

**ANADOLU'DA BULUNAN *RUBIA TINCTORUM* L.'LARDAKİ
ANTRAKİNON TÜREVİ BOYARMADDELERİN
HPLC İLE KANTİTATİF OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

**Cafer AKYÜREK
DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
KONYA, 2001**

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
KONYA İLİ EĞİTİM BAKANLIĞI
KONYA İLİ EĞİTİM BAKANLIĞI**

128898

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANADOLU'DA BULUNAN *RUBIA TINCTORUM L.*'LARDAKİ
ANTRAKİNON TÜREVİ BOYARMADDELERİN HPLC İLE
KANTİTATİF OLARAK ARAŞTIRILMASI

Cafer AKYÜREK

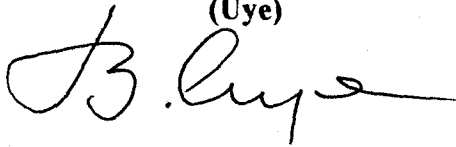
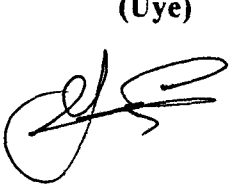
DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

128888

Bu tez 15.10.2001 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Şinasi YILDIRIMLI Prof.Dr.Baki EYCE Prof.Dr.İbrahim KARATAŞ
(Üye) (Üye) (Üye)



Doç.Dr.Kuddusi ERTUĞRUL
(Danışman)

Yrd.Doç.Dr.Hüseyin KARA
(Üye)

ÖZET

Doktora Tezi

ANADOLU'DA BULUNAN *RUBIA TINCTORUM* L.'LARDAKİ ANTRAKİNON TÜREVİ BOYARMADDELERİN HPLC İLE KANTİTATİF OLARAK ARAŞTIRILMASI

Cafer AKYÜREK

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Doç.Dr. Kuddusi ERTUĞRUL

2001, Sayfa: 53

Jüri:

Prof. Dr. Şinasi YILDIRIMLI

Prof. Dr. Baki EYCE

Prof. Dr. İbrahim KARATAŞ

Doç. Dr. Kuddusi ERTUĞRUL (Danışman)

Yrd. Doç. Dr. Hüseyin KARA

Doğal boyamacılık sanatının en önemli bitkilerinden biri olan, *Rubia tinctorum* bitkisinden en iyi şekilde istifade etmek ve boyamada standardı yakalamak amacı ile bu formun değişik coğrafyalardaki - iklimlerdeki (Karaman, İnebolu, Beypazarı, Erzurum.....) bireylerinin kantitatif olarak ihtiva ettikleri önemli boyarmaddeler YBSK (HPLC) ile incelenmiştir.

Daha önce toplanıp yabancı maddelerden arındırıldıktan sonra, uygun şekilde kurutulup öğütülen kök numuneleri, bir yaşında ve çok yaşlı-yıllık (iki ve daha fazla) oluşlarına göre ayrıldıktan sonra incelenmeye alınmıştır. İncelemelerde antrakinonların ekstraksiyonu için beş değişik metod uygulanmış ve en uygunu seçilerek denemelere geçilmiştir. Buna göre en fazla alizarin Karaman (%1.23), purpurin Erzurum (%0.81), toplam antrakinona Karaman (%2.03)' dan alınan kök

numunelerinde rastlanmıştır. En az alizarin Beypazarı (%0.16), purpurin yine Beypazarı (%0.26) örneklerinde tesbit edilmiştir.

Değişik ekolojik şartlarda yetişen bitkilerin farklı oranlarda boyarmadde ihtiva ettiği sonucu ortaya çıkmıştır. Ayrıca aynı yörenin farklı yaşlardaki bitkilerinde de boyarmadde - antrakinon (alizarin, purpurin) oranlarında büyük farklılığın olduğu görülmektedir. Dolayısı ile aynı türün değişik ekolojik şartlarda yetişen formlarının ihtiva ettiği kimyasal bileşenlerde farklılıkların olması mümkün olabilmektedir.

Boyalı ve boyanmadan kullanılan kök numunelerinden ekstrakte edilerek analizleri yapılan materyallerden aynı yöreden toplananlar arasında farklılıklara rastlanmıştır. Bu durum boyama metodu ve bazı antrakinonların (pseudopurpurin gibi) dekarboksilasyonundan kaynaklanmaktadır. İleride yapılacak çalışmalarla uygun metodlar kullanmak suretiyle tekstil elyafa istenilen boyarmaddenin bağlanmasını sağlayarak, haslık derecesi yüksek ürünlerin ortaya çıkması söz konusu olacaktır.

Anahtar Kelimeler : *Rubia tinctorum*, boyarmadde, antrakinon, alizarin, purpurin, YBSK.



ABSTRACT
PhD Thesis

**THE QUANTITATIVE ANALYSIS OF ANTHRAQUINONE TYPE OF
DYEING MATERIALS IN RUBIA TINCTORUM L.
IN ANATOLIA BY HPLC**

Cafer AKYÜREK
UNIVERSITY OF SELCUK
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor : Assoc.Prof.Dr. Kuddusi ERTUĞRUL
2001, Page : 53

Jury :
Prof. Dr. Şinasi YILDIRIMLI
Prof. Dr. Baki EYCE
Prof. Dr. İbrahim KARATAŞ
Assoc. Prof. Dr. Kuddusi ERTUĞRUL
Assist. Prof. Dr. Hüseyin KARA

Before the advent of synthetic dyestuffs, natural sources such as plant and insects have been used for coloring textiles. Madder [*Rubia tinctorum* L., (Rubiaceae)] was formerly of great commercial importance as a dyestuff until the middle of 19th century.

Rubia tinctorum L. was formerly one of the most important natural dyestuffs had been used since ancient times. The roots of *R. tinctorum* contain anthraquinone derivatives, main coloring substances being alizarin and purpurin.

In this study, the contents of alizarin and purpurin in *R. tinctorum* roots collected from various regions in Anatolia were quantitatively determined by reversed phase HPLC method.

In the present study, several extraction techniques were tested and the hydrolyses were performed in acidic medium. Highest yields values for alizarin and purpurin were obtained by the method which involve acid hydrolysis procedure.

Highest amount of anthraquinones (alizarin +purpurin) was in thy *R. tinctorum* sample obtained from Karaman region (2.03%). Alizarin and purpurin contents were quite different in annual and perennial.

Key Words : *Rubia tinctorum* L., dyed anthraquinone, alizarin, purpurin, HPLC.



ÖNSÖZ

Doğal boyamacılık sanatının en önemli problemlerinden bir tanesi, bu işi yapan kişilerin her zaman aynı haslık ve renkte elyafi boyayamamalarıdır. Bunun en önemli nedenlerinden biri şüphesiz, bitkilerin ihtiva ettikleri boyarmaddelerin miktar ve çeşitlerinin bilinmemesidir. Bu amaçtan yola çıkarak yüksek haslık ve renkte standardı yakalamak için değişik yörelerde yetişen *Rubia tinctorum L.* bitkisinin aktif boyarmaddelerinin kantitatif analizleri HPLC ile gerçekleştirilmiştir.

Çeşitli coğrafya ve iklimlerde yabani olarak yetişen ve yaşama toleransı çok fazla olan *R. tinctorum* bitkisinin aşağı yukarı 22 çeşit boyarmadde ihtiva ettiği tesbit edilmiştir. Bu boyarmaddelerden özellikle alizarin ve purpurinin boyama özelliği (haslık itibarı ile) oldukça iyidir. İleride yapılacak boyamalarda tekstil elyafi özellikle bu iki çeşit boya ile yapılarak çok kaliteli ürünler elde edilebilir. Bu bağlamdan hareketle boyamada kullanılacak olan ve değişik yıllık ve yörelerden toplanan *R. tinctorum* köklerinin ihtiva ettiği alizarin ve purpurin kantiteleri (miktarları) alınmıştır. Daha önce birçok literatürde de belirtildiği gibi, farklı yöre bitkisinin boyarmadde oranlarının değişik olacağı görüşleri acaba doğru mu, sorusuna da cevap bulunmuş olunacaktı. Bu araştırmada Anadolu'nun değişik iklim özelliği gösteren farklı coğrafik bölgelerinden toplanan *R. tinctorum* köklerinden direkt izole edilen boyarmaddeler ile yünler boyandıktan ve boyarmaddeler izole edilerek incelemeler gerçekleştirilmiştir. Farklı yöre ve yıllık bitkilerin oldukça farklı oranlarda boyarmadde bulundurduğu bu araştırma ile açıkça ortaya çıkarılmıştır.

Tez çalışmamın başlaması, yürütülmesi ve sonuçlandırılması aşamalarında değerli yardımlarıyla beni yönlendiren danışman hocam Sayın Doç.Dr. Kuddusi ERTUĞRUL'a, kromatoğrafik araştırmalardaki katkılarından dolayı Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın Prof.Dr. Hüsnü Can BAŞER'e, yine aynı fakülte öğretim elemanlarından Yrd.Doç.Dr. Berrin BOZAN'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa :

1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	6
3. MATERYAL VE METOT	22
3. 1. Materyal	22
3. 2. Metot.....	32
3. 2.1. Boyalı materyalden antrakinon analizi	32
3. 2.2. Kökten direkt antrakinon analizi ..	33
4. DENEY SONUÇLARI.....	37
4. 1. Boyanmış Materyal Sonuçları	37
4. 2. Kökten Direkt Antrakinon Analiz Sonuçları	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	47
7. KAYNAKLAR	49

TABLolar VE ŐEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1: <i>R.tinctorum</i> örneklerinin toplandığı bölgeler.....	22
Tablo 2: <i>Rubia tinctorum</i> L. da bulunan bazı antrakinonların kimyasal yapısı.....	29
Tablo 3: Antrakinonlar için denenmiş ekstraksiyon metodları.....	35
Tablo 4: Çeşitli bölgelerden toplanarak boyanan yünden izole edilmiş <i>R.tinctorum</i> örneklerinde alizarin ve purpurin miktarları	37
Tablo 5: Çeşitli bölgelerden toplanmış <i>Rubia tinctorum</i> örneklerinde alizarin ve Purpurin miktarları.....	38
Tablo 6: Bazı <i>R.tinctorum</i> örneklerinin yaş durumlarına göre yünü boyadıktan sonraki alizarin- purpurin miktarları	41
Tablo 7: <i>R.tinctorum</i> köklerinin yaş durumuna göre ayrıldıktan sonra, içerisindeki % alizarin / purpurin	41
Tablo 8: Ekstraksiyon yönteminin <i>R.tinctorum</i> (RO) da bulunan alizarin ve purpurin verimine etkileri.....	43
Şekil 1. <i>Rubia tinctorum</i> L. bitkisi ve köklerinin görünümü (a, b).....	26
Şekil 1. <i>Rubia tinctorum</i> L. bitkisinin genel görünümü (c).....	27
Şekil 2. <i>Rubia tinctorum</i> L.'da bulunan antrakinonların kromotağramı.....	39

1. GİRİŞ

Yirminci yüzyıla kadar tekstil materyallerinin boyanmasında bitkisel kökenli boyalar önemli yer tutmaktaydı. Yakın zamana kadar Anadolu' da ve diğer bir çok ülkede bu boya bitkilerinin tarımı yapılmaktaydı. Elimizdeki mevcut kaynaklardan ve halen bir çok yerde “boyalık” olarak bilinen mevkilerden rahatlıkla bu sonuca varmak mümkündür. Ayrıca buradan yirminci yüzyıla kadarki insanların çevreye olan saygı ve çevre bilinçleri zamanımız insanlarından daha iyi olduğu sonucuna varmak yerinde olacaktır. Çünkü onlar ihtiyaçları olan boya bitkilerini kültüre alıp, çevreyi, ekosistemi zamanımız insanları kadar tahrip etmemişlerdir.

Sentetik boyalarının sentezine kadar iplikler ve kumaşlar yalnız kendileri tarafından bilinen ve bir aile sırrı olarak saklayan kişilerce bitkisel boyalarla boyanıyor, boyanmış iplikleri haftalarca açıkta, güneşte, yağmur ve rüzgara maruz bırakarak boya çıkmaz hale getiriliyordu (Durul ve Aslanapa 1973). Boya için kullanılan bitkiler çivit dışında halk arasında “boyalık “ olarak bilinen yerlere ekilerek buralardan temin edilirdi (Durul ve Aslanapa 1973).

Bitkilerden elde edilen kimyasal maddeler sayesinde eczacılık, çağdaş tıp, kozmetik sanayi günümüzdeki seviyesine gelmiştir. Doğal boyamacılık da, aynı şekilde insanların öncelikle örtünme ihtiyaçlarından yola çıkılarak süslenme, boyanma güdülerine kaynak teşkil etmiştir. Tabiatın bu renk armonisini insanlar giyimlerine, evlerinde bulunan tekstil materyallerine vb.yansıtmıştır. Ayrıca zamanımızda gıda maddelerinin boyanmasında sentetik

boyaların büyük çoğunluğunun bilhassa da kırmızı boyaların (Red No:1 Ponceau 3R, Red No:4 Ponceausxin) kullanımı yasaklanmıştır (Selemoğlu ve Yıldız 1983). Bu tür çalışmaların tekstil sektörü yanında gıda sanayiinde de önemli yer tutacağı muhakkaktır.

Sentetik boyaların büyük çoğunluğu petrol yan ürünleri ve kanserojen bileşiklerin türevleridir. Uzun süreli temas ve kullanım sonucu bir çoğu vücutta birikme özelliğinde olan bu bileşikler, insan ve diğer canlıların sağlığı açısından tehlike arz etmektedir (Moore ve Scheuer 1976). Halbuki hammadde ve ürünü tamamı ile doğal olan ve doğadan gelen kök boyaların insan, canlı sağlığı açısından herhangi bir zararlı etkisi olmadığı gibi, gıda vb. maddelerin renklendirilmesinden (Selemoğlu ve Yıldız 1983) beslenme yönüne kadar faydaları da mevcuttur.

Halıcılık zaman içerisinde fonksiyon, ihtiyaç ve coğrafyaya bağlı olarak kendi karakterini oluşturmuş ve günümüze kadar gelmiştir. Halı ve diğer dokuma ürünlerinde her ülke veya ihtiyaca göre renk, desen, dokuma tarzı karakteristiktir. Biz bu çalışmamızda özellikle renk, buna bağlı olarak da doğal boyalarla, boyarmaddelerin bir kısmı üzerinde duracağız. İşte elde ettiğimiz bilgilere göre *Rubia tinctorum* L. kök (doğal) boyamacılığın temel veya en önemli bitkilerinden bir tanesidir. Kökboya denildiğinde de *R. tinctorum*' un adının akla gelmesi de bunun göstergesidir. Ayrıca bu bitki özellikle kırmızı renk ve türevlerinin ana kaynağıdır.

