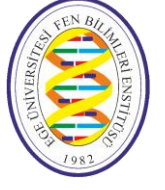




T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



ANANAS ATIKLARINDAN İZOLE EDİLEN BROMELAIN ENZİMİNİN TEKSTİL UYGULAMASI

Yüksek Lisans Tezi

Sena AÇIKGÖZ

Biyokimya Anabilim Dalı

İzmir

2022

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

ANANAS ATIKLARINDAN İZOLE EDİLEN BROMELAIN ENZİMİNİN TEKSTİL UYGULAMASI

Sena AÇIKGÖZ

Danışman: Doç. Dr. Burcu OKUTUCU
İkinci Danışman: Doç. Dr. Banu ÖZGEN KELEŞ

Biyokimya Anabilim Dalı
Biyokimya Yüksek Lisans Programı

İzmir

2022

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “ANANAS ATIKLARINDAN İZOLE EDİLEN BROMELAİN ENZİMİNİN TEKSTİL UYGULAMASI” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.. / .. / 2022

İmzası

Sena AÇIKGÖZ

ÖZET

**ANANAS ATIKLARINDAN İZOLE EDİLEN BROMELAIN ENZİMİNİN
TEKSTİL UYGULAMASI**

Açıkgöz, Sena

Yüksek Lisans Tezi, Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Burcu OKUTUCU

İkinci Tez Danışman: Doç. Dr. Banu ÖZGEN KELEŞ

Temmuz 2022, 108 sayfa

İnsanlar tekstil ürünlerini ilk çağlardan günümüze kadar ki süreçte farklı amaçlar için hayatın her alanında kullanmışlardır. Günümüzde tekstil ürünleri kullanım amaçlarına göre çeşitli fiziksel ve kimyasal ön işlemlerden geçerek insanlığın hizmetine sunulmaktadır. Dünya çapında nüfus artışı ile birlikte tekstil ürünlerine ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Buna bağlı olarak üretimde kullanılan toksik kimyasalların, suyun ve enerjinin kullanımı artmaktadır.

Artan dünya nüfusu ile birlikte gıda tüketimi artmakta ve atıkların da artmasına neden olmaktadır. Atıkların bertarafında kullanılan yöntemler (yakma, depolama, mikrobiyal degradasyon vb.) çevreye zarar vermektedir. Döngüsel ekonomi kavramına dayanarak hem tekstil endüstrisinde toksik kimyasalların kullanımı ve salınımını azaltmak hem de gıda atıklarının içeriğindeki yararlı bileşenlerden faydalanmak için multidisipliner çalışmalar yürütülmektedir.

Bu çalışmada tekstil endüstrisinde boncuklanmanın önlenmesi için ön işlemler sırasında kullanılan toksik kimyasalların yerine atık ananas kabuklarından izole edilen bromelain enziminin kullanılması hedeflendi. Yerel marketlerden ücretsiz olarak temin edilen ananas kabuklarından bromelain enzimi amonyum

sülfat ve etanol çöktürmesi kullanılarak izole edildi. Kumaş uygulamasında enzimin stabilitesini korumak, tekrar kullanılabilirliğini arttırmak, ortamdan geri kazanımını kolaylaştırmak ve maliyeti düşürmek amacı ile enzimin kitosanda enkapsülasyonu yapıldı. Farklı oranlarda kitosan ve bromelain karışımları tripolifosfat (TPP) içerisine damlatılarak boncuklar elde edildi. Boncukların dayanıklılığını arttırmak için dış yüzeyleri karboksimetil selüloz (CMC) ile kaplandı. Hazırlanan boncuklardan en iyi oran seçilerek yün kumaşın boncuklanmasının azaltılması için kullanıldı.

Yün kumaşın hidrofobikliğini gidermek için yüzey modifikasyonu yapıldı ve sonrasında glutaraldehit ile muamele edildi. Glutaraldehit ile muamele edilen ve glutaraldehit ile muamele edilmeyen kumaşlar her iki grupta ticari bromelain, atık ananas kabuklarından izole edilen bromelain, ticari bromelain boncukları ve atık ananas kabuklarından izole edilen bromelain boncukları ile modifiye edildi. İşlem görmüş kumaşlarda boncuklanma, mukavemet ve ağırlık değişim testleri yapıldı.

Tez çalışması sonucunda; atık ananas kabuklarından izole edilen bromelain enzimi ile hazırlanan boncukların tekstil endüstrisinde kullanılan toksik kimyasallara ve ticari bromelain enzimine alternatif olarak kullanılabileceği bulundu. Düşük maliyetli, katma değeri yüksek, çevre dostu bir tekstil modifikasyon yöntemi geliştirildi.

Anahtar Sözcükler: Bromelain, Atıkların Değerlendirilmesi, Yün Kumaş, Enkapsülasyon, Ananas kabuğu.

ABSTRACT**TEXTILE APPLICATION OF BROMELAIN ENZYME ISOLATED
FROM PINEAPPLE WASTE**

AÇIKGÖZ, Sena

MSc, Department of Biochemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Burcu OKUTUCU

Second Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Banu ÖZGEN KELEŞ

July 2022, 108 pages

People use textile products in all areas of life for different purposes in the process from the first ages to the present day. In today's conditions, textile products are offered to the service of humanity by going through various physical and chemical pre-treatments in line with their intended use. The need for textile products has increase day by with the increase in population worldwide. The use of toxic chemicals, water and energy used in production accordingly. When factory wastes containing toxic components are not disposed properly, they are got mixed with the limited natural resources, water, soil and air. Uncontrolled and careless release of waste negatively affects the entire ecosystem.

Today, with the increase in population density, a lot of vegetables and fruits are produced to meet the fnutritional needs of people. From the field to the table, some amount of grown products are lost due to decay and spoilage in many steps. In addition, disposal methods such as landfilling, incineration and composting of fruit and vegetable wastes separated after consumption are applied. Disposal of waste in this way harms the quality of life of people and the ecosystem. These food residues, which are left to deteriorate in nature as waste, contain many useful components necessary for humans.

Based on the concept of circular economy, multidisciplinary studies are carried out to reduce the use and release of toxic chemicals in the textile industry and to benefit from the beneficial components in the content of food waste.

In this study, it is aimed to use bromelain enzyme extracted from waste pineapple peels instead of toxic chemicals used during pretreatment to prevent felting and minimize pilling in the textile industry.

Bromelain enzyme was isolated using different techniques from pineapple peels obtained free of charge from local markets. Enzyme encapsulation preferred for enhancement of enzyme stability, reusability, cost and ease of use. The beads were obtained by dropping the mixture of chitosan and bromelain into tripolyphosphate (TPP). Obtained beads covered with carboxymethyl cellulose (CMC) to enhance the stiffness of beads encapsulated. The best ratio was selected from the prepared beads and used in the modification of the wool fabric.

Surface modification was made to reduce the hydrophobicity of the wool fabric and then treated with glutaraldehyde. Fabrics which are treated with glutaraldehyde and which are not treated with glutaraldehyde were modified with commercial bromelain, commercial bromelain beads, bromelain isolated from waste pineapple peels and bromelain beads isolated from waste pineapple peels. Pilling, strength and weight change tests were performed on the treated fabrics.

In conclusion of this study, it was seen that the bromelain beads isolated from waste pineapple peels can be used as an alternative to toxic chemicals and commercial bromelain used in the textile industry. A low-cost, eco-friendly, high value-added method has been developed.

Keywords: Bromelain, Reuse of Waste, Wool Fabric, Encapsulation, Pineapple peel.

ÖNSÖZ

Dünya nüfusunun artışı ve insanların tüketim çılgınlığının arka yüzünde atıklar bir çığ gibi büyüyor. Önceki nesillerden miras kalan doğal kaynaklarımız ciddi boyutlarda tükenme tehlikesinde ve bunun yanında elimizde kalan bu sınırlı mirası da bir yandan kirletmeye devam ediyoruz. Hem gelecek nesillere daha sürdürülebilir bir yaşam sunmak hem de yaşadığımız süre boyunca doğaya katkı sağlamak en önemli sorumluluklarımızdan biridir. Bu yüzden danışmanım Doç. Dr. Burcu OKUTUCU ve ikinci danışmanım Doç. Dr. Banu ÖZGEN KELEŞ ile atıkların değerlendirilerek tekstil endüstrisinde kullanımı için yeni yöntemler geliştirmeyi hedefledik. Hem tekstil endüstrisinde ürün işleme sırasında kullanılan toksik kimyasalların yerini alabilecek hem de atıkların değerlendirilmesi ile doğaya katkı sağlayabileceğimiz bir çalışma yapmaya karar verdik.

Uzun araştırmalar ve deneysel sürecin sonunda sabır ve emekle hedeflediğim sonuca ulaşmak beni daha çok çalışmaya ve yeni fikirler üretmeye teşvik etti.

İZMİR

../../2022

Sena AÇIKGÖZ



İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ	xi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
TABLolar DİZİNİ.....	xvii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ	1
1.1 Atık Değerlendirme	2
2. TEKSTİLDE ATIKLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	4
2.1 Tekstilde Enzimlerin Kullanımı	9
3. ANANAS.....	14
3.1 Ananas Atıkları.....	14
4. BROMELAIN (E.C. 3.4.22.4).....	20
4.1 Ananas Atıklarından Elde Edilen Bromelain Enzimi	24
5. ENKAPSÜLASYON ÇALIŞMASI.....	27
6. MATERYAL ve METOD	33
6.1 Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar.....	33
6.1.1 Kullanılan cihazlar.....	33

6.1.2	Kullanılan kimyasallar	34
6.2	Ananas Kabuklarından Bromelain İzole Edilmesi.....	35
6.2.1	Protein tayini	36
6.2.2	Aktivite tayini	37
6.3	Bromelain Enkapsülasyonu.....	38
6.4	Yün Kumaş Yüzeyine Enzimlerin (Ticari ve İzole Edilen Bromelain) Uygulanması	38
6.4.1	Yün kumaşlara uygulanan testler	39
7.	SONUÇLAR VE BULGULAR.....	40
7.1	Atık Ananas Kabuklarından Bromelain İzole Edilmesi.....	40
7.1.1	Protein tayini	41
7.1.2	Aktivite tayini	44
7.2	Ticari Bromelain (E.C. 3.4.22.32) ve İzole Edilen Bromelainin Enkapsülasyonu	46
7.3	Yün Kumaş Yüzeyine Enzimlerin (Ticari ve İzole Edilen Bromelain) Uygulanması	48
7.3.1	Yün kumaşlara uygulanan testler	49
7.3.1.1	Boncuklanma	49
7.3.1.2	Mukavemet değişimi.....	52
7.3.1.3	Ağırlık değişimi	53
7.3.2	İstatistiksel Analiz Sonuçları	54
8.	GENEL DEĞERLENDİRME.....	64

KAYNAKLAR DİZİNİ.....	66
KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)	67
KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)	68
KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)	69
KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)	70
KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)	71
KAYNAKLAR DİZİNİ(DEVAM)	72
KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)	73
KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)	74
KAYNAKLAR DİZİNİ(DEVAM)	77
KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)	78
KAYNAKLAR DİZİNİ(DEVAM)	79
TEŞEKKÜR	80

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 Atık yönetim stratejisinde 3R+R kuralı	3
2. 1 Yün lifinin enine kesit yapısal diagramı	5
2. 2 Boncuklanma oluşum şeması.....	6
2. 3 Tekstil endüstrisinde kullanılan enzimler.	10
3.1 Ananas meyvesinin yenilebilir ve atık bölümleri	15
3.2 Ananas atıklarının değerlendirilmesi.	16
4.1 Bromelain kimyasal formülü.	21
4.2 Bromelain 3D yapısı.	21
5.1 Kitosan ve tripolifosfat kullanılarak iyonotropik jelleşme yöntemi ile boncuk oluşumu.....	29
6.1 Bromelain izolasyon adımları.	35
7.1 Bromelain izolasyon adımları.	41
7.2 BSA standart grafiği.....	43
7.3 Tirozin standart grafiği.....	46
7.4 Sonraki adımda kullanılmak üzere seçilen boncuk görselleri.....	48
7.5 Boncuklanma testine tabi tutulan kumaşlar.	50
7.6 Boncuklanma derecesi kontrol şablonu.	51
7.7 Boncuklanma testi sonucu elde edilen sonuç görselleri.....	51
7.8 Mukavemet testi görselleri.....	53
7.9 Ağırlık değişim testi görselleri.....	54

