materyaline afinitesi nedeniyle banyodan çekilmesi sağlanır. Çektirme yönteminde tekstil materyalinin elyaf üzerindeki boyarmadde / terbiye maddesi ve banyo flottesindeki boyarmadde / terbiye maddesi arasında bir denge sağlanıncaya kadar terbiye banyosundan boyarmadde veya terbiye maddesini çekmesi beklenir. Çektirme yöntemine göre boyama işleminde substantivitesi yüksek ve orta seviyede olan boyarmaddeler kullanılmaktadır. Substantivite fazla olduğundan hidroliz de fazla olmakta ve fiksaj oranı düşmektedir. Fiksaj yüzdesini arttırmak için flotte oranını mümkün olduğunca kısa tutmak ve bol miktarda tuzu flotteye eklemek gerekir.

Çektirme yönteminin iki önemli özelliği, uzunca muamele süresi ve 1:3 oranından büyük olmak koşuluyla uzun flotte oranıdır (Yakartepe ve Yakartepe 1995). Flotte oranı kumaş tipi ve makine tipine göre değişiklik göstermektedir.

Optimum boyama koşulları, boyarmaddenin reaktivitesine bağlıdır. Soğukta boyayan boyarmaddeler, 40-60°C'de pH 10-11'de uygulanırken, sıcakta boyayan boyarmaddeler 70-90°C'de ve pH 11-12'de uygulanmaktadır. pH ayarı için baz olarak sodyum karbonat ve sodyum hidroksit kullanılmaktadır (Hunger, 2003).

2.6.4. Çektirme yöntemine göre boyamanın avantaj ve dezavantajları

Bu yöntemin avantajları;

1. İşlem süresi ve sıcaklık istenildiği gibi ayarlanabilir.
2. Kadife gibi havlı yüzeylerin tatmin edici bir şekilde boyanması mümkündür.
3. İşlem kontinü yöntemine göre daha basittir. Hesaplama ve ilave flotte takviyesi kolaydır.
4. Baş son farkı, kanat farkı, migrasyon gibi boyama hataları olmaz.
5. Kısa metrajdaki partiler için uygundur. 50 metrelik kupon kumaşların dahi boyanmasına olanak tanır.
6. Yatırım maliyetleri düşüktür.
7. Bu yöntemine göre çalışan makineler çok amaçlı olarak kullanılabilir. Örneğin; overflowda bazik işlem, ağartma, boyama, yıkama apre işlemleri yapılabilir.

Bu yöntemin dezavantajları ise şunlardır:

1. Kalıcı kırık izi oluşma tehlikesi olan kumaşlarda kullanılmaz.
2. Uzun flotte oranı nedeniyle su, atık su, kimyevi madde, boyarmadde, yardımcı madde tüketimi, ısıtma, soğutma enerji giderleri açısından maliyetlidir.
3. Makineye mamul doldurma ve boşaltma zahmetlidir ve zaman kaybı yaşanır.

4. Üretim hızı düşüktür. İşlem süresi, ısıtma, soğutma, doldurma boşaltma için gerekli süre uzundur.

2.6.5. Çektirme yöntemine göre boyama adımları

Çektirme metoduna göre boyama tekstil mamulünün uzun flotte oranında uzunca bir süre boyanması demektir. Çektirme yöntemine göre yapılan boyamalarda boyama üç adımda tamamlanır.

1. Reaktif boyarmaddelerin lif üzerine alınması
2. Boyarmaddenin lif üzerine fiksajı
3. Ard işlemler

2.6.5.1. Reaktif boyarmaddelerin elyaf üzerine alınması

Bu adım özellikle boyarmaddenin liflere olan substantifliği ve difüzyon yeteneği tarafından belirlenmektedir. Bir boyarmaddenin elyafa olan ilgisine substantivite denir. Bu ilgi boyar maddenin reaktif grubuna ve boyama koşullarına göre değişir. Ancak yüksek substantifliğe sahip reaktif boyarmaddelerin substantiflikleri bile esasında orta düzeydedir ve bu nedenden dolayı flottede kalan boyarmadde miktarı fazla olmakta ve lifler tarafından alınan boyarmaddenin bir kısmı da hidrolize uğrayarak, liflere bağlanmayan şekle dönüşmektedir.

Substantiviteyi arttırmak için çektirme yöntemine göre yapılan boyamalarda flotteye elektrolit (tuz) ilavesi zorunludur. Sıcaklık yükseltilmesi, substantifliği azaltacak fakat difüzyonu hızlandıracaktır. Substantivite reaktif gruplara, tuz miktarına, flotte oranına ve boyama sıcaklığına bağlıdır (Tarakçioğlu 1980).

Çektirme yöntemine göre alınma miktarını belirleyen faktörler, boyarmaddenin substantifliği, lifin cinsi, mamulün gördüğü ön terbiye işleminin yeterliliği, flotte oranı, tuz konsantrasyonu, cinsi, flotteye ilave şekli, baz konsantrasyonu ve cinsi,

boya banyosu pH'ı, boyarmaddenin konsantrasyonu, boyarmaddenin kimyasal reaktivitesi, boyama sıcaklığı ve boyama süresidir (Keskin, 2006).

2.6.5.2. Reaktif boyarmaddelerin elyafa fiksası

Bazık ortam, boyarmaddenin selüloz ile reaksiyona girebilmesi için olmazsa olmaz koşuldur. Ortama alkali ilavesi yapıldığında boyarmaddelerin fiksasyonu başlar. Reaktif boyarmaddelerin tepkime hızları, ortamın bazikliğine son derece bağlıdır. Zira flottenin pH değerinin 1 derece artması reaksiyonu 9–10 kat hızlandırır. Reaktif boyarmaddelerle pamuğun boyanması pH 8–12 aralığında elde edilir. Boyama dengesinin oluşma süresini çok uzatmamak ve sonradan düzgünleşmenin fazla olmasını sağlamak için genelde boyamalara düşük sıcaklıklarda başlanıp, yüksek sıcaklıklarda bitirilir. Boyarmaddenin lifler tarafından alınması düşük sıcaklıklarda fazladır, yüksek sıcaklıkta difüzyon ve düzgünleşme fazla olur. Boyarmaddenin fikse olması için gerekli sıcaklık, boyarmaddenin cinsine ve kullanılan alkaliye göre değişir (Yakartepe ve Yakartepe, 1998).

2.6.5.3. Boyama sonrası ard işlemler

Reaktif boyama prosesinin tamamlanmasından sonra kumaşın kullanıma uygunluğu ve kullanım sırasındaki renk akması, sertlik gibi istenmeyen durumların ortadan kaldırılması için bazı ard işlemler geliştirilmiştir. Bunlar; nötralizasyon, yıkama ve yumuşatma işlemleridir (Tarakçıoğlu 1980).

Yıkama işlemi, boyama sırasında life bağlanmayan ve banyo veya lif yüzeyinde kalan boyarmaddelerin sonraki aşamalarda renk değişimi ve akması gibi sorunlara neden olmaması için boyama sonunda özel bir sabun kimyasalı ile yıkanması işlemidir. Yıkama işlemi, boyanan rengin koyuluğuna göre farklılık gösterir. Koyu renklerdeki yıkama daha uzun sürmektedir. Sabunlama 1–3 g/L yıkama maddesi içeren flotte ile 90– 95 °C de yapılır, süre 15 – 30 dakikadır. Daha sonra sıcak ve soğuk durulama ile işlem bitirilir. Gerekirse, mamul yeni bir banyoda, yumuşatma

işlemine tabi tutulur. Ancak bu şekilde, yıkama haslığı iyi olan ve boya akıtmayan bir boyama eldesi mümkündür.

2.7. Bitim (Apre) İşlemleri

Bitim işlemleri ön terbiye ve renklendirme işlemlerinden sonra kumaşlara uygulanan kimyasal ve mekanik işlemlerden oluşmaktadır. Tekstil endüstrisi için vazgeçilmez olan bitim işlemleri, tekstil mamülüne yeni özellikler kazandırmak veya mamülün yapısında mevcut olan özellikleri geliştirmek amacıyla uygulanmaktadır.

Normalde apre; ön terbiye, boyama ve baskı işlemlerinin tamamlanmasından sonra uygulanır. Uygulama şekline göre, mekanik ve kimyasal apre olmak üzere ikiye ayrılır.

2.7.1. Mekanik apre

Mekanik apre (kuru apre) yöntemleri; traşlama, şardonlama, kalandırlama, makaslama, zımparalama gibi. Bu işlemler mamüle kuru halde uygulanır.

2.7.2. Kimyasal apre

Kimyasal apre(yaş apre) yöntemleri ise; kir iticilik apresi, buruşmazlık apresi, güç tutuşurluk apresi, keçeleşmezlik apresi, antistatik apre, antimikrobik apre, koku v.b gibi özel bir kimyasal madde içeren, apre flottesinde uygulanan yaş işlemlerdir.

2.8. Renk Ölçümü ve CIELAB Renk Sistemi

Tekstil ürünlerinde renk ve renk farklarını ölçmek için cihazlı yöntemler artarak kullanılmaktadır; insan gözü hâlâ iki numune arasındaki farkları ayırt etmekte cihazlardan daha kesindir. Cihazların daha iyi öngörü ve sayısallaştırma avantajı vardır, örneğin bir grup cihazlı ölçüm bir grup gözlemciden daha güvenilir renk ölçümü sağlar.

Renk ölçüm cihazları geleneksel olarak spektrofotometre ve kolorimetre olarak ikiye ayrılır. Çoğu ticari kolorimetre CIELAB renk uzayı ve CIELAB renk farkı formülleri üzerine kuruludur (Vigo, 1994).

CIELAB renk sistemi, XYZ renk sisteminden geliştirilmiştir. Renk farklılıklarının ölçülmesi, bu sistemde daha kabul edilebilir düzeydedir. Belirlenen bir standart renk ile numune renk arasındaki renk farklılığının hesaplanmasında bu yöntem kullanılmaktadır. CIELAB renk sisteminde L^* , a^* , b^* , c^* , h değerleri renklerin tanımlanmasında kullanılan ana parametrelerdir. Bu parametreler, X, Y ve Z değerlerinden hesaplanmaktadır. (İçoğlu, 2006)

Burada;

L^* : Işıklılık değeri. Renk uzayında dik eksendir. Siyah için 0° , beyaz için 100° dir. Bu iki değer arasında değişim gösterir. L^* değeri yükseldikçe rengin parlaklığı artar.

a^* ve b^* : Kromatik koordinatlar. CIELAB renk uzayında $+a^*$ kırmızı yönü, $-a^*$ yeşili, $+b^*$ sarıyı, $-b^*$ ise maviyi göstermektedir.

c^* : Kroma. Renk uzayının merkezinden yatay doğrultuda uzaklaştıkça rengin kroma değeri artar. Rengin doygunluğu konusunda bilgi verir.

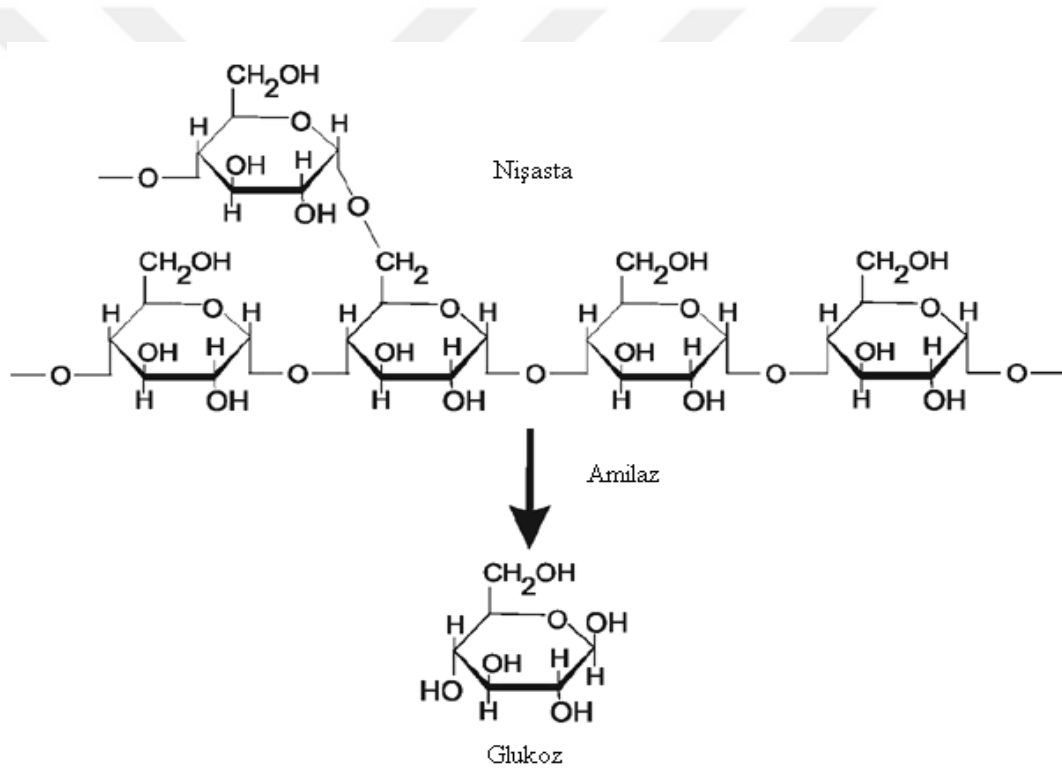
h : Bir nesnenin temel rengidir (kırmızı, mavi, sarı gibi). c^* ile apsis düzlemi arasındaki açıdır. h açısı; $+a^*$ boyunca 0° ve 360° , $+b^*$ için 90° , $-a^*$ 'da 180° , $-b^*$ için ise 270° dir. Rengin büyüklüğü konusunda bilgi verir.

2.9. Tekstil Terbiye İşlemlerinde Enzim Kullanımı

Enzimler doğal katalizör olmaları, biyolojik olarak parçalanabilmeleri, çevre dostu özellikleri, az miktarda kullanılıyor olmaları ve fazla atık su yükü yapmamaları birçok endüstride uygulama alanı bulan enzimlerin tekstil sektöründe de kullanımı özellikle son yıllarda belirgin bir şekilde yoğunlaşmıştır (Csiszar ve ark., 2006).

2.9.1 Amilaz

Bir karbohidraz olan alfa-amilaz enzimi ticari olarak kullanılan ilk enzimdir. Amilazın yardımıyla nişastanın α -glikosidik bağları parçalanarak nişasta depolimerize edili, suda çözünen dekstrin oluşturulmaktadır. Şekil 2.8.'de nişastanın amilaz enzimi ile parçalanma reaksiyonu gösterilmiştir. Bu enzim günümüzde tekstil ve kağıt endüstrisinde, nişastanın sıvılaştırılmasında, ekmek, glikoz ve fruktoz şurupları ve tutkal üretiminde, alkol fermantasyonunda kullanılmaktadırlar (Eren ve ark., 2006).



Şekil 2.8. Nişastanın amilaz enzimi ile parçalanma reaksiyonu (Meral, 2013)

Son yüzyılın başlangıcından beri, tekstil endüstrisinde haşıl sökmede ağır tahriş edici işlemlerin yerini çevre dostu olarak bilinen amilaz ile enzimatik işlem almıştır. İşlemin özellikleri, varolan makine parkına ve üretim hızına uygundur. Bununla birlikte işlemin ekonomik ve yüksek ısıya dayanıklı enzimlerin var oluşu gibi avantajları da mevcuttur.

2.9.2. Pektinaz

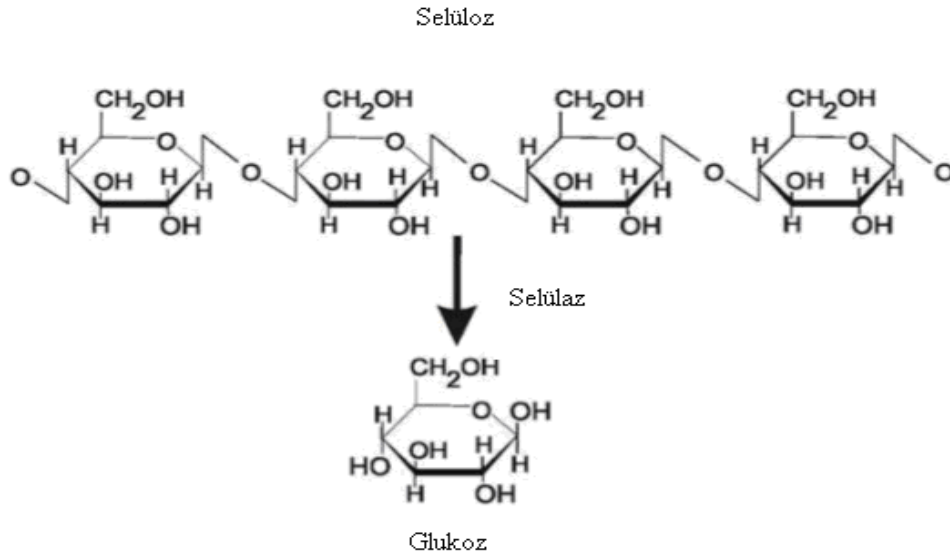
EC 3.2.1.15 olarak ifade edilen pektinazlar pektini parçalayan enzimlerin genel adıdır. Pektinaz, D-pektik asitin metil esterleşmiş α 1,4 bağlarına etki eder. Özellikle pamuk ön terbiyesinde, lifin yapısında bulunan ve selülozik olmayan pektin, hemiselüoz ve mum gibi yabancı maddelerin uzaklaştırılması için yapılan kaynatma işlemini pektinaz enzimleri katalizlemektedir. Pektinaz pamuğun yüzey ıslanabilirliğini arttırmaktadır (Bahtiyari ve Duran, 2002; Hoondal ve ark., 2002).

2.9.3. Selülaz

Bir selüloz enzim sistemi 3 ana komponentten oluşmaktadır. Bunlar; endoglukonazlar (EC 3.2.1.4), exoglukonazlar (EC 3.2.1.91) ve β -glukosidazlardır (EC 3.2.1.21). endoglukonazlar (EC 3.2.1.4) carboksimetil selüloza etki ederek selüloz zincirinin gelişi güzel parçalanarak glikoz ve selo oligosakkaritlerin oluşmasına neden olmaktadır. exoglukonazlar (EC 3.2.1.91) mikro kristalin selüloza etki etmekte ve selülozun indirgenmemiş ucuna etki etmekte ve birincil ürün olarak sellobioz açığa çıkarmaktadır. β -glukosidazlar (EC 3.2.1.21) ise sellobiozu glikoza hidroliz etmektedirler. Bütün bu enzimlerin sinerjetik etkisi ile glikoz nihai ürün olarak ortaya çıkmaktadır (Karmakar ve Ray, 2011).

Selülazlar, tekstil endüstrisinde kullanılan enzimlerin üçüncü büyük grubunu oluşturmaktadırlar. Tekstil endüstrisinde kotların taşlanması, kumaşların parlatılması ve yumuşatılması amacıyla kullanılmaktadır. *Bacillus* suşlarından elde edilen alkalik selülazlar, pamuk liflerinde olumsuzluk yaratmadan, kumaştaki kirliliği temizlemede etkilidirler (Hakamada ve ark, 1997). Düz fibrilleri taşıyan pamuğun uzun süre muamelesi ve yıkanması fibrilleri kırar, bu da kumaş yüzeyinde (tüylenme veya tırtıklanma gibi) istenmeyen görüntüleri yaratır. Selülazlar, kumaş yüzeyinde istenmeyen bu görüntüleri gidererek kumaşı pürüzsüzleştirir (Smith, 2004). Biyoağartma işleminde kullanılan selülazın kumaş yüzeyinde oluşan tüylenme ve kısa fibrilleri ortadan kaldırma, pürüzsüz ve parlak görünüm kazandırma, kumaş renginin solmamasını sağlama, yüksek hidrofilik özellik ile nem absorbansı ve

çevreye zarar vermemesi gibi avantajları vardır (Bhat, 2000). Pamuklu kumaşların selülozlarla biyoparlatma işlemi sadece düzgün görünümü değil aynı zamanda yumuşak tutumu da sağlamaktadır. Biyoparlatma işlemi yakma işlemi yerine uygulanabilirliği nedeniyle giderek popüler olan bir işlemdir (Bai ve ark. 2012). Şekil 2.9.'da selülozun glukoza hidroliz reaksiyonu gösterilmiştir.



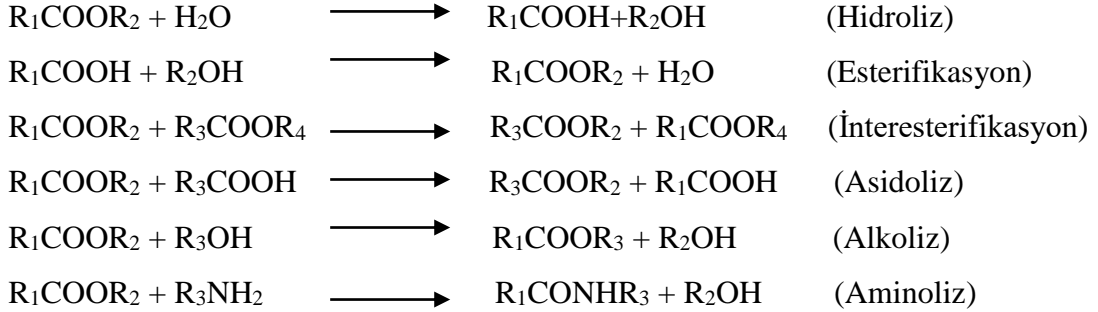
Şekil 2.9. Selülozun glukoza hidrolizi (Kuduğ, 2013)

Denim kumaşların terbiyesinde de selüloz enzimi popüler bir uygulama alanı bulmuştur. Geleneksel olarak denim yıkamacılığında ponza taşı ile taş yıkaması yapılarak mamulün rengi soldurulmaktadır. Fakat selüloz enzimi ponza taşının yerine uygulandığında kıyafete ve makine daha az zarar görebilmektedir. Biyotaşlama olarak bilinmeye başlanan bu teknik ile kumaşa ve diğer aksesuarlara daha az zarar vererek daha fazla açma değerleri sağlayabilmektedir (Karmakar ve Ray, 2011).

2.9.4. Lipaz

Lipazlar (Triaçilgliserol/trigliserid hidrolaz, E.C. 3.1.1.3) gliseridlerin gliserol ve serbest yağ asitlerine hidrolizini katalizleyen hidrolaz grubu enzimlerdir. Lipazların, trigliseritler üzerindeki hidrolitik aktivitelerinin yanı sıra, esterifikasyon, interesterifikasyon, asidolizis, alkolizis ve aminolizis gibi reaksiyonları da kataliz

etme yetenekleri vardır. Lipazlar tarafından kataliz edilen farklı reaksiyonlar aşağıda gösterilmiştir (Houde ve ark., 2003).