Her ne kadar sentetik boyalarda renk çeşitliğinin fazlalığından söz ediliyorsa da (Öztürk 1992), doğal boyalarla da uygun metotlarla bunlara yakın renk çeşitliliğini bulmak mümkündür. Yaptığımız denemelerde bitkilerde bulunan boyarmaddelerin kalite ve kantitesi bilinerek kullanılmak suretiyle istenilen renk tonlarını her zaman elde etmek mümkün olacaktır. Yine birçok

literatürde (Enez 1987, Eşberk 1939, Eşberk ve Köşker 1953, Eyupoğlu ve ark. 1983, Harmancıoğlu 1955, Uğur 1988) gösterilen eski halılardaki renk uyumu aslında sentetik boyalı dokuma ürünlerinde de uygun renkler birlikte kullanılması şartıyla sağlanabilecektir. Burada önemli olan, sentetik boyalı ürünlerin soldukça göze nahoş görünmesine karşılık, doğal boyalar olsa bile parlaklık ve canlılığını koruyarak tercih sebebi olmaktadır.

Ülkemizin doğal floristik yapısını 3.000'i ülkemiz için endemik olan 9.000 civarında bitki türünün oluşturduğu kabul edilir. Doğal bitkilerin kullanım alanlarının gün geçtikçe artmasından dolayı, dünyamızda 50 yıl içerisinde 60.000 bitki türünün yeryüzünden silineceği tahmin edilmektedir (Paksoy ve ark. 1987). Burada gerek ülkemiz ve gerekse dünyamızdaki bitkilerin ne büyük ölçüde tehlike içinde olduğunu görmek pek güç olmasa gerek. Araştırmamızda kökboyamacılığı ile uğraşanlara hangi bitkide ve hangi coğrafya, ekosistemde bitkilerin ne oranlarda boyarmaddeler içereceği bulunup ona göre kültüre alınmasını sağlamak da hedeflerimiz arasındadır.

Olayı; ekonomi ve rekabet yönünden düşünecek olursak, son yıllarda doğal maddelere eğilimin artmasında olduğu gibi, doğal boyalı halı, kilim vb.maddelere de rağbet artmıştır. Ülkemizde dokumanın özellikle uzakdoğu ülkelerine (Çin, Hindistan,...) oranla çok pahalı olması, ürettiğimiz dokuma ürünlerinin fiyatını çok yükseltmektedir. Bu sebeple Avrupa ve diğer ülkeler halı, kilim vb. ihtiyaçlarını bu ülkelerde dokunmuş ürünleri alarak karşılamaktadır. Dolayısıyla gerek hammaddelerin ve gerekse işçiliğin ülkemizde yüksek olması pazar açısından rekabeti olumsuz yönde etkilemektedir. Ama gözardı edilmemesi gereken çok önemli bir husus vardır ki, batı ve diğer tüketici ülkeler doğal boyalı ürünleri, fiyatını ikinci plana iterek büyük oranda tercih etmektedir. Dolayısıyla bir ata mirası olan ve bu

konuda köklü bir geçmişe sahip olan ülkemiz, durumu (rekabet konusunda ve ekonomik açıdan) lehimize çevirme şansına sahiptir. Değişik derleme ve araştırmalarla işin sahteciliğine kaçmadan yapılacak-üretilecek doğal boyalı ürünler ihracatı geliştirip büyük ekonomik girdiler sağlayacaktır. Şöyle ki, sentetik boyalı 1 m² kilim 40-50 dolar civarında iken, aynı özellikte doğal boyalı kilim 250-500 dolar hatta daha fazla fiyatlardan alıcı bulabilmektedir. Ayrıca ülke toprakları içerisinde hiçbir ekonomik değeri olmayan bitkiler değerlendirilerek önemli döviz girdisi de sağlanacağı gözardı edilmemelidir. Buna karşılık bir çok boya bitkisinin farklı yerlerde bulunmasından dolayı temininde güçlükler doğabilir. Bu da kültüre alınmakla aşılabilecektir.

Bitkiler ile yapılan boyamalar, tekstil elyafı çok sayıda boyarmaddenin boyadığını göstermektedir. Ancak önemli bir husus vardır ki, o da bitki bünyesinde bulunan tüm boyarmaddelerin aynı boyama haslığına sahip olmamalarıdır. Böylelikle boyama esnasında tüm boyaların tekstil elyafa geçmesi ile ve boyama hata ya da metotlarından dolayı asıl boyarmaddelerin dejenerasyona uğraması sonucu haslık düşmektedir. Şöyle ki, zamanla bazı boyarmaddelerin yapısal değişimi sonucu sarı ile boyanan materyalin, bazı boyarmaddelerin haslığının düşüklüğünden dolayı kahverengiye dönüşmesi, koyulaşması esas boyarmaddenin rengini örtmektedir (Korur 1937).Yapılan çeşitli denemelerde özellikle ışık haslığı en yüksek olan sentetik boyaların bile Ankara güneşine dayanamayıp solduğu, bilhassa saf bitki ekstraktları (boyarmaddeleri) ile boyanan tekstil elyafın güneşten hemen hemen hiç etkilenmedikleri görülmüştür (Korur 1937). Geliştirmeye çalıştığımız ve araştırmalarımızda bu konuya özellikle dikkat edilmesi gaye edinilmiştir. Hatta bu amaçla, özellikle *R.tinctorum*' dan elde ettiğimiz ekstraktlarla boyamış olduğumuz yünlerin TSE' de haslık kontrollerini yaptırdığımız zaman, yünlerin boyalarının ışık haslığı 8 üzerinden 8 olarak tesbit edilmiştir. İncelediğimiz *R. tinctorum*'da hangi boyarmaddelerin daha has boya verdiği

öğrenilip, tekstil elyafa sadece bu boyarmadde bağlanmasına dikkat edilmelidir. Bu arada boyarmadde ve buna bağlı olarak haslık konusunda halıları haslık kalitesine göre sınıflandırmaya ileride ışıık tutacağı hedeflerimiz arasındadır.



TC MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI
İLKÖĞRETİM GENEL MÜDÜRLÜĞÜ
DİJİTAL İZLENİM VE YAYIN
KURUMU

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Taylor (1983), boyanmış materyal veya bitkilerdeki boyarmaddeleri spektroskopik yöntemlerle analiz etme yoluna gitmiştir. Bitkilerdeki boyarmaddeleri uygun çözücülerle çözdükten sonra spektroya vererek kalitatif ve kantitatif sonuçları elde etmiştir. Ancak boyanmış tekstil materyalinde mordan maddelerin varlığını dikkate alarak, öncelikle bunları yardımcı kimyasallarla (H_2SO_4 , etanol) uzaklaştırıp, metanol yardımı ile boyarmaddeleri çözüp-seyrelettikten sonra bunların hangi bitki-boyarmaddelerle hangi oranlarda boyandığını tesbit etmiştir. Ölçümleri Perkin-Elmer Model 402 kaydedici spektrofotometre ile gerçekleştirmiştir.

Pageorgiou ve ark. (1985), bitkilerin pigment- boyarmaddeleri kantitatif olarak TLC yöntemleriyle araştırmışlardır. Bir çok boyarmaddenin bu yöntemle incelenebileceği üzerinde durulmuştur. Doğal - bitki boyarmaddesinin gıda, şarap vb. kullanıldığı ve kullanılabileceğinden bahsedilip, bunların nasıl tanınabileceği yada ortaya çıkarılabileceği hususunda TLC'den kolaylıkla yararlanılabileceğini araştırmalarında göstermişlerdir. Dolayısıyla bu tür bilgilerden istifade ederek sentetik ve doğal boya ile boyanmış ürünlerin kalitesinin rahatlıkla bulunabileceğine dair bilgiler vermişlerdir.

Wouteurs (1985), HPLC (YBSK)' nin eski tekstil boyalarında antrakinon bileşiklerinin kalitatif ve kantitatif analizlerinde çok iyi bir teknik olduğunu vurgular. Araştırmacı bitki ve hayvansal kökenli antrakinon boyarmaddeleri üzerinde incelemeler yapmıştır. *Rubiaceae* familyası üyelerindeki boyarmaddeleri karşılaştırarak incelemiştir. Gerek bitki ve

gerekse tekstil ürünlerindeki önemli kırmızı renk boyarmaddeler olan alizarin, purpurin ve pseudopurpurin'in değişik deneylerle analizlerini yapmıştır. Ayrıca araştırmada kermes ve kokinal ile ilgili bulgulara da yer vermiştir. HPLC ve UV-VIS spektroskopi yöntemi ile tekstil boyaları, böcek ve bitkilerdeki antrakinonların kalitatif ve kantitatif analizlerini uygun çözücü ve standartlar kullanmak suretiyle bulunabileceğini yapmış olduğu denemelerle göstermişlerdir. Araştırmada Nucleosil C 18 kolonu, 4.1 X 150 mm dimmersiyonu kullanılmıştır. UV-VIS görünebilir dedektör olarak LC-75 dedektör (Perkin Elmer) den yararlanıp, 21-25°C de mobil faz %25 den %70'e 35 dak. içerisinde pompalanarak HPLC'de boyarmadde analizlerini gerçekleştirmeye çalışmıştır. Sonuçta; bu tekniğin antrakinon türevi bileşiklerin kalitatif ve kantitatif tayini için çok güçlü bir teknik olduğunu vurgulamıştır.

Jackman ve ark (1987), HPLC tekniği ile antosiyanin ve bitki bünyesinde bulunan başka kompleks maddelerin uygun şekilde ve saf standartlarla çalışıldığı zaman çok iyi kantitatif sonuçlar alınabileceğini vurgulamışlardır. Ayrıca kromatografik incelemelerle birlikte spektroskopik analizlerle daha iyi sonuca gidilebileceğini vurgulamışlardır.

Rabe ve ark.'ı (1990), HPLC ve UV/VIS-SPEKSTROSKOPİ Diode Array Dedection sistemi ile çeşitli boyarmaddelerin kalitatif ve kantitatif analizlerini yapmışlardır. 200 yıllık bir Niğde kilimindeki kırmızı rengin *R.tinctorum* 'a ait olduğunu ve içerisinde özellikle alizarin, pseudopurpurin, purpurin gibi boyarmaddelerin bulunduğunu görmüşlerdir. Bu metotla diğer luteolin, kuersitin, indigo vb. tüm boyarmaddelerin kolaylıkla analiz edilebileceğini ispatlamışlardır. Gıda ve tekstil ürünlerin hangi boya-boyarmaddelerin kullanıldığı bu araştırmalarla uygun standartlar, kolon vs. kullanılarak tesbit edilebileceğini bildirmektedirler.

Sato ve ark. (1991), *R.tinctorum*'u sükröz ve bitki hormonlu ortamda yetiştirmişlerdir. Sıvı IAA' li ortamda azami büyüme görülmesine karşılık sakkarozun artması ile büyüme oranı düşmüştür. Ancak %12 lik sakkaroz ortamında ve bitki hormonlarının ilavesi ile azami büyümenin yanısıra antrakinon üretiminin de sağlandığını, HPLC ile inceleyerek ispat etme yoluna gitmişlerdir.

Lodhi ve ark. (1994), *Rubia* türlerinin ihtiva ettiği alizarin miktarlarının tespitinde HPLC analiz metotunu kullanarak aralarındaki farkı araştırmışlardır. Burada *Rubia tinctorum* L. ve *Rubia peregrina* L.' yı çalışma materyali olarak kullanmışlardır. HPLC ile yaptıkları kantitatif analizlerde *R. tinctorum*' un *R. peregrina*' ya oranla çok fazla alizarin ihtiva ettiğini tesbit etmişlerdir. Dolayısıyla boyama materyali olarak *R. tinctorum*' un daha uygun bir bitki olduğu sonucuna varmışlardır.

Angelini ve ark. (1997), *Rubia tinctorum* L. köklerinde bir çok antrakinon üretildiğini ve bunlardan alizarinin tekstil boyamacılığında kullanılabileceği sonucuna yapmış oldukları çalışmalarla varmışlardır. Denemelerini *R. tinctorum* rizomlarındaki boyarmaddeleri metanol ve eter ile ekstrakte ettikten sonra HPLC yardımı ile analiz etmişlerdir. Araştırmacılar bitki bünyesindeki alizarin değişim oranının, genetik faktörlerden kaynaklanabileceğini dört kökboya genotipini inceledikten sonra vurgulamışlardır. Endüstriyel açıdan (boyama yönünden) pamuk, yün ve ipeğin %30 oranında kök kullanılarak en iyi sonucun alınabileceğini de tavsiye etmişlerdir.

Derksen ve ark. (1998), *Rubia tinctorum* L.' un ihtiva ettiği glikozit (ruberitrikasit, lucidin primeveroside) ve aglikozit (lucidin, alizarin, purpurin,

qunizarin) şeklindeki antrakinon boyarmaddeleri HPLC' de aynı anda incelemeyi başarmışlardır. Bu işi C₁₈-RP kolonu ile UV dedeksiyon kullanılarak özellikle rubieritrik asit, lucidin primeveroside glikozitleri ve lucidin, alizarin, purpurin, qunizarin aglikozitlerini aynı işlemde kolayca kalitatif ve kantitatif olarak analiz etmişlerdir.

Novatnà ve ark. (1999), Ters Faz HPLC Metodunu kullanarak eski tekstil materyallerindeki antrakinon ve naftakinon boyarmaddelerinin kalitatif ve kantitatif tayinlerini yapmışlardır. Bu çalışmalarını spektrofotometrik diode-array sistemi kullanarak desteklemişlerdir. Araştırmacılar tarihi tekstil ürünlerinden ekstrakte ettikleri sıvıyı HPLC' de özellikle alizarin ve purpurinin kalitatif tayinlerini gerçekleştirmişlerdir.

Eşberk (1938-1939), Anadolu'nun değişik köylerinde yaptığı araştırmalarda *R.tinctorum* , *Pinus brutia*, *Anthemis tinctoria*, *Berberis vulgaris*, *Rhus caryaria*, *Euphorbia* sp. ve *Carthamus tinctorium*'un doğal boyamacılıkta kullanılan önemli bitkiler olduğunu görmüştür. Köylüleri şap , göztaşı, yemek tuzu. kireç ve amonyağa kadar değişik yardımcı maddeleri mordan olarak kullanarak çok değişik rengi elde ettiğini, bunların bir çoğunun haslık derecelerinin sentetik boyalardan daha iyi olduğu konuları vurgulanmaktadır .