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
6.1 Kitosan/ticari bromelain ve kitosan/izole bromelain boncuk oranları.....	38
6.2 Yün kumaşların farklı yöntemler ile modifikasyonları	39
7.1 Farklı çöktürme yöntemleri sonucunda elde edilen protein miktarları.....	42
7.2 Farklı çöktürme yöntemleri sonucunda elde edilen protein aktiviteleri.	44
7. 3 Farklı oranlarda hazırlanan kitosan/bromelain karışımlarının TPP içerisinde boncuk oluşturma sonuçları.	48
7.4 Ön işlem görmüş kumaşların ıslanma süreleri.....	49
7.5 İşlem görmüş kumaşların boncuklanma dereceleri.	49
7.6 Farklı işlem görmüş kumaşların mukavemet değişimleri.....	52
7.7 Farklı işlem görmüş kumaşların % ağırlık değişimleri.	54
7. 8 Mukavemet değişimi için ortalama ve standart sapma değerleri.....	55
7.9 Mukavemet değişimi için glutaraldehit muamelesi etkisinin normalite testi sonuçları.....	55
7.10 Mukavemet değişimi için glutaraldehit muamelesi etkisinin t-testi sonuçları.....	55
7.11 Mukavemet değişimi için enzim muamelesi etkisinin normalite testi sonuçları.....	56
7.12 Mukavemet değişimi için enzim muamelesi etkisinin incelenmesinde ANOVA testi sonuçları.....	56
7.13 Mukavemet değişimi için enzim muamelesinin etkisini incelenmesinde Bonferroni Post.Hoc.'u sonuçları.....	57
7.14 %Uzama değişimi için ortalama ve standart sapma değerleri.....	57

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
7.15 %Uzama değişimi için glutaraldehit muamelesi etkisinin normalite testi sonuçları.....	58
7.16 %Uzama değişimi için glutaraldehit muamelesi etkisinin t-testi sonuçları...58	58
7.17 %Uzama değişimi için enzim muamelesi etkisinin normalite testi sonuçları..59	59
7.18 %Uzama değişimi için enzim muamelesi etkisinin incelenmesinde ANOVA testi sonuçları.....	59
7.19 %Uzama değişimi için enzim muamelesinin etkisini incelenmesinde Bonferroni Post.Hoc.'u sonuçları.....	60
7.20 Ağırlık değişimi için ortalama ve standart sapma değerleri.....	60
7.21 Ağırlık değişimi için glutaraldehit muamelesi etkisinin normalite testi sonuçları.....	61
7.22 Ağırlık değişimi için glutaraldehit muamelesi etkisinin Mann-Whitney testi sonuçları.....	61
7.23 Ağırlık değişimi için enzim muamelesi etkisinin normalite testi sonuçları.....	62
7.24 Ağırlık değişimi için enzim muamelesi etkisinin incelenmesinde ANOVA testi sonuçları.....	62
7.25 Ağırlık değişimi için enzim muamelesinin etkisini incelenmesinde Bonferroni Post.Hoc.'u sonuçları.....	63

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler Açıklama

μ	Mikro
$^{\circ}$	Derece
α	Alfa
β	Beta

Kısaltmalar

FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
AOX	Adsorbe edilebilir organik halojenlerin
PMS	Peroksimonosülfürik asit
Ag	Gümüş
PEG	Polietilen glikol
TPP	Tripolifosfat
Cd	Kadmiyum
BSA	Sığır serum albümini
CMC	Karboksi metil selüloz
TCA	Trikloro asetik asit
Cu	Bakır
Cl	Klor
EtOH	Etanol

1. GİRİŞ

Tekstil ürünlerine ilk çağlardan itibaren giyinme, barınma, korunma, tedavi ve aksesuar olarak hayatın her alanında ihtiyaç duyulmuş ve kullanılmıştır. İhtiyaç duyulan ürünün kullanım amacına göre hayvan tüy, kıl ve derileri, ipek kozaları, bitki gövde ve yaprakları üretimde kullanılmaktadır. Ayrıca sentetik elyafların tekstil endüstrisine girmesi ile birlikte bu yelpaze çeşitlenmiştir. Tekstil materyalleri kullanıcıların ihtiyaç ve talep doğrultusunda çeşitli özelliklere uygun olarak üretilirler. Ancak üretim sırasında hidrofobiklik, boncuklanma, çekme, mukavemet kaybı, boyutsal stabilite sağlanamaması, boya alımı ve penetrasyonunda problemlerin oluşması gibi çeşitli sorunlarla karşılaşmaktadır.

Boncuklanma ve keçeleşme tekstil ürünlerinin en büyük problemlerindendir. Bu sorunların önüne geçmek için; Klor-Hercoset, klorlama, permanganat, di-kloro-izosiyanürik asit muamelesi gibi kimyasal yöntemlere başvurulmaktadır (Hasan and Carr, 2019). Ancak kullanılan bu kimyasal yöntemler sonucunda toksik ve çevreye zararlı; adsorbe edilebilir organik halojenler, aktif klor ve oksijen gazları salınımı gerçekleşmektedir (An et al., 2020; Bulut and Sana, 2018). Tekstil terbiye işlemlerinde kullanılan bu kimyasal yöntemlere alternatif olarak lipaz (EC 3.1.1.3), amidaz (EC 3.5.1.4), kutinaz (3.1.1.74), lakkaz (EC 1.10.3.2), transglutaminaz (EC 2.3.2.13) ve proteazlar gibi farklı enzim grupları kullanılmaya başlanmıştır (Fu et al. 2015; Song et al. 2012). Fakat enzimler pahalı olduğu için maliyeti arttırmaktadır. Atıklarında geri değerlendirme çalışması olan atıklardan enzim uygulamaları da tekstil endüstrisinde kullanılmaya başlamıştır.

Ananas son yıllarda üretimi hızla artan dünya çapında yetiştirilen en popüler üçüncü tropikal meyvedir. Taze tüketiminin yanısıra reçel, meyve suyu, konserve gibi paketli ürünler halinde de tüketilen ananas bitkisinin %30'unu tüketilen meyve kısmı, %70'i ise atık olarak ayrılan sap, kabuk, yaprak, çekirdek oluşturmaktadır. Bu atıkların hayvan yemi olarak kullanması ya da çöplerde çürümeye bırakılması yerine çeşitli endüstrilerde (kozmetik, gıda, tekstil) hammadde olarak kullanılmaktadır (Misran et al. 2019),

Bu çalışmada da hem atık değerlendirme hem de tekstillerdeki bu sorunu çözmeye yönelik ucuz bir kaynak olan atık ananas kabukları kullanılmıştır.

1.1 Atık Değerlendirme

Gıda ve Tarım Örgütü'ne (FAO) göre, üretici ve tüketiciler tarafından yılda yaklaşık 1,3 milyar ton gıda çöpe atılıyor. Bununla birlikte insan tüketimi için ayrılan mahsullerin tarladan sofraya yolculuğu sırasında çiftçilik, nakliye, depolama, işleme, toptan satış vs. gibi işlemlerde yaklaşık üçte bir oranında kayıplar yaşanmaktadır. Bu atıklar etik ve sosyal açıdan istenmeyen bir durum olmakla birlikte gıda üretim ve işleme için gerekli olan su, gübre, enerji gibi doğal kaynaklarında kaybına neden olur. Meyve ve sebze gibi tarımsal atıkların bertarafı genellikle arazide depolama ile çürümeye bırakılma, yakılarak veya direkt toprağa gömülme ile sağlanır. Depolama ya da benzeri bertaraf yöntemleri sonucunda yüksek miktarda nem, mikrobiyal bozulma, çürüme, kötü koku oluşturma gibi ciddi çevre sorunlarına ve karbondioksit, karbon monoksit, partikül madde salınımının artmasına, sera gazı emisyonunun ortalama %10 artışına neden olmaktadır. Atıkların hammadde olarak kullanımı ile hem çevre ve sağlık sorunları hem de maliyetin minimum seviyelere düşmesi sağlanabilir (Banerjee et al. 2018; Chauhan et al. 2021; Provin et al. 2021; Rico et al. 2020).

Atık yönetim stratejisinin temel 3R kuralına (Reduce, Reuse, Recycle) döngüsel ekonomi kavramına dayanarak 'yeniden işleme' (reprocess) başlığında dördüncü bir R eklenmesi şekil 1.1' de gösterildiği gibi önerilmiştir. Döngüsel ekonomi kavramı ile doğal kaynakları koruması ve endüstriyel simbiyoz doğrultusunda mevcut atıkların kaynak olarak yeniden kullanımının optimize edilmesi ile gelecek için yeni süreçlerin geliştirilmesini vurgulayarak bunu sürdürülebilir kalkınma ile birleştirilmektedir. Hızla büyüyen ve yoğun nüfus talebini karşılamak için artan kaynak, enerji ve malzeme ihtiyacı doğrusal ekonomiden döngüsel ekonomiye geçişin şart olduğunu göstermektedir(Provin et al. 2021; Rico et al. 2020).



Şekil 1.1 Atık yönetim stratejisinde 3R+R kuralı

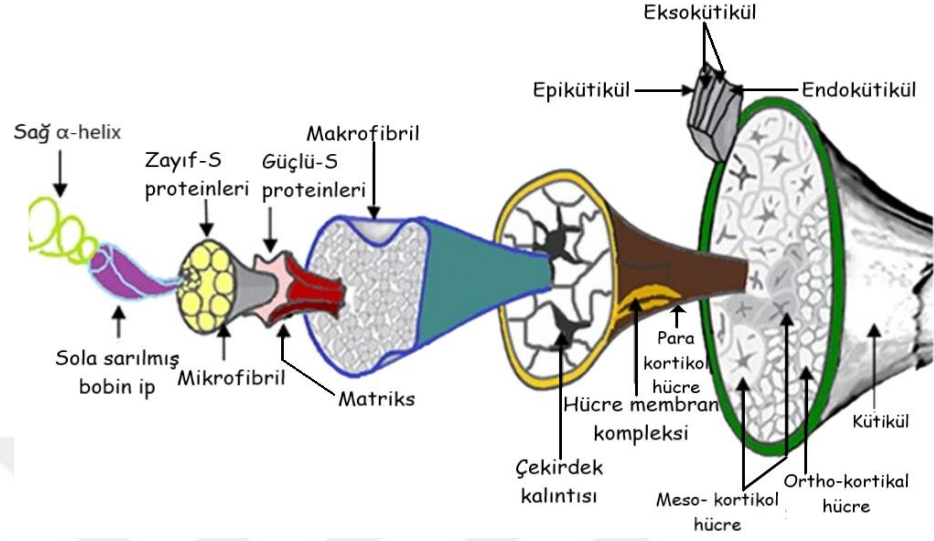
Halihazırda gıda fabrika ve şirketlerinin çoğu ticari değeri olmayan üretim sonucunda ortaya çıkan meyve ve sebze atıkları (kabuk, çekirdek, posa vb.) kompostlama ya da hayvan yemi olarak kullanımı için çok ucuza elden çıkarmaktadır. Ancak atık olarak ayrılan bu sebze ve meyve atıkları vitamin, mineral, fenolik bileşikler, diğer biyoaktif bileşikler, protein, karbohidrat, lif ve lipidler açısından oldukça zengindir. Atıklar; kompostlama, arazide depolama, yakılma veya hayvan yemi olması dışında farklı uygulamalarla geliştirilebilir. Zengin içerikli bu atıklar kendi hallerine bırakılmak yerine gıda, tekstil, modern farmasötik veya kozmetik endüstrisinde çok çeşitli yeni uygulamalar ile yüksek potansiyelli hammaddelere dönüştürülebilir (Banerjee et al. 2018; Chauhan et al. 2021; Provin et al. 2021; Rico et al. 2020).