Şekil 2.10. Lipaz enziminin kataliz ettiği reaksiyonlar (Houde ve ark., 2003)

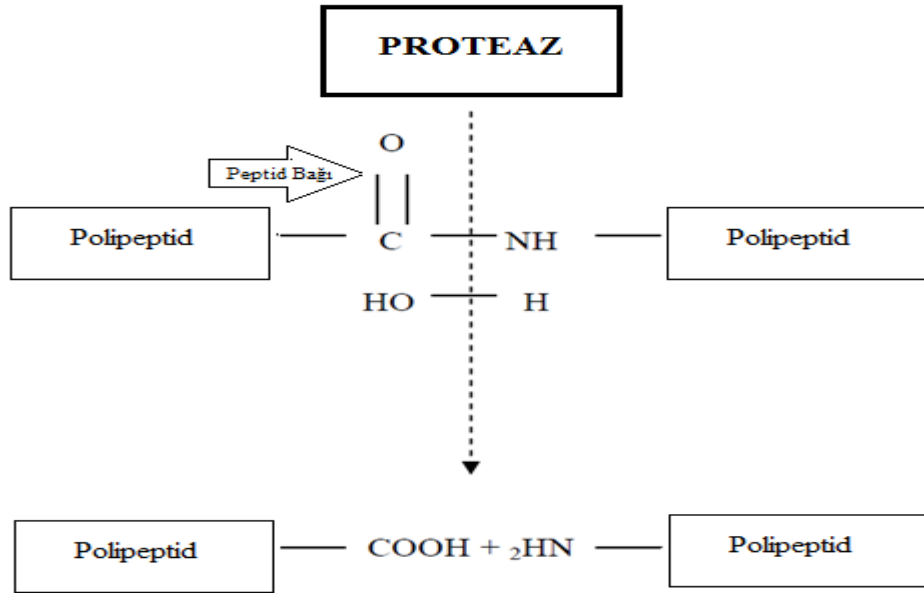
Lipazlar doğada sık rastlanan ve çok sayıda bitki, memeli hayvan ve mikroorganizmalar tarafından üretilen bir enzimdir. Bakteri, mantar, maya gibi mikrobiyal orijinli lipazlar biyoteknolojik uygulamalarda ve organik kimyada çok yaygın kullanılan enzim sınıfını göstermektedir. Lipazların çok spesifik kimyasal dönüşüm gerçekleştirmeleri bunların artan bir şekilde gıda, deterjan, kimya ve ecza endüstrilerinde kullanılmalarını popüler hale getirmektedir. Lipazlar haşıl lubricantlarının (çeşitli yağlar) uzaklaştırılmasına yardımcı olarak kumaşların daha iyi hidrofilitte ve dolayısıyla boyamada düzgünlüğün eldesinde rol oynarlar (Singh ve Mukhopadhyay, 2012).

2.9.5. Glikoz oksidaz

Glukoz oksidaz enzimi kanda, ürede, gıdalarda ve diğer biyolojik sistemlerde glukozun analitik olarak ölçülmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Glikoz Oksidaz glikozun moleküler oksijen ile yükseltgenip glukono-&-lakton ve hidrojen peroksidin olduğu reaksiyonu katalizler. Lakton sulu ortamda herhangi bir enzime ihtiyaç duymaksızın hidroliz olarak glikonik aside dönüşür. Bu da ağartma prosesi boyunca iyon tutucu olarak işlev yapar. Glikoz oksidaz ile peroksit üretilmesinde enzimin deaktive olmaması için hafif asidik şartlar ve düşük sıcaklık gerekmektedir (Davulcu, 2008; Bilge, 2010).

2.9.6. Proteaz

Proteaz enzimleri, protein molekülündeki belli peptid bağlarını katalizleyen ve yüzyıllardır gıdaların islenmesinde kullanılan hidrolaz sınıfı enzimlerdir. Şekil 2.11.'de proteaz enzimi ile peptid bağlarının kataliz reaksiyonu gösterilmiştir. Proteolitik enzimler yünlü kumaşların terbiyesinde kullanılarak, lif yüzeyinde kısmi hidroliz gerçekleştirmekte ve kökuç doğrultusundaki sürtünme direnci farkını (DFE) azaltmaktadır. Tekstil endüstrisinde, ipekte serisin uzaklaştırmasında da kullanılmaktadırlar (Özçömlekçi, 2006; Duran ve ark., 2007).



Şekil 2.11. Peptid bağlarının proteazlar tarafından katalizi (Ahmetoğlu, 2011)

2.9.7. Katalaz

Katalaz [E.C. 1.11.1.6] enzimi doğada yaygın olarak bulunan hidrojen peroksidi moleküler oksijene ve suya dönüştüren reaksiyonu katalizleyen bir oksidoredüktaz enzimidir. Katalaz enzimi bir çok bitkiden saflaştırılarak karakterize edilmiştir. Bitkisel kaynaklı olarak kabakta, mercimekte, salatalıkta ve pamuktan katalaz enzimi saflaştırılıp karakterize edilmiştir. Katalaz enzimi hidrojen peroksidi parçalamayı katalizleyen bir enzim olduğundan hidrojen peroksidin kullanıldığı ve aşırısının ortamdaki uzaklaştırılmasının gerekli olduğu tüm proseslerde özellikle tekstil, kağıt endüstrisi gibi alanlarda kullanılır.



Kasar sonrası peroksit kalıntılarını temizlemek için sodyum tio sülfat, sodyum bisülfid ile nötürleme veya su ile durulama yöntemleri uygulanmaktaydı. Son yıllarda katalaz enzimi kullanılarak daha kesin bir nötürleme işlemi yapılmaktadır. Kasar sonrası enzim kullanımını ile işlem süresi kısaltılır, durulama gerekmediğinden su ve enerji tasarrufu sağlanır.

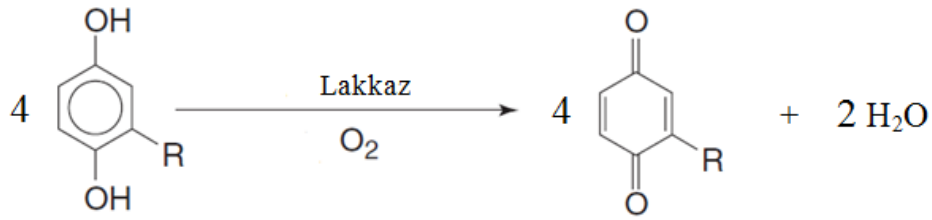
Choi ve Yiu (2004), bu çalışmada düşük maliyetli H_2O_2 biosensor tasarımı için sığır karaciğer katalazını yumurta kabuğunun zarına kovalent immobilize etmişlerdir. Katalaz immobilize edilmiş zar ile oksijen elektrodun yüzeyini kaplayarak oksijen seviyesindeki artışı H_2O_2 derişimi ile ilişkilendirmişlerdir. Sığır karaciğer ekstraktı 11 kat seyreltildiğinde ve immobilizasyon süresi 5 dk. Olduğunda en uygun sonuçları elde etmişlerdir. Biosensor pH 5-10 aralığında güvenilir sonuçlar ve 0-500 mM tampon derişimi aralığında sabit sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Biyosensörün en uygun çalışma sıcaklığını 25°C olarak rapor etmişlerdir. İmmobilize katalazın raf ömrünü incelediklerinde 4°C de 3 ay bekletilen biyosensörün başlangıç aktivitesinin % 95'ini gösterirken 7 ay bekletilenin % 85'ini gösterdiğini, 23°C de bekletilen biosensörün 3 ay sonunda başlangıç aktivitesinin % 80'ini, 7 ay sonunda % 70'ini gösterdiğini bildirmişlerdir.

Çetinus ve ark. (2009), sığır karaciğer katalazını glutaraldehit ile modifiye edilmiş kitosana (Ch) ve Cu^{2+} iyonunun adsorbe edildiği kitosana (Ch-Cu) immobilize etmişlerdir. Ch ve Ch-Cu desteklere immobilize edilen katalazın miktarını sırasıyla 0,074 mg/g destek (% 51,7) ve 0,115 mg/g destek (% 79,3) olarak bildirmişlerdir. Serbest katalaz, Ch-katalaz ve Ch-Cu-katalaz örnekleri için V_{max} değerlerini sırasıyla 32000 U/mg prot. 4800 U/mg prot. ve 18450 U/mg prot. olarak, K_m değerlerini sırasıyla 35 mM, 18 mM ve 53 mM olarak bildirmişlerdir. Serbest ve immobilize katalaz örnekleri en yüksek aktivitelerini 35°C 'de göstermişler ve Ch-Cu-katalaz örneğinin 25-35 $^\circ\text{C}$ 'de termal kararlılığının diğer örneklerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Çetinus ve ark., 2009).

Yoon ve ark. (2007), *Aspergillus* kaynaklı katalazı kitosana hapsetme yöntemi ile immobilize etmişlerdir. Katalazın % 61'inin immobilize olduğunu ve immobilizasyondan sonra katalazın başlangıç aktivitesinin % 7,9'unu gösterdiğini bildirmişlerdir.

2.9.8. Lakkaz (Polifenol oksidaz)

Benzendiol:oksijen oksidoreduktaz, EC 1.10.3.2 olarak da bilinen lakkaz enzimi, yapısında bakır içeren ve çeşitli maddelerin oksidasyonunu katalizleyen bir enzimdir. Lakkaz enzimi, mono ve poli-fenolik maddeler ve aromatik aminlerden bir elektron çıkarılması ile hidroksil gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması reaksiyonunu katalizlemekte ve bu reaksiyon sonucunda serbest radikaller oluşmaktadır (Campos ve ark., 2001).



Şekil 2.12. Lakkaz enziminin genel kataliz reaksiyonu (Dwivedi ve ark., 2011)

Lakkaz için pek çok endüstriyel kullanım alanı önerilmektedir. Lakkazların tekstil atık sularının renksizleştirilmesinin yanı sıra tekstillerin ağartılmasında, denim yıkamada ve hatta boyarmaddelerin sentezinde kullanılmaktadır (İnkaya 2006; Arık ve ark., 2008).

Polifenol oksidaz üzerine yapılan çalışma siyah çaydan elde edilen polifenol oksidaz enzimi selüloz tabakaya başarılı olarak immobilize edilmiş ve enzimin aktivitesi %83 oranında başarılı olmuş ve uygulama için uygun olduğu belirlenmiştir (Turrens ve ark., 1984).

Polifenol oksidaz (PPO), toksik olan fenolik bileşikleri uzaklaştırmada ilk akla gelen enzimdir. PPO immobilizasyonu ve özellikle tekstil boyalarında atık giderimi ile

ilgili günümüzde çalışmalar yaygın olarak yapılmaktadır. Literatürde Polifenol oksidaz (lakkaz) enzimi aktif karbon, Lentinula gibi maddeler üzerine immobilize edilerek boya giderimde kullanılmıştır (Davis ve Burns, 1992; Reyes ve ark., 1999; Dannibale ve ark., 2000).

Bayramoğlu ve arkadaşlarının (2010), bir çalışmada, poli (4-vinil piridin), poli (VP) yeni metal –şelat yapıcı polimerlerle manyetik kürelere graft polimerizasyon yöntemi uygulanarak lakkaz enzimi immobilize edilmiştir. İmmobilize lakkaz enzimi Reactive Green 19, Reactive Red 2 ve Reactive Brown 10 tekstil boyalarının 19 gideriminde kullanılmıştır. 6 saat sonunda Reactive Green 19 için %38, Reactive Red 2 için %51 ve Reactive Brown 10 için %59 oranında giderim sağlandığı belirtilmiştir (Bayramoğlu ve ark. 2010).

Cristovao ve arkadaşları (2011), yeşil coconut fiber üzerine lakkazın immobilizasyonu yapmışlar ve Reactive Blue 114 için % 40, Reactive Yellow 15 için %48, Reactive Black 5 için % 23, Reactive Yellow 176 için % 4, Reactive Red 180 için % 7 ve Reactive Red 239 için ise % 0 olarak boya giderimini belirlemişlerdir (Cristovao ve ark. 2011).

2.10. Tekstil Proseslerinde Enzim Kullanımına Yönelik Çalışmalar

Davulcu (2008), yaptığı 3 aşamalı çalışmada konvansiyonel haşıl sökme enzimi olan amilaz esaslı enzimler yerine amiloglikozidaz/pullulenaz karışımı enzim ile nişastanın tamamen parçalanması için optimum şartları belirlemiş, haşıl sökme banyosundaki glikozdan glikoz oksidaz enzimi ile hidrojen peroksit eldesi ve bu hidrojen peroksit ile maksimum ağartma işlem koşullarını saptamış, ağartma işlemi sonunda katalaz enzimi ile hidrojen peroksit giderimi yapmış ve aynı banyoda reaktif boyalarla boyama işlemi yapmıştır. Çalışma sonunda elde edilen beyazlık derecelerinin beyaz kullanılacak kumaşlar için yeterli olmadığı ancak boyanacak kumaşlar için yeterli olduğunu tespit etmiştir (Davulcu, 2008).

Tzanov ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada ticari alüminyum oksit ve cam destekler üzerine glukoz oksidazı kovalent bağlama ile immobilize ettiler ve alüminyum oksit stabilite açısından tatmin edici bir destek olarak bildirildi. İmmobilize enzimin tekrar tekrar kullanılabilirliğini test ettiler. Üstelik farklı aktivasyon yöntemleri ile üretilen immobilize enzimleri kullanarak elde edilen peroksiti kullandılar ve konvansiyonel yöntemlerle yaklaşık değerler elde ettiler (Tzanov ve ark., 2002).

Calafell ve Garriga (2004), pamuklu kumaşların hidrofilleştirilmesinde asidik pektinazların uygulanabilirliğini pH, sıcaklık ve yardımcı madde etkisi açısından incelemişlerdir. Bu amaçla polygalacturonase aktivitesi yüksek pektinaz enzimi ile yapılan denemeler sonrasında asidik pektinazın etkin bir şekilde pamuklu kumaşların hidrofilleştirilmesinde kullanılabileceğini fakat bu esnada pH ayarının önemli olduğunu ve yüksek flote oranlarında non-iyonik bir yüzey aktif madde ile etkili bir şekilde enzimatik hidrofilleştirmenin sağlanabileceğini bildirmişlerdir (Calafell ve Garriga, 2004).

Ekmekçi Körlü ve arkadaşları (2008), enzimatik işlem sonrası viskon ve pamuklu kumaşlar 30–60–120–240 dk, 1 gün ve 1 hafta süreyle selülaza birlikte yaş halde bekletilmiş ve değerlendirme amacıyla pillinglenme dereceleri, gramaj değişimi, iplik mukavemetini ölçmüşler, Harrison gümüş ve fehling testlerini yapmışlardır. Denemeler sonucunda, selülaza enziminin pilling sorununu azaltma açısından pamuktaki (biyoparlatma sonrası pilling derecesi 5) ve viskondaki (biyoparlatma sonrası pilling derecesi 2,5) etkilerinin farklı olduğu belirlemişler ve viskonda, pamuktaki kadar etkili olamamasına rağmen, kumaşa ciddi zararlar oluşturabileceğini tespit etmişlerdir. İster pamuklu ister viskon olsun biyoparlatmanın ardından selülaza enzimin deaktive edilmesi gereklidir. Aksi takdirde pamuklu kumaşa %13'e, viskon kumaşa ise %23'e varan ciddi zararlar meydana gelmektedir (Körlü ve ark. 2008).

Kim ve arkadaşları (2007), *Trametes hirsuta*' dan elde edilen lakkaz enzimi bazı Flavanoidlerin polimerizasyonun ve oksidasyonunu sağlayarak daha sonra bunları

selülozik liflerin çevre dostu bir şekilde boyanmasında kullanmışlardır (Kim ve ark. 2007).

Akçakoca Kumbasar ve ark. (2009), dört farklı protein esaslı tekstil malzemesini (koyun, keçi, angora tavşanı yünü ve ipek) proteaz enzimleri ile işleme sokmuş ve daha sonrasında doğal boyalarla boyanma özelliklerini incelemişlerdir. Denemeler sonrasında boyama öncesinde yapılan enzimatik işlemin koyun ve keçi yününün ve ipeğin doğal boyalarla boyanmasına önemli etkisinin olmadığını bulmuşlardır. Fakat angora tavşan yününün ise enzimatik işlem sonrasında boyanmasıyla %20-30 civarında renk verimliliği artışı olduğunu tespit etmişlerdir (Kumbasar ve ark. 2009).



BÖLÜM 3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışmada, ebegümece (*Malva sylvestris L.*) yaprakları katalaz enzimi ve ayva yaprağı (*Cydonia Oblonga*) Poli fenoloksidaz enzimi izolasyonu için kullandığımız bitkiler Sakarya ilinden toplanmıştır.

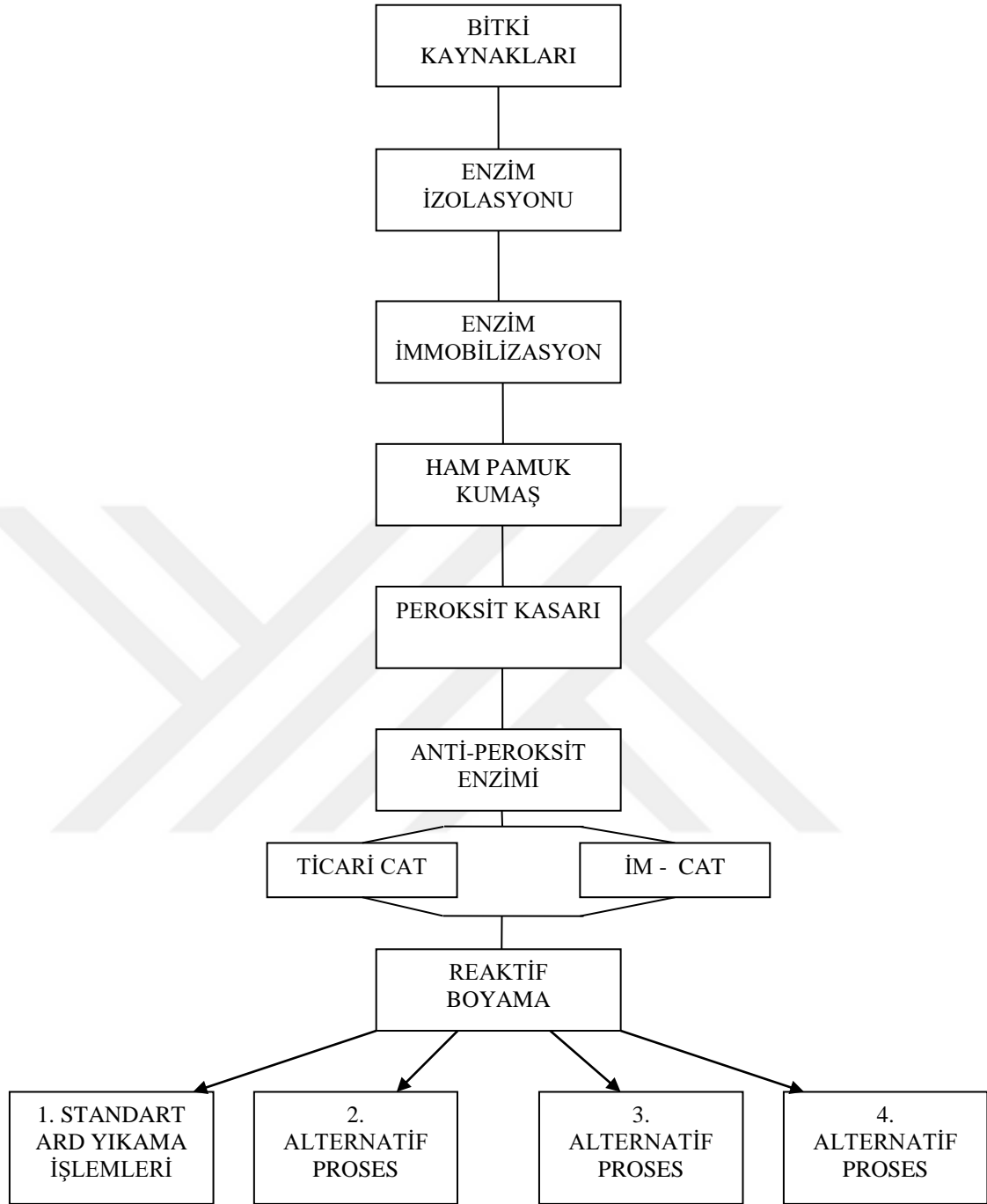
3.2. Yöntem

Bu tez çalışmasında öncelikle tekstil proseslerinde kullanmak istediğimiz enzimleri elde edebileceğimiz bitki kaynaklarını araştırdık. Ebegümece bitkisinin yapraklarını katalaz enzimi, ayva ağacının yapraklarını da polifenol oksidaz enzimi kaynağı olarak kullanılabilirliklerini araştırdık.

Ebegümece bitkisinden katalaz enzimi izole edildi ve tekstil endüstrisinde kullanılmak üzere proses şartlarına daha dayanıklı yapı kazanması için çitosana immobilize edildi. Serbest ve immobilize enzimlerin karakterizasyon analizleri yapıldı. Pamuklu kumaşı düzgün boyama yapılmasını sağlamak, üzerindeki kir ve rengi gidermek için peroksit kasarı işlemine tabi tutuldu. Peroksit banyo işlemi sonunda kumaş ve banyodaki arta kalan peroksit kumaşın mukavemetini düşürdüğü ve düzgün boyama işlemine engel olduğu için peroksitin ortamdan uzaklaştırılması gereklidir. Günümüzde bu anti-peroksit enzim prosesesi için mikrobiyel kaynaklı immobilize enzimler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, ebegümece kaynaklı immobilize katalaz enziminin, mikrobiyel kaynaklı ticari katalaz enzimine karşı alternatif olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Ayva yaprağından polifenol oksidaz enzimi izole edildi ve kalsiyum alginata immobilize edildi. Serbest ve immobilize enzimlerin karakterizasyon analizleri yapıldı. Anti-peroksit enzimi prosesine tabi tuttuğumuz pamuklu kumaşları reaktif boyarmaddeler ile boyama işlemine tabi tuttuk. Reaktif boyama işlemi sonunda kumaş üzerinde kalan artık ve hidrolize boyarmaddenin kumaşın iyi bir şekilde kullanılabilmesi, haslıklarının iyi olması için tamamen uzaklaştırılması gereklidir. Reaktif boyarmaddelerle boyama sonrası ard yıkama işlemleri zaman alıcı, maliyeti yüksek, büyük miktarlarda su tüketimi ve çevre kirliliği oluşturacak bir prosestir. Çalışmanın bu bölümünde, immobilize PPO enziminin, çevre dostu olabilecek alternatif ard yıkama işlemi için kullanılabilirliğini araştırılmıştır. Standart ard yıkama prosesi ile alternatif proseslerin yıkama performansı ve haslık değerlendirmeleri yapılmıştır.

Aşağıdaki şekilde izlediğimiz deney planı kısaca özetlenmiştir.