Eşberk ve Köşker (1945) araştırmalarında, *R.tinctorum*'un tarihsel durumunu, botanik ve kimyasal özelliklerini,yetiştirme usullerini belirtip, bu bitki ile yapılan bazı boya reçetelerini inceleyip sunmuşlardır. Araştırmada bitkideki boyarmadde miktarlarının değişik olduğu ve buna bağlı olarak da boyama reçetelerinde sapmaların olabileceği vurgulanmıştır. Araştırmacılar her yerden toplanan boya bitkisinin boyarmaddelerinin kantitesi-oranın farklı olduğu, boyamada kullanılan suyun sertliğinin ve mordan maddelerinin

farklılık ve oranlarının renkleri etkilediği belirtmişlerdir. Kökboyanın tarihsel durumunun ise şu şekilde özetlemişlerdir. Kökboya çok eski zamanlardan beri bilinen ve boyama işlerinde kullanılan bir bitkidir. Bilhassa Ortaçağda Anadolu'da geniş ölçüde kültürü yapılmakta ve çok değerli ihraç mallarımızdan birisini teşkil etmekteydi. Avrupada Türk-Edirne kırmızısı adı ile büyük bir şöhret kazanmıştır. Ancak bazı literatürlerde Doğudan öğütülmemiş olarak İtalya'ya getirilen kökboya bitkisinin Lizari veya Alizari adının verildiği, bu kelimenin ALİ ZARİ' den geldiği, Ali Zari'nin de bir İranlı olduğu yazılmak suretiyle Avrupaya gelen kökboyaların menşeinin İran olduğu söylenmek isteniyorsa da çeşitli literatürlerde Lizari ve Alizarinin İzmir'den ve Doğudan gelen kökboyalara söylendiğine rastlanmaktadır. Tarihsel tetkikler, bu bitkinin çok eskiden beri Türkler tarafından bilindiğini ve boyacılıkta kullanıldığını göstermektedir. Diğer taraftan kökboyanın Doğudan Batıya taşınmasında Haçlı seferlerinin önemli rolü olduğunu söylemek mümkündür. *R.tinctorum* bitkisi İzmir, Manisa, Alaşehir, Salihli, Kula, Uşak, Ankara, Afyon, Konya, Kayseri, Aksaray, Ürgüp, Çankırı, Sivas, Isparta, Burdur, Adana, Diyarbakır ve bir çok ilde rastlanılıp köklerindeki boyarmadde miktarı %1-4 arasında olduğu belirtilmektedir.

Eşberk ve Harmancıoğlu (1953), bazı bitkilerle boyanan tekstil ürünlerinin haslık dereceleri ile ilgili olarak yaptıkları araştırmada *R. tinctorum*'un bütün bitki boyaları arasında kendine has kıymetli renkler veren önemli bir bitki olduğunu belirtmişlerdir. Bundan elde edilen renklerin ışığa ve diğer haslıklara karşı olan değerleri bir çok bitkiye oranla daha iyidir. Özellikle şap, bikromat, bakırsülfat, demirsülfat gibi mordanlarla boyanan yünlerin diğerlerine oranla daha iyi olduğu belirtilmektedir. Bu bitkinin özellikle kırmızı renk ve türevleri için vazgeçilmez bir kaynak olduğu konusuna parmak basılmaktadır. Fazla ıslanmayan ve alkalilerden uzak ortamlardaki her üründe, bu bitkinin boyamada kullanılabileceği

vurgulanmaktadır. Ayrıca *R. tinctorum*'da bulunan antrakinonlardan alizarin, purpurin, garansin, garanceux'u ekstrakte ettikten sonra ayrı ayrı boyamada kullanmışlardır.

Schweizer'e (1964) göre, boyamacılık tarihinin en eski bitkilerinden biri de *R. tinctorum* 'dur. Türkiye'de kökboya veya boyacı kökü olarak bilinen bu bitki alüminyum, demir, bakır, çinko tuzları ve bikromat yardımı ile halen kırmızı rengin eldesinde kullanılmaktadır. Özellikle kalsiyum-alüminyum mordanı ile pamukta Türk kırmızısı denilen bir renk vermektedir. Doğal boyamacılıkta ayrıca sarı için *Reseda luteola*, mavi için *Isatis tinctoria*, kırmızı için *Crocus sativus*, *Anchuse tinctoria*, *Punica granatum*, *juglans regia*, Orta Amerika'da yetişmekte olan *Hematoxylon campechianum* L. boya bitkisi olarak kullanılmıştır. Blauholz adı verilen *H.campechianum* yün ve pamuğu alüminyum mordanı ile viole, çinko ile kırmızı-viole, kromla lacivert, demirle gri-siyah, ipeği de çok iyi bir şekilde siyaha boyamaktadır. Bitkisel kökenli boyarmaddelerin yanında hayvansal boyarmadde-boya kaynakları da vardır. Meksika'da bazı kaktüs türleri üzerinde yetişen *Coccus cacti*'nin dişisi, Akdeniz'de bulunan *Purpura* ve *Mureks*' de indiğö türevi boyarmadde ihtiva edip, purpur kırmızısı, yine Akdeniz yörelerinde bulunan *Kermes ilisis*'den kermes kırmızısı elde edilmektedir. Doğal boyamacılık her ne kadar tekstil ve ekonomi açısından önemliyse de geçmişte ve günümüzde önemli zorluklarla karşılaşmaktadır. Yün, Pamuk, ipek gibi tekstil elyafların aynı Metotla farklı renk vermesi haslık derecesinin yüksek olması için özel tekniklerin gerekliliğı, doğadaki değişik renkli çiçeklerin bir çoğunun boyama özelliğinin olmaması önemli hususlardandır (Baykara 1992).

Yakar (1964), *R.tinctorum*' un da bulunduğö birçok bitkinin morfolojik, ekolojik vb. özellikleri hakkında bilgi vermişlerdir. Ayrıca bu

bitkilerin tıbbi, farmakolojik ve boyama özelliği konularından da bahsetmektedirler.

Anonim' de , doğal boyaların önemi üzerinde durulup, özellikle kırmızı rengin esas kaynağı olan *R.tinctorum* 'un üstün nitelikli birçok boyarmaddeyi (alizarin, purpurin, pseudopurpurin, rubiadin,..) köklerinde bulundurduğuna değinilmektedir (Meydan Laurosse 1972-1973).

Schaefer (1973), *R.tinctorum* 'un Avrupa'da kırmızı renk veren sarılıcı bir bitki olarak tanındığından ve birinci yüzyılda Roma civarında çok rastlanılan bu bitki ortaçağda kültüre alınmaya başlanmıştır (onbeşinci yüzyılda). Olgunlaşması için üç yıla ihtiyaç olan bu bitki, nemli iklimlerde daha iyi yetişmekte ve fakat uzunca bir uğraşa ihtiyaç duyulduğunu vurgular. Daha sonraları İzlanda'da üretilen bu bitkiyi kıraç topraklarda yetiştirme imkanı olmamıştır. Bununla boyanan kırmızıyı Türk Kırmızısı diye Avrupa'nın tanıdığını vurgular. Endenozya'da kırmızı rengin *Bixo orellana* (safflower ve annatto tree) dan elde edildiği de ayrıca belirtilmektedir (Robertson 1973).

Thomson (1976), yapmış olduğu araştırmalarında, glikozit türevi olan antrakinonlara yüksek yapılı bitkilerde rastlanmadığını vurgulamıştır. Bu tür bileşiklerin bazı böceklerde, mantarlarda, *Rubiaceae*, *Liliaceae*, familyası üyelerinde olduğunu, hatta *Rubiaceae* üyelerinde 40 çeşit antrakinonun bulunduğunu bildirmektedir. Halkalı bir yapı gösteren bu bileşiklerin bir çoğu ise çift halkalı olup emodinden türediğini de belirtmektedir (Goodwin 1976).

Eyüpoğlu ve ark. (1983) derlemelerinde, tüm çağlar boyunca en önemli kırmızı boyarmadde kaynağının *R. tinctorum* olduğunu vurgulamaktadırlar. Bitkinin toprakaltı kısmı ile yapılan kırmızı renge Mısır mumyalarının

üzerindeki kumaşlarda dahi rastlanıldığı belirtilmektedir. Hatta Antik Philadelohia'nın onüçüncü yüzyılda Alaşehir adını alması bu bölgede özellikle *R. tinctorum* ve diğer bitkilerle boyamanın çok gelişmiş olduğuna bağlanmaktadır. Ayrıca bu bitkinin ihracatının-gelirinin, tahıl ve ipekten sonra Osmanlı İmparatorluğunda üçüncü sırada yer aldığına dair bilgiler de bulunmaktadır.

Samuk (1984)'un derlemelerinde, Uşak yöresinde *R. tinctorum*'un evvelce ziraatının yapıldığını, şimdi ise her yerde kendi kendine yetiştiğini ve bu bitki ile kavun içi renginden koyu kırmızıya kadar yün elyafın boyandığı belirtilmektedir. 1868 yılında C.Graber ve C.Liebermanist tarafından sentetik alizarinin imalatının yapılması ile tüm dünya ve ülkemizde *R. tinctorum*'un önemini yitirdiğini vurgulamaktadır .

Journal de Cosnstantinople' de (1984), yer alan bilgilere göre *R. tinctorum* en iyi killi-kumlu, kireçli-killi topraklarda yetişir. Tercübelere göre bu humus %5, %41 kireç, %27 kil, %27 kum'un bulunduğu topraktır. Nebati boyalar XIX. asır sonlarına kadar, boyacılığın gelişip yükselmesinde büyük etken olmuşlardır. Hemen bütün renklerin bitkileri olmakla beraber önemli olanları sarı rengi veren cehri ve safran, siyahı veren mazi ve nihayet kırmızı rengi veren kökboya -boyapürü'dür. Anadolu, Rumeli ve diğer yerlerde yetişebilen bu bitkilerden en önemlisi ve ekonomik getirisi olanı kökboyadır. Kökboya bitkisi Anadolu'nun hemen her tarafında yetişmekteyse de en iyisi ve en meşhuru Bakır, kasabasının mahsülüdür. Kırkağaç yakınındaki bu kasabadakinden başka Manisa, Akhisar ve Gelenbe'nin kökboyası da en iyiler arasındadır. Kıbrıs, Karaman ve Suriye'ninkiler ise düşük kalitedirler. Diğer taraftan Şam yöresi ve Kıbrıs'ta üretilen kökboyanın miktarı da azdır. Elde edilen kökboyalar Manisa, Kırkağaç, Akhisar, Kayacık, Demirci, Gediz, Şaphane, Gördes, Karahisar ve Balıkesir'den kara, Alaçatı, Sakız, Karaman,

Rodos, Kıbrıs, Midilli, Suriye ve Yunanistan'dan deniz yoluyla İzmir'e gelir. Buradan Avrupa'ya gönderilirdi. Anadolu'dan götürülen tohumlarla Fransa ve İtalya'da büyük bir kökboya ziraati gelişmiştir. Ancak Anadolu kökboyasının kalitesi bunlardan daha üstündür (Baykara 1992).

Bodur (1984), kökboyanın değişik kısımlarından Karapınar'lıların yünü boyadıklarının üzerinde durmaktadır. Bunlardan olgun meyvelerle açık- mavi, kökün kırmızı dış kabuğundan koyu kırmızı, kökün iç kısmından da koyu sarı-turuncu renk elde ettiklerinden bahsetmektedir.

Enez (1987), Anadolu'da yün boyamacılığında kullanılan bitkiler ve bunları ihtiva ettiği boyarmaddeler üzerinde yapmış olduğu araştırmasında kökboya olarak bilinen *R.tinctorum*'un pseudopurpurin, alizarin, purpurin, munjistin ve rubiadin gibi bir çok boyarmadde bulundurduğunu, özellikle de alizarinin oldukça önemli olduğu üzerinde durmuştur. Hatta Anadolu'nun değişik yerlerindeki *R.tinctorum*' larla farklı oranlarda boyarmaddeler taşıdığını vurgular. Şöyle ki, Ürgüp kökenlilerde %1,5, Konya kökenlilerde %3 alizarin saptanmıştır. *Rubia tinctorum* içerisindeki boyarmaddeler antrakinin türevi bileşiklerdir. Moleküller yapılarındaki benzerlik sebebiyle analizler sırasında bunların birbirine dönüşümü söz konusudur. Mesela, boyarmaddelerin yünden ekstraktı sırasında sürenin uzatılması veya ısının yükseltilmesi durumunda pseudopurpurin dekarboksilasyona uğrayarak purpurine dönüşebilir. Araştırmacı eski halılardaki renklerin hangi boya bitkisine ait olduğu konusunda TLC ile araştırmalar yapmışlardır. Ayrıca bitkilerin hangi aktif boyarmadde bulundurduğu konularında araştırma ve denemeler yaparak bunların hasılları ile ilgili ön bilgiler vermişlerdir.

Uğur (1988) yapmış olduğu araştırma ve denemelerde, Anadolu'da doğal boya kaynağı olarak kullanılan birçok bitki ve boyama metotlarını

belirtmektedir. Bunların içerisinde kırmızı rengin en önemli kaynağının *R.tinctorum* olduğunu özellikle belirtip, bununla çok değişik metot ve mordanlar kullanarak kırmızıdan mora kadar renk reçetelerini kapsayan bilgiler vermektedir. Ayrıca bitki ile boyanan ürünlerin haslıklarının diğer bir çok boya bitkisine oranla çok daha yüksek olduğunu vurgulamaktadır.

Uygur (1988) değişik kaynaklardan elde ettiği bilgilere göre, Türk kırmızısı fermente olmuş zentinyağı ile işleme tabi tutup, şapladıkdan sonra boyama işlemine geçildiğini ve çok güzel kırmızı renk elde edildiğini denemelerinde görmüştür. Ayrıca boyamada başka yardımcı maddeler de (mazılama, öküz kanı..) kullanılarak kırmızının değişik tonlarına pamuğu boyamanın mümkün olabileceği belirtilmektedir.

Emary ve Backheet (1998) çalışmalarında, *R. tinctorum* L.' un kurutulmuş köklerinden alizarin, lucidin-w-etileter, lucidin primeveroside dışında üç çeşit hidroksimetilantrakinonu spektroskopik analiz yöntemleri ile ayırmayı başarmışlardır. Bunlar: 1-hidroksi-2 hidroksimetilantrakinon 3-glikozit, 2-hidroksimetilantrakinon 3-glikozit ve 3,8-dihidroksi-2-hidroksimetilantrakinon 3-glikozit' i ilk kez *R. tinctorum*' un köklerinden izole etmeyi başarmışlardır.

Uysal (1989) yapmış olduğu araştırmalarda, Çanakkale ilindeki birçok boya bitkisinin morfolojisi, korolojisi ve boyamacılıkta kullanılması konularına değinmişlerdir. *R. tinctorum* 'un da yayılış, boyama özelliklerine değinip, bu bitkinin kırmızı rengin eldesinde kullanılan en önemli, vazgeçilmez bir materyal olduğunu vurgulamaktadır.

Yılmaz (1989), Van yöresinde yetişen birçok boya bitkisinin botanik ve boyama özellikleri ile ilgili yaptığı araştırma ve denemelerinde

R. tinctorum'un kırmızı renginin eldesinde önemli ve vazgeçilmez bir kaynak olduğunu belirtmektedir. Ayrıca genelde kırmızı renk için kullanılan bu bitkinin turuncu ve pembe gibi renklerin eldesinde de değişik mordanlar kullanmak suretiyle mümkün olabileceği de vurgulanılmaktadır.