2. TEKSTİLDE ATIKLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Tekstil endüstrisinde ham maddenin yüksek dereceli hidrofobikliği boyama ve baskı gibi işlemler sırasında boyar maddenin liflere nüfuz etmesinin zorlaşmasına; boncuklanma hoş olmayan görüntü, erken yıpranma ve kullanım ömrünün kısılmasına; keçeleşme ise dokuma ve boyutsal stabiliteyi korumayı olumsuz etkileyerek ürünün kalitesini düşmesine sebep olmaktadır. Bu olumsuzlukları ortadan kaldırmak için asidik-nötr pH ortamında uzun süre yüksek sıcaklıkta muamele ile hidrofilite; reçine apre yöntemi ve klorlama ile boncuklanma özelliğinin giderilmesi; klorlama, hidrojen peroksit ve potasyum permanganat muamelesi gibi kimyasal yaklaşımlar ile keçeleşmezlik sağlanmaktadır. Bu sayede parlak bir görünümle yumuşak bir tutum elde edilebilmektedir (Bulut and Sana, 2018; Fu et al., 2015; Hassan and Carr, 2019; Wu et al., 2020; Zhu et al., 2020).

Yenilenebilir ve sürdürülebilir bir doğal lif olan yün iyi kırıma direnci, esneklik, yüksek nem tutma kapasitesi, dayanıklılık, ısı yalıtım özellikleri, antistatiklik, leke tutmama, aşınma direnci, giyim konforu gibi diğer doğal liflerden üstün kılan birçok özelliğe sahiptir. Yün 82 keratinli protein, 17 keratinli olmayan protein, lipidler ve polisakkaritlerden oluşan önemli bir doğal liftir. Yün lifinin enine kesit yapısal diagramı şekil 2.1’de gösterilmiştir. Yün liflerinin ana bileşeni keratin olarak kabul edilir ve hücre zarı kompleksi tarafından bir arada tutulan en önemli bileşenleri kütikül ve kortikol hücrelerdir. Yün liflerde primer yapı proteinleri (amino asit dizi ve bileşimi) ve α -heliks olarak kabul edilen sekonder yapılar (polipeptitler arasındaki hidrojen bağı etkileşimi) bulunmaktadır. Yün lifleri sahip oldukları bu doğal kıvrımlı sekonder yapıları sayesinde elastikiyet, kimyasal direnç ve ısı yalıtımı gibi özelliklere sahiptir. Yün lifinin dış yüzeyini oluşturan kütikül hücreler kortikal hücreleri çevreleyerek lifi dış ortamdan korumakta ve lifin hidrofilitik, tutum ve keçeleşme özelliklerini etkilemektedirler. Kütikül yüzeyine kovalent bağlı yağ asitleri ve yüksek miktarda disülfid köprüleri yün lifinin yüzeyini yüksek derecede hidrofobik yapar. Kütikül hücrelerinin oluşturduğu sert ve pürüzlü pullu yapı hidrofobik özellik katmasının yanında ısı ve mekanik çalkalama altında geri dönüşümsüz bir keçeleşmeye ve çekmeye sebep olur. Keçeleşme battaniye, kilim ve bazı giysilerin üretiminde avantaj olarak görülebilir ancak diğer birçok diğer ürün için dezavantaj oluşturmaktadır (An et al, 2020; Bakker et al., 2018;

Bulut and Sana, 2018; Fu et al., 2015; Hassan and Leighs, 2017; Hassan and Carr, 2019; Vilchez et al., 2008).



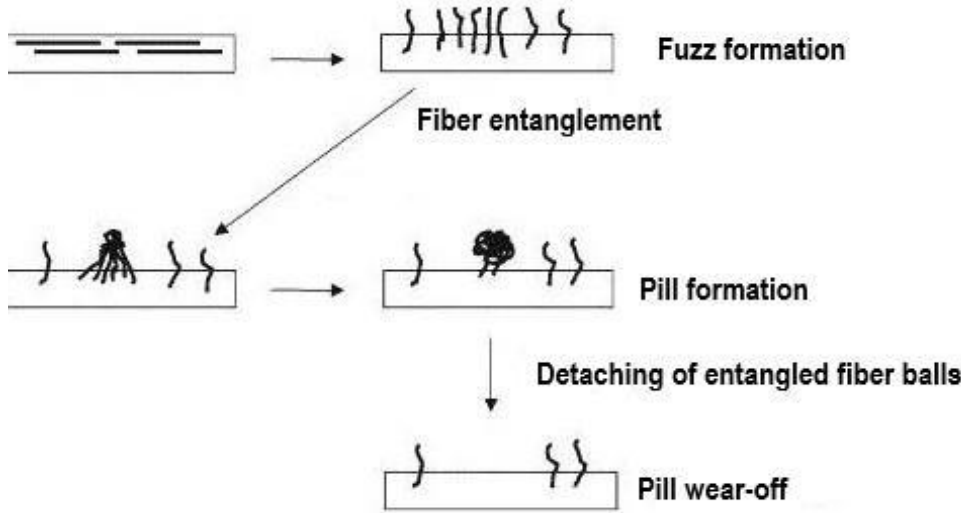
Şekil 2.1 Yün lifinin enine kesit yapısal diagramı (Fu et al. 2015; Silva et al. 2005).

Yün liflerinin keçeleşmesini engellemek ve boyutsal stabilitesini koruyarak makinelerde yıkanabilecek forma gelmesi için endüstride en yaygın kullanılan kimyasal işlem ‘Klor-Hercoset’ işlemidir. Bu işlemde kumaş öncelikle klor (Cl) çözeltisiyle sonrasında polimerik yapıdaki reçineler ile muamele edilir. Ancak bu işlemler sırasında açığa çıkan Cl gazının insan ve özellikle su canlılarına zararı oldukça fazladır. Ayrıca bu yüzey iyileştirme işlemleri, yün lifinin diğer fizikokimyasal özelliklerini de olumsuz etkileyebilir ve yapılan işlemler sonrasında anyonik doğal/sentetik gıda renklendiricilerinin kolayca bağlanabileceği katyonik bir tabaka oluşturur. Bu da lekelenme eğilimini artırır. Yapısal özelliklerini iyileştirmek ve kullanım özelliklerini geliştirmek adına endüstride kullanılan Klor-Hercoset işlemleri haricinde; klorinasyon, peroksimonosülfürik asit (PMS) işlemi, perasetik asit muamelesi, ozon/Hercoset uygulaması, di-kloro-izosiyanürik asit muamelesi gibi yöntemler kullanılmaktadır (An et al., 2020; Bakker et al., 2018; Fu et al., 2015; Hassan and Leighs, 2017; Hassan and Carr, 2019; Kadam et al., 2021; Smith and Shen, 2011).

Yün kumaşlarda karşılaşılan en önemli problemlerden biri de boncuklanmadır. Boncuklanma, genellikle aşınma, yıkama sırasında meydana gelen sürtünme, dış basınç ve liflerin birbirleri ile sürtünmesi gibi mekanik stres

nedeni ile kumaş yüzeyinde bulunan gevşek liflerin dinamik bir şekilde dolaşım süreci sonucunda küçük topçukların oluşumu ile sonuçlanan kumaş hatası olarak tanımlanır (Elmastaş Gültekin et al., 2022; Tusief et al., 2011; Yap et al., 2009; Zhu et al., 2020).

Boncuklanma, şekil 2.2’de gösterildiği gibi ilk olarak kumaşın kendisi veya bir nesneye sürtünmesi gibi mekanik bir hareket sonucu kumaş yüzeyindeki tüylerin ilk konumundan çıkmasına izin veren yıpranma ile başlar. Tüyler daha sonra kumaş yüzeyinde birbirine karışarak küçük toplar oluşturur. Mekanik hareketler arttıkça kumaş yüzeyinde çıkıntı yapan gevşek lifler çoğalır ve bir araya gelerek boncukları oluşturur. Bu süreç devam ettikçe boncuklar liflerden koparak ayrılır. Boncukların oluşum hızı ve kopma hızı arasında bir denge vardır (Dalbaşı ve Özçelik Kayseri, 2015; Elmastaş Gültekin et al., 2022; Sekulska Nalewajko et al., 2020; Tusief et al., 2011; Yap et al., 2009).



Şekil 2. 2 Boncuklanma oluşum şeması (Elmastaş Gültekin et al., 2022).

Boncuk oluşumu ve yıpranma derecesi; lif, iplik ve kumaş bileşenlerinin fiziksel özelliklerine bağlıdır. Lif çapı, uzunluğu ve kıvrımı farklılıkları boncuklanmayı etkiler. Lif çapı azaldıkça kumaş yüzeyine çekilebilmesi kolaylaşır ve buna bağlı olarak boncuklanma derecesi artar. Lif uzunluğu azaldıkça lifler arası kavrama kuvveti de düşeceği için kısa liflerin boncuklanmaya eğilimi daha fazladır. Lif kıvrım sayısı arttıkça lifler arasındaki kohezyon kuvveti de artar. Bu yüzden kıvrım sayısı arttıkça boncuklanma olasılığı azalır. Ayrıca lif pullarının uzunluğu arttıkça boncuklanma yatkınlığı azalırken, pul kalınlığı arttıkça boncuklanma

yatkınlığı artar (Dalbaşı ve Özçelik Kayseri, 2015; Tusief et al., 2011; Ukponmwan et al., 1998; Yang et al., 2017; Yap et al., 2009).

Boncuklanma derecesinin belirlenmesi işleminde ilk önce numune kumaşlar cihaza yerleştirilerek belirlenen bir devirde kumaş yüzeyine sürtünme kuvveti uygulanır. Deneme sonrası numune kumaşlar bir floresan ışık kaynağı altında standart fotoğraflar ile karşılaştırılarak boncuklanma derecesi belirlenir. 1. Derece şiddetli boncuklanma, 3.derece orta düzeyde boncuklanma, 5. Derece boncuklanmanın olmadığını ifade eder. Ancak sonuçların manuel olarak karşılaştırarak subjektif bakış açısı ile değerlendirilmesi yanlış ölçüm riskini içerir (Mustafa et al., 2022; Sekulska Nalewajko et al., 2020; Telli, 2019; Wu et al., 2020). Kumaş boncuklanma derecesinin objektif ve nicel olarak değerlendirilebilmesi için yeni yöntemler geliştirmek üzere araştırmalar yapılmaktadır. Örneğin; lazer profilometre veya yüksek çözünürlüklü kamera tarama sistemi gibi 3D görüntüleme teknikleri kullanılarak kumaş yüzeyindeki tüy oluşumu, boncukların sayısı, boyutu, yüksekliği, dağılımı ve yoğunluğu analiz edilmektedir (Korzeniewska et al., 2018; Sekulska Nalewajko et al., 2020; Telli, 2019).

Boncuklanma tekstil endüstrisi için ciddi bir sorundur. Kumaş yüzeyinde oluşan boncuklanma; hoş olmayan görüntü, kumaşta yıpranma, erken aşınma, kullanım ömrünün kısılmasına sebep olmasının yanında tutum özelliklerini olumsuz etkiler ve katma değerinin büyük ölçüde azalmasına sebep olur (Dalbaşı ve Özçelik Kayseri, 2015; Ukponmwan et al., 1998; Wu et al., 2020; Zhu et al., 2020).

Tekstil terbiyecileri kumaşların boncuklanma eğilimini azaltmak için çeşitli yöntemlere başvururlar. En çok tercih edilen kimyasal yöntemler; geleneksel reçine ile yüzeyi kaplama tekniği, sıvı akrilik polimerler ve ticari klorlama modifikasyon yöntemleridir. Bu işlemler ile lifler arası sürtünme azaltılır, hidrofobik lipid tabakası uzaklaştırılır, işlem görmüş kumaşların yıpranmasını azaltır ve yün keratinindeki disülfid bağlarını kırmak için kumaş yüzeyinde bir film oluşturulabilir. Ancak bu kimyasal işlemler sırasında çok miktarda su ve kimyasal madde kullanılmaktadır. İşlem sonrasında ise yüksek miktarda toksik atıkların oluşumu ve toksik gazların salınımı gibi göz ardı edilemeyecek dezavantajları vardır (Korzeniewska et al., 2018; Tusief et al., 2011; Zhu et al., 2020).

Yünlü kumaşların boyanabilirlik ve boya penetrasyonunda zorluk yaşanmaktadır. Yün liflerinin yapısındaki pullarının renklendirme işlemleri için de çeşitli ön işlemler uygulanmaktadır. Yün lifleri yüksek boya alımı ve penetrasyonu sağlamak için asidik pH'larda ve yüksek sıcaklıklarda ön işleme tabi tutulur. Ancak boyanabilirliği arttırarak avantaj sağlayan klorlama ve oksidasyon işlemleri yüksek lif hasarına ve adsorbe edilebilir organik halojenlerin (AOX) salınımına sebep olmaktadır (An et al., 2020; Bulut and Sana, 2018).