Şekil 3.1. İzlediğimiz deney planı

3.2.1. Kullanılan araç-gereç ve cihazlar

Shimadzu UV-2401 Pc UV-VIS Spektrofotometre, Nüve NF 800 R Soğutmalı Santrifüj, Nüve NF 200 Santrifüj, WiseStir MSH-20D Manyetik Karıştırıcı, Özel yapım Soğutucu kabin, HANNA pH 211 pH metre, Thermo Scientific Owl P8DS, Protein elektroforezi, Nüve Nb20 Su banyosu, Precisa XB 220A Hassas terazi, Microlit VVCS-200 ve 1000 Otomatik pipetler, Uğur UDD 100BK Derin dondurucu, Beko Hotmix 2155 Blender, Termal marka boyama makinaları, AATCC ter haslığı cihazı, AATCC sürtme haslığı cihazı, AATCC sürtme haslığı cihazı, Macbeth Color 7000A spektrofotometre cihazı, Gri Skala, Ataç Işık Kabini kullanılmıştır.

3.2.2. Kullanılan kimyasal maddeler

Çalışmalarımız süresince polivinil pirolidon (PVP), triton-x 100, askorbik asit ve disodyum hidrojen fosfat ile sodyum dihidrojenfosfatın kullanıldığı tampon çözeltiden oluşan karışım izolasyon işlemlerinde kullanılmıştır. Sitrik asit mono hidrat, sodyum sitrat, dipotasyum hidrojen fosfat, potasyum dihidrojenfosfat, tris amino metan hidroklorid ve trizma-base kimyasalları tampon çözelti hazırlama işlemlerinde kullanılmıştır. 4-metil katekol, katekol, pirogallol, kafeik asit, o-dianisidin, guaiakol, ABTS, hidrojen peroksit ve o-fenilen diamin substratları kinetik çalışmalarında kullanılmıştır. Sodyum azid, potasyum siyanür, EDTA, sodyum klorür, bakır sülfat katalaz enzimi inhibisyon analizinde kullanılmıştır. Aljinat, kalsiyum klorür, çitosan ve glutraldehit immobilizasyon çalışmalarında kullanılmıştır. Ticari katalaz enzimi olarak Novozymes firmasının Terbinox 10 L enzimi kullanıldı. Boyama işleminde reaktif boyarmadde olarak Dystar firmasının Remazol grubu boyarmaddeleri kullanıldı. Remazol Ultra Yellow RGBN, Remazol Ultra Orange RGBN, Remazol Ultra Red RGBN, Remazol Ultra Carmin RGBN, Remazol Blue RR, Remazol Black B (C.I. Reactive Black 5), Jakazol Black CEC-L, boyarmaddeleri kullanılmıştır. ECE test deterjanı yıkama haslığı çalışmalarında kullanılmıştır. Histidin Monohidroklorür Monohidrat, Disodyum Hidrojen Orta Fosfat , Sodyum Klorür , Histidin, Sodyum Dihidrojen orta fosfat, kimyasal

maddeleri ter haslığı çözeltilerini hazırlamak için kullanılmıştır. HOBT mediatör olarak kullanılmıştır.

3.3. Analizler

3.3.1. Katalaz (CAT) enzim izolasyonu

Öncelikle çalışılacak bitkilerde yeterli miktarda CAT enziminin varlığını kontrol etmek için dondurucuda depolanmış olan ebegümece bitkisinden değişik oranlarda 15 gram alınarak ince ince doğranmıştır. 0,3 g polivinil pirolidon (PVP), 100 ml 50 mM fosfat tamponu (pH 7,00) ile hazırlanan çözeltiler blenderda 5 dakika boyunca karıştırılarak parçalanmıştır. Elde edilen homojenat 3 kat tülbetten süzölmüş ve 14.000 rpm'de 15 dk süresince santrifüjlenmiştir. Bu işlemler sonucunda ham enzim ekstratı olarak elde edilen süpernatant enzim karakterizasyonu çalışmalarında kullanılmıştır.

3.3.1.1. Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz

Süpernatantlar, amonyum sülfat kullanılarak %60 doygunluğa getirilmiştir. Çöktürme işlemleri sırasında kullanılacak katı amonyum sülfat miktarı aşağıdaki eşitlik (Denklemler 3.1) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$g[(NH_4)_2SO_4] = 1,77 \times V \times (S_2 - S_1) / 3,54 - S_2 \quad (3.1)$$

V = Süpernatant

S1 = 1' in kesri şeklinde mevcut amonyum sülfat doygunluğu

S2 = 1' in kesri şeklinde istenilen amonyum sülfat doygunluğu

Amonyum sülfat çöktürmesi sırasında ham ekstrakta katı $(NH_4)_2SO_4$ yavaş yavaş ve az miktarlarda ilave edilerek katıldı. Her ilave sırasında daha önce katılan $(NH_4)_2SO_4$ 'ların çözünmüş olmasına dikkat edildi. Katı amonyum sülfat katılmasından sonra % 60 doygunluğa getirilen süspansiyon hızlı bir şekilde ince bir tülbetten süzölerek 5.000 rpm'de 15 dk boyunca santrifüj edildi. Her santrifüj

işleminde sonra enzim varlığına Bradford çözeltisi ile bakılmıştır. Tüm bu işlemler +4°C’de gerçekleştirilmiştir.

Amonyum sülfat çöktürmesi sonucu elde edilen enzim çözeltileri diyaliz torbalarına yerleştirildi. Diyaliz torbaları ayrı ayrı içinde pH = 7,0 fosfat tamponu bulunan geniş birer behere yerleştirilerek 24 saat süreyle +4°C’de diyaliz edildi. Bu işlem sırasında tampon çözeltiler en az üç, dört defa değiştirilmiştir.

Diyaliz yöntemi, iyonik olan ve olmayan, tüm küçük molekülleri yok etmek veya konsantre etmek için basit, ucuz ve etkin bir yöntemdir. Genellikle çözeltilerdeki tuzları ve diğer küçük molekülleri ortamdan uzaklaştırmakta kullanılır. Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz işleminden sonra elde edilen enzim çözeltileri kısmen saflaştırılmıştır. Kısmen saflaştırılmış olan CAT enzimi bir sonraki adım olan jel filtrasyon kromatografisi işlemine tabi tutulmuştur.

3.3.1.2. Kromatografik yöntem

Proteinlerin molekül büyüklüklerinin farklı olması dolayısıyla yapılan bir ayırma yöntemidir. Moleküller, dolgu maddesi (jel) ve çözücü sistemi arasında dağılır. Kolona verilen büyük moleküller, jel taneciklerinin boyutundan çok büyük ise kolonu önce terk eder. Küçük moleküller ise jel tanecikleri içine girerek orada alıkonurlar. Kolonun üzerine sürekli çözücü verilerek jel taneciklerinde bulunan küçük moleküller elue edilirler. Orta boyuttaki moleküller ise jel taneciklerine tamamen girememektedir. Bu nedenle moleküller kolondan büyüklüklerine bağlı olarak elue edilmektedir (Arslan ve ark., 2004).

1,5 gram Sefadex G-100, 50 ml 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,0) 4 gün bekletilerek jel oluşması sağlanmıştır. 1 cm çapında ve 50 cm boyundaki kuru bir kolonun dibine cam pamuğu yerleştirilip üzerine tampon çözelti ilave edilmiştir.

Sefadex G-100 bir huni yardımı ile kolona verildikten sonra musluk açılarak jelin kolona homojen olarak yerleşmesi sağlanmıştır. Kolonun üzerinden tampon çözeltisi

geçirilerek akış hızı ayarlanmıştır. Kolon tampon içerisinde 24 saat bekletilmiştir. Bu işlemlerden sonra enzim numunesi 15 ml halinde kolona uygulanır. 1,5 ml'lik kısımlar halinde eppendorf tüplerde toplanmıştır. Enzimlerin varlığına bradford çözeltisi ile bakılmıştır. Eppendorf tüplerde toplanan enzim daha sonraki işlemlerde kullanılmak üzere -20 °C'de derin dondurucuda depolanmıştır.

3.3.1.3. Katalaz (CAT) enziminin karakterizasyonu

Enzimatik aktivite tayini, hidrojen peroksitin 240 nm.'deki absorbansının enzim ile etkileşmesinden sonra azalmasının zamana bağlı olarak ölçülmesiyle yapılmıştır.

3.3.1.4. Katalaz (CAT) enzimi için optimum substrat konsantrasyonu

En yüksek aktiviteyi bulabilmek için kullanılan hidrojen peroksitin 0,05 mM ile 50 mM arasında değişen konsantrasyonlardaki çözeltileri kullanılarak en fazla aktivite gösterdikleri konsantrasyon belirlenmiştir.

3.3.1.5. İnhibitör etkisi

Yapılan çalışmada sodyum azid, sodyum klorür, sitrik asit, bakır sülfat, potasyum siyanür olmak üzere toplam beş adet inhibitör kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan inhibitörlerin etkilerini tespit etmek için sabit enzim miktarı ve 3 mM'lık sabit substrat konsantrasyonunda aktivite tayini baz alınarak farklı konsantrasyonlarda inhibitör aktiviteleri belirlenmiştir. Sonra her bir inhibitör için inhibitör konsantrasyonu [mM] - % bağıl aktivite grafikleri çizilmiştir.

3.3.2. Katalaz (CAT) enzim immobilizasyonu

3 g Çitosan, 99 ml destile suda 10 dakika karıştırılarak çözülmüştür. 1 ml asetik asit eklenerek, 3 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra süzölmüştür ve nötralize edilip, kurutulmuştur. Kurutulan çitosan, %0,05 (w/v) glüteraldehit solüsyonunda pH 7 de karıştırıldıktan sonra yıkanıp kurutulmuştur. Oluşturulan

çitosan yatak, 2 mg/ml ebeğümeci süpernatı ile 5 saat boyunca karıştırılıp, süzülüp, yıkandıktan sonra 4°C’de saklanmıştır.

3.3.2.1. Serbest ve immobilize CAT enzime pH etkisi

Serbest ve immobilize edilmiş CAT enzim aktivitesi, pH:3,5-9,0 arasında hazırlanmış tamponlar kullanılarak farklı pH ortamındaki 10 mM Hidrojen peroksit azalma aktivitesine göre tayin edildi.

3.3.2.2. Serbest ve immobilize CAT enzime sıcaklığın etkisi

Serbest ve immobilize CAT enziminin optimum sıcaklığını belirlemek için 4, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70°C’lerde enzim aktivitesine bakılmıştır. Bunu belirlemek için daha önceki gibi hidrojen peroksitin 120 sn boyunca 240 nm’de absorbanstaki azalışı izlenmiştir. Yüksek sıcaklıklar için su banyosu ve düşük sıcaklıklar için ise buz banyosu kullanılmıştır.

3.3.2.3. Serbest ve immobilize CAT enzim kinetiği

Enzimlerin her biri için maksimum hızın (V_{max}) ve Michaelis-Menten sabitinin (K_m) bulunması için kinetik çalışmalarda 0,05 mM ile 50 mM arasında değişen hidrojen peroksit çözeltileri hazırlanmıştır. Daha sonra spektrofotomerik olarak 240 nm’de 120 sn aktivitesi izlenmiştir. Daha sonra absorbans-zaman grafiğinden ilk hızları hesaplanmıştır. Bu ilk hız değerleri Lineweaver-Burk grafiğinde ($1/V$ ’ye karşı $1/[S]$) yerine konularak K_m ve V_{max} CAT enziminin değerleri hesaplanmıştır.

3.3.2.4. CAT enziminin depolama kararlılığı

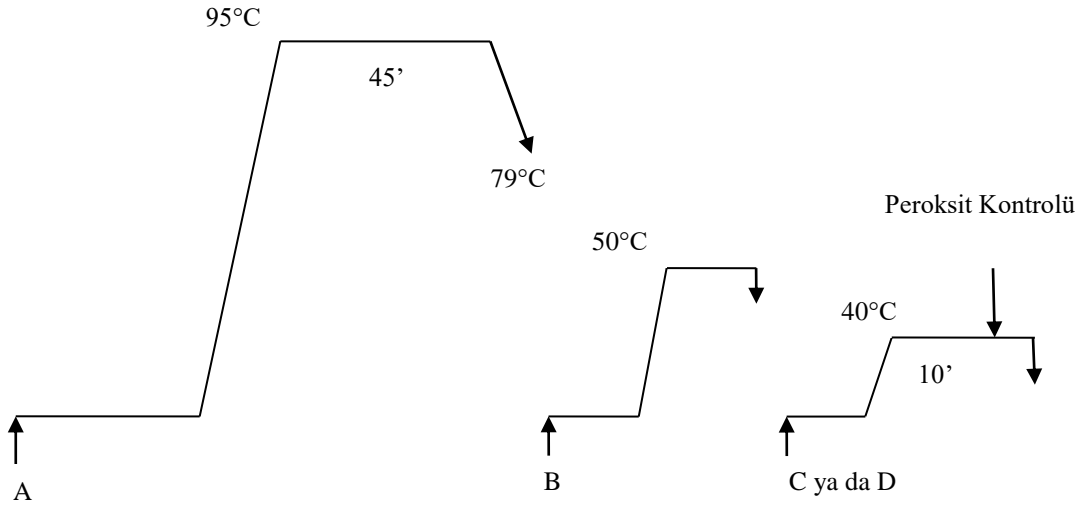
İmmobilize PPO enziminin depolanma kararlılığı çalışması +4°C ve ortalama 25°C olan oda sıcaklığı olmak üzere iki farklı sıcaklık değerinde yapılmıştır. Enzim +4 °C ve 25°C’de saklanarak, 1 - 2 günde bir spektrofotomerik olarak 240 nm’de 120 sn aktivitesi izlenmiştir.

3.3.2.5. Tekrar kullanılabilirlik

İmmobilize CAT enziminin yeniden kullanılabilirliğini belirlemek amacıyla, belirlenen uygun yöntemler ile çitosana bağlanan enzimin H_2O_2 substratı ile 240 nm'de 120 sn aktivitesi izlenmiştir. Materyaller saf su ile birkaç defa yıkanarak yeniden reaksiyon gerçekleştirilmiştir. Her seferinde yıkama işlemi yapılarak aktivite sıfırlanmaya kadar çalışılmaya devam edilmiştir.

3.3.3. İmmobilize katalaz enziminin tekstil prosesinde kullanımı

Katalaz enzimi hidrojen peroksidi parçalamayı katalizleyen bir enzim olduğundan tekstil endüstrisinde, hidrojen peroksidin kullanıldığı pamuk kasar işleminden sonra kullanılmaktadır. Ham pamuk kumaşın düzgün boya alımını sağlamak ve rengini beyazlatmak için peroksit kasarı yapıldı. Konvansiyonel peroksit kasarı işlemleri flotte oramı 1/10 olacak şekilde $95^{\circ}C$ 'de 45 dakika boyama makinalarında işleme tabi tutulmuştur.



Şekil 3.2. Kovansiyonel peroksit kasarı işlem akışı

Konvansiyonel peroksit kasarında kullandığımız kimyasal maddeleri A olarak adlandırdık. Tablo 3.1.'de kullandığımız kimyasal maddeler ve kullanım miktarları detaylı bir şekilde belirtilmiştir.

Tablo 3.1. A kasar kimyasal maddeleri ve kullanım miktarı

Kimyasal Madde Adı	Kullanım Miktarı [g/L]
Deterjan (Solvipol ECL)	1
Peroksit Stabilizatörü (Contavan TSM)	0,5
Kostik	3
Peroksit	6

Peroksit kasarından sonra nötralizasyon işlemi yapıldı. Bu B kimyasalı olarak belirtildi ve B kimyasal maddesi olarak 2 g/L asetik asit kullanıldı.

Kumaş nötralize olduktan sonra boya banyosunun pH 6,50 – 7,00 civarına ayarlandı. Anti-peroksit işlemine geçildi. Tablo 3.2.'de kullanım miktarları belirtilmiştir.

Tablo 3.2. C ya da D antiperoksit enzimleri ve kullanım miktarı

Kimyasal Madde Adı	Kullanım Miktarı [g/L]
C - Ticari Katalaz (Terbinox 10 L)	0,5
D - İmmobilize Katalaz	1
pH	6,50 – 7,00

Antiperoksit işleminde iki alternatif proses uygulandı. 1. proste C maddesi olarak ticari katalaz enzimi olan mikrobiyel kaynaklı Terbinox Ultra 10 L kullanıldı. 2. proste ise D maddesi olarak ebegümece bitkisinden immobilize katalaz enzimi kullanıldı. Ticari enzime karşılık, bizim bitki kaynaklı katalaz enziminin performansı ölçüldü. Kumaş üzerinde peroksit kalıp kalmadığı peroksit test kiti ile test edildi. Banyoda peroksit kalmayınca kumaşlar serilerek 60°C' de kurutuldu. Boya işlemi için kumaşlar hazır hale geldi.

3.3.4. Polifenol oksidaz (PPO) enzim izolasyonu

Öncelikle çalışılacak bitkilerde yeterli miktarda PPO enziminin varlığını kontrol etmek için dondurucuda depolanmış olan ayva yaprağı bitkisinden değişik oranlarda 5-50 gram alınarak ince ince doğranmıştır. % 0,5 polivinil pirolidon (PVP), % 4

triton-x 100 ve 0,001 M askorbik asit içeren 56 ml 0,1 M fosfat tamponu (pH 7,0) ile hazırlanan çözeltiler blenderda 5 dakika boyunca karıştırılarak parçalanmıştır. Bu karışım ham enzim ekstratları olarak adlandırılmıştır. Bu ekstratlarda enzimlerin varlığı için uygun substratlarla UV-Vis spektrofotometresinde değişik konsantrasyonlarda enzim aktiflikleri 420 nm de incelenmiştir. Bu inceleme sonucunda ayva yapraklarından elde edilen ekstratlarda PPO enzim aktivitelerine belirlendi.

3.3.4.1. Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz

Ham enzim ekstratları hızlı bir şekilde süzöldükten sonra santrifüjde 5.000 rpm.'de 15 dk süresince santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatantlar, amonyum sülfat kullanılarak %60 doygunluğa getirilmiştir. Çöktürme işlemleri sırasında kullanılacak katı amonyum sülfat miktarı, denklem 3.2.'deki formülle tespit edildi.

$$g[(NH_4)_2SO_4] = 1,77 \times V \times (S_2 - S_1) / 3,54 - S_2 \quad (3.2)$$

V = Süpernatant

S1 = 1' in kesri şeklinde mevcut amonyum sülfat doygunluğu

S2 = 1' in kesri şeklinde istenilen amonyum sülfat doygunluğu

Amonyum sülfat çöktürmesi sırasında ham ekstrakta katı $(NH_4)_2SO_4$ yavaş yavaş ve az miktarlarda ilave edilerek katıldı. Her ilave sırasında daha önce katılan $(NH_4)_2SO_4$ 'ların çözünmüş olmasına dikkat edildi. Katı amonyum sülfat katılmasından sonra %60 doygunluğa getirilen süspansiyon hızlı bir şekilde ince bir tülbentten süzülerek 5.000 rpm.'de 15 dk boyunca santrifüj edildi. Her santrifüj işleminden sonra enzim varlığına bradford çözeltisi ile bakılmıştır. Tüm bu işlemler $+4^\circ C$ 'de gerçekleştirilmiştir.

Amonyum sülfat çöktürmesi sonucu elde edilen enzim çözeltileri diyaliz torbalarına yerleştirildi. Diyaliz torbaları ayrı ayrı içinde pH = 7,0 fosfat tamponu bulunan geniş birer behere yerleştirilerek 24 saat süreyle $+4^\circ C$ 'de diyaliz edildi. Bu işlem sırasında tampon çözeltiler en az 3 - 4 defa değiştirilmiştir.

Diyaliz yöntemi, iyonik olan ve olmayan, tüm küçük molekülleri yok etmek veya konsantre etmek için basit, ucuz ve etkin bir yöntemdir. Genellikle çözeltilerdeki tuzları ve diğer küçük molekülleri ortamdan uzaklaştırmakta kullanılır. Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz işleminden sonra elde edilen enzim çözeltileri kısmen saflaştırılmıştır. Kısmen saflaştırılmış olan PPO enzimi bir sonraki adım olan jel filtrasyon kromatografisi işlemine tabi tutulmuştur.

3.3.4.2. Kromatografik yöntem

Proteinlerin molekül büyüklüklerinin farklı olması dolayısıyla yapılan bir ayırma yöntemidir. Moleküller, dolgu maddesi (jel) ve çözücü sistemi arasında dağılır. Kolona verilen büyük moleküller, jel taneciklerinin boyutundan çok büyük ise kolonu önce terk eder. Küçük moleküller ise jel tanecikleri içine girerek orada alıkonurlar. Kolonun üzerine sürekli çözücü verilerek jel taneciklerinde bulunan küçük moleküller elue edilirler. Orta boyuttaki moleküller ise jel taneciklerine tamamen girememektedir. Bu nedenle moleküller kolondan büyüklüklerine bağlı olarak elue edilmektedir (Arslan ve ark., 2004).

1,5 gram Sefadex G-100, 50 ml 0,1 M fosfat tamponunda (pH 7,00) 4 gün bekletilerek jel oluşması sağlanmıştır. 1 cm çapında ve 50 cm boyundaki kuru bir kolonun dibine cam pamuğu yerleştirilip üzerine tampon çözelti ilave edilmiştir.

Sefadex G-100 bir huni yardımı ile kolona verildikten sonra musluk açılarak jelin kolona homojen olarak yerleşmesi sağlanmıştır. Kolonun üzerinden tampon çözeltisi geçirilerek akış hızı ayarlanmıştır. Kolon tampon içerisinde 24 saat bekletilmiştir. Bu işlemlerden sonra enzim numunesi 15 ml halinde kolona uygulanır. 1,5 ml'lik kısımlar halinde eppendorf tüplerde toplanmıştır. Enzimlerin varlığına bradford çözeltisi ile bakılmıştır. Eppendorf tüplerde toplanan enzim daha sonraki işlemlerde kullanılmak üzere -20 °C'de derin dondurucuda depolanmıştır.

3.3.4.3. Polifenol oksidaz (PPO) enziminin karakterizasyonu

Polifenol oksidaz enziminin karakterizasyonu için uygun substratlar kullanılarak Uv-vis spektrofotometresinde 420 nm'de oluşan ürün gözlemiştir. Katalaz enzim karakterizasyonundaki bütün çalışmalar hidrojen peroksit varlığında gerçekleştirilmiştir.

3.3.4.4. Substrat spesifikliği

PPO enzimi için optimum substratı belirlemede 6 farklı substrata karşı enzim aktivitesi belirlenmiştir. Bu amaçla, 4-metil katekol, katekol, pirogallol, gallik asit, kafeik asit, guaiakol substrat olarak kullanılmıştır. En yüksek aktiviteyi gösteren enzim karakterizasyon deneylerinde kullanılmıştır.

3.3.4.5. Optimum substrat konsantrasyonu

En yüksek aktiviteyi bulabilmek için kullanılan substratların 0.05 mM ile 50 mM arasında değişen konsantrasyonlardaki çözeltileri kullanılarak en fazla aktivite gösterdikleri konsantrasyon belirlenmiştir.