Başer ve İnanıcı (1990) yayınlarında, boyarmaddelerin kimyasal yapısı hakkında bilgi verip, bunları değişik şekillerde sınıflandırmışlardır. Ayrıca eserlerinde boyarmaddelerin verdiği renkler hakkında bilgiler vermişlerdir. *R.tinctorum* bitkisinin ihtiva ettiği boyarmaddeler ve bunların kimyasal yapıları-özellikleri üzerinde durulup, bu bitkinin ihtiva ettiği boyarmaddelerin sentezi, bitkinin neresinde bulunduğu, pH ve benzerine bağlı olarak renk değişimleri konularına değinilmiştir. Bir maddenin boyarmadde olabilmesi için kromofor (-CO-, NO, -NO₃, -N=, N-) ve oksokrom (-NH₂ -NHR, -NR₂, -OH) gruplarını taşıması gerekir. Bunlar renk oluşumunda ve mordan boyarmaddelerinin elyafla birleşmesinde rol oynadığını bildirmektedirler.

Tuğrul (1995), kökboya üretiminde tohumların çimlenme oranlarının düşük oluşu, farklı ekolojilerde çimlenme yetersizliği genetik açılımlar sebebiyle bu yöntemi tavsiye etmemektedirler. Halbuki üst çeliklerin hem tohum hem de sekonder çeliklere oranla daha fazla köklenme özelliği gösterdiğini dolayısıyla üretimde bu durumun dikkate alınması gerektiğini vurgulamaktadırlar. Dikim zamanının da çimlenmede önemli bir faktör olduğunu vurgulayıp, Antalya şartlarında Kasım ayı dikimlerinin daha başarılı olduğunu bildirmektedir.

Ercan ve ark. (1995), araştırmasında *R.tinctorum* bitkisinin doku kültürü tekniğinden yararlanarak rejenarasyon yeteneklerini araştırmıştır. Çalışmalarında bitkinin yetiştirildiği ortama büyüme regülatörlerinin eklenmesi ile kök gelişiminin hızlandığı, buradaki rengin sarıdan kırmızıya

doğru değiştiğini gözlemişlerdir. Sonuçta boyama materyali olarak kullanılacak bu bitkinin tümünü kültüre almaktansa doku kültürü tekniği ile antrakinin sentezinin belirli dokularda sağlanabileceğini belirtmişlerdir. Bu arada antrakinin sentezi bakımından kallus ve köklerde sarıdan kiremit kırmızısına kadar değişik renkler gözlemediğinden bahsetmektedirler.

Chang ve ark. (2000), *Rubia cordifolia* L. bitkisinin köklerinden üç yeni antrakinin türevi boyarmaddeyi izole etmişlerdir. İzole edilen bu boyarmaddeler spektroskopik analizlerle tanımlanıp yapıları açıklanmıştır. Araştırmacılar spektroskopik analiz teknikleri kullanmak suretiyle bu tip boyarmadde ve pigmentlerin kalitatif analizlerinin yapılabileceğini çalışmalarında göstermişlerdir.

Paksoy ve ark. (1987), uzun yıllırdaki dengeye ulaşmış olan doğal ekosistemin sürekli kullanım neticesinde dengesinin bozulduğunu, bunun tamirinin ancak, bilinçli bir tüketimle ve boyamada kullanılacak bitkilerin doğadan sökülerek değil de kültüre alınarak faydalanılması ile sağlanabileceğini önermişlerdir. Bu bitkiler arasında endemik türlerin tanınması, üreme organları, bitkinin dallanma, yapraklanma, meyvelenme ve tohumların olgunlaşma zamanının araştırılması gerektiğine değinilmiş ve *Quercus coccifera* L. ve *Sideritis perfoliata* L. var. *Londensata* Boiss' in boyama özelliklerini araştırmışlardır.

Gök ve Serin (1987), kızılgağaç (*Alnus* sp.) kabuğunu boyarmadde kaynağı olarak kullandıkları çalışmalarında, değişik mordanlama metotları uygulayarak bu bitki ile oldukça has boyamalar yapılabileceğini göstermişlerdir. Özellikle budama ve kesim sonrasında herhangi bir işe yaramayan kabuklar değerlendirilerek ekonomiye katkılar sağlanacaktır. Yapay ipek ve yün bu bitki ile sıcak ekstraksiyonda ve son mordanlamada

kullanılarak boyama yapılırsa daha iyi sonuç alınabileceği de vurgulanmaktadır.

Mattoo ve ark. (1986), protein-boyarmadde arasındaki ilişkiler üzerinde araştırmalar yapmışlardır. *Salix alba*, *Punica granatum*, *Juglans regia* kullanarak yapılan araştırmada NaCl ve sistein'in belirli oranlarda protein-boyarmadde kompleksleşmesini ve renk keskinliğini artırdığı vurgular. Şöyle ki, sistein miktarı bol olan yün elyafın az miktarda NaCl ilavesi ile ve az miktarda bitki kullanarak çok daha iyi boyanabileceğini belirtmektedir.

Harrassowitz (1989) derlemelerinde, birçok bitkinin ilmi adı yanında değişik dillerdeki mahalli adlarının bulunduğu yayın hazırlamışlardır. *R.tinctorum* 'a Türkiye'de bostanotu, boyacıkökü, boyaçili, boyakökü, boyapürçü, çubuk boya, kırmızı kök, kızıl boya, kızılkök, kökboyası, yumurta boyası gibi isimler verildiğini yayınlarında sunmuşlardır.

Kaiser (1993), *Reseda luteola L.* ve *Serratula tinctoria L.* üzerine yapmış olduğu araştırmalarında, bitkilerin flavonoid içeriklerini incelemiştir. Boya bitkilerinin değişik organlarındaki boyarmadde kantitelerinin büyük farklılık arzettiğini gözlemiştir. Örnek verecek olursak ana dal ve saplarda %0,4, çiçekli dallar %1,1, yapraklar %2 ve %2,3 oranlarında flavonoid ihtiva etmektedir. Ayrıca, bitki kapsül-kabuk tohumlarındaki boyarmaddenin azlığını (%0,6) diğer araştırmaların aksi bir durum arzettiğini de vurgulamaktadır.

Korur'a (1937) göre, bazı bitkisel boyalar en iyi sentetik boyalardan, özellikle ışık haslığı bakımından daha dayanıklı-hastır. Yapılan çeşitli denemelerde ışık haslığı en fazla olan sentetik boyaların bile Ankara güneşine dayanamayıp solduğu, bazı nebati boyaların ise bilhassa saf bir şekilde ekstrakte edilerek boyanan materyallerin, güneşten hiç etkilenmedikleri

görüldü. Bu yüzden doğal boyaları iyi yetiştirmek, bunlarla iyi boyamalar yapmak sureti ile ekonomi-endüstri-kültürümüzde önemli katkılar sağlanacaktır. İran hükümeti, sentetik boyaların, bilhassa bunlar arasında yıkanma ve ışık haslığı düşük olanların memlekete girmesini şiddetli kanunlarla yasaklamıştır. Özellikle doğal boyaların kullanılması sebebiyle bugün Acem halılarının kıymeti, sentetik boyalarla boyanan Türk halılarından yüksektir. Araştırmacı bu durumları dikkate alarak bir çok ekstrakt metodu ve ayrıca, boyama teknik- örneklerini kitabında reçete halinde sunmuştur.

Harmancıoğlu (1955), bitkilerle yünleri boyayıp, onların ışık, su, sürtünme, deniz suyu, yıkama gibi haslıklarını araştırmış. Sonuçta ülkemizde yetişen birçok bitki ile değişik faktörlere dayanıklı boyamalar yapılabileceği, sonucuna varmıştır. Ayrıca ışık veya sürtünme, yıkama sonucu renkleri değişen (solan, koyulaşan, parlaklaşan) ürünlerin daha güzel bir görünüm arzettiklerini de belirtmektedir. Araştırmacı birçok bitkiden elde ettiği saf ekstraktlarla yünlerin daha iyi ve has bir şekilde boyanabildiğini vurgulamaktadır. Ayrıca elde edilen ekstraktların çok azı ile daha çok yünün boyanabildiğine de değinmektedir.

Munsel (1969), renklerin isim-sınıflandırılmasının zorluğunu, karmaşıklığını ve akılda tutulmasının güçlüğüne dikkate alarak “Munseli Renk Atlası” nı renk sanat dünyasına kazandırmıştır. Helmholtz tarafından ortaya atılan rengin üç sabit boyut veya özelliği, olduğu ancak bunun hayalle nasıl canlandırılabilirdiği hususunda bir imkanın olmadığı fikrinden hareketle, Munsel rengin üç özelliğini grafiğe dönüştürmüştür. Böylece sanat dünyasındaki karmaşayı büyük ölçüde ortadan kaldırmıştır.

Durul ve Aslanapa (1973), araştırmalarında Marco Polo'nun seyahatnamesinde “Dünyanın en iyi ve güzel halıları Anadolu'da dokunur”

ifadesini kullandığını vurgular. Ayrıca bu ürünlerin Mısır'dan Çin'e kadar ihraç edildiğinden de bahseder. O devirlerde gerek dokuma ve gerekse boyama özelliklerinden dolayı Türk kökenli halıların kalitesinin yüksek olmasından dolayı, bunların aranan ürünler arasına girmesini sağladığı da belirtilmektedir.

Moore ve Scheuer (1976) çalışmalarında, doğal boyaların bir başka yönünü dile getirmiştir. Araştırmacılar, sentetik boyaların bir çoğunun kanserojen aromatik bileşiklerin türevi olduğunu, bunlarla boyanan maddelerin ev ve işyerlerinde çok kullanıldığını, dolayısıyla bunların canlı bünyesinde birikim yaparak kansere yol açtığı konusu vurgulanmaktadır.

Paksoy (1983), 5 yıllık kalkınma planları verilerine göre, el halı ve kilim üretiminin talebi karşılamadığı ve buna bağlı olarakta boyamada yozlaşmaların ortaya çıktığını belirtmektedir. Araştırmasının sonuçlarında, sıcak ekstraksiyon yönteminin kullanıldığı bitkilerde fermente yönteminden daha iyi, ancak bitki türüne bağlı olarak soğuk ekstraksiyonun da iyi sonuçlar verebileceğini, dolayısıyla bitkilerle boyama yapmadan hangi yöntemin daha iyi sonuç vereceğinin mutlaka ön denemelerle belirlenmesi gerektiği kanısına varmıştır. Sanat, ekonomi, sağlık açısından önemine değindiği kökboyamacılıkla ilgili araştırmaların desteklenip üzerinde durulması gerektiğini de vurgulamaktadır.

Öztürk (1992), Sındırgı Yağcıbedir halılarında kullanılan doğal boyalar hakkında bilgi vermekle birlikte günümüzde tüm boyamalarda, boya banyosuna sentetik-toz boya katarak yünleri renklendirdiklerini gözlemlemiştir. Yörede bulunan bir çok bitkinin nasıl boyamada kullanıldığı hakkında bazı boya reçeteleri sunmuşlardır.

Selemoğlu ve Yıldız (1984), gıda maddelerine renk vermek amacı ile kırmızı pancarda bulunan pigmentlerin sitrik asit yardımı ile izolasyonu üzerine araştırmalar yapmışlardır. Kırmızı pancarın betalain olarak bilinen pigmentin önemli kaynağı olup, dondurma, şekerleme ve şerbet gibi gıdaların boyanabileceği vurgulanmıştır.

Paksoy (1985), meyan kökünü tekstil boyarmaddesi kaynağı olarak araştırmış olup denemelerinde, ekstraksiyon yöntemlerine bağlı olarak tekstil elyafın değişik tonlarda boyandığını görmüştür. Aynı zamanda ısının boyama ve boyarmaddenin suya geçişinde faktör olduğunu vurgulamaktadır.

Bu bitki Anadolu' da boya çili, boyalık kökü, boya pürçü, boya sanmaşığı, kuş dolaştıran otu, dil kanatan, kırmızı boya, yapışkan yumurta boyası vs. değişik isimlerle bilinir. Yün veya pamuklar kırmızı ve kırmızının tonlarına bu bitkinin kurutulup öğütülen yada yaş olarak elde edilen kökleri ile oldukça iyi boyanabileceğine değinmektedir (Anonim, Türkiye Gazetesi Rehber Ansiklopedisi).

3. MATERİYAL VE METOT

3. 1. Materyal

Araştırmamızda ülkemizin değişik yerlerinde bulunan *R.tinctorum* bitkisinin kökleri, boyama-boyarmadde analiz materyeli olarak kullanılmıştır. Bu bitkilerin nereden toplandığı Tablo 1’de gösterilmiştir. Numunelerden bazıları bir ve yaşlı kök oluşlarına göre ayrıca değerlendirilmeye alınmıştır.

Denemeler için toplanan bitki kökleri yaşlarına göre gruplandırıldıktan sonra yıkanıp, gölgede kurutuldu ve öğütülüp toz (un) haline getirildikten sonra denemelere alındı. Analizler iki kısımda gerçekleştirilip, birinci kısımda

Tablo 1 : *R. tinctorum* L. örneklerinin toplandığı bölgeler.

Örnekler	Bölge
R0	İstanbul (Yerel market)
R1	Karaman (Yaşlı kök)
R2	Karaman (Bir yıllık kök)
R3	Muğla (Yaşlı kök)
R4	Muğla (Bir yıllık kök)
R5	İnebolu (Yaşlı kök)
R6	Çorum (Yaşlı kök)
R7	Erzurum (Yaşlı kök)
R8	Sivas (Yaşlı kök)
R9	Malatya (Yaşlı kök)
R10	Beypazarı (Yaşlı kök)

yün elyaf boyanıp analiz edilirken, diğer kısmı ile direkt analiz işlemlerine geçilmiştir.

Yün boyanırken biz sadece şap+kremtartar kullanarak kırmızı rengi elde ettik. Mordan maddelerinin, değiştirilmesi ile kırmızıdan mora kadar rengin eldesi mümkün olacaktır (Durul ve Aslanapa 1973, Enez 1987, Eşberk ve Köşker 1945, Eyüpoğlu ve ark. 1983, Harmancıoğlu 1955, Korur 1937, Öztürk 1992, ...).

Rubia tinctorum L. Rubiaceae familyasının *Rubia* cinsine ait bir bitki olup, 38'i bulan diğer türleri Akdeniz çevresi, Asya, Meksika, Amerika gibi geniş bir sahaya yayılmıştır. Bu bitki ilaç (idrar söktürücü, doğumu kolaylaştırıcı ve antiskorbütik olarak) ve boya sanayiinde , bazı familya üyeleri ise süs bitkisi olarak kullanılır.

Rubia tinctorum L. çok yıllık, otsu, tırmanıcı ve sürünücü özelliklerde hermafrodit bir bitkidir. Gövde 1-2 (-5) m' ye kadar boylanabilip, sarılcı-tırmanıcı veya sürünücü karakterde, yeşilin tonlarında dört köşelidir. Yetiştği yere göre gövde 1-3 mm' ye kadar eni ulaşabilir. Gövdeden alınan kesitte en dışta kalın çeperli tek sıra halinde küremsi hücrelerden meydana gelen epidermis tabakası bulunur. Epidermisin üzeri kutukula ile örtülmüştür. Epidermisin altında ise ince bir şerit halinde kloronkima yer alır. Bunu korteks tabakası izler. Korteksin altında koleteral demetlerden oluşmuş iletim sistemi yer alır. Ksilemden sonra merkezde parankimatik öz bulunur. Yapılan incelemelerde gövdede yer yer stomaya da rastlanılmıştır. Dallar braktelerden birkaç misli büyük, tüysüz bazen nodyumların bulunduğu yerlerde sert tüyler mevcuttur. Gövde daha doğrusu toprak üstü organlar sonbaharda kurur (Başlar ve Oflas 1996).