Tekstil endüstrisinde kumaş üretimi, tekstil ürünlerinin kalitesinin arttırılması, bitim işlemleri gibi çoğu işlemde toksik ve çevreye zararlı kimyasallar kullanılmaktadır ve bu işlemlerin sonucunda oluşan atıklar sularla birlikte çok fazla toksik bileşik doğaya verilmektedir. Tekstil endüstrisinde kullanılan liflerin yetiştirilmesi sırasında pestisit, herbisit, kimyasal içerikli gübrelerin kullanımı ve kumaş üretiminden bitim işlemlerine kadar uzanan birçok aşamada yüksek oranlarda kimyasal, boya, su ve enerji tüketimi oldukça fazla olduğundan en kirletici endüstriler arasında yer almaktadır. Bu yüzden tekstil endüstrisinin çevre üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak için yeni sürdürülebilir, yeşil alternatif yollar araştırılmalı ve döngüsel ekonominin bir parçası haline getirilmelidir (Jia et al., 2020; Provin et al. 2021).

Tekstil ürünleri günlük hayatta farklı alanlarda farklı amaçlar için kullanılmaktadır. İstenilen özellikte bir ürün haline gelene kadar pek çok işlemden geçmektedir. Tekstil endüstrisinin çevre üzerindeki olumsuz yükünü azaltmak ve daha sürdürülebilir teknolojileri bu alana dahil etmek için çeşitli girişimler mevcuttur. Hem zararlı kimyasalların kullanımının azaltılması hem de atıkların değerlendirilmesi kapsamında birçok çalışma yapılmıştır. Genel olarak çalışmaların amacı atıkların hammadde olarak kullanımıyla birlikte atık hacmini ve çevreye olan kontaminasyonunu azaltmak, ucuz hammadde kullanımı ile maliyeti düşürmek, zararlı kimyasalların kullanımı ve arıtma proseslerinin sayısını azaltmaktır (De Oliveira Neto et al., 2022; Provin et al. 2021).

Shahid-ul-Islam ve Butola; yeşil ve fonksiyonel bir apre tasarımı amacı ile yola çıkmışlardır. Ananas kabuğu atıklarını kullanarak doğal bir boyar madde elde etmişler ve kitosan ile birlikte keten kumaşa uygulamışlardır. Ananas kabuğu atıkları iyi derecede boyama özelliği gösterdiği ve kontrol boyalı keten kumaşların aksine kitosan kaplı ketenlerin 5 yıkama sonrasında hala antibakteriyel etki

gösterdiğini ifade etmişlerdir. Kitosan ananas kabuğu boya kombinasyonunun potansiyel olarak medikal tekstillerde ve renklendirici madde olarak kullanımını önermişlerdir. (Shahid-ul-Islam and Butola, 2019).

Shahid-ul-Islam ve çalışma arkadaşları; pamuk kumaşların çok işlevli kimyasal terbiyesi için basit, ekonomik ve yeşil bir üretim prosedürü geliştirerek; renkli, antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerine sahip kitosan kaplı selülozik kumaşlar elde edilmiştir. Atık fıstık kabuğu özütü ve gümüş (Ag) nanoparçacıklarının sinerjetik kombinasyonundan yararlanmışlardır. Atık fıstık kabuğu özütü bitirme işlemlerinde stabilizatör ve indirgeyici bir ajan olarak kullanılarak gümüş kaplı kumaşlarda açık sarıdan koyu kahve tonları arasında boyar özellik gösterdiği, iyi derecede antioksidan ve *E.coli/S.aureus* suşlarına karşı mükemmel antimikrobiyal aktivite sergilediği bulunmuştur (Shahid-ul-Islam et al., (2020).

Verma ve çalışma arkadaşları; soğanın kırmızı-kahve dış kabuğu ile pamuklu kumaş üzerinde boyama özelliğini ve kitosandan biyopolimer elde ederek antibakteriyel ve UV koruma gibi fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilebilirliğini araştırmışlardır. Kontrol grubuna göre soğan kabuğu ile boyanan pamuklu kumaşın daha yüksek UV koruma özelliği gösterdiği ve *E.coli/S.aureus* suşlarının büyümesini sırası ile yüzde 97,2 ve 98,03 oranında azalma sağladığı bulunmuştur (Verma et al., 2021).

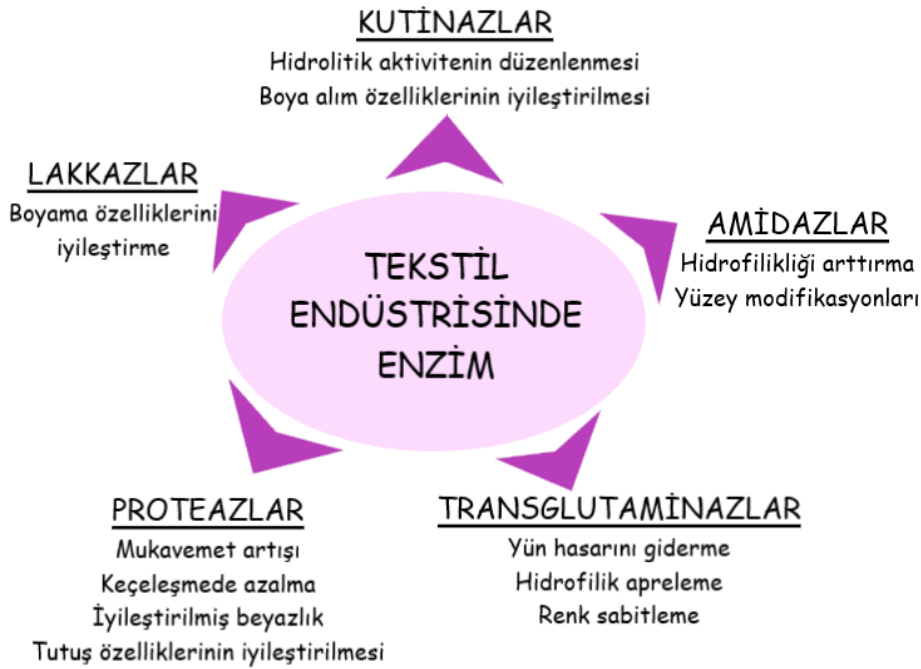
Hou ve çalışma arkadaşları; çalışmalarında kolay bulunabilen, ucuz ve bol bitkisel atık olan portakal kabuğunu kullanarak yün kumaşların boyama ve UV koruma özelliklerini araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda portakal kabuğu ile boyanmış yün kumaşların sabun ile yıkanma, sürtünme ve ışıığa karşı iyi derecede renk kalıcılığını koruduğunu bulmuşlardır. Ayrıca benzer tonlara sahip sentetik muadilleri ile boyanmış yün kumaşlara göre 6 kat daha yüksek UV koruma faktörü değeri gösterdiği bulunmuştur (Hou et al., 2013).

2.1 Tekstilde Enzimlerin Kullanımı

Tekstil endüstrisinde toksik ve çevreye zararlı kimyasalların kullanımını azaltmak için kullanılacak alternatiflerden biri de enzimlerdir. Tekstil terbiye işlemlerinde enzimlere de yer verilmesi ile temiz teknoloji, hassas işleme prosedürleri, substrata spesifik bağlar üzerinde reaksiyona girmeleri ve biyolojik olarak parçalanabilirlik sağlanarak ekolojik yaklaşımlı ve katma değeri yüksek

tekstil ürünleri elde edilebilir. Enzimatik işlemler, tekstil ürünlerinin temizlik, hazırlık işlemlerinden bitim işlemlerine kadar birçok yaş prosesinde kullanılmaktadır. Tekstil terbiye işlemlerinde lipaz (EC 3.1.1.3), amidaz (EC 3.5.1.4), kutinaz (3.1.1.74), lakkaz (EC 1.10.3.2), transglutaminaz (EC 2.3.2.13), selülozlar (EC. 3.2.1.4), ve proteazlar gibi farklı enzim grupları kullanılmaktadır (Dalbaşı and Özçelik Kayseri, 2015; Fu et al. 2015; Song et al. 2012).

Yün liflerinin sahip oldukları kütikül yapılarının sebep olduğu yüksek hidrofobiklik, keçeleşme ve çekme gibi özellikler ürünlerin işleme adımlarını zorlaştırır ve kalitesini olumsuz etkilemektedir. Tekstil çalışmalarında yün kütiküllerinin giderilmesi için yapılan çalışmalarda güncel yaklaşımlar 3 ana başlıkta toplanır; kısmi ya da tamamen kütiküllerin uzaklaştırılması, kütikülleri uzaklaştırmadan liflerin bir araya getirilmesi, ikisinin kombinasyonudur. Enzimatik uygulamalar kütiküllerin giderilmesinde çevre dostu ve ürünün tekrar kullanımlarında sorun yaratmaması açısından ilgi çekmektedir. Yün kütiküllerinin uzaklaştırılmasında kullanılan enzimler proteazlar ve lipazlardır. Enzimler yünün amorf yapısına penetre olarak dokunun gevşemesine yol açar. Düzenli α -heliks yapısı bozulur ve enzim β - yapılar üzerinde etkili olarak kütiküllerin uzaklaştırılmasında etkili olur (Aly et al., 2004; Smith and Shen, 2011).



Şekil 2. 3 Tekstil endüstrisinde kullanılan enzimler (An et al. 2020; Fu et al. 2015; Song et al. 2012; Vilchez et al. 2008; Vilchez, Jovančić, and Erra 2010).

Boncuklanma yün kumaşlarda sıklıkla görülen bir kumaş hatasıdır ve erken yıpranma, kullanım ömrünün kısalması gibi ciddi problemlere sebep olmaktadır. Tekstil terbiyecileri kumaşların boncuklanma eğilimini azaltmak için çeşitli yöntemlere başvurmuşlardır. En çok tercih edilen kimyasal yöntemler; reçine apreleme, sıvı akrilik polimerler ve ticari klorlama modifikasyon yöntemleridir. Boncuklanma probleminin önüne geçmek için kullanılan bu yöntemler sonrasında yüksek miktarda toksik atık oluşumu ve toksik gazların doğaya salınımı söz konusudur. Bu yüzden boncuklanma probleminin önüne geçmek için etkili, sürdürülebilir çevre dostu yöntemler araştırılmıştır. Şekil 2.3'te verilen enzimler bu alanda oldukça sık kullanılmaktadır (Elmas Gültekin et al., 2022; Korzeniewska et al., 2018; Tusief et al., 2011; Zhu et al., 2020).

Tekstilde kullanılan enzimlerin kullanım amaçlarını kısaca özetlemek gerekirse;

Selülozlar doğal selülozik lifler üzerindeki etkisinden faydalanılarak tekstil biyo-işlemelerinde kullanılmaya başlanmıştır. Tekstil endüstrisinde selülozlar kumaş yüzeyinde yer alan küçük ve gevşek lif uçlarının ayrılmasında kullanılır. Selülozlar ile modifiye edilen kumaşlarda hem tutum özelliklerinde iyileşme hem de boncuklanma eğiliminde azalma görülmüştür (Dalbaşı and Özçelik Kayseri, 2015). Amidazlar kullanılarak hidrofilitikleri ve yüzey özellikleri iyileştirilebilmekte, kutinazlar ile yün kumaşların hidrolitik aktivitesinin ve boya alımı özellikleri modifiye edilebilmektedir (Song et al. 2012). Transglutaminazlar yün hasarını giderme, antibakteriyel ve hidrofilik apreleme, renk sabitleme gibi geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir. Lakkazlar yün liflerinde boyama özelliklerini geliştirmede oldukça etkilidir (Fu et al. 2015). Bu alanda en çok kullanılan enzim grubu proteazlardır. Proteazlar ile modifiye edilmiş yün liflerin kütikül tabakasında sınırlı bozunma sağlayarak kumaşa zarar vermeden iyi çekme direnci, keçeleşmede azalma, daha iyi beyazlık ve tutuş özellikleri kazandırılmaktadır (An et al. 2020; Vélchez et al. 2008, 2010). Ancak kumaşlara yüksek miktarda enzimler direkt uygulandığında kumaşta ağırlık kaybına ve lif yüzeylerinde hasar oluşturabilir. Genellikle bu olumsuz durumun önüne geçebilmek adına kumaşlara polimerik yüzey modifikasyonlarını içeren bir ön işlem adımı eklenebilmektedir. Bu sayede enzimatik işlem adımlarının daha üniform ve düzenli olduğu, lif hasarının minimum seviyelere düşürüldüğü

bilinmektedir. Yapılan çalışmalara örnekler oldukça fazladır. Çalışmalara seçilen örnekler özetlenmiştir.