3.3.5. PPO enzim immobilizasyonu

Sodyum aljinat %1, 2 ve 3 (w/v) lük aljinat çözeltileri için saf suda hazırlandı. Ektrakte edilmiş ayva yaprağı PPO enzimleri ayrı ayrı sodyum aljinat çözeltilerine ilave edildi. Karışımın konsantrasyon 1:10 oranında aljinat:enzim şeklinde hazırlandı. Kalsiyum aljinat oluşumu için karışıma 100 mL 3M'lık CaCl_2 (1,2,3%, w/v) çözeltileri ilave edildi. PPO enzimlerini içerisine hapseden kalsiyum aljinat kürecikleri %0,5 (w/v) CaCl_2 içeren %1 (v/v) çözelti ile yıkandı ve kurumaya bırakıldı.

3.3.5.1. Serbest ve immobilize PPO enzimine pH etkisi

Serbest PPO enzimi aktivitesi farklı pH'larda 3,6-9,0 arasında hazırlanmış 5 farklı substrat kullanarak (4-metil katekol, katekol, pirogalol, gallik asit, kafeik asit,) tayin edildi.

İmmobilize PPO enzimin aktivitesi farklı pH'larda 3,6-9,0 arasında hazırlanmış 4-metil katekol ve katekol tayin edildi. Bunların enzim aktivite tayinleri spektrofotometrik yöntemle 60 sn süresince 420 nm absorbansda artışları izlenerek gerçekleştirilmiştir.

pH 3,0 ile 9,5 arasındaki çeşitli tampon çözeltiler aşağıda anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

pH'ları 3,0 – 6,0 arasındaki tamponları hazırlamak için; 5,26 gram sitrik asit monohidrat saf su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti A çözeltisidir. 7,353 gram sodyum sitrat saf su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti B çözeltisidir.

Tablo 3.3.'e göre, A ve B çözeltilerinin aşağıda belirtilen miktarlarda karıştırılması ile istenilen pH'larda tamponlar hazırlanmıştır.

Tablo 3.3. 0,1 M sitrik asit tamponun hazırlanması

pH	A [ml]	B [ml]
3,2	45	8
4,0	25	10
4,7	15	15
5,0	15	20
5,5	10	25

pH'ları 7,5 - 9,5 arasındaki tamponları hazırlamak için; 3 gram tris amino metan hidroklorid saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti A çözeltisidir. 3 gram trizma-base saf su ile 150 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti B çözeltisidir.

A ve B çözeltilerinin aşağıda belirtilen miktarlarda karıştırılması ile istenilen pH'larda tamponlar hazırlanmıştır.

Tablo 3.4. 0,1 M tris tamponunun hazırlanması

pH	A(ml)	B(ml)
8,0	30	30
8,5	6	25
9,0	5	45

3.3.5.2. Serbest ve immobilize PPO enzimine sıcaklığın etkisi

Serbest ve immobilize PPO enziminin optimum sıcaklığını belirlemek için 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70 °C'lerde enzim aktivitesine bakılmıştır. Bunu belirlemek için daha önceki gibi 60 sn boyunca 420 nm'de absorbanstaki artışı izlenmiştir. Yüksek sıcaklıklar için su banyosu ve düşük sıcaklıklar için ise buz banyosu kullanılmıştır.

3.3.5.3. Serbest ve immobilize PPO enzim kinetiği

Enzimlerin her biri için maksimum hızın (V_{max}) ve Michaelis-Menten sabitinin (K_m) bulunması için kinetik çalışmalarda 0,05 mM ile 50 mM arasında değişen substrat çözeltileri, stok olarak hazırlanan substrat çözeltileri kullanılarak hazırlanmıştır. Daha sonra spektrofotomerik olarak 420 nm'de 60 sn aktivitesi izlenmiştir. Daha sonra absorbans-zaman grafiğinden ilk hızları hesaplanmıştır. Bu ilk hız değerleri Lineweaver-Burk grafiğinde ($1/V$ 'ye karşı $1/[S]$) yerine konularak K_m ve V_{max} PPO enzimlerinin substratı için değerleri hesaplanmıştır.

3.3.6. İmmobilize polifenol oksidaz (PPO) enziminin tekstil prosesinde kullanımı

Çalışmamızın bu bölümünde önceden yaptığımız işlemler ile boyamaya hazır hale getirdiğimiz pamuk kumaşın boyanması için tekstil endüstrisinde pamuk elyafının orta ve koyu renklerinin boyanması için yaygın olarak kullanılan reaktif boyarmaddeleri seçildi.

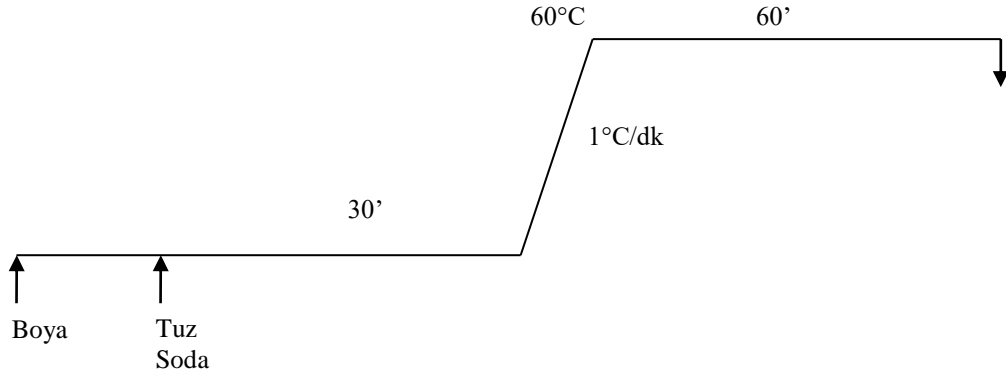
Öncelikle seçtiğimiz toz boyarmaddeleri 10 g tartıp, 60°C'deki yumuşak 300 g su ilave ettik, 5 dakika boyunca karıştırdık ve daha sonra 1000 g'a tamamlayarak, kullanacağımız bu konsantrasyonda boya çözeltilerini hazırladık.

Tablo 3.5.'te belirtilen reçeteleri boyama tüplerine pipetleme işlemi yapıldı.

Tablo 3.5. Boyama reçeteleri

Renk No	Boyama Reçetesi	Miktar
Reçete A	Remazol Ultra Yellow RGBN	3,00 %
	Tuz	60 g/L
	Soda	15 g/L.
Reçete B	Remazol Ultra Orange RGBN	3,00 %
	Tuz	60 g/L
	Soda	15 g/L.
Reçete C	Remazol Ultra Red RGBN	3,00 %
	Tuz	60 g/L
	Soda	15 g/L.
Reçete D	Remazol Ultra Carmin RGBN	3,00 %
	Tuz	60 g/L
	Soda	15 g/L.
Reçete E	Remazol Black B	4,0 %
	Tuz	70 g/L
	Soda	17 g/L.
Reçete F	Remazol Black RGBN	7,0 %
	Tuz	80 g/L
	Soda	20 g/L.
Reçete G	Remazol Ultra Orange RGBN	1,50 %
	Remazol Ultra Carmin RGBN	1,50 %
	Remazol Black B	2,00 %
	Tuz	75 g/L
	Soda	18 g/L.

Boyamaya hazır olan kumaşı yukarıdaki reçetelere göre reaktif boyalar ile 60°C' de 60 dakika boyama işlemine tabi tuttuk.



Şekil 3.3. Reaktif boyama prosesi

1. Standart ard yıkama prosesi; reaktif boya sonunda, kumaşın renklerinin solmadan kullanılabilmesi için hidrolize olan boyarmaddenin kumaş üzerinden uzaklaştırılması gereklidir ve deterjanlar ile kaynar yıkamalar yapılır.

Tablo 3.6. 1. Standart ard yıkama prosesi işlem akışı

İşlem Akışı	Yapılan İşlem	Proses
1. Adım	Çalkalama	30°C'de 5 '
2. Adım	Nötralizasyon	50°C'de 10'
3. Adım	Sabunlama	95°C'de 10' [Sabun:1 g/L]
4. adım	Sabunlama	95°C'de 10' [Sabun:1 g/L]
5. Adım	Çalkalama	80°C'de 10'
6. Adım	Çalkalama	60°C'de 10'

Tablo 3.6.'dan da görüldü üzere reaktif boyama sonunda yapılan bu yıkama işlemlerinde çok su tüketilir ve çevreye ciddi atık yükü oluşturur. Biz çalışmamızda, daha az su tüketimi ve daha az atık yükü oluşturmaya yönelik alternatif enzim ile yıkama prosesleri geliştirmeye çalıştık.

2. Alternatif Yıkama Prosesi; bu proseste boyama işlemi bittikten sonra boyama çözeltisini dökmeden ortam pH'ını 6,50-7,00 asetik asit ile ayarlıyoruz. İmmobilize PPO enziminin 10 g/L ve 20 g/L, HOBT 0,1 g/L. miktarlarında boya banyosuna ilave

ediyoruz ve 45°C’de 30 dakika işleme devam ediyoruz. Bu işlem bitince enzim deaktivasyonu işlemine geçiyoruz, kumaşı 85°C’de 10 dakika yıkayıp, daha sonra 60°C’de de 10 dakika çalkalama işleminden sonra numuneyi kurutuyoruz.

Tablo 3.7. 2. Alternatif yıkama prosesi işlem akışı

İşlem Akışı	Yapılan İşlem	Proses
1. Adım	İ-PPO ile enzimleme a.İ-PPO : 10 g/L. b.İ-PPO : 20 g/L.	45°C’de 30’
2. Adım	Enzim Deaktivasyonu	85°C’de 10’
3. Adım	Çalkalama	60°C’de 10’

3. Alternatif Yıkama Prosesi; Tablo 3.7.’de proses aşamaları belirtilmiştir. Bu proseste boyama işlemi bittikten sonra boyama çözeltisini dökmeden ortam pH’ını 6,50-7,00 asetik asit ile ayarlıyoruz. İmmobilize PPO enziminden 10 g/L ve 20 g/L, HOBT 0,1 g/L. miktarların da boya banyosuna ilave ediyoruz 45°C’de 30 dakika işleme devam ediyoruz. Yeni temiz banyo yapıp ortam pH’ını 6,50-7,00 ye asetik asit ile ayarladıktan sonra immobilize PPO enzimden 1 g/L ilave edip, birinci adımdan çıkan kumaşı da ekleyip 45°C 15 dakika enzim ikinci defa muamele ediyoruz. Bu işlem bitince enzim deaktivasyonu işlemine geçiyoruz, kumaşı 85°C’de 10 dakika yıkayıp, daha sonra 60°C’de de 10 dakika çalkalama işleminden sonra numuneyi kurutuyoruz.

Tablo 3.8. 3. Alternatif yıkama prosesi işlem akışı

İşlem Akışı	Yapılan İşlem	Proses
1. Adım	İ-PPO ile enzimleme a.İ-PPO : 10 g/L.	45°C'de 30'
2. Adım	İ-PPO ile enzim İ-PPO : 2 g/L.	45°C'de 15'
3. Adım	Enzim Deaktivasyonu	85°C'de 10'
4. Adım	Çalkalama	60°C'de 10'

4. Alternatif Yıkama Prosesi; bu proseste diğer alternatif proseslerden farklılık olarak boya banyosu boyama işleminden sonra döküldü. Bütün enzim yıkamaları temiz banyolarda yapıldı. Boyama sonu yeni temiz banyo alınarak 50°C'de 10 dakika asetik asit ile kumaş nötrale edildi. Yeni temiz banyo yapıp ortam pH'ını 6,50-7,00 ye asetik asit ile ayarladıktan sonra immobilize PPO enzimden 5 ve 10 g/L, HOBT 0,1 g/L ilave edip, nötralizasyondan çıkan kumaşı da ekleyip 45°C 30 dakika muamele ettik. Bu işlem bitince enzim deaktivasyonu işlemine geçiyoruz, kumaşı 85°C'de 10 dakika yıkayıp, daha sonra 60°C'de de 10 dakika çalkalama işleminden sonra numuneyi kurutuyoruz. Tablo 3.8.'de işlem basamakları belirtilmiştir.

Tablo 3.9. 4. Alternatif yıkama prosesi işlem akışı

İşlem Akışı	Yapılan İşlem	Proses
1. Adım	Nötralizasyon	50°C'de 10'
2. Adım	İ-PPO ile enzim a. İ-PPO : 5 g/L. b. İ-PPO : 10 g/L.	45°C'de 30'
3.	Enzim Deaktivasyonu	85°C'de 10'
4. Adım	Çalkalama	60°C'de 10'

Yıkama yaptığımız bütün kumaşlar, 60°C de serilerek kurutuldu. Bir sonraki aşamada da yıkama proseslerinin kumaşın yıkama, asidik ter haslığı, bazik ter haslığı, su haslığı ve sürtme haslıkları testlerini yaptık. Standart proses ve alternatif

yıkama proseslerinin haslık test sonuçları ışık kabininde, gri skalaya göre derecelendirildi. Haslık test sonuçlarına göre standart proses ve alternatif yıkama proseslerinin performanslarını değerlendirdik. Tablo 3.9.'da işlem basamakları belirtilmiştir.

3.3.7. Haslık testleri

Tekstil sektörü içinde boyanmış ya da basılmış tekstil mamulünün haslık değerleri, geçmişten bugüne önemini yitirmemiş aksine müşteri memnuniyeti açısından daha da önemli bir hal almıştır.

Tekstil mamullerinin kalitesini yani amaca uygunluğunu tek bir ölçü ile belirlemek mümkün değildir. O mamulün kalitesi, dolaylı olarak kaliteyi ilgilendiren bir dizi özelliğe ait değerler elde edilerek belirlenebilir. Bu nedenle bir tekstil mamulü için son derece önemli olan renk, desen, estetik, yıkama vb. özellikler tam olarak ölçülüp sonuçları sayısal bir büyüklük olarak verilmedikçe bu özellikleri kalite kavramı içine almamız mümkün değildir. Haslık kontrollerinde kullanılan standartlarla tekstil mamulünün özelliği sayısal değerler ile ortaya koyulabilmektedir. Haslık kontrolleri ürün kalitesini belirleyen en önemli özellik olmaktadır.

3.3.7.1. Yıkama haslığı testi

BS EN ISO 105 standartlarına göre boyalı numune kumaşlara B1S kodlu ticari ve ev tipi yıkamalara karşı renk haslığı testi uygulanmıştır. İlgili standarda göre, tüplere içinde 4g/L ECE bulunan 150 mL'lik yıkama çözeltisi ve hazırlanan test numuneleriyle birlikte sürtünmeyi sağlamak amacıyla 25 çelik bilye ve 4x10 cm. ebatında haslık yapılacak kumaş ve aynı boyutta kesilen multifiber birbirine dikilerek tüpe konulmuştur. Yıkama haslığı test cihazında 50°C'de 30 dakikada yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. İşlem sonunda numune çıkarılıp, çalkalanmıştır ve 60°C'yi geçmeyen sıcaklıkta multifiber ve numune üst üste gelmeyecek şekilde serilerek kurutulmuştur. Yıkama haslığı test sonuçları ışık kabininde, gri skalaya göre derecelendirilmiştir.

3.3.7.2. Sürtme haslığı testi

TS EN ISO 105-X12 standardına göre boyalı numune kumaşlara sürtünmeye karşı renk haslığı testi uygulanmıştır. Belirlenen ebatta kesilen kumaşlar, krokmetreye yerleştirilmiş ve 10 saniyede 10 kez gidiş geliş hareketi yapılarak kumaşların yaş sürtünme haslıkları kontrol edilmiştir. Yaş sürtünme testi için pamuklu refakat bezi kendi ağırlığı kadar ıslatılmıştır.

3.3.7.3. Ter haslığı testi

Boyanmış kumaşların insan terine karşı stabilite ve değişim değeri ISO 105 E04 metoduna göre belirlenmiştir. İnsan terinin pH değerine yakın değerlerde bir bazik bir de asidik çözelti hazırlanmıştır.

Hazırlanan çözeltilerin içerikleri şunlardır:

Bazik deney çözeltisi için;

0,5 g/L Histidin Monohidroklörür Monohidrat

2,5 g/L Disodyum Hidrojen Orta Fosfat

5 g/L Sodyum Klorür

Bu çözeltinin pH değeri NaOH ile 8'e ayarlanmıştır.

Asidik deney çözeltisi için;

0,5 g/L Histidin

2,2 g/L Sodyum Dihidrojen Orta Fosfat

5 g/L Sodyum Klorür

Bu çözeltinin pH değeri NaOH kullanılarak 5.5'a çıkarılmıştır.

Haslığına bakılacak olan numune ve multifiber 4x10 cm ebatında kesilir ve birbirine dikilir. Hazırlanan ter haslığı çözeltilerinden 50:1 flote oranına göre behere alınırlar ve hazırlanan numune oda sıcaklığında 30 dakika bu çözelti içerisinde bekletilir.

Numunenin üzerindeki fazla çözeltisi sıyırılır. Numune iki akrilik plaka arasına düzgünce konular ve perspirometre cihazına yerleştirilir. 12,5 kPa basınç altında 37°C'de 4 saat bekletilir. Süre sonunda maximum 60°C'de numune serilerek kurutulur. Gri skaladan, renk değişim ve multifiber kirlenmesinin sayısal değeri kaydedilir.

3.3.7.4. Su haslığı testi

Boyanmış olan kumaşların suya karşı stabilite ve değişim değeri ISO 105 E01 metoduna göre belirlendi. Haslığına bakılacak olan numune ve multifiber 4x10 cm ebatında kesilir ve birbirine dikilir. Hazırlanan deney numuneleri 50 ml'lik saf su içeren bir kaptaki 30 dakika ıslanmaları için bekletildikten sonra numunenin üzerindeki fazla çözeltisi sıyırılır. Numune iki akrilik plaka arasına düzgünce konular ve perspirometre cihazına yerleştirilir. 12,5 kPa basınç altında 37°C'de 4 saat bekletilir. Süre sonunda maximum 60°C'de numune serilerek kurutulur. Gri skaladan, renk değişim ve multifiber kirlenmesinin sayısal değeri kaydedilir.

Gri skalada değerlendirme, 1 – 5 arasında 1/2 puanlık artışlarla derecelendirme yapılır. 1 en kötü, 5 en iyi değerdir. 3/4 değeri dünya standartlarında min geçer değeridir.

3.3.8. Renk giderimi

2a no'lu proste boya banyosu dökülmeden, pH ayarı yapılar, immobilize enzim ilavesi de yapıldıktan sonra 45°C de 30' işleme devam edildi, çıkışta boya banyosunun rengi gözle görülür biçimde açılmıştır. Bunun üzerine pamuklu kumaşa uyguladığımız boyama ve 2a no'lu yıkama sonu çözeltileri UV-vis spektrofotometresinde 400-800 nm. Dalga boyu aralığında absorbansları ölçtük. Her bir boyarmaddenin karakteristik olarak en yüksek pik verdiği dalga boyundaki değeri için % 100 değerini verdik ve aşağıdaki formüle göre boya giderim oranlarını Denklem 3.3.'e göre hesapladık.

$$\text{Renk Giderim (\%)} = \frac{A_0 - A}{A_0} \quad (3.3)$$

A_0 değeri boya çıkışı çözeltisinin en yüksek absorbans değeri, A değeri 2a no'lu proses sonu çözeltisinin en yüksek absorbans değeridir.

Ayrıca, boya çıkışı çözeltisi ve 2b no'lu proses çıkışındaki yıkama sonu boya çözeltilerinin görsel olarak fotoğrafları çekildi.



BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Katalaz (CAT) Enziminin İzolasyonu ve Saflaştırılması

CAT enziminin izolasyonu, bölüm 3.2.'de anlatıldığı gibi ebegümeçi bitkisinden 15 gram alınarak ince ince doğranmıştır. 0,3 g Triton X 100, 100 ml 50 mM fosfat tamponu (pH 7,0) ile hazırlanan çözeltiler blender da 5 dakika boyunca karıştırılarak parçalanmıştır. Elde edilen homojenat 3 kat tülbetten süzölmüş ve 14.000 rpm.'de 15 dk süresince santrifüjlenmiştir. Bu işlemler sonucunda ham enzim ekstratı olarak elde edilen süpernatant enzim karakterizasyonu çalışmalarında kullanılmıştır.

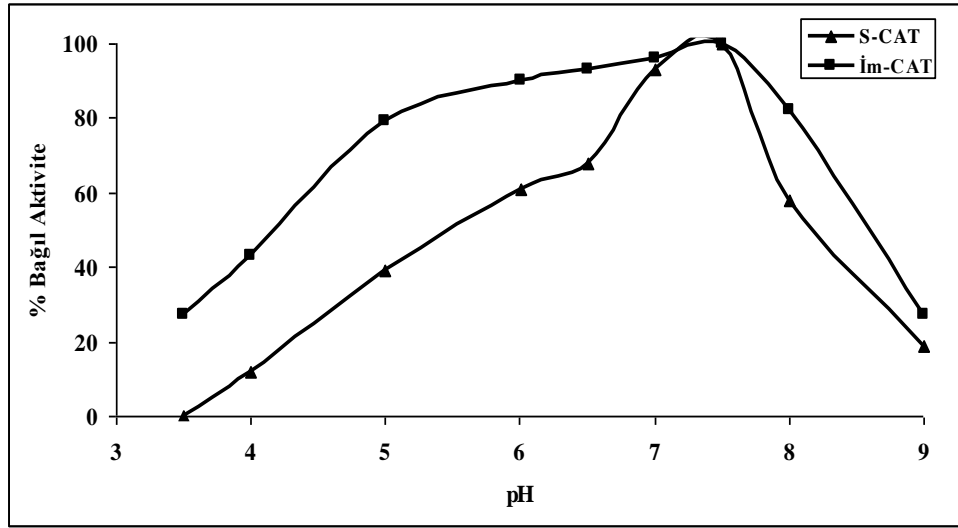
Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz işlemi sonrasında kısmen saflaştırılmış olarak elde edilen enzimler, jel filtrasyon kromatografisi metoduyla çözeltideki istenmeyen moleküller uzaklaştırılmıştır. Bu işlemlerden sonra eppendorf tüplere aktarılan enzimler -20 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

4.2. Serbest ve İmmobilize Katalaz (CAT) Enziminin Karakterizasyonu

4.2.1. pH etkisi

Serbest ve immobilize edilmiş CAT enzim aktivitesi, pH : 3,5-9,0 arasında hazırlanmış tamponlar kullanılarak farklı pH ortamındaki 10 mM Hidrojen peroksit azalma aktivitesine göre tayin edildi.