Sensit ve derimsi yapıdaki yaprakların 4-6 tanesi bir nodyumdan çıkar. Lanseolat veya oblong-eliptikten genişçe ovata kadar farklılık gösteren yapraklar, yine yetiştirme ortamına göre 1.5-2.5 cm eninde ve 2-4.5 cm boyundadır. Yaprakların uç kısımları kuspilat veya kısa akuminata kadar farklılık göstermektedir. Yapraklar genellikle petiolu olmalarına karşılık bazal kısımdakiler sesil karakter taşır. Yaprak kenarları aşağıya doğru hafif kıvrık ve çok ince dişli, pürüzlüdür. Damarlanma ağsı ve özellikle yan damarlar alt yüzeyde barizdir. Brakte eliptikten genişçe ovata kadar varyasyon gösterir. Yaprığın üst ve alt epidermis tabakaları tek sıralı hücrelerden meydana gelmiş olup, her iki tabakanın üzeri de kutukula tabakası ile örtülüdür. Palizat parankimasi hücreleri tek sıralı olup, yaprığın kalınlığının hemen hemen yarısını oluşturur. Sünger parankimasi hücreleri ise daha küresimsi ve hücreler arası boşluğu çok fazladır. Alt epidermis tabakada amarilüs tipi stomaya rastlanılmasına karşılık, üst epidermiste stoma yoktur. Bu sebeple *R. tinctorum* hipostomatiktir (Başlar ve Oflas 1996).

Çiçek durumu yan tarafta ve uçta olup, çok dallanmış, seyrek ve piramit şeklindedir. Çiçek aktinomorf simetride, açık yeşil – sarı, 6-7 bazen 5 lobludur. Petaller triangular lanseolat, uç kısmı çıkıntılıdır. 6-7 bazen 5 adet stamen olup, stamenler epipetalus durumda, anterler oblong ve dorsifiks, anter tabanı obtuz, anter açılışı boyuna, teka düzeni ise paraleldir. Pistil tüysüz, stigma kapitat, stilus homostilus tiptedir. Meyve siyah renkli 4-5 mm çapında drupa tipinde, plasentalanma tipi ise basaldır (Başlar ve Oflas 1996).

Rizomlar birkaç mm'den 4-5 mm çapına kadar ulaşmaktadır. Rizomun en dışında parçalanmış epidermis tabakası ve düzgün bir şekilde sıralanmış hücrelerden meydana gelen periderm bulunur. Bunun altında parankimatik hücrelerden oluşan korteks ile vasküler sistem yer alır. En merkezde ise oldukça geniş bir yer tutan iri hücrelerden oluşmuş öz bölgesi bulunur (Başlar

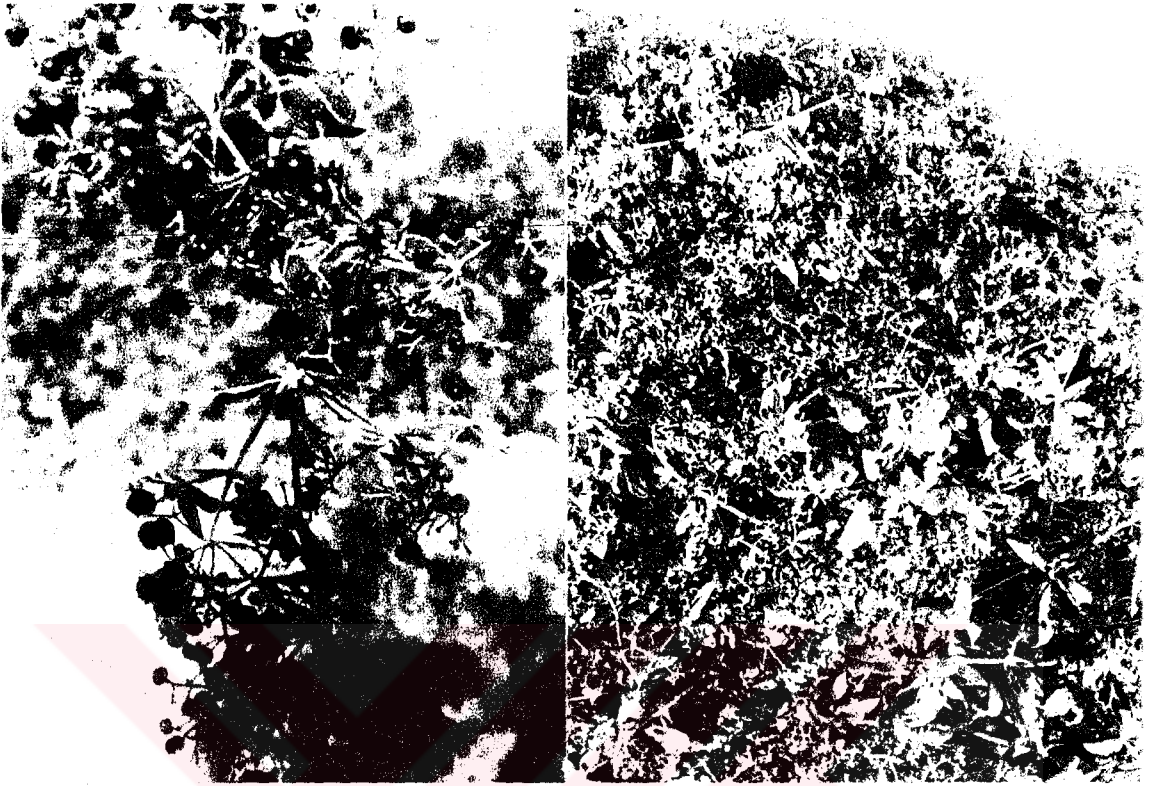
ve Oflas 1996). Kırmızı boya maddesi bitkinin köklerinde bulunup yaşlı kökler genç köklere oranla daha fazla boyarmadde ihtiva eder (Enez 1987, Eşberk ve Köşker 1945, Eşberk ve ark. 1953, Eyupoğlu ve ark. 1983, Harmancıoğlu 1955, Öztürk 1992, Sato ve ark. 1991, Uğur 1988, Uygur 1988, Uysal 1989, Yılmaz 1989). Yaz başlangıcı veya sonbaharda toplanılan bu kökler bitkinin yetiştiği yerin şartlarına göre %1-4 oranında boyarmadde (alizarin) bulundurur (Şekil 1).

Çok kuru olmayan kuvvetli topraklarda yetişen bu bitkinin Batı ve Orta Anadolu'da tarımı XIX.yy.'ın sonlarına kadar yapılmıştır. Sonraki yıllarda ise, genelde eskiden tarımı yapılan alanlarda görülmüştür. Karaman il sınırları içerisindeki Kılbasan / Boyalık mevkiinden toplamış olduğumuz bitkilerin yetiştiği topraktan fikir vermesi ve mevcut literatür bilgileri ile karşılaştırmak maksadıyla toprak analizleri yapılmıştır. Buna göre şu sonuçlar alınmıştır:

<u>Toprak Derinliği</u>	<u>Kil %</u>	<u>Mil %</u>	<u>Kum %</u>	<u>Bünye</u>
0-5 cm	24.8	42	33.2	L (Tınlı)
30-35 cm	26.8	40	33.2	L
55-60 cm	30.8	36	33.2	CL (Killi - tınlı)

<u>Toprak Derinliği</u>	<u>Toplam Tuz %</u>	<u>pH</u>	<u>Kireç % (CaCO₃)</u>	<u>Organik Madde%</u>
0-5 cm	0.8	7.8	22.8	4.14
30-35 cm	0.10	8.0	25.5	2.98
55-60 cm	0.14	8.0	29.5	1.92

Ayrıca değişik derinliklerden aldığımız toprak numunelerinde yapılan nem miktarları analiz sonuçları aşağıda verilmiştir:



a



b

Şekil 1. *Rubia tinctorum* L. bitkisi ve köklerinin görünümü (a:Üst organlar,b:Kökü).



c
Şekil 1 *Rubia tinctorum* L. bitkisinin genel görünümü

1. 0-5 cm derinlikte;

$$M_0 = 48,288 \text{ gr}$$

$$M_1 = 81,600 \text{ gr}$$

$$M_2 = 79,918 \text{ gr}$$

$$\% \text{ Nem} = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \cdot 100 = \frac{81,600 - 79,918}{81,600 - 48,288} \cdot 100 = 5,049$$

2. 30-35 cm derinlikte;

$$M_0 = 50,957 \text{ gr}$$

$$M_1 = 91,092 \text{ gr}$$

$$M_2 = 86,660 \text{ gr}$$

$$\% \text{ Nem} = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \cdot 100 = \frac{91,092 - 86,660}{91,092 - 50,957} \cdot 100 = 11,042$$

3. 55-60 cm derinlikte;

$$M_0 = 46,366 \text{ gr}$$

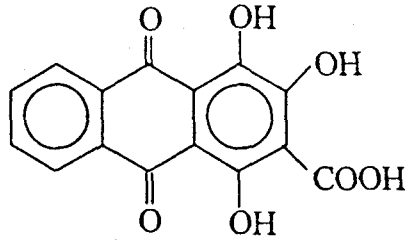
$$M_1 = 83,591 \text{ gr}$$

$$M_2 = 79,455 \text{ gr}$$

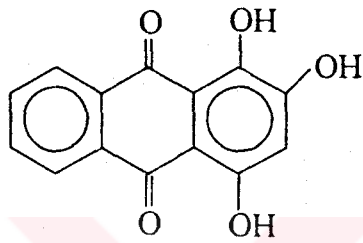
$$\% \text{ Nem} = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} \cdot 100 = \frac{83,591 - 79,455}{83,591 - 46,366} \cdot 100 = 11,087$$

Boyarmaddeler boyanmış yün ve bitkiden direkt olarak analiz edildi. Bitki köklerindeki antrokinonlardan alizarin, purpurin Ters Faz Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi (YBSK) Metodu ile belirlendi. Köklerin içermiş oldukları boyarmaddeler antrakinin türevleri olup, bitki de serbest veya glikozitler halinde bulunurlar. Bugüne kadar köklerden 22 antrakinin türevi izole edilmiştir. Bunlardan en önemlileri pseudopurpurin, purpurin, ksantopurpurin, munjistin, rubiadin ve sentetik olarak elde edilen ilk boyarmadde olan alizarindir. Bazı antrokinon türevleri ve kimyasal yapıları Tablo 2' de verilmiştir.

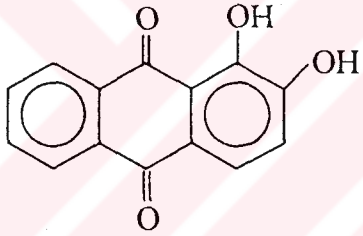
Cisimlerin yüzeylerini çevrenin olumsuz etkilerinden koruyan ya da güzel görünmesini sağlamak için kullanılan, genellikle inorganik yapıdaki maddelere "boya" denir. Olay aslında bir örtme işi olup, yüzeyden kazımakla büyük parçalar halinde uzaklaştırılabilir. Bunun yanında tekstil elyafların

Tablo 2. *Rubia tinctorum L.*'da bulunan bazı antrakinonların kimyasal yapısı.

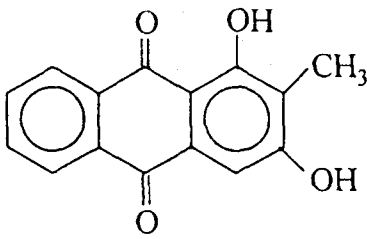
Pseudopurpurin



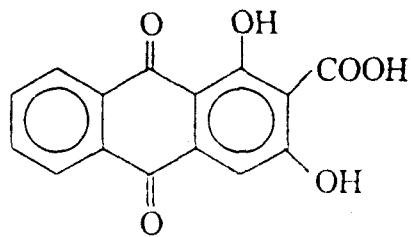
Purpurin



Alizarin



Rubiadin



Munjistin

(yün,ipek,pamuk..) kendilerini renkli hale getirmede kullanılan, organik yapıdaki maddeler ise “ boyarmadde” olarak bilinir. Ancak, her renk veren madde boyarmadde olmayıp, $-N=O$, $-N=N-$, $=C=O$, $=C=S$, $=C=C=$ gibi maddeye renklilik veren kromofor gruplar ile, $-NH_2$, $-NHR$, $-OH$, $-SO_3H$, $-OCH_3$ gibi oksokrom gruplardan bir veya birkaçını da bulundurması gerekir (Başer 1990).

Antrakınon boyarmaddeleri, molekül yapısında konjuge çift bağ ve bunlara konjuge durumda en az iki karbonil grubu taşıdığından karbonil boyarmaddelerden olup, hafif sarı renklidir (Başer 1990).Antrakınon grubu boyarmaddelere bitkilerden özellikle, *Rubiaceae* familyası üyelerinin bilhassa köklerinde serbest veya glikozitler halinde rastlanır (Harmancıoğlu 1955). Bunun yanında hayvansal kökenli antrakınon boyarmaddeler de (karmin asidi, kermes asidi,..) mevcuttur.

Biyokimyasal araştırmalar içerisinde yer alan ve klasik metodlarla (volumetrik, gravimetrik) ayrılamayan ya da istenilen sonuç elde edilemeyen bileşiklerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde kullanılan en önemli tekniklerden biri de kromatoğrafik yöntemlerdir. Bu işlemin gerçekleştirilmesinde ayrılacak maddenin fiziksel ve kimyasal özelliklerinden faydalanılır. Temel prensibi ise; bir karışımdaki maddelerin iki faz arasında dağılması esasına dayanır. Sistemdeki fazlardan biri duran (stasyoner) faz, diğeri hareketli (mobil) faz olarak adlandırılır. Devamlı temas halinde olan bu iki faz, ya poröz bir katı madde ya da katı bir destek maddesine emdirilmiş bir sıvı veya gaz olup, ayrılacak maddeyi taşır.İşte bu iki fazın farklılığına dayanılarak çeşitli kromatoğrafik teknikler geliştirilmiştir. Özellikle ısıdan etkilenen maddelerin dolayısıyla boyarmaddelerin kalitatif ve kantitatif analizlerinde çok kullanılan ve sıvı kromatoğrafisinin geliştirilmiş bir şekli

olan “Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi” (YBSK- HPLC) tekniğine göre analizler yapıldı.

Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi , çok küçük tanecikli duran fazın sütun etkinliğini artıracak fikrinden hareketle 50 μm ’ dan daha küçük çaplı, düzenli şekilli ve basınca dayanıklı tanecikli adsorbonların elde edilmesi ile bu yöntem geliştirildi. 150 μm çapındaki duran fazda çözücü yerçekimi etkisi ile akabilmekte, fakat daha küçük çaplı taneciklerden çözücünün akabilmesi için basınç uygulanması gerekmektedir. Dolayısıyla bu yöntemde yüksek basınca ihtiyaç vardır. 5 μm ’ a kadar küçük çaplı adsorbanlar kuvvetli adsorblama yeteneğinde olduğu için bu sistemin ayırma gücü çok yüksektir. Bu teknik kompleks bir sistemi gerektirip, yüksek basınçlı sıvı kromatografide hareketli fazı çözücü deposundan kolona yollayan bir pompa, bir mikroenjektör yardımı ile uygulanacak örnek çözeltisinin uygulanma bölümü, kolon, dedektör sistemi ve zamana karşı sinyalleri bilgisayar aracılığı ile değerlendirdikten sonra kaydeden integratör (yazıcı) bulunur.

Boyanmış materyalin analizinde HPLC cihaz ve şartları şöyledir:

Cihaz : Shimadzu LC-6A ve SİL-6A otomatik enjektör sistemi

Dedektör: Shimadzu SPD 6/AV UV-VS,415 nm.

Kolon : Separon SOX super C18, 5 μ (150x4.6 mm), TBAM-ELSKO kolon.

Kökten direk analizdeki HPLC cihaz ve şartları :

Cihaz : Shimadzu LC-6A ve SİL-6A otomatik enjektör sistemi

Kolon : Ultracarb ODS-CZO (5 μm partikül çaplı, 15 cm, 4,6 mm iç çaplı phenomenex, USA).

Dedektör : Shimadzu SPD-6AV UV-Visible Khomatopak entegratör : Shimadzu C-R4A model.

3. 2. Metot

Materyal olarak kullanacağımız bitkilerdeki boyarmaddeleri boyanmış yünden izole ve kökten direkt ekstrakte ettikten sonra iki çeşit analize tabi tuttuk.

3.2.1 Boyalı materyalden antrakinon analizi

Boyama denemelerinde saf koyun yünü herhangi bir yıkama veya işleme tabi tutulmaksızın, eğrilip mordanlandıktan sonra analizde kullanılmıştır. Boyama işlemi, önceden mordanlanarak boyama metoduna göre gerçekleştirildi. Buna göre yünler, %30 şap $[KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O]$ + %15 kremtartar ($KHC_4H_4O_6$) ile 70 °C' de termostatl ısıtıcı kullanılarak 12 saat mordanlandı ve soğumaya bırakıldı. Diğer taraftan boyama materyali olarak kullanılan kök numuneleri değirmende öğütüldükten sonra yüne göre 1/1 oranında beherlerin içine konulup benmaride su içinde 24 saat, 60°C de bekletildi. Daha sonra önceden mordanlanan yünler, temiz su ile yıkayıp 40°C ye kadar soğumuş olan boya banyosunun içerisine atıldı. Zaman zaman karıştırarak 50°C de 24 saat boyama işlemi yapıldı. Boyanan ip numuneleri temiz su ile yıkandıktan sonra kök numunelerinden yüne bağlanan antrakinon türevi boyarmaddelerin analiz yapılmak maksadı ile ayrıldı.

HPLC şartları :

Mobil faz : A : MeOH : HCOOH : H₂O (25 : 1 : 74)

B : AcCN : H₂O : HCOOH (69,5 : 25,5) 15 dk da % 25 B mobil fazından % 100 B mobil fazına çıkan gradient program uygulandı.

Akım hızı : 1,5 ml/dk

Enjeksiyon hacmi : 10 µl

Entegratör : Shimadzu C-R4A

Allt : 3

Standart çözeltiler :

Alizarin, 11 mg alizarin standartı mobil faz A da çözüldü ve 50 ml'ye yine mobil faz ile tamamlandı. Bundan 1 ml alınıp 10 ml'ye seyreltildi. Bu çözelti stok olarak kullanılarak, $4.4 \cdot 10^{-3}$ - 2210^{-3} mg/ml konsantrasyon aralığında beş adet seyreltme çözeltisi hazırlandı ve konsantrasyon (mg/ml)-alan değerleri kullanılarak kalibrasyon doğrusu çizildi ($r=0.9998$, $y=2983703.15 x + 1780.14$).

Purpurin, 5.9 mg purpurin 100 ml'ye Mobil faz B ve EtOH ile çözülerek hacme tamamlandı (0.059 mg/ml). Bu stok çözeltiden $5.9 \cdot 10^{-3}$ - $4.72 \cdot 10^{-2}$ mg/ml konsantrasyon aralığında seyreltmeler hazırlanıp kalibrasyon doğrusu çizildi ($r = 0.9998$, $y = 0.1344047.13 x - 43.49$).

Numune Çözeltilerinin hazırlanması :

Daha önce boyanan yün numuneleri kapaklı tüplere 50 mg olarak alındı. Üzerine 3 ml 3N HCl. (MeOH'da) ilave edilip 70°C lik su banyosunda 15 dk hidroliz edildi. Sıvı faz 10 ml'lik balon jojeye süzüldü. Bu işlem bir kez daha tekrarlandı. Süzüntüler birleştirilip 10 ml'ye MeOH ile tamamlandı. HPLC ye 10 µl enjekte edildi.

3.2.2. Kökten direkt antrakınon analizi

Kökten boyarmaddelerin ekstrakte edilmesi ile, değişik bölgelerden toplayıp çeşitli işlemlerden geçirdiğimiz ve toz haline getirdiğimiz

R.tinctorum kök numunelerindeki alizarin ve purpurin miktarları, Ters Faz YBSK Metodu ile kantitatif olarak belirlenmiştir.

HPLC şartları :

Shimadzu LC-6A sıvı kromatografisi sistemi, Shimadzu SIL-6A otomatik enjektör sistemi ile birlikte kullanıldı. YBSK analizleri, Ultracarb ODS-C20 (5 µm partikül çaplı, 15 cm x 4.6 mm iç çaplı, Phenomenex, U.S.A.) kolonu kullanılarak, 1.5 ml/dak akım hızında ve oda sıcaklığında yapıldı. Shimadzu SPD-6AV Uv-Visible dedektör ile 415 nm'de çalışıldı. Alınan kromatogramlar Shimadzu C-R4A model Chromatopac entegratör ile değerlendirildi. Hareketli fazlar ve gradient akış şeması ise aşağıdaki gibidir.

Hareketli faz A: MeOH : H₂O : HCOOH (25:74:1)

Hareketli faz B: AcCN : H₂O : HCOOH (69.5 : 29:1)

Gradient akış programı :

<u>Zaman :</u>	<u>Hareketli faz B konsantrasyonu :</u>
0	50
10	50
15	80
20	100
25	100

Antrakinonların ekstraksiyonu :

R.tinctorum köklerinde antrakinon türevleri hem serbest halde hem de O-tipi glikozitleri şeklinde bulunurlar. Bu sebeple ekstraksiyon işleminde öncelikle glikozitlerin hidrolizi ve sonra da glikozların bir organik çözücü ile ekstraksiyon basamakları vardır. Bu araştırmada, çeşitli ekstraksiyon ve

hidroliz metodları denenmiş ve bu yöntemlerin antrakınon içeriklerine etkileri incelenmiştir. Alizarin ve purpurin ekstraksiyonunda, ekstraksiyon metodları Tablo 3'de gösterilmiştir.

Antrakınonların ekstraksiyonu için en uygun yöntem Metot 5 olarak bulundu (Tablo 3). Dolayısıyla bütün *R.tinctorum* örnekleri Metot 5'e göre ekstre edildi. Kök (0,3g) MeOH : H₂O : 25% FeCl₃ : HCl (kons.) (2:3:1:2) karışımı ile 70°C de 30 dak. hidroliz edildi. Antrakınonlar CHCl₃ (5m x 3) ile ekstre edilip CHCl₃ fazları vakum altında yoğunlaştırıldı ve bakiye 25 ml. MeOH de çözülüp analiz edildi.

Standart çözeltiler :

Öncelikle 10,6 mg alizarin ve 13,6 mg purpurin 50 ml metanol ile çözülerek standart stok çözeltiler hazırlandı. Bu stok çözeltiden 0,5, 1, 2, 3

Tablo 3. Antrakınonlar için denenmiş ekstraksiyon metotları .

Metot 1: MeOH : H₂O (1:1) ile, 24 h soksalet ekstraksiyonu.

Metot 2 : MeOH : H₂O (1:1) ile, 24 h, karanlıkta maserasyon.

Metot 3 : CHCl₃ (su ile doyurulmuş) ile 12 h, karanlıkta maserasyon.

Metot 4 : MeOH : 3N HCl (1:1) ile 70°C'de, 30 dak hidroliz

Aglikonlar toluen ile ekstre edildi.

Metot 5 : MeOH : H₂O : 25% FeCl₃ : HCl (kons.) (2:3:1:2:) ile 70°C'de

30 dak hidroliz Aglikonlar CHCl₃ ile ekstre edildi.

ve 4 ml alınarak 5 ml' ye metanol ile seyretildi. Her çözeltiden 10 µl kromatografi kolonuna enjekte edildi.

Enjeksiyonlardan alınan kromatogramlardaki pik alanları konsantrasyona (mg/ml) karşılık kaydedildi. Çözeltilerden üçer enjeksiyon yapılarak sonuçların ortalaması hesaplandı.



4- DENEY SONUÇLARI

Daha önce iki basamakta incelemeye aldığımız, yani yünü boyayarak ve direkt kökten elde ettiğimiz ekstraktlar ayrı ayrı HPLC şartlarında kantitatif incelemeye alınmıştır. Sonuçlar ayrı ayrı değerlendirilmek üzere tablo haline getirilmiştir.

4. 1. Boyanmış Materyal Sonuçları

Yünden ekstrakte ettiğimiz numunelerdeki boyarmadde - antrakinin sonuçları bitkilerin bir yaşında, yaşlı ve karışık olma durumları da dikkate alınarak HPLC’de 7 ve 12 dak.larda alınıp Tablo 4’ de verilmiştir.

Tablo 4 : Çeşitli bölgelerden toplanarak boyanan yünden izole edilmiş *Rubia tinctorum* örneklerinde alizarin ve purpurin miktarları.

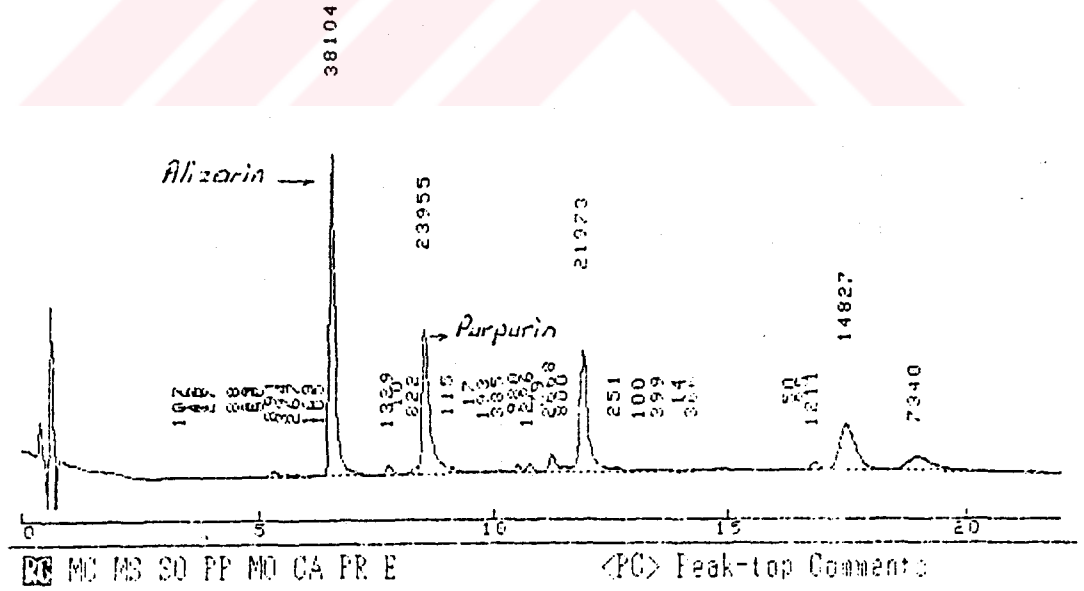
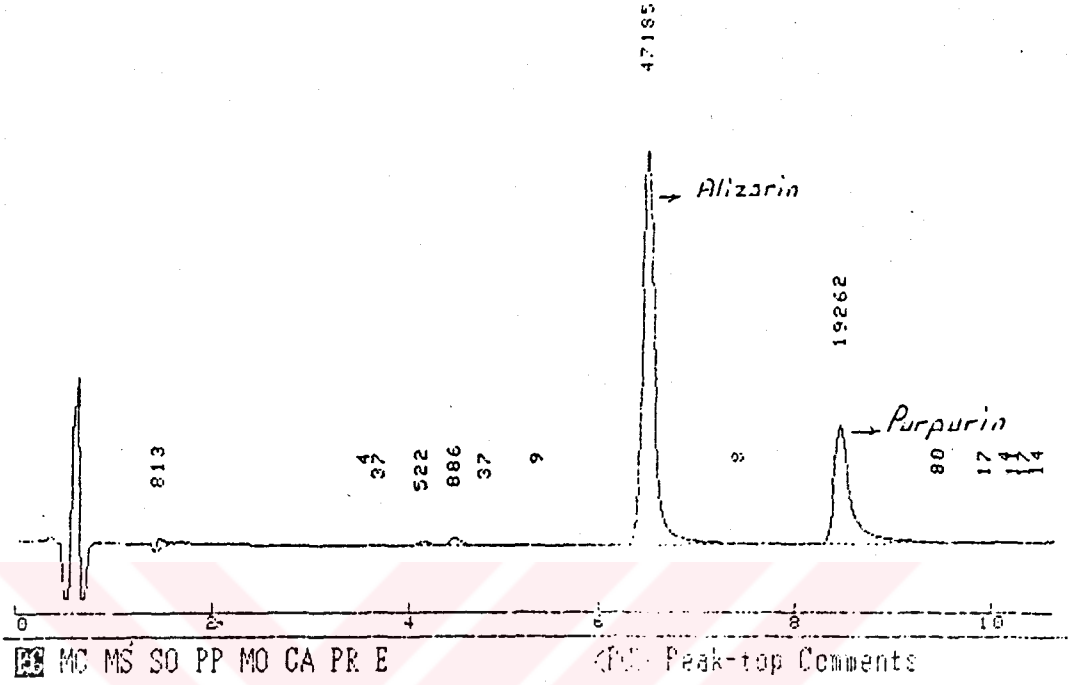
Yün Adı	Alizarin%	Purpurin %
Karaman (Bir yıllık kök)	0.30	0.71
Karaman (Yaşlı kök)	0.38	0.71
Karaman (Yaşlı+Bir yıllık kök)	0.27	0.34
İnebolu (Yaşlı kök)	0.35	0.83
İnebolu (Bir yıllık kök)	0.28	0.88
Muğla (Yaşlı kök)	0.16	0.42
Muğla (Bir yıllık kök)	0.22	0.35
Malatya / Darende (Yaşlı kök)	0.46	0.41
Malatya/Dar (Bir yıllık kök)	0.24	0.35
Çorum (Yaşlı kök)	0.15	0.20
Beypazarı (Yaşlı kök)	0.23	0.48
Erzurum (Yaşlı kök)	0.30	0.70

4. 2. Kökten Direkt Antrakinon Analiz Sonuçları

R. tinctorum numunelerindeki alizarin ve purpurin miktarları Metot 5 (Tablo.3.) uygulanarak ekstrakte edildikten sonra, HPLC'de kantitatif analizleri yapılmıştır. *R. tinctorum* köklerinden ekstrakte edilen boyarmaddelerden özellikle alizarin ve purpurinin HPLC' deki kromatoğramları ise Şekil 2'de görülmektedir. Boyarmaddelerin kolonda tutunma süreleri 7 ve 12 dakikalarda gerçekleşmiştir. Bu kromatoğramların alanları hesaplanarak kantitatif sonuçlar hesaplanmıştır (Tablo 5).