Li ve çalışma arkadaşları; boncuklanma probleminin en sık görüldüğü kumaş türlerinden biri olan yün kumaş ile çalışmışlardır. Yün kumaş yapısında bulunan ve boncuklanmaya sebep olan keratini degrades edebilen proteinaz K (EC. 3.4.21.14) enzimi ile çalışmışlardır. Yün kumaşın proteinaz K aracılı yüzey modifikasyonu sonucunda düşük konsantrasyonlarda dahi boncuklanma derecesinde iyileşme görülmüştür (Li et al., 2021).

Mccloskey ve Jump; kütinaz ile yaptıkları çalışma sonucunda yüzey liflerinin uzaklaştırılmasını sağlayarak boncuklanmanın önüne geçilebileceğini göstermişlerdir (Mccloskey and Jump, 2005).

Demirkan ve çalışma arkadaşları; *Bacillus subtilis* 168 E6-5'ten elde ettikleri proteazın yünlü kumaşların boncuklanma derecesini iyileştirmede kullanımını araştırmışlardır. *Bacillus* proteaz enziminin yün kumaş yüzeyindeki boncuklanma derecesini iyileştirmeler sağladığını ve tekstil endüstrisinde potansiyel bir boncuklanma önleyici ajan olarak önermişlerdir (Demirkan et al., 2019).

Vilchez ve çalışma arkadaşları; kitosan ve Esperaz 8.0L proteazını konbinleyerek yün kumaşa uygulamıştır. Elde edilen sonuçlara göre makinede yıkanabilir düzeyde çekme direnci, beyazlık derecesinde artış ve işlenmemiş numuneye benzer mekanik özellikler gözlenmiştir (Vilchez et al., 2005).

Vilchez ve çalışma arkadaşları; çalışmalarında öncelikli olarak kitosan ön işlem adımı ile Esperaz 8.0L enzimini kontrollü kullanarak lif hasarında ne gibi değişiklikler sağladığını görmeyi hedeflemişlerdir. Sonuçlar incelendiğinde yün üzerindeki kitosan film sayesinde yün lifi yüzey hasarının en aza indirildiği ve boyanabilirliğini iyileştirdiği, Esperaz 8.0L proteazı sayesinde beyazlıkta iyileşme ve çekme direncinde artış olduğu görülmüştür (Vilchez et al., 2010).

Endüstride yüksek kaliteli görüntü elde etmek için kumaşlara uygulanan mürekkep püskürtmeli baskılarda mürekkebin akmasını önlemek ve boyar maddenin lifle tamamen nüfuz etmesini sağlamak için kumaşlar, çeşitli toksik kimyasallar içeren ön işlemlere tabi tutulur. An ve çalışma arkadaşları; gerçekleştirdikleri çalışmada toksik kimyasalların yerine proteaz sınıfı bir enzim

olan Savinase® 16L ve sodyum aljinat kullanarak AOX emüsyonu ve yüksek lif hasarının önüne geçmeyi hedeflemişlerdir. Yün kumaşlar öncelikle Savisane 16L ile muamele edilmiş ve püskürtmeli baskı öncesi sodyum aljinat solüsyonu kullanarak işlenmişlerdir. Baskı sonrası yapılan testlerin sonucuna göre en derin, parlak ve ince efekt ile yapılan baskının dahi renk performansının oldukça yüksek olduğu, yıkama ve sürtünmeye karşı renk korumasının tatmin edici düzeyde olduğu belirtilmiştir (An et al., 2020).

Silva ve çalışma arkadaşları; serbest subtilisin ve polietilen glikole (PEG) kovalent olarak çapraz bağlanmış subtilisin (subtilisin-PEG) proteazlarını kullanmışlar. Serbest yün liflerinin içine nüfuz ederken, modifiye edilmiş daha büyük enzimin yüzeyde kütikül tabakasına tutunduğunu göstermişlerdir. Bu sayede modifiye enzimin sadece kütikül tabakasını etkilediği ve buna bağlı olarak lifin daha yüksek gerilme mukavemeti ve daha düşük keçeleşme eğiliminde olduğu bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre geleneksel klorlama muamelesi yerine alternatif çevre dostu enzimatik yün işleme prosesi olarak tanımlamışlardır (Silva et al., 2005).

Silva ve çalışma arkadaşları; Esperaz enzimini Eudragit S-100'e kovalent bağlayarak yün kumaşlar üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Bu çalışma sonucunda daha yüksek gerilme mukavemeti, daha düşük ağırlık kaybı ve yün özelliklerinde iyileşme sağladığını bulmuşlardır. Yün kumaşlarda kimyasal işlemlere alternatif olarak biyo-apreleme prosesi olarak bu çalışmayı önermişlerdir (Silva et al., 2006).

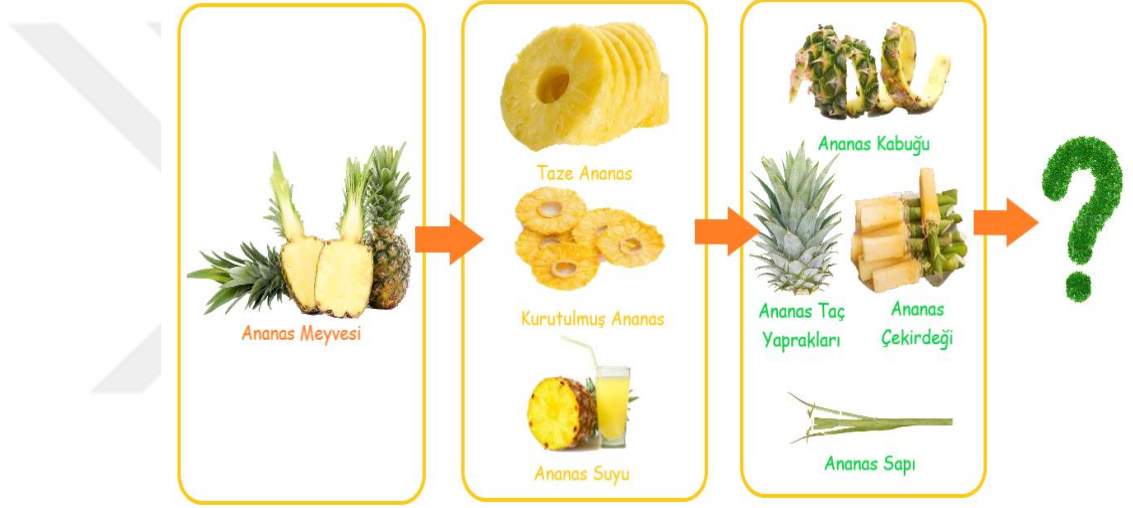
3. ANANAS

Bromeliaceae familyasına ait çok yıllık, tek çenekli egzotik bir meyve Ananas (*Ananas Comosus*) tropikal ve subtropikal ülkelerde yetiştirilmektedir. Farklı tat, renk, şekil ve boyutlara sahip pek çok ananas çeşidi mevcuttur. Ananas; Tayland, Kosta Rika, Brezilya, Hindistan, Nijerya, Kenya, Filipinler, Endonezya, Güney Amerika gibi pek çok ülkede yaygın olarak yetiştirilmektedir. Son on yılda ananasa olan talep artması ile doğrusal olarak üretimi de oldukça yükselmiştir. 2017'de yapılan bir araştırmaya göre dünya çapında ananas üretiminde ilk beşe giren ananas üreticileri sırasıyla Kosta Rika 3.1, Filipinler 2.7, Brezilya 2.3, Tayland 2.2 ve Hindistan 1.9 milyon metrik ton olarak belirlenmiştir. Yüksek besin değeri ve çekici aromaya sahip olan ananas dünya çapında en popüler üçüncü tropikal meyvedir. Ananas; bakır, potasyum, magnezyum ve manganez gibi mineraller, folat, tiamin, C, B3 ve B6 vitaminleri, antioksidanlar, organik asitler, yüksek oranda diyet lifleri, karbohidrat ve protein içeren besin değeri açısından oldukça zengin bir meyvedir. Ayrıca yüksek nem içeriğine (%81-86) sahip olduğu için ananas meyvesi uygun saklama koşulları (depolama sıcaklığı, mikroorganizma kontaminasyonunun önlenmesi vb.) sağlanamadığında kolay bozulabilen bir meyvedir. Bu yüzden ananas meyvesi taze ve kurutulularak tüketiminin yanısıra meyve suyu konsantreleri, konserve, turşu, esans, reçel, marmelat, sirke, şarap gibi meyve ve meyve suyu bazlı uzun raf ömrüne sahip işlenmiş paketli ürünler halinde de tüketilmektedir (Banerjee et al. 2018; Chauhan et al. 2021; Misran et al. 2019; Mohd Ali et al. 2020; Rico et al. 2020).

3.1 Ananas Atıkları

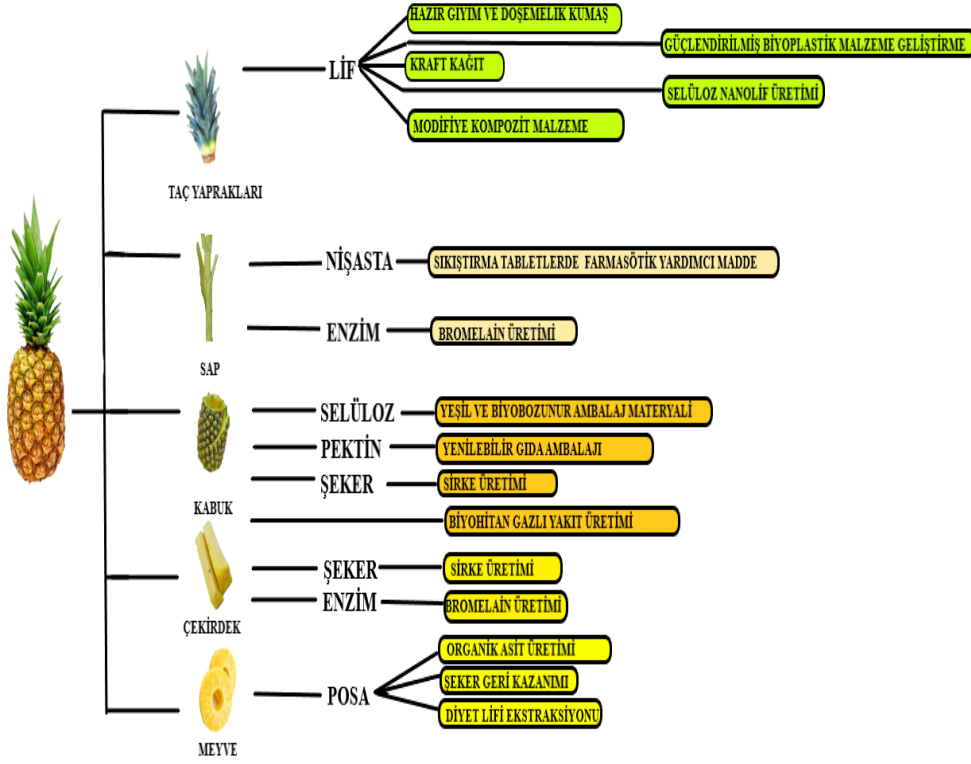
Son yıllarda ananas üretim ve tüketimin artması ile birlikte oluşan atık miktarı da doğru orantılı olarak artmıştır. Ananasın toplam kütlelerinin %30'u taze meyveyi, %70'i gövde, çekirdek, taç yaprak ve kabuk olmak üzere atık hacmini oluşturduğu bilinmektedir. Ananas hasadı sonrası tarlada kalan atıklar bir ananas bitkisi için ortalama 6-8 kilogram, dönüm arazi başına hesaplanan toplam atık miktarı ortalama 76-92 ton olarak, bir dönüm araziden elde edilen ananasların işleme atığı yaklaşık 9 ton olarak hesaplanmıştır (Banerjee et al. 2018, 2020; Misran et al. 2019; Polania et al., 2022).