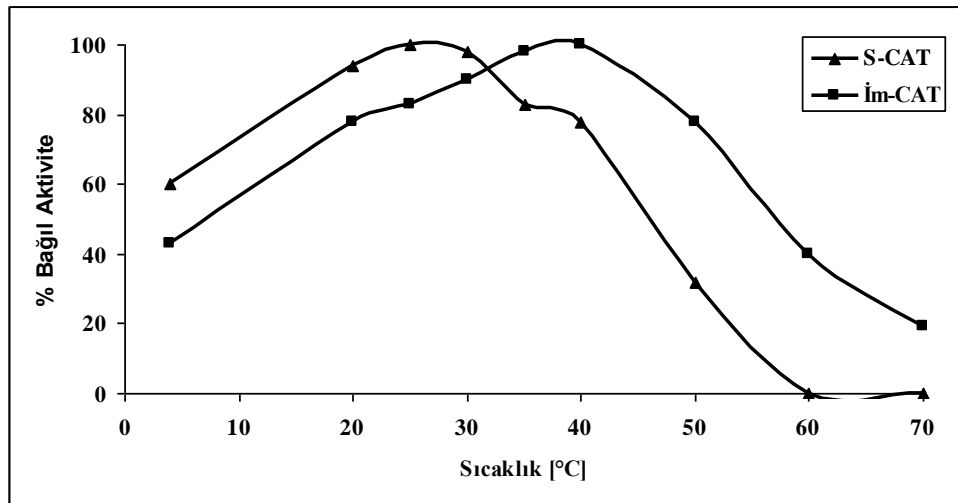
Şekil 4.1.'de de görüldüğü üzere, serbest ve immobilize katalaz enzimi pH : 7.50 de en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Enzimin immobilizasyonu optimum pH'ını etkilememiştir.



Şekil 4.1. Ebegümecei CAT enzimi için optimum pH grafiği

4.2.2. Sıcaklığın etkisi

Serbest ve immobilize CAT enziminin optimum sıcaklığını belirlemek için 4, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70°C’lerde enzim aktivitesine bakılmıştır. Serbest katalaz enzimi için optimum sıcaklık 25°C iken immobilize edilen CAT enziminde optimum sıcaklık 40°C’ye çıkmıştır. Şekil 4.2.’de görüldüğü üzere immobilizasyonla PPO enziminin daha yüksek sıcaklıklarda kararlı olduğu söylenebilir. Böyle daha dayanıklı ve kararlı enzimler elde edilmiş olup endüstride daha fazla kullanım alanına sahip olabilecektir.



Şekil 4.2. Ebegümecei CAT enzimi için optimum sıcaklık grafiği

4.2.3. Serbest ve immobilize katalaz (CAT) enzim kinetiği

Enzimlerin her biri için maksimum hızın (V_{max}) ve Michaelis-Menten sabitinin (K_m) bulunması için kinetik çalışmalarda 0,05 mM ile 50 mM arasında değişen hidrojen peroksit çözeltileri hazırlanmıştır. Daha sonra spektrofotomerik olarak 240 nm.'de 120 sn aktivitesi izlenmiştir. Daha sonra absorbans-zaman grafiğinden ilk hızları hesaplanmıştır. Bu ilk hız değerleri Lineweaver-Burk grafiğinde ($1/V$ 'ye karşı $1/[S]$) yerine konularak K_m ve V_{max} CAT enziminin değerleri hesaplanmıştır.

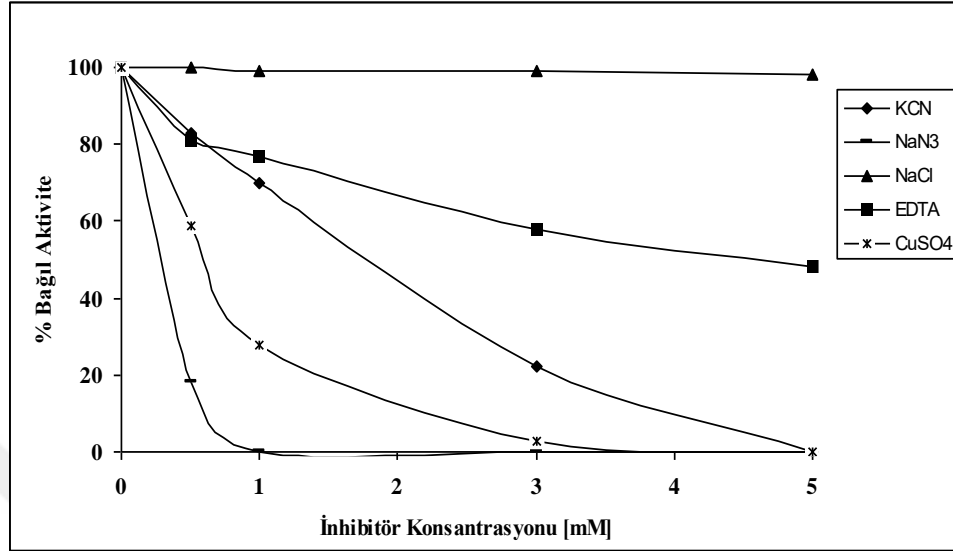
Tablo 4.1. Serbest ve immobilize ebeğümeci CAT enzimin kinetik özellikleri

	K_m [mM]	V_{max} [U/mL]	Protein [mg/g Çitosan]	Optimum pH	Optimum Sıcaklık [°C]
Serbest CAT	17,6	2631	-	7,50	25
İmmobilize CAT	23,4	3333	0,088	7,50	40

V_{max} ve K_m değerleri Lineweaver-Burk denklemlerinden hesaplanmıştır. K_m değeri, bir enzimin substratına karşı olan ilgisini göstermekte olup, bu değer genellikle enzimin elde edildiği kaynağa ve kullanılan substrata bağlı olarak değişmektedir. V_{max} ise enzimin substrat konsantrasyonuna bağlı olmaksızın ulaştığı maximum hızdır.

Buna göre ebeğümeci serbest CAT enziminin K_m değeri 17,6 mM iken immobilize enzimin 23,54 mM dır. Serbest enzim ile immobilize enzimin optimum pH larında değişiklik yok iken, immobilize enzim yüksek sıcaklıklara daha dayanıklı hale gelmiştir.

4.2.4. İnhibitör etkisi



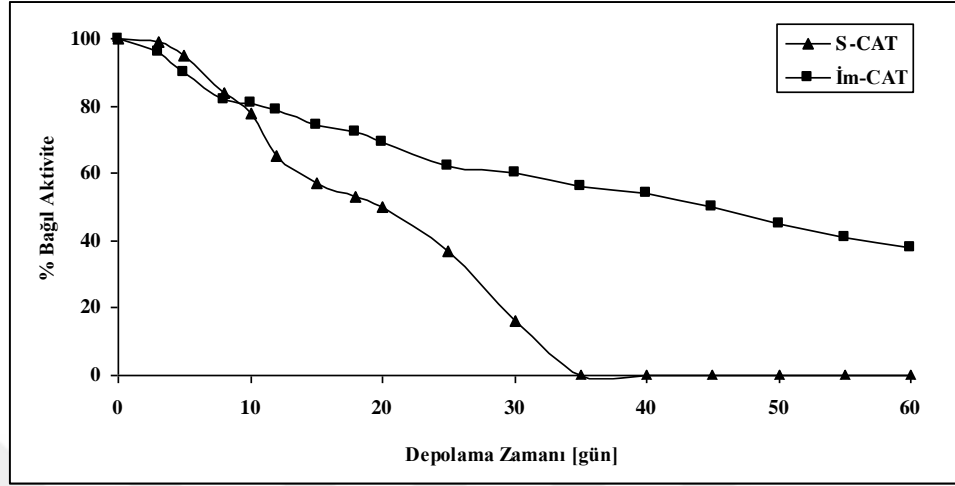
Şekil 4.3. CAT enzimine inhibitör etkisi

Şekil 4.3.'te İnhibitörlerin farklı konsantrasyon miktarlarının, CAT enziminin aktivitesine etkisi gösterilmektedir. Çalıştığımız inhibitörlerin içinde, sodyum azid en etkili inhibitördür. 0,5 mM sodyum azid konsantrasyonunda CAT enzimin aktivitesi %18'e düşmüştür. Literatürdeki diğer bir çalışmada, 0,5 mM sodyum azid varlığında katalaz aktivitesi %5,20 oranına kadar düşmüştür (Kandukuri ve ark., 2012). 3 mM EDTA varlığında katalaz aktivitesi %55'e düşmüştür. EDTA katalaz enziminin aktif merkezlerindeki demir iyonları ile kompleks yapılar oluşturularak enzimi inhibe etmiştir (Guarrera, P.M., 2005). Sodyum klorürün katalaz enzime inhibe edici etkisi yoktur.

4.2.5. Depolama Kararlılığı

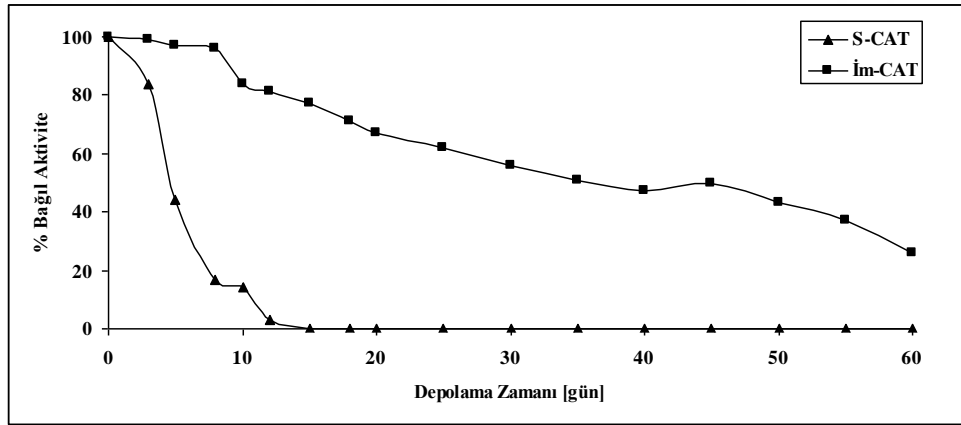
Şekil 4.4.'te, serbest ve immobilize CAT enzimlerinin +4°C'de depolama süresince aktivitesindeki değişim görülmektedir. Serbest enzimin 10. günün sonunda aktivitesi % 78'e düşmüştür. İmmobilize enzimin de aktivitesi 10. günün sonunda %80'e düşmüştür. Ancak 10. günden sonra daha yavaş bir hızda aktivite kaybı görülmüştür. 35. günü sonunda ise serbest enzim aktivitesini tamamen yitirirken, immobilize

enzimin aktivitesi %60 seviyelerindedir. 60. günün sonunda ise immobilize enzimin aktivitesi %40'lara düşmesine rağmen hala aktifliğini sürdürmektedir.



Şekil 4.4. CAT enzimi +4°C'de depolama kararlılığı

Şekil 4.5.'te, serbest ve immobilize CAT enzimlerinin +25°C'de depolama süresince aktivitesindeki değişim görülmektedir.

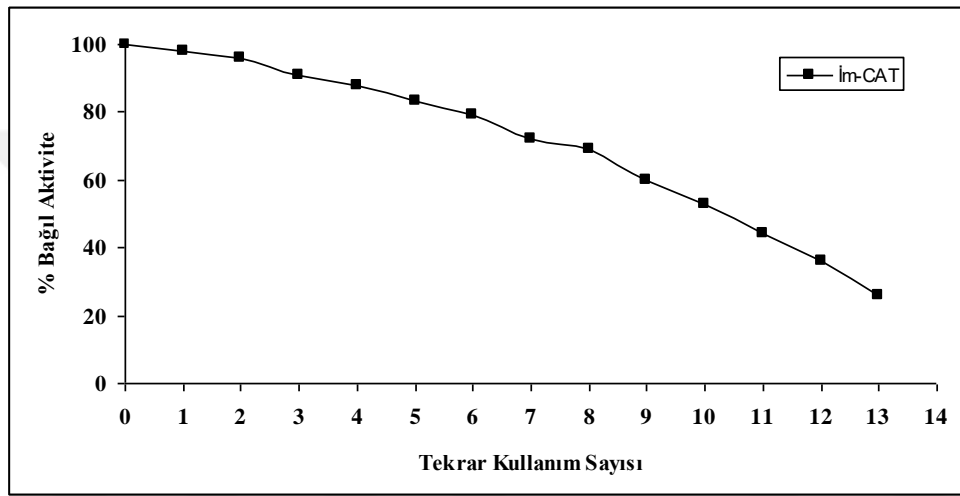


Şekil 4.5. CAT enzimi +25°C'de depolama kararlılığı

15. günün sonunda serbest enzimin hiç aktivitesi kalmamış iken, immobilize enzimin aktivitesi %78 civarındadır. 25°C'de, altmış günün sonunda ise immobilize enzimin aktivitesinde önemli bir düşüş gözlemlenmiştir, aktivitesi %26'dır.

4.2.6. İmmobilize CAT enzimi tekrar kullanılabilirlik

Şekil 4.6.'da immobilize CAT enziminin tekrar kullanım performansı belirlenmiştir. 5. defa kullanıldığında aktivite hala %80'ler civarındadır. 10. defa kullanıldığında ise aktivitesinde yarı yarıya düşüş gözlemlenmiştir. 13. kullanım sonunda ise aktivite %25'e düşmüştür.



Şekil.4.6. İmmobilize CAT enzimi tekrar kullanımı

4.3. Katalaz Enziminin Tekstil Sektöründe Kullanımı

Peroksit kasarı işlemine tabi tutulmuş pamuk kumaşların üzerindeki peroksiti gidermek için ticari katalaz ve ebeğümecinden elde ettiğimiz immobilize katalaz ile 40°C'de 10 dakika pH 7 de işleme tabi tuttuk. İşlem sonunda iki banyoda da peroksit varlığı peroksit test kiti ile kontrol edilmiştir. İşlem sonunda iki banyoda da peroksit kalmamıştır. Ancak ticari enzim, immobilize ettiğimiz CAT enziminden daha aktiftir. Antiperoksit işleminde %50 daha az oranda kullanılmasına rağmen başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ancak, literatürde bitkiden elde edilen CAT enziminin tekstil sektöründe bu işlem için kullanıldığına rastlanmamıştır. Bu çalışmada, bitkiden elde edilen CAT enziminin de başarılı bir şekilde kullanılabileceğini gözlemledik.

4.4. Polifenol oksidaz (PPO) Enziminin İzolasyonu ve Saflaştırılması

PPO enziminin izolasyonu, bölüm 3.2.'de anlatıldığı gibi % 0,5 polivinil pirolidon (PVP), % 4 triton-x 100 ve 0,001 M askorbik asit içeren 56 ml 0,1 M fosfat tamponu (pH 7.0) kullanılarak ayva yaprağı bitkisinden yapılmıştır. İzolasyon aşamasında kullanılan PVP, bitkilerde bulunan fenolik maddeleri bağlayarak, PPO enziminin aktivite göstermesini engellemek amacıyla kullanılmıştır. Çünkü fenolik maddelerin oksidasyonu sonucu oluşan kinonlar, enzimi inhibe edebilmektedir. Askorbik asit izolasyon sırasında oluşan o-kinonları azaltmak amacı ile kullanılmıştır ve kendisi yükseltgenir. Triton-x 100 ise bitkideki hücre duvarını parçalaması amacıyla izolasyon işlemlerinde kullanılmıştır.

Amonyum sülfat çöktürmesi ve diyaliz işlemi sonrasında kısmen saflaştırılmış olarak elde edilen enzimler, jel filtrasyon kromatografisi metoduyla çözeltideki istenmeyen moleküller uzaklaştırılmıştır. Bu işlemlerden sonra epindof tüplere aktarılan enzimler -20 °C'de derin dondurucuda saklanmıştır.

4.5. Serbest ve İmmobilize Polifenol Oksidaz Enziminin Karakterizasyonu

4.5.1. pH etkisi

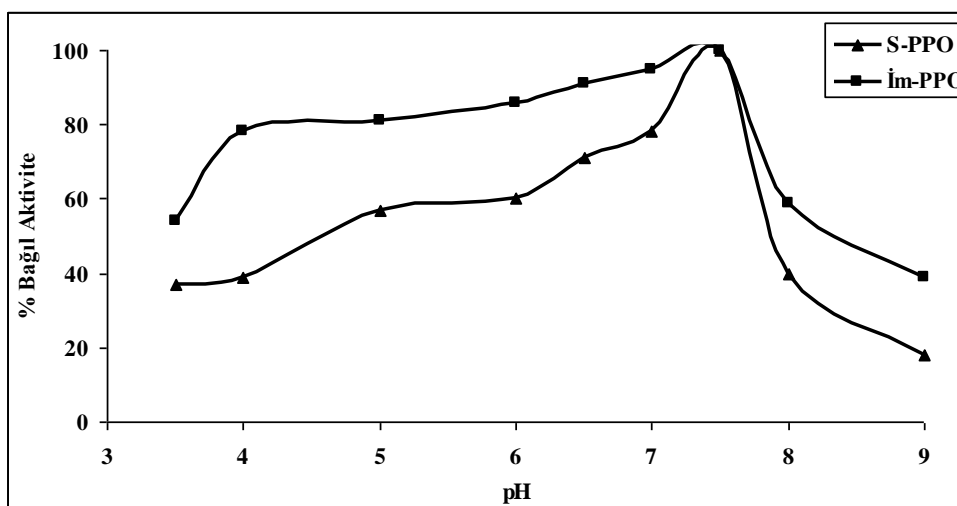
Serbest ve immobilize PPO enzimlerinin aktiviteleri 3,5 ile 9 arasında değişen pH'larda hazırlanmış tamponlar ile tayin edilmiştir. Burada PPO enzim aktivitesi için 6 farklı substratla 4-metil katekol, katekol, pirogallol, gallik asit, kafeik asit, guaiakol), Enzim aktivite tayinleri spektrofotometrik yöntemle 60 sn süresince 420 nm. absorbans artışları izlenerek gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen Tablo 4.2.'de ayva yaprağından elde edilen polifenol oksidaz enziminin her bir substrat için pH ın 7,0'den 8,0 aralığında değiştiği gözlenmiştir.

Tablo 4.2. PPO enziminin her bir substrat için pH ve sıcaklık değerleri

Substratlar	Optimum pH	Optimum Sıcaklık(°C)
4-Metil katekol	7,20	40
Katekol	7,50	30
Pirogallol	8,00	30
Gualikol	-	-
Kafeik Asit	-	-
Gallik asit	-	-

Ayva yaprağından elde edilen serbest ve immobilize enzimin pH grafiği de katekol substratı kullanılarak belirlenmiş olup optimum pH'ı 7,5 olarak belirlenmiştir Şekil 4.7.'de görüldüğü üzere. Serbest ve immobilize enzimlerin optimum pH değerleri birbirleri ile aynı olduğu belirlenmiştir.

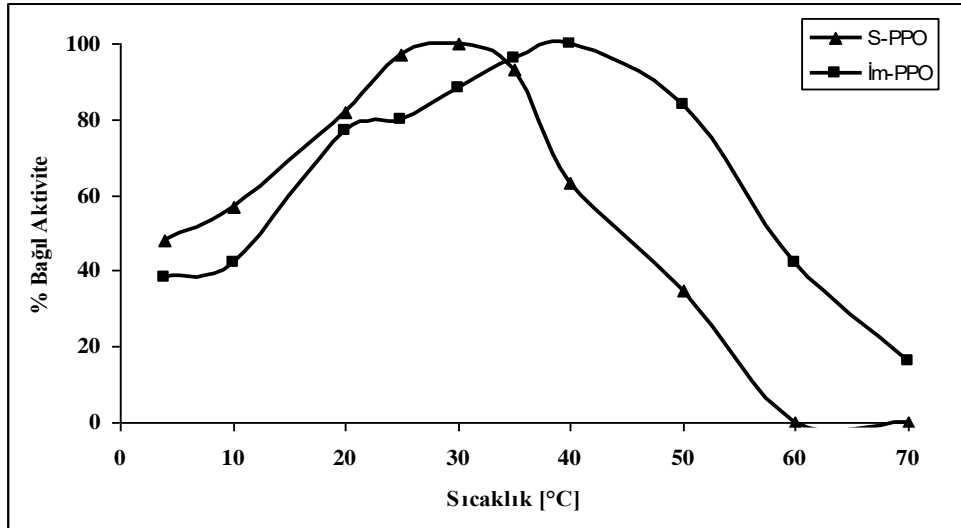


Şekil 4.7. PPO enzimi için katekol substratı ile optimum pH grafiği

4.5.2. Sıcaklığın etkisi

4-metil katekol, katekol, pirogallol, gallik asit, kafeik asit, guaiakol substratları kullanılarak ayva yaprağı PPO enzimleri için optimum sıcaklığı belirlemede 4, 10, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70 °C’lerde enzim aktivitesine bakılmıştır. Yüksek sıcaklıklar için su banyosu ve düşük sıcaklıklar için ise buz banyosu kullanılmıştır. Enzim ve substrat için belirlenen optimum sıcaklık değerleri Tablo 3.1.’de verilmiştir. Buna göre ayva yaprağı PPO enzimlerinin 25 ila 30 °C aralığında sıcaklıklarda maksimum aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Optimum sıcaklık denemeleri katekol substratı ile ayva yaprağı PPO enzimlerinin serbest ve immobilize formlarında yapılmıştır Şekil 4.8.’te sonuçlar görülmektedir. Bu sonuçlara göre ayva yaprağı serbest PPO enzimi için optimum sıcaklık 30°C iken immobilize enzim için ise 35 °C olarak belirlenmiştir, Şekil 4.8.’de Bu sonuçlara göre immobilizasyonla PPO enziminin daha yüksek sıcaklıklarda kararlı olduğu söylenebilir. Böyle daha dayanıklı ve kararlı enzimler elde edilmiş olup endüstride daha fazla kullanım alanına sahip olabilecektir.



Şekil 4.8. PPO enzimi için katekol substratı ile optimum sıcaklık grafiği

4.5.3. Enzim kinetiği

Kinetik çalışmalar ayva yaprağı PPO için değişik konsantrasyonlar da 4-metil katekol, katekol, pirogallol, gallik asit, kafeik asit, guaiakol, substratları ile yapılmıştır. PPO enzimi fenolik bileşikleri kinonlara çevirdiğinden sadece 6 farklı substratla substrat spesifikliğı yapılmıştır. V_{max} ve K_m değerleri Lineweaver-Burk denklemlerinden hesaplanmıştır. K_m değeri, bir enzimin substratına karşı olan ilgisini göstermekte olup, bu değer genellikle enzimin elde edildiğı kaynağı ve kullanılan substrata bağılı olarak değişmektedir. V_{max} ise enzimin substrat konsantrasyonuna bağılı olmaksızın ulaştığı maximum hızdır.

Bu çalışmada, ayva yaprağı PPO enzimleri için aktivite gösteren Katekol ve 4-metil katekol substratlarının K_m ve V_{max} değerleri Tablo 4.3.'de gösterilmiştir. Bu çalışmada aslında 6 farklı substrat denemiştir. Ancak Tablo 4.2.'de görüldüğü gibi ayva yapraklarından elde edilen PPO enzimleri için gallik asit, guaiakol, kafeik asit substrat olarak kullanıldığında enzimin aktivite göstermediğı bulunmuştur. Pirogallol için optimum pH bulunurken enzimin kinetik çalışma yapabilecek kadar aktivite göstermediğı bulunmuştur. Böylece ayva yaprağından izole edilen PPO enzimleri spesifik olarak difenolaz aktivitesi göstererek K_m değeri düşük olan 4-metil katekole karşı oldukça spesifiktir.