Tablo 5. Çeşitli bölgelerden toplanmış *R. tinctorum* örneklerinde alizarin ve purpurin miktarları.

ÖRNEK KODU	Alizarin %	Purpurin %
RO	0.67	0.40
R1	1.23	0.80
R2	0.70	0.58
R3	0.61	0.66
R4	0.24	0.44
R5	0.62	0.61
R6	0.28	0.55
R7	0.82	0.81
R8	0.39	0.70
R9	0.65	0.48
R10	0.16	0.26



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Anadolu'nun değişik yörelerinden toplanan *R. tinctorum* örnekleriyle boyanan yünlerden öncelikle ekstrakte edilen antrakinon türevi boyarmaddelerden alizarin ve purpurin miktarları HPLC ile kantitatif olarak tesbit edildi. Sonuçlar Tablo 5' de gösterilmiştir.

R. tinctorum ile boyanan yün örneklerindeki alizarin miktarının en fazla olduğu yer Malatya/Darende bölgesinden toplanan numuneden (%0.46) sağlanmıştır. En fazla purpurin ise İnebolu bölgesinden toplanan örnekte (%0.88) görülmüştür. Yine toplam en fazla antrakinon'a (%1.18) İnebolu yaşlı kök örneğinde rastlanılırken, en az antrakinon'a Çorum (%0.35) örneklerinde rastlanılmıştır. Buna karşılık alizarin miktarı en fazla olan Malatya bölgesinde toplam antrakinon daha az seviyededir.

Denemelerimiz için kullandığımız numunelerin bazıları bir yaşında ve çok yaşlı olarak değerlendirilmeye alınmış ve Tablo 6'da gösterilen sonuçlar ortaya çıkmıştır. Araştırmamızda yararlandığımız literatürlerde de (Baykara 1992, Enez 1987, Eşberk ve Köşker 1945, Eşberk ve ark. 1953, Eyüpoğlu ve ark.1983, Harmancıoğlu 1955, Korur 1937, Robertson 1973) vurgulandığı gibi bir yaşındaki (genç) köklerde alizarin miktarının yaşlı köklerden daha az olduğu görülmektedir.

R. tinctorum köklerdeki alizarin ve purpurin miktarları YBSK ile kantitatif olarak hesaplandığı yöntemde, bazı numunelerin bir yaşında ve yaşlı kök oluş durumu dikkate alınarak Tablo 7'de karşılaştırma yapıldı.

Tablo 6 : Bazı *R. tinctorum* örneklerinin yaş durumlarına göre yünü boyadıktan sonraki alizarin / purpurin miktarları.

Yöre-Bölge	%Alizarin /Purpurin Bir yıllık kök	%Alizarin /Purpurin Yaşlı kök
Karaman	0.30 / 0.71	0.38 / 0.71
Muğla	0.22 / 0.35	0.16 / 0.42
Malatya	0.24 / 0.35	0.46 / 0.42
İnebolu	0.28 / 0.88	0.35 / 0.83

Alizarin ve purpurin Ultracarb ODS-20 dak. içerisinde çok iyi bir şekilde ayrılmıştır. Ekstraktların kromatogramı Şekil 2'de gösterilmiştir. Alizarin ve purpurinin kolondaki tutunma zamanları 7 dak. ve 12 dak. dır. Her bileşiğin pik alanları hesaplanan konsantrasyon limitleri içerisinde doğrusal olarak bulunmuştur.

Alizarinin regresyon eşitliği $y=3139828.6 x + 1926.5$, purpurinin ise $y=1256885.3 x + 3.3$ olarak hesaplanmıştır (y:alan, x :alizarin ve purpurinin mg/ml konsantrasyonu).

Tablo 7 : *R. tinctorum* köklerinin yaş durumuna göre ayrıldıktan sonra, içerisindeki % alizarin / purpurin miktarları.

Yöre- Bölge	Bir yıllık kök % alizarin / purpurin	Yaşlı kök % alizarin / purpurin
Karaman	0.70 / 0.58	1.23 / 0.80
Muğla	0.24 / 0.44	0.61 / 0.66

Antrakinonlar, köklerde ya serbest halde ya da O-tipi glikozitler halinde bağlı olarak bulunurlar. Bu antrakinonların ekstraksiyonu için araştırmamızda, asidik ortamda hidroliz ile çeşitli ekstraksiyon metodları denendi ve sonuçlar Tablo 8’de verildi. Yerel aktardan aldığımız (RO) *R. tinctorum* örneğinde en yüksek alizarin ve purpurin verimi asit hidrolizi yöntemini içeren Metot 5 ile sağlanmıştır. Tablo 8’de *R. tinctorum* örneklerindeki antrakinonların ekstraksiyonu için denenen çeşitli yöntemlerin alizarin ve purpurin verimine etkileri gösterilmiştir.

Metot 4 ve 5’de alizarin ve purpurin içerikleri benzerdir. Ancak, Metot 4’de purpurin miktarı pseudopurpurin’in dekarboksilasyonu sonucu artmaktadır (Wouters 1985). Bu sebeble purpurin miktarı alizarinden fazla bulunmuştur. Metot 5’de ise alizarin miktarı yüksek ve purpurin miktarı sabit olarak bulunmuş, boyalı materyallerle benzerlik arzemiş olduğundan, diğer *R. tinctorum* örneklerinin ekstraksiyonunda Metot 5 kullanılmıştır.

R. tinctorum örneklerindeki alizarin ve purpurin miktarları Tablo 6’da verilmiştir. En yüksek antrakinon (alizarin + purpurin) verimi Karaman bölgesinden toplanan *R. tinctorum* örneğinden (%2.03) sağlanmıştır. Alizarin ve purpurin miktarları bir yaşındaki kök ve yaşlı kök örnekleri arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Burada yaşlı kök örneklerin bir yaşındaki kök numunelere oranla daha fazla antrakinon içerdiği söylenebilir.

Günümüz bilim-teknolojik imkanlarında pseudopurpurin’in izolasyonu güç ve ekonomik olmadığı için ticari olarak kullanılmaz (Rabe ve ark.1990). Ayırıştırılması güç olan bu boyarmadde her ne kadar tekstil boyamacılığı yönünden önemli ise de incelenmeğe alınmamıştır. Yine bu boyarmadde pH, ısı değişimlerinde dekarboksile olduğu için (Wouters 1985) purpurin miktarında yanılığların olması da muhtemeldir.

Tablo 8 : Ekstraksiyon yönteminin *R.tinctorum* (RO) da bulunan alizarin ve purpurin verimine etkileri.

Ekstraksiyon Metotları	% Alizarin	% Purpurin
Metot 1	0.40	0.06
Metot 2	0.22	0.01
Metot 3	0.14	0.02
Metot 4	0.40	0.70
Metot 5	0.67	0.40

Literatürde *R.tinctorum*'un değişik organlarında farklı kalite ve kantitede boyarmaddenin varlığından bahsedilmektedir (Kaiser 1993). Aynı şekilde bazı bilim adamları da bitkinin farklı organları ile değişik renklerin elde edildiğini vurgulamaktadırlar (Bodur 1984). Biz çalışmamızda özellikle bitkinin toprak altı organlarını kullandığımız için bu konuda herhangi bir değerlendirme yapmayı uygun görmedik. Ancak, toprak üstü organlardan kırmızı rengin elde edilmediğini yaptığımız ön denemelerde gözledik. Bu da gösteriyor ki toprak üstü organlarda alizarin, purpurin, pseudopurpurin gibi boyarmaddeler mevcut değildir.

Ürgüp kökenli *R.tinctorum*' larda %1.5, Konya (Karaman) kökenlilerde %3 oranında alizarin'in bulunduğu belirtilmekle birlikte (Enez 1987),yaptığımız denemelerde %3 olmasa bile Karaman kökenlilerde daha fazla boyarmaddeye rastlanmıştır (Tablo 8). Buna karşılık diğer bazı kaynaklarda (Baykara 1992) Kırkağaç yakınındaki Bakır kasabasında bulunan *R.tinctorum*'larda çok fazla boyarmadde olduğu, Manisa, Alaşehir ve Gelenbe'nin kilerde de iyi boya olmasına karşılık Kıbrıs, Karaman, Suriye köklerinin az boyarmadde ihtiva ettiğinden bahsedilir (Baykara 1992). Ekolojik faktörlerin boyarmadde miktarına etkili olduğunu söylebilmemize

karşılık, Karaman köklerinin bahsedildiğinin aksine oldukça fazla boyarmadde bulundurduğu görülmüştür. Karaman'da eskiden boyalık olarak kullanılan mevkilerden topladığımız köklerin bilinçli olarak bu yerlere ekildiği sonucuna varmakda mümkün görülmektedir.

Moore ve Scheuer (1976), sentetik boyaların kanserojen aromatik bileşiklerin türevi olduğundan ve canlı bünyesinde birikme özelliğinden dolayı ileride kanser yaptıklarından bahsetmiştir. Kaynağı tabiatta olan doğal boyaların kesinlikle bu şekilde risk tehlikesi yoktur. Şöyle ki, doğal boyamacılıkta kullanılan birçok bitki gıda (*Vitis vinifera*, *Rumex* sp.) içecek olarak (*Salvia*, *Tymus*...) tüketilmektedir. Ayrıca insan sağlığı açısından tehlike arzeden maddelerin tüketiminde kişilerin uyarılması zorunludur.

Korur (1937)'un da değindiği gibi, saf boyarmaddelerle (extrakte edilmiş boyarmaddelerden luteolin, kuersetin, alizarin..) boyanan materyallerin haslık derecelerinin çok yüksek olması mümkündür. Burada alizarin miktarının fazla olduğu tekstil materyallerin haslık derecesinin çok yüksek olmasına karşılık (Harmancıoğlu 1955, Korur 1937) düşük olduğu durumlarda özellikle ışık haslığının azalması söz konusudur. Dolayısı ile boyamalarda bu tür boyarmaddelerin yüne bağlanmasını sağlayacak metotlar bulup uygulamak yararlı olacaktır. Nitekim daha önceden yapmış olduğumuz boyama denemelerindeki haslık dereceleri, Korur (1937)'un görüşlerine uygun bir sonuç ortaya çıkarmıştır.

Aynı boya bitkisi ile boyanan yün, pamuk ve ipek gibi tekstil elyafın, aynı metotla farklı renk tonları verdiği bunların bir çoğunun da haslıklarının düşük olduğu literatürde belirtilmiştir (Baykara 1992) . Hayvansal ve bitkisel kökenli tekstil elyaflarının biyokimyasal yapısının (selülozik, protein) farklılığından dolayı bu sonuçların alınması muhakkaktır. Çünkü,

boyarmaddelerin değişik karakterli elyaflara kimyasal olarak bağlanma özellikleri mutlaka farklı olacaktır.

Sentetik boyaların gıda maddelerinde kullanımı kanser riskinden dolayı, genellikle yasaklanmıştır. Birçok bilim adamı gıdaların da doğal boyalarla boyanması için araştırmalar yapmaktadırlar. Bunlardan bir tanesi de kırmızı pancar olup, boyamada olumlu sonuçlar alınmıştır (Selemoğlu ve Yıldız 1983). Aynı şekilde 22 çeşit antrakininonun (Uygur1988, Wouters 1985) izole edildiğı *R. tinctorum*'daki bazı boyarmaddeler gıda, kozmetik vb. sanayiinde kullanılabilir.

Thomson yapmış olduğı araştırmalarda antrakininon türevi bileşik-boyarmaddelere odunlu bitkilerde rastlamamışlardır. Kemotaksonomik açıdan önemli bir bilgi olan bu durum ilerki çalışmalarda ışık tutucu (antrakininonlar açısından) bir ipucudur (Goodwin 1976).

Birçok literatürde de rastlandığı gibi (Ercan ve ark. 1995, Tuğrul 1995) *R.tinctorum*'un üretiminde, genelde üst çeliklerden yararlanılmakta ve tohumlarda çeşitli hormonların yardımı ile çimlendirilmektedir. Denemeye aldığımız numunelerin bazılarının kök parçası ve birkaç cm.lik üst dalının bulunduğu fidelerden ekim yaptık. Sonuçta %100'e yakın bir başarı elde ettik.

Paksoy (1983), arz talep durumunda, talebin çok olması sebebi ile boyamada yozlaşmanın olduğı, bu da ürünün sanat, ekonomik ve sağlık açısından olumsuz etkiler oluşturduğunu vurgulamıştır. Burada esas olan, kökboya ile uğraşanların çoğunluğu birçok rengi tutturamamakta ve aynı rengi elde edememektedir. Ondan dolayı da işin sahteciliğine kaçarak sentetik boya karıştırmaktadırlar. Kullandığımız metotda bu tür sahtecilikler kolaylıkla ortaya çıkarılmaktadır. Bu durumlar kökboya ile uğraşanlara uygun şekilde

anlatıldığı, yani olası sahteciliklerin kolayca tesbit edildiği anlatıldığı takdirde benzeri yollara başvurulması önlenebilecektir.

Denemelerimizde kullandığımız boyalı yünler ile köklerdeki antrakinon kantitelerinin farklı oluşu söz konusudur. Özellikle purpurinin miktarı boyalı yünde fazla oluşu, boyama metodundan ve pseudopurpurinin dekarboksilasyonundan kaynaklandığı düşünülebilir (Tablo 8). Burada boyama ve mordanlama işlemleri aynı su banyosunda ve sabit sıcaklıkta (70°C mordanlama / 50°C boyama) yapıldığı için ısı-sıcaklıktan kaynaklanan herhangi bir etki söz konusu değildir. Yine yünler aynı koyundan elde edilip, yünden kaynaklanan bir problemde mümkün görülmemektedir (Hayvanın beslenmesinden dolayı yünün biyokimyasal -protein- yapısındaki değişiklik). Böylece boyarmaddelerin, yün aynı protein tabiatında olduğu için, farklı şekilde (oranda) bağlanmaları da söz konusu olmayacaktır.