Ananas atıkları hammadde olarak kullanıldığında kraft kağıt, gıda ambalajı, nanoabsorban, farmasötik yardımcı madde, sirke üretimi gibi birbirinden çok farklı alanlarda katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülebilir (Banerjee et al. 2018; Ghazali et al. 2020; Kumar et al. 2021; Laftah and Abdul Rahaman, 2015; Rahma et al., 2019; Roda et al. 2016; Rodsamran and Sothornvit, 2019). Genellikle ananas atıkları gübre ve hayvan yemi olarak kullanılmasına rağmen büyük çoğunluğu atık olarak çöplere atılmaktadır. Ananas atıklarının nem içeriği yüksek olduğundan bertarafı sırasında mikrobiyal bozulma, çürüme, kokuşma gibi çevre sorunlarına ve buna bağlı olarak sağlık sorunlarına sebebiyet vermektedir (Polania et al., 2022; Sukri et al., 2022).



Şekil 3. 1 Ananas meyvesinin yenilebilir ve atık bölümleri.

Ananas atıkları da tıpkı meyvesi gibi oldukça zengin bileşiklere sahiptir. Bu yüzden kabuk, taç yaprak ve çekirdek gibi ananas işleme atıkları, hasat sonrası tarlada kalan gövde ve yaprak atıkları şekil 3.2’de gösterildiği gibi farklı endüstrilerde farklı amaçlarla hammadde olarak kullanılabilir. Bu sayede ananas atıklarının sürdürülebilir olarak endüstriye katılmasıyla birlikte atıkların azalması, ucuz hammadde, çiftçilerin ekonomisine ve çevresel sorunların çözülmesine katkı gibi pek çok avantaj sağlayacaktır (Polania et al., 2022; Sukri et al., 2022).



Şekil 3. 2 Ananas atıklarının değerlendirilmesi.

Ananas atıklarının değerlendirilme çalışmalarına örnekler verilebilir.

Ananas taç ve yaprakları benzersiz doğal lif kaynağı olmakla birlikte ucuz, biyolojik olarak parçalanabilir, yenilenebilir ve bol bulunabilir bir kaynaktır. Selüloz, hemiselüloz, pektin ve lignin içeriği oldukça yüksek olan ananas lifleri yüksek eğirme ve çekme mukavemetine, iyi derecede termal ve akustik yalıtım, yüksek tokluk gibi özelliklere sahiptir. Bu özellikleri sayesinde ananas lifleri kompozit malzemelerde kullanılmak üzere geleneksel malzemelerin yerini alabilecek alternatif olarak görülmektedir. (Mohd Ali et al., 2020; Todkar and Patil, 2019).

Hazarika ve çalışma arkadaşları; hasat sonrası çürümeye bırakılan ananas yapraklarını kullanarak çeşitli işlem adımları sonrasında iplik üretmişlerdir. Ürettikleri ipliğin sürtünme ve çekmeye karşı dirençli, iyi düzeyde su emiciliğine sahip olduğu ve elyaf mekanize eğirme sisteminde rahatça işlenebilecek bir materyal olduğunu bulmuşlardır. Hazır giyim ve döşemelik kumaşlarda kullanılabilecek kalitede bir ürün elde etmişlerdir (Hazarika et al., 2017).

Laftah ve Abdul Rahaman; atık ananas yapraklarını kullanarak kraft kağıtları üretmeyi amaçlamışlardır. Yapılan testler sonucunda ananas yaprak

liflerinden yırtılma direnci yüksek, düzenli lif dağılımlı, iyi özelliklere sahip kâğıt üretilebileceğini göstermişlerdir (Laftah and Abdul Rahaman, 2015).

Sathees Kumar ve çalışma arkadaşları; polyester kompozitlerin yapısına ananas yaprak liflerini ekleyerek mekanik özelliklerinin geliştirilmesini araştırmışlardır. Kompozit numuneleri, enjeksiyon kalıplama yöntemiyle farklı lif miktarlarında üretmişlerdir. Bu ürünler üzerinde yaptıkları mekanik testler sonucunda doğal liflerin eklenmesiyle birlikte kontrol gruplarına göre çekme, eğilme, darbe ve sertlik özelliklerinde düzenli bir artış olduğunu bulmuşlardır. Geliştirilen modifiye kompozit malzemenin endüstri, otomotiv ve inşaat alanlarında kullanımını önermişlerdir (Sathees Kumar et al., 2021).

Rahma ve çalışma arkadaşları; ananas sapından izole ettikleri nişastayı modifiye ederek sıkıştırma tabletlerinde farmasötik yardımcı madde olarak kullanmışlardır. Amiloz grupları üzerinden modifiye edilen ananas sapı nişastasının daha iyi şişme kapasitesi, yüksek akışkanlık ve daha iyi sıkışma profili sergilediği belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre modifiye ananas sapı nişastasının bağlayıcı bileşen olarak sıkıştırma tabletlerinde kullanımını önermişlerdir (Rahma et al., 2019).

Ananas işleme atıkları yüksek selüloz içeriği sayesinde polimer endüstrisinde selüloz türevleri üretmek için potansiyel bir substrat kaynağı olabilir. Örneğin ananas kabuğundan izole edilen selüloz karboksimetilselüloza türevlendirilerek yeşil ve biyobozunur ambalaj materyalleri üretmek için kullanılmıştır (Banerjee et al. 2018).

Kimya ve petrokimya endüstrisinde nanokompozit membran prosesleri oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak nanoabsorbanların maliyetinin çok yüksek olması araştırmacıları atıklardan nanoabsorban üretimine yöneltmiştir. Ghazali ve çalışma arkadaşları; nanoabsorbanın ananas kabuklarından eldesi ile hem nanoabsorban maliyetini düşürmek hem de gazların ayrışmasında membranların performansının iyileştirilmesini hedefleyen bir çalışma yapmışlardır. Geliştirilen nanokompozit membranda CO₂ geçirgenliği ve CO₂/CH₄ seçiciliğinde artış bulunmuştur (Ghazali et al. 2020).

Genel olarak; yaklaşık elli yıldır kullanılan ambalaj materyalleri doğada uzun yıllarda parçalanmayan petrokimyasal ürünlerdir. Bu petrokimyasal türevli plastik

materyallerin doğada birikmesi, suya ve toprağa karışarak insan sağlığı ve çevre üzerinde olumsuz etkilere sebep olması araştırmacıları alternatif malzeme arayışına yöneltmiştir. Biyobozunur, biyoyumlu ve çevre dostu malzemeler için yeni çalışmalar yapılmaktadır. Kumar ve çalışma arkadaşları; çalışmasında geleneksel gıda paketlenme materyallerine alternatif olarak ananas atıklarından elde edilen gıda paketlenme ürünü oluşturmayı hedeflemişlerdir. Poli vinil alkol/mısır nişastası bileşenli filmlere ananas kabuğu özütü eklenmesiyle birlikte filmlerin su buharı geçirgenliği, antioksidan özelliği ve termal stabilitesi artmıştır (Kumar et al. 2021).

Rodsamran ve Sothornvit; ananas kabuğundan izole edilen pektin ile bir yenilebilir film elde ederek gıda paketlenmede kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Elde edilen filmlerin antioksidan aktivite ve su buharı geçirgenliği gösterdiği ifade edilmiştir. Çeşitli gıda uygulamalarında kullanmak üzere pektin ve fenolik bileşik kaynağı olarak yenilebilir filmler için doğal bir plastikleştirici olarak kullanımı önerilmiştir (Rodsamran and Sothornvit, 2019).

Roda ve çalışma arkadaşları; ananas meyve atıklarından kabuk ve çekirdeğin şeker miktarının yüksek olduğunu ve sirke üretimi için hammadde olabilirliğini araştırmışlardır. Daha yüksek verim eldesi için atıklar mikrodalgada ısıtma, kaynatma, düdüklü tencere ve otoklav olmak üzere dört farklı ön işlem adımı uygulamışlardır. Bu çalışma ile paralel olarak bunların hem enzimatik hidrolizli hem de enzimatik hidroliz olmadan sakarifikasyonu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre hem otoklav ile hem de enzimatik hidrolizle birlikte gerçekleştirilen ön işlem adımı diğerlerine göre yüksek verimde şeker elde etmeyi sağlamıştır. Ayrıca maliyet analizi yapıldığında tüm sakarifikasyon sürecini ölçeğini büyütürken sirke yapımı için uygun hale getirilebileceğini belirtmişlerdir (Roda et al., 2016).

Dahunsi; daha önce yapılan ananas atıklardan biyogaz eldesi çalışmalarının yetersiz olduğunu farklı modifikasyonlar ile verimin arttırılabileceğini savunmuştur. Ananas atıklarından biyogaz eldesinde genellikle asit ile ön işlem uygulanmaktadır. Ancak bu çalışmada farklı olarak alkali ön işlem uygulaması denenmiş ve daha yüksek verimler elde edilmiştir. Yöntemlerin sonuçları karşılaştırıldığında alkali ön işlem uygulanan ananas kabukları asit ile ön işlem görmüş ananas kabuklarına göre %67 ve işlem görmemiş ananas kabuklarına göre ise %51 daha yüksek sonuçlar elde edilmiş. Elde edilen sonuçlara göre ananas kabuklarının alkali ön işleme tabi

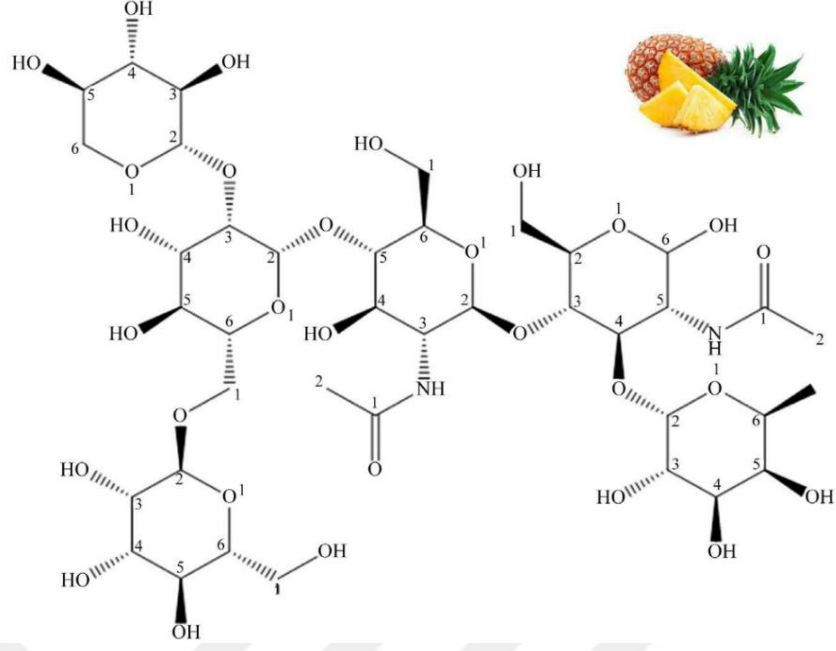
tutulduğunda lignin azalmasına bağlı olarak biyogaz üretim veriminin arttığını bulmuşlardır. Bu çalışmanın endüstriyel ölçeklerde yapılacak çalışmalar için yenilenebilir ve sürdürülebilir enerji üretimlerine destek sağlayabileceğini ifade etmiştir (Dahunsi, 2019).

Hu ve çalışma arkadaşları; çevre kirliliğini azaltmak ve kaynak israfının önüne geçmek için ananas posasından polisakkarit ekstraksiyonu optimizasyonunu ve potansiyel kullanım alanlarını araştırmışlardır. İzole edilen ananas posa polisakkaritleri *in vitro* deneyler ile hipoglisemik aktivitesi araştırıldığında insülin direnci HepG2 hücrelerinin gelişimini engelleyebileceğini göstermişlerdir. Bu çalışmanın sonucuna göre ananas atık posasının antidiyabetik ve alternatif gıda olarak potansiyel bileşiklerinin kullanılabileceğini bulmuşlardır (Hu et al., 2019).

4. BROMELAIN (E.C. 3.4.22.4)

Bromelain sistein proteaz sınıfı bir enzim olup en iyi bilinen kaynağı *Bromeliaceae* bitki ailesinin en yaygın üyesi olan *Ananas comosus*dur. Bromelain proteolitik enzimlerin yanı sıra tiyol endopeptidazlar, fosfatazlar, glikozidazlar, peroksidazlar, selülozlar, ribonükleazlar, glikoproteinler, karbohidratlar ve bazı proteaz inhibitörleri gibi farklı bileşenlerin bir kombinasyonudur (Chaurasiya and Umesh Hebbar, 2013; de Lencastre Novaes et al., 2016; Ramli et al., 2017, 2018). Bromelain enziminin kimyasal formülü şekil 4.1’de ve 3D yapısı şekil 4.2’de gösterilmiştir.