Tablo 4.3. PPO enzimlerinin substrat spesifikliğı ile ilgili toplu bulgular

Substrat	pH	K_m [mM]	V_{max} [D.O./min]	Sıcaklık [°C]
Katekol	7,5	5,86	0,011	30
4-metil katekol	7,0	7,1	0,013	30

Tablo 4.4. PPO enzimin katekol substratına karşı kinetik özellikleri

PPO Enzimi	K_m [mM]	V_{max} [D.O./min]	Optimum pH	Optimum Sıcaklık [°C]
Serbest Enzim	5,86	0,011	7,5	30
İmmobilize Enzim	12,57	0,024	7,5	35

Kinetik olarak ayva yaprağından elde edilen PPO enzimi kalsiyum aljinata immobilize edilerek, immobilize enzimlerin kinetik özellikleri katekol substratı kullanılarak belirlenmiştir. Tablo 4.4.'te sonuçlar gösterilmiştir. Buna göre ayva yaprağı serbest PPO enziminin K_m değeri 5,86 mM iken immobilize enzimin 12,57 mM'dır. İmmobilize enzimlerin K_m değerleri daha yüksek olmasının sebebi immobilizasyon sırasında enzimlerin aktif merkezinde değişikliğe neden olarak substrata olan ilgisini azaltmış olabilir. Buradan elde edilen sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla uyum içerisindedir. Örneğin serbest patates PPO enziminin K_m değeri 8,0 mM iken SiO_2 üzerine immobilize olan PPO enziminin K_m değeri 14,27 mM'dır (Shao ve ark. 2009).

4.6. Reaktif Boyama İşlemi

Pamuk kumaşımız Tablo 3.5.'te belirtilen reçetelere göre boyama işlemi yaptığımız kumaşların boya çıkışı renkleri Şekil 4.9.'da gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Boyama yaptığımız reçetelerin boyama işlem sonu renkleri

4.7. Reaktif Boyama Sonunda Yapılan Yıkamaların Sonuçları

Reaktif boyama sonunda kumaşlara konvansiyonel yıkama prosesi ve immobilize PPO enzimini kullandığımız üç adet alternatif yıkama prosesi uyguladık. Yıkanan kumaşlara yıkama, sürtme, asidik ve bazik ter haslığı, su haslığı testlerini uyguladık. Test sonuçlarını ışık kabinde, gri skalaya göre değerlendirdik.

4.7.1. Reçete A'nın renk ve test değerlendirme sonuçları

Reçete A ile boyama yapıp, standart ve alternatif prosesler ile yıkadığımız kumaşların renk farklılıklarını Macbeth Color 7000 A spektrofotometresi ile ölçülüp, değerler Tablo 4.5.'te belirtilmiştir.

Tablo 4.5. Reçete A'nın renklerinin spektrofotometre sonuçları

		L	a	b	c	h
1. Standart Proses		63,62	38,97	69,45	79,64	60,7
2. Alternatif Proses	a	63,20	38,29	68,63	78,59	60,84
	b	63,56	37,96	68,96	78,69	61,22
3. Alternatif Proses		64,43	36,91	70,57	79,64	62,39
4. Alternatif Proses	a	63,93	37,92	69,03	78,75	61,35
	b	64,46	37,46	69,25	78,73	61,59

2a ve 2b prosesleri en koyu renkleri vermiştir. 3, 4a, 4b prosesleri ile yıkanan kumaşların renkleri, standart yıkama prosesine göre daha açıktır. Alternatif proseslerde renk daha yeşil ve mavi tonuna doğru kaymıştır.

Reçete A'ya göre boyama yaptığımız ve farklı yıkama prosesi uyguladığımız kumaşlara ISO 105 C06 B1S metoduna göre yapılan yıkama haslıklarının sonuçları gri skalaya göre değerlendirilip, sonuçlar Tablo 4.6.'da belirtilmiştir.

Tablo 4.6. Reçete A'nın yıkama haslığı test sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	5	5	5	5	5	5	
2. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	5	4/5	5
	b	4/5	5	5	5	5	5	5
3. Alternatif Proses	4/5	5	5	5	5	5	5	
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	5	4	5
	b	4/5	5	5	5	5	4/5	5

Tablo 4.6.'dan anlaşılacağı üzere, standart prosese göre geliştirdiğimiz bütün yıkama prosesleri oldukça iyi sonuçlar vermiştir.

ISO 105 E04 metoduna göre yaptığımız bazik ter haslığının sonuçları Tablo 4.7.'te belirtilmiştir.

Tablo 4.7. Reçete A'nın bazik ter haslığı test sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	4	4	4	4	3/4	4	
2. Alternatif Proses	a	4/5	4	3/4	4	3/4	3	4
	b	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
3. Alternatif Proses	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4	5	
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	4/5	4/5	4	4	4/5
	b	5	5	4/5	5	4/5	4	4/5

Bazik ter haslığı sonuçlarında, 2a Alternatif prosesinde pamuk kirlenmesi dünya standartlarına göre geçmeyen bir değerdir. Standart proseste min 3/4 değeri sağlanmıştır. 2b, 3 ve 4a, 4b prosesleri ile iyi bazik ter haslığı sonuçlarına ulaşılmıştır.

ISO 105 E04 metoduna göre yaptığımız asidik ter haslığının sonuçları Tablo 4.8.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.8. Reçete A'nın asidik ter haslığı test sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	4	4	4	4	3/4	4	
2. Alternatif Proses	a	4/5	4	3/4	4	3/4	3	4
	b	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
3. Alternatif Proses	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4	5	
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	4/5	4/5	4	4	4/5
	b	5	5	4/5	5	4/5	4	4/5

Asidik ter haslığı sonuçlarında, 2a alternatif prosesinde pamuk kirlenmesi dünya standartlarına göre geçmeyen bir değerdir. Standart proseste min 3/4 değeri sağlanmıştır. 2b, 3 ve 4a, 4b prosesleri ile iyi bazik ter haslığı sonuçlarına ulaşılmıştır.

ISO 105 E01 metoduna göre yaptığımız su haslığının sonuçları Tablo 4.9.'da belirtilmiştir.

Tablo 4.9. Reçete A'nın su haslığı test sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	4	3/4	4	4	3/4	4/5	
2. Alternatif Proses	10	4/5	4	3/4	3/4	3/4	2/3	4
	20	4/5	4/5	4	4	4	3/4	4
3. Alternatif Proses	10 + 1	4/5	4/5	4/5	4/5	4	3/4	4/5
4. Alternatif Proses	5	4/5	4	3/4	4	4	3	4/5
	10	5	4	4	4/5	4	3/4	4/5

ISO 105 X12 metoduna göre yaptığımız kuru ve sürtme haslığının sonuçları Tablo 4.10.'da belirtilmiştir.

Tablo 4.10. Reçete A'nın Kuru/Yaş sürtme haslığı sonuçları

Proses		Kuru	Yaş
1 Standart Proses		3/4	2/3
2. Alternatif Proses	a	4	2/3
	b	4/5	3/4
3. Alternatif Proses		4/5	4
4. Alternatif Proses	a	4/5	3
	b	5	3/4

Kuru sürtme haslığında bütün prosesler dünya standartlarına göre iyi sonuçlar vermiştir. Standart proses en kötü sonuçlar verirken, 4 b. Prosesinde de en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Yaş sürtme haslığlarında ise 1. Standart proses ve 2 a. prosesi en kötü sonuçları göstermiştir. 3. Alternatif yıkama prosesi en iyi sonucu göstermiştir.

4.7.2. Reçete B'nin renk ve test değerlendirme sonuçları

Reçete B ile boyama yapıp, standart ve alternatif prosesler ile yıkadığımız kumaşların renk farklılıklarını Macbeth Color 7000 A spektrofotometresi ile ölçüp, değerler Tablo 4.11.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.11. Reçete B'nin renklerinin spektrofotometre sonuçları

		L	a	b	c	h
1. Standart Proses		50,79	45,93	56,38	72,73	50,83
2. Alternatif Proses	a	51,21	45,83	56,84	73,01	51,12
	b	51,33	45,78	57,01	73,03	51,23
3. Alternatif Proses		51,32	45,63	57,13	73,12	51,48
4. Alternatif Proses	a	51,06	45,69	56,96	72,98	51,31
	b	51,12	45,56	57,09	73,04	51,41

1. Standart yıkama prosesi sonucu en koyu renktir. Bütün yıkamalar aynı tondadır, aynı yönde a, b, c değerleri göstermişlerdir.

Reçete B'ye göre boyama yaptığımız ve farklı yıkama prosesi uyguladığımız kumaşlara ISO 105 C06 B1S metoduna göre yapılan yıkama haslıklarının sonuçları gri skalaya göre değerlendirilip, sonuçlar Tablo 4.12.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.12. Reçete B yıkama haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları					
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat
1. Standart Proses	4/5	5	5	5	5	5	5
2. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	5	5
	b	4/5	5	5	5	5	5
3. Alternatif Proses	4/5	5	5	5	5	5	5
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	5	5
	b	4/5	5	5	5	5	5

Tablo 4.12.'ye göre, standart prosese göre geliştirdiğimiz bütün yıkama prosesleri oldukça iyi sonuçlar vermiştir.

ISO 105 E04 metoduna göre yaptığımız bazik ter haslığının sonuçları Tablo 4.13.'te belirtilmiştir.

Tablo 4.13. Reçete B nin bazik ter haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses		4/5	5	4/5	4/5	4/5	4	5
2. Alternatif Proses	a	4/5	5	4/5	4/5	4/5	3/4	4/5
	b	4/5	5	5	4/5	4/5	4/5	5
3. Alternatif Proses		4/5	5	5	5	5	5	5
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	4/5	4/5	4	4	4/5
	b	5	5	4/5	4/5	4/5	4/5	5

Tüm yıkama proseslerinde dünya standartlarına göre, bazik ter haslıklarında geçer değerler sağlanmıştır. 2a prosesi en kötü sonuçları verirken 3. Proses en iyi değerleri vermiştir. 4b prosesi, 1. Standart prosesi ile aynı değerleri göstermiştir.

ISO 105 E04 metoduna göre yaptığımız asidik ter haslığının sonuçları Tablo 4.14.'te belirtilmiştir.

Tablo 4.14. Reçete B nin asidik ter haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses		4/5	5	4/5	4/5	4/5	4/5	5
2. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
	b	4/5	5	5	5	5	5	5
3. Alternatif Proses		4/5	5	5	5	5	4/5	5
4. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
	b	5	5	5	5	5	4	5

Tüm yıkama proseslerinde dünya standartlarına göre, asidik ter haslıklarında iyi sonuçlar elde edilmiştir.

ISO 105 E01 metoduna göre yaptığımız su haslığının sonuçları Tablo 4.15.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.15. Reçete B nin su haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses		4/5	5	4/5	4/5	4/5	4/5	5
2. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
	b	4/5	5	5	5	5	5	5
3. Alternatif Proses		4/5	5	5	5	5	4/5	5
4. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
	b	5	5	5	5	5	4	5

Tüm yıkama proseslerinde dünya standartlarına göre, su haslıklarında oldukça iyi sonuçlar elde edilmiştir

ISO 105 X12 metoduna göre yaptığımız kuru ve sürtme haslığının sonuçları 4.16.'da belirtilmiştir.

Tablo 4.16. Reçete B nin kuru/yaş sürtme haslığı sonuçları

Proses	Kuru	Yaş
1. Standart Proses	3/4	2/3
2. Alternatif Proses	a	5
	b	5
3. Alternatif Proses	5	4
4. Alternatif Proses	a	4/5
	b	5

Kuru sürtme haslığında bütün prosesler dünya standartlarına göre geçer değerler vermiştir. Yaş sürtme haslıklarında ise 1. Standart proses ve 2 a. prosesi en kötü sonuçları göstermiştir ve standartlara göre geçmez değere sahiptir. 3. Alternatif yıkama prosesi en iyi sonucu göstermiştir.

4.7.3. Reçete C'nin renk ve test değerlendirme sonuçları

Remazol Ultra Red RGBN: 3 % reçetesi ile boyanan kumaşlara uyguladığımız ard yıkama işlemlerinin renge etkisi Tablo 4.17.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.17. Reçete C'nin renklerinin spektrofotometre sonuçları

		L	a	b	c	h
1. Standart Proses		36,02	51,49	10,99	52,65	12,05
2. Alternatif Proses	a	35,59	51,06	11,04	52,24	12,20
	b	36,13	50,44	10,16	51,45	11,38
3. Alternatif Proses		37,52	50,60	7,92	51,22	8,90
4. Alternatif Proses	a	36,38	50,34	8,41	51,04	9,48
	b	36,46	50,81	10,27	51,83	11,43

2a. prosesine göre yıkanan kumaş en koyu renklidir. Tüm alternatif yıkama prosesine göre yıkanan kumaşlar, standart yıkama prosesine göre daha yeşil ve daha mavi tona doğru geçmiştir.

Tablo 4.18.'de Reçete C ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların yıkama haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.18. Reçete C'nin yıkama haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	5	5	5	5	5	5	
2. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	5	4/5	5
	b	4/5	5	5	5	5	5	5
3. Alternatif Proses	4/5	5	5	5	5	5	5	
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4/5	5
	b	4/5	5	5	5	5	4/5	5

Bütün proseslerde yıkama haslıkları sonuçları iyidir.

Tablo 4.19.'da Reçete C ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların bazik ter haslığı performansları görölmektedir.

Tablo 4.19. Reçete C'nin bazik ter haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	4/5	4	4/5	4	3/4	4/5	
2. Alternatif Proses	a	4/5	3/4	3/4	3/4	3/4	2/3	4
	b	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
3. Alternatif Proses	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4	4/5	
4. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4	4	4	3/4	4/5
	b	5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	5

2a prosesi ile yıkanan kumaşın bazik ter haslığı sonuçları kötüdür. Bu ard işlem bu reçete için uygun değildir. 1. Standart proses ve 4a prosesi sınırdaki geçen değerler vermiştir. 2b, 3 ve 4b proseslerinin bazik ter haslığı performansları iyidir.

Tablo 4.20.'de Reçete C ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların bazik ter haslığı performansları görölmektedir.

Tablo 4.20. Reçete C'nin asidik ter haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses		4/5	4	4/5	4	3/4	4/5	
2. Alternatif Proses	a	4/5	3/4	3/4	3/4	3/4	3	4
	b	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
3. Alternatif Proses		4/5	5	4/5	4/5	4/5	3/4	4/5
4. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4	4	4	3/4	4/5
	b	5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	5

2a prosesi ile yıkanan kumaşın asidik ter haslığı sonuçları kötüdür. Bu ard işlem, bu reçete için uygun değildir. 1. Standart proses, 3 ve 4a prosesleri benzer sonuçlar gösterirken, 2b ve 4b prosesleri en iyi performansı göstermiştir.

Tablo 4.21.'de Reçete C ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların bazik ter haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.21. Reçete C'nin su haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses		4/5	4	4	4	3/4	4	
2. Alternatif Proses	a	4/5	3	3	3/4	3/4	2/3	3
	b	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
3. Alternatif Proses		4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
4. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4/5	4	4	4	4
	b	5	5	4/5	4/5	4/5	4	4/5

2a prosesi ile yıkanan kumaşın su haslığı sonuçları kötüdür. Bu ard işlem, bu reçete için uygun değildir. 1. Standart proses dünya standartlarına göre sınırdan geçerken, diğer alternatif proseslerin su haslığı sonuçları başarılıdır.

ISO 105 X12 metoduna göre yaptığımız kuru ve sürtme haslığının sonuçları 4.22.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.22. Reçete C' nin kuru/yaş sürtme haslığı sonuçları

Proses		Kuru	Yaş
1. Standart Proses		2/3	2
2. Alternatif Proses	a	3	2/3
	b	3	3
3. Alternatif Proses		4	4
4. Alternatif Proses	a	3	3
	b	4/5	3

1. standart prosesi, kuru ve yaş sürtme haslıklarında en kötü sonuçları gösteren prosestir. En performansı yüksek proses 4b prosesidir. 2. Alternatif proses sonuçları da standartlara göre geçmeyen değerlerdedir.

4.7.4. Reçete D'nin renk ve test değerlendirme sonuçları

Remazol Ultra Red RGBN: 3 % reçetesi ile boyanan kumaşlara uyguladığımız ard yıkama işlemlerinin renge etkisi Tablo 4.23.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.23. Reçete D'nin renklerinin spektrofotometre sonuçları

		L	a	b	c	h
1. Standart Proses		31,95	42,80	17,38	46,20	22,10
2. Alternatif Proses	a	31,52	42,87	17,96	46,48	22,73
	b	32,23	42,90	17,36	46,28	22,02
3. Alternatif Proses		33,11	42,99	17,07	46,25	21,66
4. Alternatif Proses	a	33,08	41,73	15,65	44,57	20,56
	b	33,79	43,23	17,36	46,59	21,88

2a. prosesine göre yıkanan kumaş en koyu renklidir. 4b ve 3 no'lu proseslerde en açık renkler oluşmuştur.

Tablo 4.24.'de Reçete D ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların yıkama haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.24. Reçete D'nin yıkama haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses		4/5	5	5	5	5	4/5	5
2. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	5	4/5	5
	b	4/5	5	5	5	5	5	5
3. Alternatif Proses		4/5	5	5	5	5	5	5
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	5	4/5	5
	b	4/5	5	5	5	5	4/5	5

Bütün proseslerde yıkama haslıkları sonuçları iyidir.

Tablo 4.25.'de Reçete D ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların bazik ter haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.25. Reçete D'nin bazik ter haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses		4/5	4/5	4	4	4	3/4	3/4
2. Alternatif Proses	a	4/5	4	3/4	3/4	3/4	3	3/4
	b	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4/5	5
3. Alternatif Proses		4/5	5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	4/5	4/5	4	4	4/5
	b	5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	5

2a prosesi ile yıkanan kumaşın bazik ter haslığı sonuçları kötüdür. Bu ard işlem bu reçete için uygun değildir. 1. Standart prosesi sınırda geçen değerler vermiştir. 2b, 3, 4a ve 4b proseslerinin bazik ter haslığı performansları iyidir.

Tablo 4.26.'da Reçete D ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların asidik ter haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.26. Reçete D'nin asidik ter haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	4/5	4/5	4	4	3/4	4	
2. Alternatif Proses	a	4/5	4	3/4	3/4	3/4	3	3/4
	b	4/5	5	5	4/5	4/5	4/5	5
3. Alternatif Proses	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4	4/5	
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
	b	5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	5

2a prosesi ile yıkanan kumaşın asidik ter haslığı sonuçları kötüdür. Bu ard işlem, bu reçete için uygun değildir. 1. Standart prosesi sınırda geçen değerler vermiştir. 2b no'lu proses en iyi performansı göstermiştir.

Tablo 4.27.'de Reçete D ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların su haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.27. Reçete D'nin su haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	4/5	4	4	4	3/4	4	
2. Alternatif Proses	a	4/5	4	3/4	3/4	3/4	3	4
	b	4/5	5	5	5	5	4/5	5

Tablo 4.27. Devamı

3. Alternatif Proses		4/5	5	4/5	4/5	4/5	4	4/5
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	5	4	4
	b	5	5	5	5	5	4	5

2a prosesi ile yıkanan kumaşın su haslığı sonuçları kötüdür. Bu ard işlem, bu reçete için uygun değildir. 1. Standart prosesi sınırdan geçen değerler vermiştir. 2b no'lu proses en iyi performansı göstermiştir.

Tablo 4.28.'de Reçete D ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların kuru ve yaş sürtme haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.28. Reçete D' nin kuru/yaş sürtme haslığı sonuçları

Proses		Kuru	Yaş
1. Standart Proses		3	2
2. Alternatif Proses	a	4/5	2/3
	b	5	3
3. Alternatif Proses		4/5	4
4. Alternatif Proses	a	3	3
	b	4	3/4

Standart proses hem kuru hem de yaş sürtme haslığında en kötü sonuçları göstermiştir. 2a no'lu proste kuru sürtme haslığı oldukça iyi iken, yaş sürtme haslığı standartlara göre alt sınırın altında kalmıştır. Alternatif denediğimiz tüm proseslerin kuru sürtme haslıkları iyi değerlerdedir. 2b ve 3 no'lu proseslerde yaş sürtme haslığı minimum geçer sınırındadır.

4.7.5. Reçete E'nin renk ve test değerlendirme sonuçları

Remazol Black B:4 % reçetesi ile boyanan kumaşlara uyguladığımız ard yıkama işlemlerinin renge etkisi Tablo 4.29.'da belirtilmiştir.

Tablo 4.29. Reçete E'nin renklerinin spektrofotometre sonuçları

		L	a	b	c	h
1. Standart Proses		19,45	-1,68	-11,65	11,77	261,80
2. Alternatif Proses	a	18,63	-1,31	-10,81	10,89	263,12
	b	19,09	-1,94	-11,57	11,73	260,46
3. Alternatif Proses		21,99	-1,13	-10,90	10,96	264,06
4. Alternatif Proses	a	21,37	-2,78	-11,27	11,61	256,16
	b	23,29	-2,54	-10,97	11,26	256,94

2a ve 2b prosesine göre yıkanan kumaşlar en koyu renge sahiptirler.. 4b no'lu proste en açık renk oluşmuştur. Alternatif enzimli yıkamaların hepsi daha sarı tona doğru kaymıştır.

Tablo 4.30.'da Reçete E ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların yıkama haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.30. Reçete E'nin yıkama haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	5	5	5	4/5	4/5	5	
2. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	4/5	4	5
	b	4/5	5	5	5	4/5	5	5
3. Alternatif Proses	4/5	5	5	5	5	5	5	5
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	4/5	5	5
	b	4/5	5	5	5	4/5	5	5

Bütün proseslerde yıkama haslıkları sonuçları iyidir.

Tablo 4.31.'de Reçete E ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların bazik ter haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.31. Reçete E'nin bazik ter haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	5	5	5	4/5	4	5	
2. Alternatif Proses	a	4/5	4	3/4	3/4	3/4	2/3	4/5
	b	4/5	5	5	5	4/5	4/5	5
3. Alternatif Proses	4/5	5	5	5	4/5	4	5	
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	4/5	4	4/5
	b	4/5	5	5	5	4/5	4/5	5

2a prosesi ile yıkanan kumaşın bazik ter haslığı sonuçları kötüdür. Bu ard işlem bu reçete için uygun değildir. Diğer bütün proseslerin bazik ter haslığı performansları iyidir.