R. tinctorum tarlalarında, bağ, bahçe iç ve kenarlarında, boş arazilerde, nadasa bırakılan yerlerde, dere çevrelerinde yetişen, oldukça geniş bir yayılış alanı olan bir bitkidir (Başlar ve Oflas 1996, Davis 1965-1982,...). Bitki numunelerini toplarken hemen hemen Anadolu' nun her yerinde bu bitkiye rastlanılmış olup, bazı bölgelerden deneme örnekleri aldık.

Bu bitki özellikle kumlu-tınlı ve tınlı yapıdaki, hafif alkali-nöfr, tuzsuz, organik maddece zengin topraklarda çok iyi yetişmektedir. (Baykara 1992, Davis 1965-1988, Başlar ve Oflas 1996...). Analizini yaptırdığımız toprakta bu bilgilerle paralellik göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

R. tinctorum L. bitkisi Anadolu' nun hemen her yerinde yetişen ve yaşama toleransı oldukça fazla olan bir bitkidir. Özellikle kireçli, hafif kumlu-tınlı topraklarda çok iyi yetişmesine karşılık, ekim – dikim yapılan, nadasa bırakılan çit kenarları da dahil olmak üzere çok değişik toprak ve arazi parçalarında görülmüştür. Eski bir boyacılık merkezi olan Anadolu' nun bazı yörelerinde “boyalık” olarak kullanılan yerlerde ise, çok fazla oranda rastlanılmıştır.

Boyarmadde miktarları, bitki numunelerinin yaşına göre değişmektedir. Yapmış olduğumuz literatür taramalarında da bu konuya özellikle yer verilmiştir. Yapılacak boyamalarda standardın sağlanması (aynı renk tonunun sağlanması ve haslığın elde edilmesi) için, bitki miktarının yanında bitkinin yetiştirme yeri ve yaşlarının önemli derecede rol oynadığı bir gerçektir. Bu kaniya, aynı yörenin değişik yaşlardaki bitki numunelerinin analizleri ve boyanmaları ile varılmıştır. Dikkate değer bir hususda, kök numuneleri ile yapmış olduğumuz boyamalarda bir yıllık kök olanların yaşlı köklere oranla yün elyafı daha koyu renge boyadığıdır. Bu durum ise, alizarin miktarının bir yaşındaki köklerde daha az olduğundan kaynaklanmaktadır. Şöyle ki, alizarin sarımtırak renkte ve kırmızının açık tonlarına yünü boyamaktadır.

R. tinctorum L. bitkisinin değişik organlarından, farklı renk tonlarında yün boyanabilmektedir. Ancak toprak üstü organlarından kırmızı rengin eldesi mümkün olmamıştır. Köklerle ise kırmızının tüm tonlarından, turuncuya, mora ve değişik karışımlarla siyaha kadar rengin eldesi sağlanmıştır. Bu sebeple farklı mordan maddeleri kullanmak sureti ile değişik renkler elde edilebilir.

Önemli görülen diğer bir husus da, bitkilerle yapılacak boyamalarda uygun boyama metodu geliştirilerek haslık derecesi en yüksek boyarmaddenin yüne bağlanması sağlanabilir. Bu sayede de boyama kalitesi çok yüksek ürünler elde edilip, daha yüksek fiyatla satılması gerçekleştirilebilecektir. Yapmış olduğumuz boyaların ışık haslıklarının 8 üzerinden 8 olmasının bundan kaynaklandığı söylenebilir.

Boyama metodundaki farklılıklar, boyarmadde kalite ve kantitesinin önemli ölçüde etkilemektedir. Dolayısıyla, yapmış olduğumuz analizlerde boyalı ve direk analizi yapılan numune sonuçları farklı olmaktadır. Bu da gösteriyor ki, yünün boyanma metodu boyarmadde oranlarını farklı kılmaktadır.

Boyanmış yünlerde alizarin miktarı en fazla Malatya / Darende numunelerinde (%0,46), purpurin İnebolu örnekleri ile boyalı numunelerde (%0,88), toplam antrakinon İnebolu (% 1,18) yaşlı kök örneklerinde ve en az antrakinon Çorum (% 0,35) numunelerinde rastlanılmıştır.

R. tinctorum L. köklerinin yaş durumu dikkate alınarak guruplandırıldıktan sonra , direkt köklerdeki alizarin /purpurin miktarı analizinde ise, en fazla purpurin Erzurum (% 0,81), alizarin Karaman (% 1,23), toplam antrakinon Karaman'dan (% 2.03) ve en az antakinona ise Beypazarı (alizarin: %0.16, purpurin: %0,26) numunelerinde rastlanılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. ANGELINI, L.G., PISTELLI, L., BELLONI, P., BERTOLI, A., PANCONESI, S. 1997 *Rubia Tinctorum* A Source Of Natural Dyes: Agronomic Evaluation, Quantitative Analysis Of Alizarin And Industrial Assays. *Industrial Crops And Products* 6 (303-311) An International Journal.
2. ANONİM 1972 - 73. Meydan Laurousse. Cilt VII, XII.
3. ANONİM. Kökboya (*Rubia Tinctorum*), Türkiye Gazetesi Rehber Ans., Cilt No : 10.
4. BAŞER, İ., İNANICI, Y., 1990. Boyarmadde Kimyası. M.Ü. Teknik E.F. Tekstil Bölümü. Yayın No: 482/2 İstanbul.
5. BAŞLAR, S., OFLAS, S., 1996. Demirci (Manisa) ve Çevresinde Yayılış Gösteren *Rubia Tinctorum* L. (Rubiaceae) Üzerinde Morfolojik ve Ekolojik Araştırmalar Ege Ü. Z.F.D. Cilt 33 Sayı 1 İzmir.
6. BAYKARA, T., 1992. Osmanlılarda Medeniyet Kavramı ve Ondokuzuncu Yüzyıla Dair Araştırmalar. Ege Ü. E.F. İzmir.
7. BODUR, F. 1984. Karapınar Halıcılığı. Türk Dünyası Araştırmaları Dergisi (8 Ekim). Ankara.
8. CHANG, L. C., CHÁVEZ, D., GILLS, J.J., FONG, H.H.S., PEZUTO, J.M., KINGHORN, A.D., 2000. Rubiasins A-C, Nev Anthracene Derivatives From The Roots And Stems Of *Rubia Cordifolia* Program For Collaborative Research In The Pharmaceutical Sciences And Department Of Medicinal Chemistry And Pharmacognosy, College Of Pharmacy, University Of Illinois At Chicago, Chicago, IL 60612, USA.
9. DAVIS, P. H. 1965-1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol:1-10.
10. DERKSEN, G.C.H., VAN BEEK, T.A., DE GROOT, A., CAPELLE, A. 1998 High-Performance Liquid Chromatographic Method For The Analysis Of Antraquinone Glycosides And Aglycones In Madder Root (*Rubia tinctorum* L.) Laboratory Of Organic Chemistry, Phytochemical Section, Agricultural University, Dreijenplein 8, NL-6703 HB Wageningen, The Netherlands.

11. DURUL, Y., ASLANAPA, O. 1973 Selçuklu Halıları. Ak Yayınları Türk Süsleme Serisi 2 (Cumhuriyet 50.y.).
12. EL-EMARY, N.A., BACKHEET, E.Y., 1997. Three Hydroxymethylanthraquinone Glycosides From *Rubia Tinctorum*. Pharmacognosy Department, Faculty Of Pharmacy, Assiut University, Assiut, Egypt.
13. ERCAN, G., YÜCE, S., TURGUT, K., 1995. Kök Boya (*Rubia tinctorum*L.) Bitkisinin İn-Vitro Koşullarda Üretim Tekniği Üzerine Bir Araştırma. Ege Ü.Z.F. Tarla Bit. Böl. Bil.Der.Workshop Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bildiri Özetleri, İzmir.
14. ENEZ, N. 1987. Doğal Boyamacılık. Marmara Ü. Yayın No:449, İstanbul.
15. EŞBERK, T. 1939. Türkiye’de Köylü El Sanatlarının Mahiyeti ve Ehemmiyeti. Yüksek Ziraat Enstitüsü Çalışmaları Sayı:44, Ankara.
16. EŞBERK, T. KÖŞKER, Ö. 1945. Kökboya (*Rubia tinctorum*).Ankara Ü.Y. Ziraat Enst. Derg. 4:376.
17. EŞBERK, T., HARMANCIOĞLU. M., 1953. Bazı Bitki Boyalarının Haslık Dereceleri. Lifteknolojisi ve Köy Sanatları Kürsüsü, Ankara.
18. EYÜPOĞLU, Ü., OKAYGÜN, I., YARAŞ, F. 1983 Doğal Boyalarla Yün Boyama. Uygulamalı Eğitim Vakfı, İstanbul.
19. GOODWIN, T. W., 1976. Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments Volum 1, Academic Press, London, New York.
20. GÖK, Y. SERİN, S., 1987. Kızılağaç Kabuğu (*Alnus Mill*)’nun Tekstil Boyarmaddesi Olarak Değerlendirilmesi. K.T.Ü. Fen-E. F.Sayı III. Trabzon.
21. HARMANCIOĞLU , M. 1955. Türkiye’de Bulunan Önemli Bitki Boyalarında Elde Olunan Renklerin Çeşitli Müessirlere Karşı Yün Üzerinde Haslık Dereceleri. Ankara Ü. Ziraat F. Doktora Tezi. Ankara.
22. HARRASSOWITZ, O. 1989. Türk Sprachige Volksnamen Für Krauter und Stauden. Wiesbaden.

23. JACKMAN, R. L., YADA, R. Y., TUNG, M.A. 1987. A Review: Separation and Chemical Properties Of Anthocyanins Used For Their Qualitative and Quantitative Analysis. Journal of Food Biochemistry 11(1987) 279-308 All Rights Reserved. Westport.
24. KAISER, R 1993. Quantitative Analyses of Flavonoids in Yellow Dye Plant Species Weld (*Reseda luteola L.*) and Sawwort (*Serratula tintoria L.*) Angew. Bot. 67, 128-131 (1993). Göttingen.
25. KORUR, N. R. 1937. Türkiye’de Nebati Boyalar. Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü. Ankara.
26. LODHI, A.H., SANT’ANA, A.E.G., CHARLWOOD, B.V., 1994 Quantitative Analysis Of Alizarin In Tissue Cultures Of Rubia Species By High Performance Liquid Chromatography. Plant Tissue Culture And Molecular Sciences Group, School Of Life Sciences, King' s College London, Campden Hill Road, London W8 7AH, UK.
27. MATTOO, R.L., ISHAQ, M. SALEEMUDDIN, M. 1986. Pretoin Assay by Coomassie Brilliant Blue G-250-Binding Method Is Unsuitable for Plant Tissues Rich in Phenols and Phenolass. Analytical Biochemistry 163, 376-384 Aligarh 202001. India.
28. MOORE, R.E., P.J. SCHEUER. 1976. Enviromental Chemistry. Academic Press (500 s). New York.
29. MUNCELL, A. 1969. Standart Methot of Specifying by The Muncell System, ASTM Designation Baltimore, 1535-68.
30. NOVOTNÁ, P., PCÁKOVÁ, V., BOSÁKOVÁ, Z., ŠTULÍK, K.1999. High-Performance Liquid Chromatographic Determination Of Some Anthraquinone And Naphthoquinone Dyes Occurring In Historical Textiles. Department Of Analytical Chemistry, Charles University, Albertov 2030, 128 40 Prague 2, Czech Republic.
31. ÖZTÜRK, Y. 1992. Balıkesir-Sındırgı Yöresi Yağcıbedir Halıları.Kültür Bakanlığı 1395, Tanıtma Eserleri - 20. Ankara.
32. PAKSOY, G., DÜZENLİ, A., 1987. Ekosistemlerin Dengesini Bozmadan Doğal Bitkilerin Boyacılıkta Kullanımı, Adana.

33. PAKSOY, G. 1983. Bazı Doğal Bitkilerin Tekstil Boyarmaddesi Kaynağı Olarak Kullanılma Olanakları Üzerine Bir Araştırma. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. Adana.
34. PAKSOY, G. 1985. Meyan Kökü (*Glycyrrhiza Glabra L.*)'nün Tekstil Boyar-maddesi Kaynağı Olarak Değerlendirilmesi. Doğa Bilim Dergisi B.9.2. Ankara.
35. PAPGEORGIOU, V.P., LIAKOPOULON-KYRIAKIDES, PAPADAKIS, M.1985. Flavour and Fragrance Journal. Vol. 1. 21-24(1985).
36. RABE,J.G., BISCHOF., FISCHER,C.H.1990. Naturaliche Unde Synthetische Farbstoffe in Teppichen und Flachgeweben. Restauro. 3.
37. ROBERTSON, M.S., 1973. Dyes From Plants. Van Nostrand Reinhold Company (6.Schaefer in CIBA Review No.39) New York
38. SAMUK, G. 1984 Uşak Halılarının Dünü ve Bugünü. Türk Dünyası Araştırmaları Dergisi (Ekim - 1984)
39. SATO,K., YAMAZAKI, T., OKUYAMA,E.,YOSHIHIRA,K., SHIMOMURA,K.1991.Anthragnone Production By Transformed Root Cultures Of *Rubia tinctorum*: Influence Of Phytohormones And Sucrose Concentration Phytochemistry. Vol.30. No. 5. pp1507-1509. Printed In Great Britain.
40. SELEMOĞLU,A.,YILDIZ,F.1983. Kırmızı Pancardan Pigmentlerin İzolasyonu. Gıda Der. Yıl.8.Sayı:6 (Kasım-Aralık).Ankara.
41. TAYLOR,G.W.1983. Detection and Identification of Dyes on Pre-Hadrianic Textiles from Vindolanda. Textile History 14 (2), 115-124.
42. TUĞRUL,S.1995. Kökboya (*Rubia tinctorum L.*) Bitkisinin Üretim Teknikleri ve Agronomik Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Akdeniz Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi. Antalya.
43. UĞUR, G. 1988. Türk Halılarında Doğal Renkler ve Boyalar.İstanbul.
44. UYGUR, A. 1988. Ülkemize Has Bir Bitki Olan *Rubia Davisiana* 'nın Boyama Niteliklerinin İncelenmesi.Tekstil ve Makina Der. Ekim S.266.
45. UYSAL, İ. 1989. Çanakkale İlindeki Bazı Boya Bitkilerinin Morfolojisi, Korolojisi ve Boyacılıkta Kullanılması. Çanakkale Eğitim Yüksekokulu Araştırma Dergisi. 2:2 (156-196). Edirne.

46. YAKAR, N. 1964. Renkli Türkiye Bitkileri Atlası. İstanbul Üniversitesi Yayınları Sayı: 1090. İstanbul.
47. YILMAZ, İ. 1989. Van Yöresinde Yetişen Boya Bitkilerinin Tesbiti ve Bunlardan Bazılarının Yün İplik Boyama Özellikleri Üzerinde Ön Araştırmalar. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Yüksek Lisans Tezi. Van.
48. WOUTEURS, J. 1985. High Performance Liquid Chromatography Of Anthraquinones : Analysis Of Plant And Insect Extracts And Dyed Textiles. Studies in Conservation 30 (1985) 119-128.