Ananas dokularında baskın olarak kök (sap) bromelaini, meyve bromelaini, ananain ve komazain olmak üzere dört farklı sistein proteaz içeriği olduğu bilinmektedir (Arshad et al., 2014; Hale et al. 2005; de Lencastre Novaes et al. 2016; Ramli et al. 2018a). Bromelain kök, sap, yaprak, meyve, kabuk ve çekirdek olmak üzere ananasın bütün kısımlarında farklı oranlarda bulunmaktadır. Piyasada ticari olarak satılan bromelain enzimi ananas saplarından elde edilir. Kök bromelain ve meyve bromelaininin her ikisi de tek zincirli glikozile enzimlerdir ancak farklı özelliklere sahiptirler. Kök bromelaini (E.C. 3.4.22.32) 9,5 ‘lik izoelektrik noktaya sahip, moleküler ağırlığı 23-36 kDa, optimum pH aralığı 6-7, optimum çalışma sıcaklığı ise 50-60°C’dir. Meyve bromelaini (E.C. 3.4.22.33) 4,6 izoelektrik noktaya sahip, moleküler ağırlığı 25-32 kDa, optimum pH aralığı 3-8, optimum çalışma sıcaklığı 37-70° C’dir. Bu iki enzimin arasındaki bir diğer fark ise kök bromelaini yapısında glukozamin bulundururken meyve bromelaininde yoktur. Kök ve meyve bromelainleri glisil, lösil ve alanil peptit bağlarını ayırırlar. Bromelain enzimi yüksek sıcaklık, organik çözügen ve bazı kimyasalların varlığında hassaslaşır ve kararsız hale gelir, bu tarz istenmeyen durumlarda enzim aktivitesinde azalma görülebilir. Hatta uzun süre bu stres koşullarına maruz kalırsa enzimde geri dönüşümsüz bir denatürasyon gerçekleşir (Arshad et al., 2014; Chaurasiya and Umesh Hebbar, 2013; de Lencastre Novaes et al., 2016; Manzoor et al., 2016; Ramli et al., 2018). Bromelain enzimi -20°C de muhafaza edildiğinde uzun bir süre stabilitesini korur. Sistein, bromelain aktivasyonunda en etkili bileşiktir. Çünkü bromelain molekül başına bir reaktif sülfidril grubuna sahip olduğu için sistein varlığında tam olarak aktive edilebilir (Song et al. 2012).



Şekil 4. 1 Bromelain kimyasal formülü (Hikal et al. 2021).

Bitki proteazları genel olarak meyve gelişiminin erken evrelerinde üretilir ve sonrasında meyvenin olgunlaşma evrelerinde giderek azalır. Ancak diğer bitki proteazlarından farklı olarak bromelain ananas bitkisinin ham halindeyken çok az bulunurken meyve olgunlaştıkça enzim miktarı hızlı bir şekilde artar. Bromelain, ananas meyvesinin gelişme ve olgunlaşma süreci boyunca savunma proteini olarak koruyucu davranış sergiler (Ramli et al. 2018a, 2017; Silvestre et al., 2012).



Şekil 4. 2 Bromelain 3D yapısı (Ramli et al. 2018b).

Bromelain saflaştırma yöntemleri farklı adımlar içermektedir. Genel olarak izolasyon işleminin ilk adımı parçalama ve öğütmedir. Öğütme işleminden sonra kaba filtrasyon yapılır, bu aşamada katı partikül ve posa kısmı uzaklaştırılmış olur. Ananas suyu karışımından diğer katı partikülleri ayırarak homojen hale getirmek için santrifüjleme yapılır. Bu adımda hücre içi enzimlerinin denatüre olmadan sıvı fazda kalması sağlanır. Yapılan araştırmalar sonucunda 4000 rpm’de santrifüj işlemi gerçekleştirildiğinde maksimum aktivite elde edildiği bulunmuştur (Ramli et al. 2017). Santrifüjleme adımından sonra tuz ve çözücü yardımı ile çökeltme, filtrasyon ve elektroforez gibi yöntemler kullanılır. Ekipmanların kolay bulunabilirliği, düşük enerji ve ucuz malzeme kullanımı, kolay ölçeklendirilebilme avantajlarından yararlanılarak genellikle enzimlerin denatürasyonuna sebep olmayan organik çözücü (aseton, etanol vb.) ve tuzlar (amonyum sülfat vb.) tercih edilir. Bu yöntemlerin uygulaması sırasında çözücü ve hidrofobik alanlar arasındaki etkileşimlere bağlı olarak α -heliks ve β -tabakaların yapısını bozarak enzimin geri dönüşümsüz denatürasyonu gerçekleşebilir. Sıfır derece ve altındaki sıcaklıklarda çalışılarak bu olumsuz durum hafifletilebilir veya önüne geçilebilir. Sıfır derece ve altında biyomoleküllerin esnekliği ve çözücünün penetrasyon kabiliyeti azalır. Bu sayede minimum denatürasyon ve aktivite kaybı ile izolasyon gerçekleştirilmiş olur. Ancak yüksek saflıkta bromelain ekstraksiyonu hedeflendiğinde afinite kromatografisi, iyon değişim, jel filtrasyon, sulu ikili faz sistemi, ters miseller ekstraksiyon gibi daha gelişmiş yöntemler saflaştırma işlemlerine dahil edilir. Nihai ürün saflığı ve genel işlem maliyetlerini doğrudan etkilediği için saflaştırma adımlarının hedefe uygun hazırlanması enzim eldesinde önemli bir noktadır (Chaurasiya and Umesh Hebbar, 2013; Ramli et al., 2017; Soares et al., 2012).

Bromelainin kullanım alanları özetlenecek olursa;

Bromelain enzimi gıda, tıp, eczacılık, kozmetik ve tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde; etleri daha sulu ve yumuşak hazırlayabilmek, hamurun gevşemesini sağlamak ve büzülmesini önlemek, protein hidrolizatı hazırlanmasında, taze ve konserve meyvelerde enzimatik esmerleşme inhibisyon maddesi, biranın bulanıklığını gidermek için arıtımında, tahıl proteininde çözündürme için kullanılmaktadır. Tıp ve eczacılık alanlarında; plak, leke ve yiyecek kalıntılarını gidererek dişlerin beyazlamasını sağlamak, antimikrobiyal etkisinden faydalanılarak akne tedavisinde, kardiyovasküler ve artrit

gibi bazı hastalıkların tedavisinde, kan trombositlerinin agregasyonunu azaltan ve epitel hücrelerine yapışmasını önleyen inhibisyon faktörü olarak, tümör büyümesinin modülasyonu, üçüncü derece yanıklar, antibiyotik etkisinin iyileştirilmesi için kullanılmaktadır. Bromelain antiödematöz, fibrinolitik, antiinflamatuvar, antitrombotik fonksiyonlar göstermektedir. Ayrıca tropiklerin yerlileri tarafından bir halk ilacı olarak kullanılmıştır. Cildin dokusunu iyileştirmek, yaraların iyileşmesini hızlandırmak ve sindirim yardımcısı bir ajan olarak kullanılmaktadır. Kozmetikte; peeling etkisi sağlamak ve vücut bakım ürünlerinde aktif bir bileşen olarak kullanılmaktadır. Gümüş birçok alanda kullanılmasıyla birlikte toksisitesinden kaynaklı ekosistemi olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle atık malzemelerden gümüşün geri dönüştürülmesi üzerine araştırmalar yapılmaktadır. Çalışmalardan biri de Bromelain enzimi ile atık X-ışını filmlerinden gümüş metalinin geri kazanımı amaçlanarak gerçekleştirilmiştir ve çalışmalar sonucunda gümüş kazanımının arttığı gözlemlenmiştir (Abbas et al., 2021; Al-Sa'ady et al., 2016; Chaurasiya and Umesh Hebbar, 2013; Engidayehu and Sahu, 2020; Ketnawa et al., 2012; Koh et al., 2006; Manzoor et al., 2016; Misran et al., 2019).

Bromelain ve tekstil çalışmaları örneklerini şu şekilde sıralayabiliriz;

Koh ve çalışma arkadaşları; ipek ve yün liflerinin boyanma özelliklerini geliştirmek üzere ananas meyvesinden izole ettikleri Bromelain enzimini kullanmışlardır. Proteaz enziminin mekanik özellikler üzerinde ciddi hasara yol açmadan liflerin boyama özelliklerini iyileştirdiği belirtilmiştir (Koh et al., 2006).

Kaur ve Chakraborty; yün kumaşların keçeleşme ve boncuklanma davranışlarını azaltmak için Bromelain enzimini (mikrobiyal kaynaklı) kullanmışlar ve minimum ağırlık kaybı ve çekme için işlem pH koşullarının optimizasyonunu sağlamışlardır (Kaur and Chakraborty, 2015a).

Kaur ve Chakraborty; yayınladıkları bir diğer makalede minimum ağırlık ve mukavemet kaybı ile yün kumaşların bromelain ile işlem görmesi üzerine çalışmışlar ve geleneksel klor bazlı keçeleşmezlik işlemine alternatif olarak enzim ile işlemin endüstriyel seviyede kullanımını önermişlerdir. Her iki çalışmada da kullanılan Bromelain enzimini ticari olarak firmalardan temin etmişlerdir (Kaur and Chakraborty, 2015b).

İpek üretiminde genel olarak koza, alkali maddeler ve kimyasallar ile pişirilerek yumuşatma işlemi gerçekleştirilir. Ancak bu geleneksel yöntemler ipek iplerin kalitesini düşürmektedir. Singh ve çalışma arkadaşları; geleneksel yöntemlere bir alternatif olarak kozaların enzim kullanımı ile yumuşatılması üzerine denemeler gerçekleştirmişlerdir. Sodyum karbonat ve bromelain kullanarak yumuşama süresini 20 saatten 30 dakikaya düşürülebildiğini göstermişlerdir (Singh et al., 2003).

Salampessy ve çalışma arkadaşları; deri ceketin çözünmeyen proteinlerinin antimikrobiyal peptitlerinin salınabilmesi için Bromelain ile hidrolizini önermişlerdir (Salampessy et al., 2010).

Mohan ve Sivakumar; ananastan izole ettikleri Bromelain enzimini sığır derisi parçaları üzerine uyguladıkları 24 saatlik bir çalışmada işlem sonrasında deri yapımı için iyi bir kıl uzaklaştırılması etkisi elde etmişlerdir (Mohan and Sivakumar, 2019).

Song ve çalışma arkadaşları; poliamid kumaşlar üzerinde bromelain enziminin hidroliz etkilerini araştırmışlardır. Bromelainin hidrolitik aktivitesini poliamid kumaşlar yüzeyinde oluşan karboksil gruplar üzerinden yapılan bir reaktif boya absorbanı deneyi ile belirlemişlerdir. Eş zamanlı olarak L-sisteinin bromelainin aktivitesine etkisi izlenmiştir. Bromelain hidrolizi sonrasında kumaş yüzeyinde oluşan hidrofilik grupların varlığına bağlı olarak su temas açısı ve su emicilik süresinin azaldığını, L-sistein varlığında kumaşlarda oluşan karboksilik gruplarının arttığını, kumaşların ağırlık kaybının azaldığını göstermişlerdir (Song et al., 2012).

4.1 Ananas Atıklarından Elde Edilen Bromelain Enzimi

Ananas bitkisinin sap, meyve, kabuk ve yapraklarında farklı oranlarda bulunan bromelain enzimi ticari olarak bitki saplarından izole edilerek satışa sunulmaktadır. Endüstriyel olarak ananas meyvesinin işlenmesi sonrası atık olarak ayrılan kabuk ve çekirdek kısımları bromelain açısından oldukça zengindir. Bu işleme atıkları çevreyi olumsuz etkileyen bertaraf yöntemleriyle ortadan kaldırmak yerine oluşturulan yeni prosesler ile bromelain eldesinde ucuz, yenilenebilir, sürdürülebilir, yeşil bir hammadde kaynağı olarak kullanılabilir. Böylece meyve atıklarının sebep olduğu çevre sorunlarının önüne geçilmesine, döngüsel

ekonominin işlemlerine, atıkların ucuz hammadde kaynağı olarak kullanılarak yüksek katma değerli ürünlere dönüştürülmesine katkı sağlanabilir (Polania et al., 2022; Sukri et al., 2022). Bu konu kapsamında yapılan birkaç çalışma mevcuttur.