Tablo 4.32.'de Reçete E ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların asidik ter haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.32. Reçete E'nin asidik ter haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	5	5	5	4/5	4/5	5	
2. Alternatif Proses	a	4/5	4	4	4	3/4	3	4/5
	b	4/5	5	5	5	4/5	4/5	5
3. Alternatif Proses	4/5	5	5	5	4/5	4	5	
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	4/5	4/5	4/5
	b	5	5	5	5	4/5	4/5	5

2a prosesi ile yıkanan kumaşın asidik ter haslığı sonuçları kötüdür. Bu ard işlem, bu reçete için uygun değildir. Diğer bütün proseslerin asidik ter haslığı performansları iyidir.

Tablo 4.33.'de Reçete E ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların su haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.33. Reçete E'nin su haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses		4/5	5	5	5	4/5	4	5
2. Alternatif Proses	a	4/5	3/4	3/4	3/4	3	2	4
	b	4/5	5	5	5	4/5	4/5	5
3. Alternatif Proses		4/5	5	5	5	4/5	4	5
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	4/5	4/5	5
	b	5	5	5	5	4/5	4/5	5

2a prosesi ile yıkanan kumaşın su haslığı sonuçları kötüdür. Bu ard işlem, bu reçete için uygun değildir. Diğer bütün proseslerin su haslığı performansları iyidir.

Tablo 4.34.'de Reçete E ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların kuru ve yaş sürtme haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.34. Reçete E'nin kuru/yaş sürtme haslığı sonuçları

Proses	Kuru	Yaş
1. Standart Proses	2	2/3
2. Alternatif Proses	a	2/3
	b	3
3. Alternatif Proses	4	4/5
4. Alternatif Proses	a	3
	b	3

3 no'lu proses hem kuru hem de yaş sürtme haslıklarının en iyi olduğu çalışmadır. 1, 2a ve 2b no'lu proseslerin sürtme haslıkları sonuçları iyi değildir.

4.7.6. Reçete F'nin renk ve test değerlendirme sonuçları

Jakazol Black CEC-L:7 % reçetesi ile boyanan kumaşlara uyguladığımız ard yıkama işlemlerinin renge etkisi Tablo 4.35.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.35. Reçete F'nin renklerinin spektrofotometre sonuçları

		L	a	b	c	h
1. Standart Proses		16,44	0,30	-2,67	2,69	276,35
2. Alternatif Proses	a	15,83	0,50	-2,28	2,33	282,50
	b	17,07	0,10	-2,83	2,83	271,93
3. Alternatif Proses		18,77	1,34	-1,45	1,97	312,69
4. Alternatif Proses	a	16,87	0,58	-1,78	1,87	288,10
	b	18,41	0,25	-2,00	2,01	277,26

2a nolu prosese göre yıkanan kumaşlar en koyu renge sahiptirler. 4a ve 4b no'lu proseslerde en açık renk oluşmuştur.

Tablo 4.36.'da Reçete F ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların yıkama haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.36. Reçete F'nin yıkama haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	5	5	5	4/5	4/5	5	
2. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	4/5	4/5	4	5
	b	4/5	5	5	5	5	5	5
3. Alternatif Proses	4/5	5	5	5	5	5	5	5
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	4/5	4/5	5
	b	4/5	5	5	5	4/5	5	5

Bütün yıkama proseslerinde yıkama haslıkları sonuçları iyidir.

Tablo 4.37.'de Reçete F ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların bazik ter haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.37. Reçete F'nin bazik ter haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses		4/5	5	5	5	4/5	4	4/5
2. Alternatif Proses	a	4/5	3	3	3	3	2	4
	b	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
3. Alternatif Proses		4/5	5	5	4/5	4/5	4	4/5
4. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4	4	4	4	4/5
	b	5	4/5	4	4/5	4/5	4/5	5

2a prosesi ile yıkanan kumaşın bazik ter haslığı sonuçları kötüdür. Bu ard işlem bu reçete için uygun değildir. Diğer bütün proseslerin bazik ter haslığı performansları iyidir.

Tablo 4.38.'de Reçete F ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların asidik ter haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.38. Reçete F'nin asidik ter haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses		4/5	5	5	5	4/5	4	4/5
2. Alternatif Proses	a	4/5	3/4	3/4	3/4	3/4	3	4
	b	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
3. Alternatif Proses		4/5	5	5	4/5	4/5	4	4/5
4. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4	4	4	4	4/5
	b	5	4/5	4	4/5	4/5	4/5	5

2a prosesi ile yıkanan kumaşın asidik ter haslığı sonuçları kötüdür. Bu ard işlem, bu reçete için uygun değildir. Diğer bütün proseslerin asidik ter haslığı performansları iyidir.

Tablo 4.39.'da Reçete F ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların su haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.39. Reçete F'nin su haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4/5	
2. Alternatif Proses	a	4/5	3/4	3/4	3/4	3	2/3	4
	b	4/5	5	5	4/5	4/5	4/5	5
3. Alternatif Proses	4/5	5	5	4/5	4/5	4	4/5	
4. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4/5	
	b	5	5	5	5	4/5	4/5	5

2a prosesi ile yıkanan kumaşın su haslığı sonuçları kötüdür. Bu ard işlem, bu reçete için uygun değildir. Diğer bütün proseslerin su haslığı performansları iyidir.

Tablo 4.40.'da Reçete F ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların kuru ve yaş sürtme haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.40. Reçete F' nin kuru/yaş sürtme haslığı sonuçları

Proses	Kuru	Yaş	
1. Standart Proses	2	3	
2. Alternatif Proses	a	2	3
	b	3	3/4
3. Alternatif Proses	4	4	
4. Alternatif Proses	a	3/4	3
	b	3/4	3/4

1 ve 2a no'lu yıkama proseslerinde kuru sürtme haslıkları değerleri oldukça düşüktür. 3 no'lu proses en iyi performansı göstermiştir.

4.7.7. Reçete G'nin renk ve test değerlendirme sonuçları

Reçete G ile boyanan kumaşlara uyguladığımız ard yıkama işlemlerinin renge etkisi Tablo 4.41.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.41. Reçete G'nin renklerinin spektrofotometre sonuçları

		L	a	b	c	h
1. Standart Proses		18,97	2,74	-0,60	2,80	347,65
2. Alternatif Proses	a	18,73	2,57	-0,59	2,63	347,00
	b	19,06	2,66	-0,63	2,83	347,32
3. Alternatif Proses		18,96	2,75	-0,66	2,83	346,50
4. Alternatif Proses	a	19,57	3,01	0,23	2,98	10,47
	b	20,36	3,38	0,72	3,46	11,97

2a nolu prosese göre yıkanan kumaşlar en koyu renge sahiptirler. 4a ve 4b no'lu proseslerde ciddi derecede renk açılması ve ton farkı oluşmuştur.

Tablo 4.42.'de Reçete G ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların yıkama haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.42. Reçete G'nin yıkama haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları					
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat
1. Standart Proses	4/5	5	5	5	5	5	5
2. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	5	5
	b	4/5	5	5	5	5	5
3. Alternatif Proses		4/5	5	5	5	5	5
4. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	5	5
	b	4/5	5	5	5	5	5

Bütün yıkama proseslerinde yıkama haslıkları sonuçları oldukça başarılıdır.

Tablo 4.43.'de Reçete G ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların bazik ter haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.43. Reçete G'nin bazik ter haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses		4/5	4/5	4/5	4/5	4	4/5	
2. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4	4	4	3/4	4
	b	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
3. Alternatif Proses		4/5	5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
4. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4	4	4	4	4/5
	b	5	4/5	4	4/5	4/5	4	5

2a no'lu proses bütün çalışmalarda da olduğu üzere en düşük performansı göstermiştir ama yine de dünya standartlarına göre sınırdan geçer değere sahiptir. Diğer uygulanan tüm proseslerin bazik ter haslıkları sonuçları oldukça iyidir.

Tablo 4.44.'de Reçete F ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların asidik ter haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.44. Reçete G'nin asidik ter haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses		4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	
2. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4/5	4/5	4	3/4	4/5
	b	4/5	5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
3. Alternatif Proses		4/5	5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
4. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4	4/5
	b	5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	5

2a no'lu proses bütün çalışmalarda da olduğu üzere en düşük performansı göstermiştir ama yine de dünya standartlarına göre sınırdan geçerek değere sahiptir. Diğer uygulanan tüm proseslerin asidik ter haslıkları sonuçları oldukça iyidir.

Tablo 4.45.'de Reçete F ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların su haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.45. Reçete G'nin su haslığı sonuçları

Proses	Renk Değişimi	Kirlenme Sonuçları						
		Yün	Akrilik	PES	PA	Pamuk	Asetat	
1. Standart Proses	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4	
2. Alternatif Proses	a	4/5	5	5	5	4/5	4/5	5
	b	4/5	5	5	5	4/5	4/5	5
3. Alternatif Proses	4/5	5	5	5	5	4/5	5	
4. Alternatif Proses	a	4/5	4/5	4/5	4/5	4	4	4
	b	5	5	5	5	4/5	4/5	5

Tüm yıkama proseslerinin su haslığı performansları oldukça iyidir.

Tablo 4.46.'da Reçete G ile boyanıp, farklı ard yıkama işlemlerine tabi tutulan kumaşların kuru ve yaş sürtme haslığı performansları görülmektedir.

Tablo 4.46. Reçete G'nin kuru/yaş sürtme haslığı sonuçları

Proses	Kuru	Yaş	
1. Standart Proses	3	2	
2. Alternatif Proses	a	4	3
	b	4/5	3/4
3. Alternatif Proses	4/5	3/4	
4. Alternatif Proses	a	3	3
	b	4/5	3/4

1. no'lu standart proses sürtme haslıklarında en kötü performansı göstermiştir. 2b, 3 ve 4b no'lu proseslerin özellikle kuru sürtme haslığı değerleri çok iyidir. Yaş sürtme değerleri kuru sürtme haslığına göre 1 puan daha aşağıdadır.

4.8. Renk Giderimi

Tablo 4.47.'de, boya çıkış suyu ve 2a no'lu yıkama sonu çıkış sularının arasındaki renk giderim oranları belirtilmiştir.

Tablo 4.47. Boya giderim oranları

Reçete	Boya Giderim Oranı [%]
Reçete A	7,78
Reçete B	32,58
Reçete C	58,81
Reçete D	73,30
Reçete E	44,07
Reçete F	36,68
Reçete G	27,86

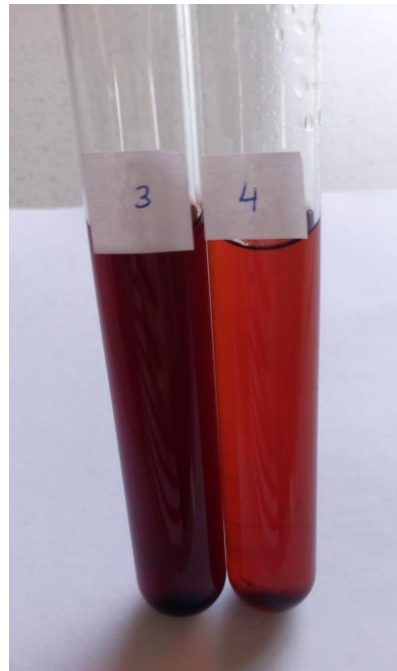
İmmobilize PPO enzimine en dayanıklı Remazol Ultra Yellow RGB boyarmaddesidir. Sadece %7,78 oranında giderilebilmiştir. En yüksek oranda Remazol Ultra Carmin RGB boyarmaddesinin rengi giderilmiştir. Reçete A haricinde, genel olarak tüm boyarmaddeler %25'in üzerinde renkleri giderilmiştir. Bunun anlamı, daha düşük atık yüküdür. Çünkü arıtma sistemlerinde renkli olan sular, renk giderimi işlemine tabi tutulur. Bu işlem daha az süre de ve maliyette yapılabilir.

Boya ıkış çözeltisi ve 2b no'lu proses yıkama çıkış çözeltisinin görsel olarak fotoğrafları,



Şekil 4.10. Reçete E'nin boya giderimi

Şekil 4.10.'da 1 no'lu tüp, Remazol Black B:4 % boyarmaddesinin boya çıkışı, 2 no'lu tüp ise 2b yıkama sonundaki boya çözeltisidir. Mavi tonun tamamen giderildiği, turuncu renge kayan bir boya giderimi sağlanmış olup yaklaşık %45 oranında boya giderilmiştir.



Şekil 4.11. Reçete D'nin boya giderimi

Şekil 4.11.'de 3 no'lu tüp, Remazol Ultra Carmin RGBN:3% boyarmaddesinin boya çıkışı, 4 no'lu tüp ise 2b yıkama sonundaki boya çözeltisidir. Gözle de görüldüğü üzere renk oldukça açılmış ve %73,30 oranında renk giderimi sağlanmıştır.



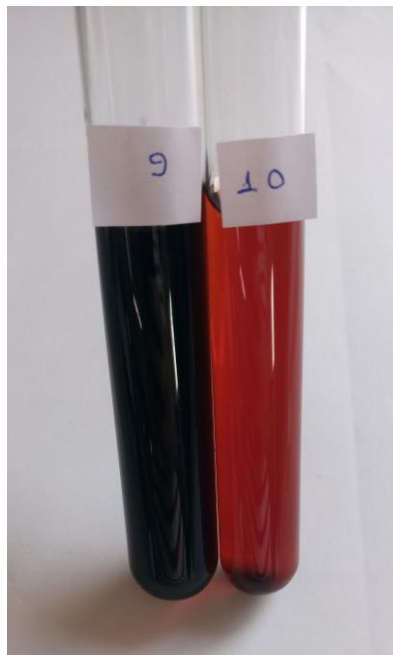
Şekil 4.12. Reçete G'nin boya giderimi

Şekil 4.12.'de 5 no'lu tüp, Reçete G'nin boya çıkışı, 6 no'lu tüp ise 2b yıkama sonundaki boya çözeltisidir. Renk açılması turuncu yönüne doğru eğilimdedir ve %28 oranında renk giderimi sağlanmıştır.



Şekil 4.13. Reçete C'nin boya giderimi

Şekil 4.13.'te 7 no'lu tüp, Remazol Ultra Red RGBN:3% reçetesinin boya çıkışı, 8 no'lu tüp ise 2b yıkama sonundaki boya çözeltisidir. %58 oranında rengi giderilmiştir.



Şekil 4.14. Reçete F'nin boya giderimi

Şekil 4.14.'te 9 no'lu tüp, Jakazol Black CEC-L:7 % boyarmaddesinin boya çıkışı, 10 no'lu tüp ise 2b yıkama sonundaki boya çözeltisidir. Boya çıkışında çok koyu olan rengin, 2b prosesi sonunda ciddi bir oranda giderildiği görülmektedir.



BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, ebegümece (*Malva sylvestris L.*) yaprakları katalaz (CAT) enzimi ve ayva (*Cydonia Oblonga*) yapraklarından Polifenol oksidaz (PPO) enziminin aktiviteleri belirlenmiştir.

Çalışmaya başlamadan önce yapılan fizibilite aşamasında ebegümece bitkisi (*Malva sylvestris L.*) bitkilerinden katalaz (CAT) enzim aktivitesi için denenmiştir. Ebegümece bitkisinden katalaz (CAT) öncelikle kısmi olarak saflaştırılmıştır ve saflaştırma sırasında üç basamak kullanılmıştır. Bunlar: homojenat hazırlanması, % 80 amonyum sülfat çöktürmesi ve diyalizdir. Tüm saflaştırma işlemleri +4°C'de sıcaklık kontrolü altında yapılmıştır. Daha sonra enzim homojenatı 24 saat boyunca diyaliz edilmiş ve safsızlıklar uzaklaştırılmıştır ve enzim çitosana immobilize edilmiştir. Enzimatik aktivite tayini, hidrojen peroksitin 240 nm.'deki absorbansının enzim ile etkileşmesinden sonra azalmasının zamana bağlı olarak ölçülmesiyle yapılmıştır.

Serbest ve immobilize katalaz enziminin karakterizasyonu yapılmıştır. Serbest CAT enziminin Km değeri 17,6 mM iken immobilize enzimin 23,54 mM dır. Serbest katalaz enzimi için optimum sıcaklık 25°C iken immobilize edilen CAT enziminde optimum sıcaklık 40°C'dir ve termal kararlılığı artmıştır. Çetinus ve ark. (2009), sığır karaciğer katalazını glutaraldehit ile modifiye edilmiş kitosana (Ch) ve Cu²⁺ iyonunun adsorbe edildiği kitosana (Ch-Cu) immobilize etmişlerdir. Km değerlerini sırasıyla 35 mM, 18 mM ve 53 mM olarak bildirmişlerdir. Serbest ve immobilize katalaz örnekleri en yüksek aktivitelerini 35 °C'de göstermişler ve Ch-Cu-katalaz örneğinin 25-35 °C'de termal kararlılığının diğer örneklerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Çetinus ve ark., 2009). Serbest ve immobilize katalaz enzimi pH 7,50'de en yüksek aktiviteyi göstermiş olup, immobilizasyon enzimin optimum pH'ını etkilememiştir. Buna göre ebegümece bitkisinden elde edilen katalaz

enziminin serbest ve immobilize formunda optimum pH'larında değişiklik yok iken, enzim immobilize edildiğinde yüksek sıcaklıklara daha dayanıklı hale gelmiş ve termal kararlılığı artmıştır. İmmobilizasyon ile daha dayanıklı ve kararlı enzimler elde edilmiş olup endüstride daha fazla kullanım alanına sahip olabilecektir.

Katalaz enzimi hidrojen peroksidi parçalamayı katalizleyen bir enzim olduğundan tekstil endüstrisinde, hidrojen peroksidin kullanıldığı pamuk kasar işleminden sonra boya banyosu ve kumaş üzerinde parçalanmadan kalan hidrojen peroksiti uzaklaştırmak için kullanılmaktadır. Çalışmamızın bu bölümünde ise ebegümecinden elde ettiğimiz, kararlı hale getirdiğimiz immobilize katalaz enzimini tekstil sektöründe ticari olarak kullanılan enzimlere karşılık kullanım olanaklarını araştırdık. Ticari katalaz enzimi %0,5 miktarında kullanıldığında boya banyosunda peroksit kalmaz iken, ebegümece immobilize katalaz enzimi %1 miktarında kullanıldığında başarılı olmuştur. Ancak, daha yüksek maliyet ile aynı proseste kullanılabilmiştir. Ticari olarak kullanılan mikrobiyal kaynaklı enzimler maalesef ülkemizde üretilmemektedir ve ithalat yapmak zorunda kaldığımız ürün grubundadır. Bitki çeşitliliği yönünden zengin olan ülkemizde daha yüksek katalaz performansı gösteren bitki kaynakları elde edilip, dışa kaynaklara bağımlılığımız bu ürün grubunda azaltılabilir.

Çalışmamızın diğer bir bölümünde ise yapılan fizibilite aşamasında ayva yaprağı (*Cydonia Oblonga*) bitkilerinden polifenol oksidaz (PPO) enzim aktiviteleri için denenmiştir. Bitkide PPO enzim aktivitesi iyi oranda çıktığı için, literatürde endüstriyel boya atıklarının gideriminde daha yaygın olarak PPO enzimi kullanılmasından dolayı bundan sonraki enzim karakterizasyon, immobilizasyon ve boya giderim çalışmalarına ayva yaprağından izole edilen PPO enzimi ile devam edilmiştir.

Literatürde tekstil sektöründe özellikle son on yıldan beri atık sulardan boya giderimi, zararlı kimyasal maddelerin kullanıldığı ön işlem proseslerinde, yıkama proseslerinde kullanımı ile ilgili çok fazla sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen, enzimlerin kumaşa iyi haslık özellikleri kazandırmak için yapılan boyama sonu ard

yıkama işlemlerinde kullanılmasına dair çalışmalar yok denilecek kadar az sayıdadır. Bu yüzden bizde tekstil sanayinde kullanılmak üzere ayva yaprağından izole edilen PPO enzimlerini kalsiyum aljinat üzerine immobilize ederek pamuk elyafının reaktif boyarmaddeler ile boyanmasından sonra yaş haslıklarını geliştirmek için yapılan ard yıkama işlemlerine alternatif proses çalışmaları yapıldı.

Ayva yaprağı bitkisinden polifenol oksidaz (PPO) öncelikle kısmi olarak saflaştırılmıştır ve saflaştırma sırasında üç basamak kullanılmıştır. Bunlar: homojenat hazırlanması, % 80 amonyum sülfat çöktürmesi ve diyalizdir. Tüm saflaştırma işlemleri +4°C'de sıcaklık kontrolü altında yapılmıştır. Daha sonra enzim homojenatı 24 saat boyunca diyaliz edilmiş ve safsızlıklar uzaklaştırılmıştır.

PPO enziminin kinetik çalışmalarında ayva yaprağı PPO enzimi için 4-metil katekol, katekol, pirogallol, kafeik asit, guaiakol ve gallik asit substratları kullanılmış ve ayva yaprağından izole edilen PPO enziminin sadece 4-metil katekol ve katekol substratlarına karşı aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuca göre her iki enziminde difenolaz aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Özen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da trabzon hurmasından izole edip karakterize ettikleri PPO enzim difenolaz aktivitesi göstermiştir (Özen ve ark. 2004).

PPO enzimin substrat spesifikliğinde de katekol, 4 –metil katekole oranla daha iyi substrattır. Benzer sonuçlar (Doğan ve ark. 2002), kurutma işlemleri için en uygun patlıcan çeşidini belirleyebilmek için, farklı patlıcan çeşitlerinden elde edilen PPO enziminin substrat spesifikliğini, ısı inaktivasyonunu, sıcaklık ve inhibitörlerin etkilerini araştırmışlardır. PPO katekol ve 4-metilkatekole karşı aktivite göstermiş, fakat L-tirozine aktivite göstermemiştir. Çeşit I $K_m=8,7$ mM ve çeşit III $K_m=9,3$ mM ile en iyi substrat katekol olarak bulmuşlardır (Doğan ve ark. 2002). Bundan sonraki çalışmaların bir kısmı bu iki substrat üzerinden yapılmıştır. Buna göre, ayva yaprağı PPO enzimi içinde optimum pH 7,2 ve 7,5 olarak her iki (4-metil katekol ve katekol) substrat içinde belirlenmiştir. Doğan ve arkadaşları (2002), tarafından yapılan çalışmada PPO enzminde katekol ve 4-metil katekol için optimum pH 7,0 -

6,0 olduğu bulunmuştur. (Doğan ve ark., 2002). Bulunan bu optimum pH değerleri bulmuş olduğumuz pH değerleri ile uygunluk göstermiştir.

Litaretürde genel olarak PPO enziminin optimum sıcaklığı 35-40°C olarak verilmektedir. Bu çalışma, katekol substrat olarak kullanıldığında bu genellemeye uyduğu görülmektedir. Literatürde Doğan ve arkadaşları tarafından ısıl inaktivasyon çalışmalarına göre 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda enzim aktivitesi düşmüştür. Katekol ve 4-metilkatekol substratları için maksimum aktivite elde etmek için optimum sıcaklık, katekol kullanılan ve optimum sıcaklığı 20 °C bulunan çeşit I dışında, tüm patlıcan çeşitleri için 30°C olarak bulunmuştur (Doğan ve ark. 2002). Bu çalışmalardan elde edilen optimum sıcaklıklar yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçlarıyla uygunluk göstermiştir.

Ayva yaprağından ayrı ayrı izole edilip karakterize edilen PPO enzimleri daha sonra kalsiyum aljinat üzerine immobilize edilerek karakterize edilmiş ve serbest enzimle karşılaştırılmıştır. Buna göre, ayva yaprağı serbest PPO enziminin Km değeri 5,86 Mm iken immobilize enzimin 12,57 mM dır. Her iki kaynaktan elde edilen immobilize enzimlerin Km değerleri daha yüksek olmasının sebebi immobilizasyon sırasında enzimlerin aktif merkezinde değişikliğe neden olarak substrata olan ilgisini azaltılmış olabilir. Buradan elde edilen sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla uyum içerisindedir. Örneğin serbest patates PPO enziminin Km değeri 8,0 mM iken SiO₂ üzerine immobilize olan PPO enziminin Km değeri 14.27 mM dır (Sahou ve ark. 2009). İmmobilize ve serbest enzimlerin pH ve sıcaklıkları da belirlenmiştir. Ayva yaprağı serbest PPO nun sıcaklığı 30 °C den immobilize enzim için 35 °C olarak belirlenmiştir. pH değerlerinde ise serbest ve immobilize enzimlerde herhangi bir değişime rastlanmamıştır. Arıca ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada Carboxymethylcellulose boncuklara PPO enzimini bağlanan enzimin pH'ı 7,0 iken bu enzimin serbest haldeki optimum pH'ı 7,5'dur (Arıca 2000). Bizim çalışmalarımızda da pH değerleri immobilize serbest enzim için pH 7,0 ila 7,5 değerlerine sahiptir. Literatürle benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Çalışmamızda, Sakarya bölgesinde yetişen ayva yaprağından PPO enzimi ilk defa karakterize edilerek başarılı olarak kalsiyum aljinat boncuklarına hapsedilerek karakterize edilip, reaktif boyama sonunda immobilize PPO enziminin kullanıldığı çevre dostu alternatif yıkama prosesi geliştirilmiştir.

Reaktif boyama sonunda kumaşa kovalent bağlar ile bağlanmayan hidrolize olmuş boyarmadde kumaş yüzeyinden boyama sonu ard yıkamalar ile tamamen uzaklaştırılmaz ise bu kumaştan yapılan giysiyi giydiğinizde elleriniz ve teniniz boyanır, giyerken ve yıkarken başka kıyafetlerinize renk bulaştırır, kırmızı renkli aldığınız kıyafet iki kullanımda pembe renge dönebilir vb. sorunlar ile karşılaşılabilir. Diğer bir deyiş ile kumaşın dünya standartlarına göre yapılan yaş haslık testlerini çok olumsuz etkiler ve kumaşı müşterinize gönderemezsiniz. Bunun için tekstil sektöründe boyama yapıldıktan sonra kumaşın kullanım performansını arttırmak için ard yıkama işlemleri yapılır. Reaktif boyama sonunda özellikle bu yıkama işlemi özellikle de koyu renklerde çok ağır şartlarda yapılır. Kumaş boyama sonunda standart yıkama prosesinde 50°C ile 95°C arasında yapılan 6 defa temiz banyo ve deterjan ile yıkama işlemlerine tabi tutulur. Biz çalışmamızda standart yıkama prosesine karşılık immobilize PPO enzimi kullanarak 3 adet farklı yıkama proses denemesi yaptık. Çalışmamızda, 2. alternatif proste boya banyosunu dökmeden nötral pH ortamında 45°C'de immobilize enzim ile boya banyosunda yıkama işlemi yaptık ve bu işlem sonunda temiz banyo olarak ortamda kalan enzimi deaktive edip, sonrasında bir çalkama işlemi yaptık. 2. prosesi 2 temiz banyo kullanarak 4 banyo suyu tasarrufu sağladık. 3. alternatif proste boya banyosunu dökmeden 45°C'de, nötral pH ortamında immobilize enzim ile boya banyosunda yıkama işlemi yapıldı, temiz banyo suyu alınıp yine 45°C'de immobilize PPO enzimi 2 g/L kullanılarak işlem yapıldı ve bu işlem sonunda temiz banyo olarak ortamda kalan enzimi deaktive edip, sonrasında bir çalkama işlemi yaptık. 3. alternatif proste 3 temiz banyo ile kullanarak standart prosese göre 3 banyo suyu tasarrufu sağladık. 4. alternatif proste boya banyosunu dökülüp, temiz banyo suyu alınarak nötral pH ortamında 45°C'de immobilize enzim ile boya banyosunda yıkama işlemi yaptık ve bu işlem sonunda temiz banyo olarak ortamda kalan enzimi deaktive edip, sonrasında bir çalkama işlemi yaptık. 4. alternatif proste 3 adet temiz banyo suyu

kullanıp, standart yıkama prosesine göre 3 temiz banyo suyu tasarrufu sağlamış olduk. Ayrıca, standart yıkama prosesinde ise 50°C ile 95°C arasında yıkama işlemleri yapıp yüksek enerji tüketilir iken, alternatif yıkama prosesleri 45°C’de ve max. 85°C’de işlem yapılmıştır.

Reaktif boyama sonunda, immobilize PPO enzimi ile yaptığımız alternatif prosesler ile standart yıkama prosesi sonu çıkan kumaşların yaş haslıkları kontrol edilmiş ve alternatif proses denemeleri oldukça başarılı sonuçlar vermiştir. Özellikle 3, 4a, 4b prosesleri her bir reçete için, standart yıkama prosesinden daha başarılı sonuçlar verir iken, ilaveten 3 adet temiz banyo suyu ve enerji tasarrufu sağlanmıştır. 2b prosesi, standart yıkama prosesi ile benzer yaş haslık sonuçları vermiştir ve bu proseste de 4 adet temiz banyo ve enerji tasarrufu sağlanmıştır. 2a prosesi ise bazı boyarmaddeler için çok uygun bir alternatif yıkama olmamıştır. 2a prosesinde kullanılan immobilize PPO enzim miktarı, yüksek boyarmadde miktarları kullanılan reçetelerimizde yetersiz kalmıştır. Daha az boyarmadde kullanılarak yapılan boyama işlemlerinde bu proseste kullanılabilir. Diğer bir deyişle, kullanılacak boyarmadde oranına göre kullanılacak optimum enzim miktarı belirlenebilir. Bu maliyeti de düşürecektir.

Alternatif yıkama proseslerinin uygulaması yapılır iken, özellikle 2a, 2b ve 3. proseslerinde boya banyosu dökülmeden enzim ile yapılan işlem esnasında arıtma sistemine gönderilecek olan boyarmaddenin renginde ciddi oranda giderim sağladığı da gözlemlendi. Boyarmadde giderimin de en düşük oranı veren Remazol Ultra Yellow RGB boyarmaddesidir ve sadece %7,78 oranında renksizleştirilir iken, Remazol Ultra Carmin RGB boyarmaddesini rengi % 73 oranında giderilemiştir. Genel olarak kullandığımız diğer boyarmaddelerin %25’in üzerinde renkleri alternatif yıkama prosesi esnasında giderilmiştir. Bunun anlamı, daha düşük atık yüküdür. Çünkü arıtma sistemlerinde renkli olan sular, renk giderimi işlemine tabi tutulur. Yaptığımız bu alternatif yıkama prosesleri sayesinde bu işlem daha az sürede ve maliyette yapılabilir.

Bu olumlu sonuçlar ile literatüre, endüstride kullanılacak yeni CAT ve PPO enzim kaynağı, immobilize CAT ve PPO kaynaklar sağlanmıştır.

Ticari olarak kullanılan mikrobiyal kaynaklı enzimler maalesef ülkemizde üretilmemektedir ve ithalat yapmak zorunda kaldığımız ürün grubundadır. Bitki çeşitliliği yönünden ve tarım arazileri yönünden zengin olan ülkemizin bu kaynakları enzim üretimi için kullanılabilir ve dış kaynaklara bağımlılığımız bu ürün grubunda azaltılabilir.

Elde edilen başarılı sonuçların hem ülke hem de üniversitemize ve sanayiye yeni kaynaklar sağlayarak, yapılacak yeni çalışmalara ek bir kaynak olarak ışık tutacağı düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Abeta, S., Yoshida, T., Imada K. 1984. Problems and Progress in Reactive Dyes, American Dyestuff Reporter, 7, 26-31.
- Ahmetoğlu, N. 2011. *Bacillus cereus* KG5'in proteaz enzimi üzerine alışmalar, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji ababilim dalı, Yüksek Lisans Tezi
- Anış P. 1998. Tekstil Ön Terbiyesi, Alfa Yayınları, İstanbul, 204s.
- Arıca, Y. M. 2000. Immobilization of Polyphenol Oxidase on Carboxymethylcellulose Hydrogel Beads: Preparation and Characterization, Polymer International, 49, 775-781.
- Arık, B., Körlü E., A., Duran, K. 2008. Lakkaz Enzimlerinin Tekstilde Kullanım Alanları, Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi, 2, 17 -22.
- Arslan, O. Erzenđin, M., Sinan, S., Özensoy, O. 2004. Purification of mulberry (*Morus alba* L.) polyphenol oxidase by affinity chromatography and investigation of its kinetic and electrophoretic properties, Food Chemistry 88, 479-484.
- Bahtiyari, M. İ., Duran, K. 2002. Tekstil Sanayiinde Bazık İşlemede Enzim Kullanımı, Tekstil ve Konfeksiyon, 12(4):193-200.
- Bai, G., Fu, K. , Jin, N., Zhu, L. , Chai, Lu D. 2012. Bio-Polishing of Cotton Fabric with Cellulase, Advanced Materials Research, (468-471):46-49.
- Başer, İ., İnanıcı, Y., 1990. Boyarmadde Kimyası, Marmara Üniversitesi Yayın No. 482, İstanbul, 216s.
- Bayramoğlu, G., Yılmaz M., Arıca Y. M. 2010. Reversible immobilization of laccase to poli(4- vinil piridin) grafted and Cu(II) chelated magnetic beads: Biodegradation of reactive dyes, Biosource Technology, 101, 6615-6621.
- Bilge, G. 2010, Glikoz oksidaz bazlı enzim elektrotlarda elektriksel iletkenliğin geliştirilmesi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Bozok, N. 2005, Vinilsülfon ve flor grubu içeren reaktif boyarmadde sentezi ve metal kompleksleri, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Calafell, M., Garriga, P. 2004. Effect of some process parameters in the enzymatic scouring of cotton using an acid pectinase, Enzyme and Microbial Technology 34:326–331.

- Campos, R., Kandelbauer, A., Robra, K.H., Cavaco-Paulo, A., Gübitz, G.M. 2001. Indigo Degradation with Purified Laccases from *Trametes hirsuta* and *Sclerotium Rolfsii*, *Journal of Biotechnology*, 89:131–139.
- Cerrahoğlu, E., 2013. Ballıbaba (*Lamium Purpureum*) bitkisinden polifenol oksidaz enziminin karakterizasyonu ve çeşitli taşıyıcılara immobilizasyonu. Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Choi, M.M.F., Yiu, T.P. 2004. Immobilization of Beef Liver Catalase on Eggshell Membrane for Fabrication of Hydrogen Peroxide Biosensor, *Enzyme and Microbial Technology*. 34(1): 41-47.
- Cristovao, R.O., Tavares, A.P.M., Brigida, A.I., Loureiro, J.M., Boaventura R.A.R., Macedo E.A., Coelho, M.A.Z. 2011. Immobilization of commercial laccase onto green coconut fiber by adsorption and its application for reactive textile dyes degradation, *Journal of Molecular Catalysis B : Enzymatic*, 72, 6-12.
- Csiszar E., Losonczy, A., Koczka, B, Szakacs, G., Pomlenyi, A. 2006. Degradation of lignin-containing materials by xylanase in biopreparation of cotton. *Biotechnol Lett*, 28 : 749-753.
- Çetinus, Ş.A., Şahin, E., Saraydın, D. 2009. Preparation of Cu(II) Adsorbed Chitosan Beads for Catalase Immobilization, *Food Chemistry*, 114:962-969.
- Çoban, S. 1999. Genel Tekstil Terbiyesi ve Bitim İşlemleri, E.Ü. Yayınları, İzmir, 1-314.
- Dannibale, A. S., Rita Stazi, S., Vinciguerra, V. Giovannozzisermani, G. 2000. Oxirane-immobilized *Lentinula edodes* laccase: stability and phenolics removal efficiency in olive mill wastewater. *J. Biotechnol.* 77:265–273.
- Davis, S. Burns, R. G. 1992. Covalent immobilization of laccase on activated carbon for phenolic effluent treatment. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 37:474–479.
- Davulcu A. 2008. Pamuklu kumaşların ön terbiye proseslerinin enzimatik yöntemlerle kombine edilmesi üzerine bir araştırma. Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi.
- Dwivedi, U.N., Singh, P., Pandey, V.P., Kumar, A. 2011. Structure-function relationship among bacterial, fungal and plant laccases. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 68; 117-128.
- Doğan, M., Arslan, O. ve Doğan, S. 2002. Substrate Specificity, Heat Inactivation and Inhibition of Polyphenol Oxidase from Different Aubergine Cultivars. *International Journal of Food Science and Technology*, 37: 415-423.
- Dokuzoğlu, Z., Alkan, U., Yentürk, A. 2008. Reaktif boyarmadde içeren tekstil atıksularının ileri oksidasyonu, *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, Cilt 13, Sayı 2.
- Duran, K., Bozacı, E., Karahan, A. 2007. Protein esaslı mamüllerin enzimatik ön terbiyesi, *Tekstil Konfeksiyon*, 3: 187-192.
- Duran, K., Çay, A. 2003. Pamuklu kumaşların farklı derişik alkali flotteleri ile bazik işleminin veya merserizasyonunun buruşmazlık bitim işlemine etkileri, *Tekstil ve Konfeksiyon Dergisi* (3); 152-157.

- Ekmekçi Körlü, A., Bahtiyari, M. İ., Duran, K., Perinçek, S. 2008. Selülaz enziminin selülozik esaslı kumaşlar üzerine etkisi, *Tekstil Ve Konfeksiyon*, 18(1): 35-41s.
- Ekmekçi, A., Bilgin, E. 2001. Merserizasyonun selüloz liflerinin moleküler yapısı ve selüloz mamulleri özellikleri üzerine etkisi, *Tekstil ve Konfeksiyon Dergisi* (1); 25-31.
- Holme, , D.J., Peck, H. 2005. *Analytical Biochemistry*, Prentice Hall, England, 259-261.
- Hoondal, G. S., Tiwari, R. P., Tewari, R., Dahiya, N., Beg, Q. K. 2002. Microbial Alkaline Pectinases and Their Industrial Applications: A Review, *Appl Microbiol Biotechnol*, 59:409–418.
- Houde, A., Kademi, A., Leblanc, D. 2003. Lipases and their industrial applications, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 118, 155-170.
- Hunger, K., 2003. *Industrial Dyes, Chemistry, Properties, Applicaitons*, Wiley-VCH, Germany, 685s.
- İçoğlu, H. İ. 2006. Pamuklu dokunmuş kumaşların reaktif boyarmaddelerle boyanması ve uygulama yöntemlerinin incelenmesi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekstil Mühendisliği, Yüksek Lisans Tezi.
- İnkaya, T. 2006. Pamuklu mamullerin ağartılmasında enzim kullanımı, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- İnkaya, T., Eren H.A., Anış P. 2007. Pamuk ağartılmasında Lakkaz/Mediatör sistemlerinin oksijen ve ozon ile kombine edilmesi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 14(1): 77-82 s.
- Karmakar, M., Ray, R. R. 2011, *Current Trends in Research and Application of Microbial Cellulases*, *Research Journal of Microbiology*, 6(1): 41-53.
- Karmakar, S.R. 1999. *Chemical technology in the pre-treatment processes of textiles. in textile science and technology series, Vol. 12. first edition*, Elsevier Science B.V., Amsderdam, Netherlands, pp. 107-113; 69-77.
- Kayar, M. 2003, Membran filtrasyon yöntemi ile atıksularda renk giderimi, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Keha, E. E., Küfrevioğlu, Ö. İ. 2004. *Biyokimya, Aktif Yayınevi, Erzurum*, 92-139.
- Keskin, R. 2006, Reaktif boyarmaddelerle boyanmış pamuklu dokumaların yıkama, ter ve sürtme haslıklarının gözle ve spektrofotometreyle değerlendirilmesi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Kim, S., Moldes, D., Cavaco-Paulo, A. 2007. Laccases for Enzymatic Colouration of Unbleached Cotton, *Enzyme and Microbial Technology*, 40:1788–1793.
- Kocatürk, S. 2008. Enginar polifenol oksidazının alginat ve karragenan jellerde immobilizasyonu ve bazı biyokimyasal özelliklerinin incelenmesi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

- Köse, H. 2010. Polifenol oksidaz enziminin farklı maddelerle immobilizasyonu ve bazı özelliklerinin incelenmesi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Kuduğ, H. 2013. Mikrobiyal kaynaklı selüloz enziminin E.Coli'de rekombinant olarak üretilmesi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Kumbasar, E. P. A., Atav, R., Bahtiyari, M. I. 2009. Effects of Alkali Proteases on Dyeing Properties of Various Proteinous Materials with Natural Dyes, *Textile Research Journal*, 79(6):517-525.
- Li, Y., Hardin, I.R. 1998. Enzymatic Scouring of Cotton- Surfactants, Agitation, and Selection of Enzymes. *Textile Chemist and Colorist & American Dyestuff Reporter*, Vol. 30, No. 9, s23-29.
- Li, Y., Hardin, I.R. 1998. Treating Cotton with Cellulases and Pectinases: Effects on Cuticle Properties. *Textile Research Journal*, Vol. 68, No:9, s. 671-679.
- Lu, L., Zhao, M., Wang, Y. 2007. Immobilization of laccase by alginate-chitosan microcapsules and its use in dye decolorization, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 23, 159-166.
- Meral, S. 2013. Kitosan kaplı manyetik nanotaniclere alfa amilaz immobilizasyonu, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Önez, Z. 2006. Üzüm (Vitis vinifera L.) izole edilen polifenol oksidaz enziminin özelliklerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Özata, A., Kutlu, M. 2000. Enzimoloji Ders Notları, T.C. Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi Yayınları, Eskişehir.
- Özçömlekçi E. 2006. Proteaz enziminin glutaraldehit kullanarak kovalent bağlanma ile immobilizasyonunda optimum şartların belirlenmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği, Yüksek Lisans Tezi.
- Özen, A., Çolak, A., Dinçer, B., Güner, S.A. 2004. Diphenolase from persimmon fruits (diospyros kaki L., Ebenaceae), *Food Chemistry* 85, 431-437.
- Pamuk, F. 2000. Biyokimya, 2. Baskı. Gazi Kitapevi, Ankara. 1-424.
- Reyes, P., Pickard, M. A., Vazquez-Duhalt, R. 1999. Hydroxybenzotriazole increases the range of textile dyes decolorized by immobilized laccase., *Biotechnol. Lett.*, 21:875-880.
- Robyt, I. F., White, B. J. 1990. *Biochemical Techniques: Theory and Practice*. Waveland Press, Inc. Illinois.
- Shao, J., Huang, L. L., Yang, Y. M. 2009. Immobilization of polyphenol oxidase on alginate-SiO₂ hybrid gel: stability and preliminary applications in the removal of aqueous phenol., *Journal of J.Chem. Tech. Biotech.*, 84, 4, 633-635.
- Shore, J. 1995. *Cellulosics dyeing*, The Alden Pres, Oxford, 396 s.

- Singh, A. K., Mukhopadhyay, M. 2012. Overview of Fungal Lipase: A Review, *Applied Biochemistry Biotechnology*, 166:486–520.
- Tarakçıoğlu, I. 1979. *Tekstil terbiyesi ve Makinaları*, Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir 496 s.
- Taşdelen, Ç. 2006. Proteaz enziminin fiziksel adsorpsiyon, kovalent ve iyonik bağlanma metotları ile immobilizasyonu. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.
- Telefoncu, A. 1997. *İmmobilize Enzimler*, Enzimoloji Lisanüstü Yaz Okulu, Aydın, 193-247.
- Turrens, J.F., Crapo, J.D., Freeman, B.A. 1984. Protection against oxygen toxicity by intravenous injection of liposome-entrapped catalase and superoxide dismutase, *J Clin Invest*, 73: 87–95.
- Tüzün, C. 1997. *Biyokimya*, Palme Yayınları, Ankara, 124 – 125.
- Tzanov, T., Costa, S. A., Gübitz, G. M., Cavaco-Paulo, A. 2002. Hydrogen peroxide generation with immobilized glucose oxidase for textile bleaching. *Journal of Biotechnology*, 93:87–94.
- Uruç, H. 2007. Katalaz enziminin (E.C.1.11.1.6) montmorilonit analsim kili üzerine immobilizasyonu ve kinetiğinin incelenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Vigo, T. L. 2002. *Textile Processing and Properties: Preparation, Dyeing, Finishing, and Performance*, Vol. 11, first edition, Elsevier Science B.V. Amsterdam, Holland, 1-37.
- Vigo, T.L. 1994. *Textile Processing and Properties*, Elsevier Science B.V., The Netherlands, s325-336.
- Yakartepe, M., Yakartepe, Z. 1994. *Tekstil Terbiye Teknolojisi*, Tekstil ve Konfeksiyon Araştırma Merkezi, Cilt 4, Yayın No: 51, İstanbul.
- Yazıcıoğlu G. 1999. *Pamuk ve Diğer Bitkisel Lifler*, D.E.Ü.Mühendislik Fakültesi Yayınları, İzmir. 377 s.
- Yoon, D.S., Won, K., Kim, Y.H., Song, B.K., Kim, S.J., Moon, S.J., Kim, B.S. 2007. Continuous removal of hydrogen peroxide with immobilised catalase for wastewater reuse. *Water Science & Technology*, 55(1-2):27-33.
- Ziyan, E. 1998. Polifenol oksidaz enziminin Ankara armudu (*Pyrus Communis*)’ndan izole edilmesi, saflaştırılması ve bazı kinetik özelliklerinin incelenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

ÖZGEÇMİŞ

Ayşe USLUOĞLU, İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümünde lisans eğitimini tamamlamıştır. Tekstil alanında faaliyet gösteren Aydın Örne San. ve Tic. A.Ş.'nin Ar-Ge bölümünde görevini sürdürürken, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği, Proses ve Reaktör tasarımı dalında yüksek lisansını tamamladıktan sonra Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya/Biyokimya alanında doktora programını tamamlamıştır.