Ananas bitkisinin gövde, meyve, kabuk, çekirdek ve taç kısımlarında izole edilen bromelain enziminin ciltte oluşan akneler üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi araştırılmış. Akne birçok insanda çok sık rastlanan yağ bezleri ile ilişkilendirilen enfeksiyonel bir cilt hastalığıdır. Bu enfeksiyona sebep olan suşlar genellikle *P. acnes*, *S. epidermidis* ve *S. Aureus* olarak bilinir. Sonuçlar değerlendirildiğinde ananas bitkisinin tüm bölümleri arasından en etkili proteolitik aktiviteyi gösteren kısımların kabuk ve gövde olduğu belirlenmiştir. Kabuk, gövde ve taç yapraktan izole edilen bromelain enzimi ile yüz yıkama suları hazırlanarak piyasadaki dört muadili ile suşlar üzerindeki etkinliklerini karşılaştırmışlardır. Sırası ile en duyarlı iki suşu *S. aureus*, *P. acnes*, olarak belirlemişlerdir. Ayrıca yapılan çalışmalarda iki farklı marka ürünü *E.coli* üzerinde herhangi bir aktivite göstermezken ananas örneklerinden hazırlanan yüz yıkama sularının *P. acnes*, *S. aureus*, *C. difteri* ve *E. coli*'ye karşı aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Abbas et al. 2021).

Ananas çekirdekleri ananas işleme endüstrisi tarafından üretilen başlıca atıkların yaklaşık %15ini oluşturmaktadır. Bu atıklar genellikle hayvan yemi olarak kullanılır ya da diğer atık bileşenleriyle birlikte kompostlamaya ayrılır. Ancak sanılanın aksine çekirdekte bulunan bromelain miktarı oldukça yüksektir. Ananas çekirdek atıklarından farklı yöntemlerle bromelain geri kazanımı çalışılmış ve elde edilen sonuçlar doğrultusunda tekstil ve deri işleme endüstrisinde potansiyel kullanım için önerilmiştir (Banerjee et al. 2020). Yapılan başka bir çalışmada ananas çekirdeğinden iki farklı çöktürücü kullanılarak izole edilen bromelain enziminin antibakteriyal etkisi araştırılmıştır. Araştırmaların sonucuna göre aseton kullanılarak izole edilen bromoleinin, amonyum sülfat ile izole edilen bromelaine göre daha yüksek antibakteriyal etki gösterdiğini belirtmişlerdir (Hidayat et al. 2019).

Yara sargı materyalleri ve özellikleri yaranın iyileşme süreci üzerinde önemli etkilere sahiptir. Son dönemde biyopolimerik sargı materyallerinin geliştirilmesi ve antimikrobiyal, anti-inflamatuar, analjezik ajanlar, büyüme faktörleri, proteinler ve diğer ajanların salınımı gibi özellikler kazandırılarak akıllı

ürünler geliştirilme çalışmaları yapılmaktadır. Bromelainin anti-inflamatuar etkisinden yararlanabilmek için çeşitli membran formülasyonları üreterek yara tedavisinde kullanımı için şeffaf, esnek ve sağlam filmler üretmişlerdir. Geliştirilen bu filmler yüksek su geçirgenliği, düşük su buharı geçirgenliği, yüksek gerilme mukavemeti, iyi derecede eksüda emme kapasitesi göstermiştir. Yapılan *in vivo* deneyler sonucunda bromelain yüklü membran yapılarında on dördüncü günde dahi hiçbir ödem görülmediği belirtilmiştir (Miranda et al. 2021). Yara iyileştirme üzerine yapılan başka bir çalışmada ise ikinci dereceden yanıklar üzerine elektrospinning yöntemi ile hazırlanan kitosan-bromelain nanofiberlerinin etkisi incelenmiştir. Kitosan-bromelain nanofiberlerinin yara iyileştirme sürecini hızlandırdığı belirtilerek yanık yaraları tedavileri için uygun bir sistem olarak önerilmiştir (Bayat et al. 2019).

Gıda sektöründe etlerin pişirildiğinde sertleşmesi gıda kalitesini etkileyen önemli bir sorundur ve bunun önüne geçebilmek adına mekanik yumuşatma, elektriksel uyarım, enzimatik yöntemler dahil olmak üzere pek çok ön işlem uygulanmaktadır. Enzimatik yumuşatma adımlarında en çok kullanılan enzim grubu sistein proteazlarıdır. Bu bilgiler doğrultusunda bromelainin domuz etinin sertliği üzerindeki etkisi araştırılmış. Yapılan deneyler sonucunda bromelain ile işlem görmüş domuz etlerinin piştikten sonra rengini koruduğu, pişirme kayıplarının ve kesme direncinin azaldığı görülmüştür. Geliştirilen bu yöntemin sanayide büyük ölçeklere aktarımını önermişlerdir (Saengsuk et al. 2021).

5. ENKAPSÜLASYON ÇALIŞMASI

Enzimler yüksek spesifiklikleri, iyi reaksiyon hızları, toksik olmamaları ve suda çözünmeleri gibi avantajlı özelliklere sahiptirler. Çevre dostu ve yeşil biyokataliz olarak enzimler bu üstün özellikleri sayesinde kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonlarda katalizör, klinikte terapötik ajan olarak, biyoteknoloji, biyomedikal, biyomühendislik, biyosensör uygulamalarında, farmasötik gibi pek çok alanda yaygın sürdürülebilir kalkınma ve yeşil üretimde kullanılırlar. Bununla birlikte enzimlerin optimum kullanım koşulları dışında kararsız ve hassas olmaları, maliyetinin yüksek olması, reaksiyon ortamından enzimin ayrılmasının zorluğu ve saflaştırılması gibi kullanımını sınırlayan bazı faktörler vardı (Betigeri and Neau, 2002; Wang et al., 2019). Bu olumsuz koşulların giderilmesi ve enzimlerin pek çok alan ve koşulda kullanılabilmesi için immobilizasyon yöntemleri kullanılır. Enzim immobilizasyonu, bir taşıyıcıya bağlama, çapraz bağlama, kapsülleme yolu ile enzim moleküllerinin destek materyallerine veya bu destek materyallerinin içine dahil edilmesi veya bağlanması ile sağlanabilir. Immobilizasyon farklı destek materyalleri ve yöntemler kullanılarak gerçekleştirilebilir. Immobilize enzimler tekrar tekrar kullanılabilirliği, daha basit geri kazanımı ve buna bağlı olarak maliyetin düşürülmesi, kontaminasyon riskinin düşük olması, daha geniş pH ve sıcaklık aralıklarında daha fazla stabilite ve aktivite göstermeleri, düşük alerjenik kapasite, çeşitli konfigürasyon ve reaktörlerdeki spesifik işlemlere uyarlanabilmesi gibi pek çok avantaja sahiptirler (Banerjee et al., 2020; Betigeri and Neau, 2002; Biró et al., 2008; Holyavka et al., 2021). Ancak immobilizasyon sırasında dikkat edilmesi gereken bazı noktalar ve riskler vardır. Immobilizasyon koşulları her zaman hafif değildir böyle durumlarda enzimlerde aktivite kaybı ve denatürasyon görülebilir. Enzim ve matris arasında etkileşimler meydana gelerek süreci olumsuz etkileyebilir. Sekonder yapılarda meydana gelen bozulmalar ile α -heliks yapılarında azalma, β -tabakalarında artışa sebebiyet verebilir. Bazı durumlarda substratın enzimin aktif bölgesine erişimi kısıtlanabilir (Banerjee et al. 2020; Holyavka et al. 2021).

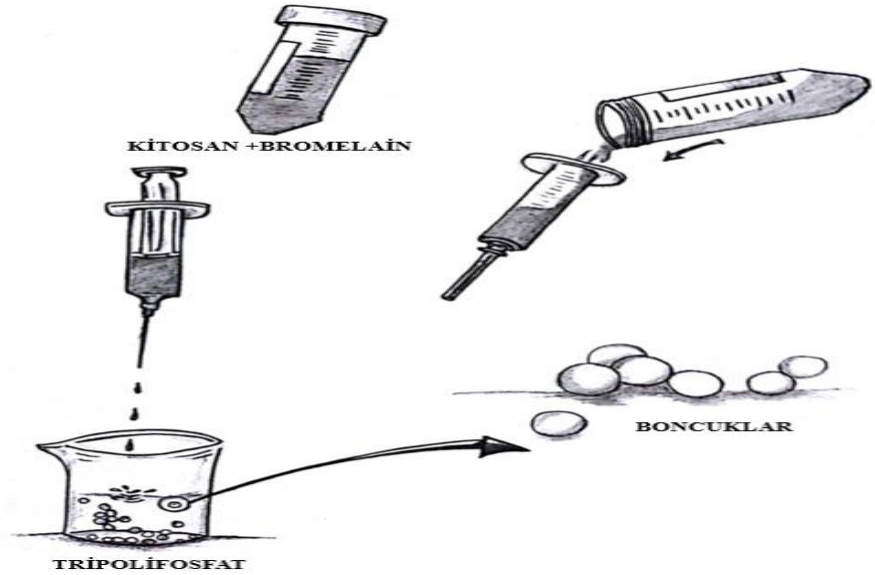
Enzimlerin mikroenkapsülasyonu yaygın olarak kullanılan immobilizasyon yöntemlerindendir. Mikroenkapsülasyon katı, sıvı veya gaz halindeki moleküllerin, çeşitli morfolojilerde mikro veya nano ölçekli polimerik parçacıklara hapsedilmesi olarak tanımlanabilir. Bu yöntem ile molekül hareketsizleştirme, sıcaklık ve pH gibi

dış etkenlerden koruma, yapılandırma ve salınımı amaçlanır. Mikropartiküller sırası ile çekirdek bileşeninin muhafazası, mikropartiküllerin oluşumu ve kapsüllerin sertleştirme adımı olmak üzere üç aşamada gerçekleştirilir. İstenilen ortam sağlandığında aktif bileşenler kontrollü olarak salınma eğilimindedir. Kabuk bir kanal görevi görerek aktif bileşenlerin alınımlarını ve salınımlarını sağlar. Bu durum kabuk oluşumu için kullanılan malzemenin özelliklerine ve kullanım amacına göre belirlenir. Parçacıklar düzenli şekillerde olabileceği gibi düzensiz şekle de sahip olabilirler. Mikroenkapsülasyon yönteminde materyal seçimi de önemli bir faktördür. Seçilen materyal ürün spesifikasyonlarını karşılamalı, iyi derecede stabilite, verimlilik ve koruma derecesine sahip, çevre dostu ve maliyeti uygun olmalıdır. Ayrıca mikrokapsüllerin hazırlama koşullarının optimizasyonu da önemli bir diğer adımdır. Çapraz bağlama süresi, kabuk oluşturuucu bileşenin konsantrasyonu ve verimi, kabuk dayanıklılığı, yüzeylere yapışma kabiliyeti, salınım hızı üzerinde doğrudan etkilidir. Son yıllarda biyoyoumlu yapıları nedeni ile kitosan, jelatin, aljinat gibi biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerin kullanımı oldukça artmıştır (Ali et al. 2020; Massella et al. 2019).

Kitosan, kitinin alkali koşullar altında deasetilasyonu ile elde edilen, biyobozunurluk, biyoyoumluluk, antifungal, antibakteriyel aktivite gibi benzersiz özelliklere sahip bir β -(1-4) bağlı poli (D-glukozamin) ve poli (N-asetil-Dglukozamin) oluşan doğal katyonik bir polisakkarittir. Kitosan antibiyotik, antiinflamatuvarlar, antihipertansifler, peptit ve proteinler gibi çeşitli terapötik sınıfı ilaçların salınımlarında bir polimer sistemi olarak kullanılmaktadır. Kitosan mikroenkapsülasyon uygulamaları biyomedikal, kozmetik, tarım, su arıtma, membranlar, gıda paketlenme, fonksiyonel tekstil, hidrojeller, biyosensör gibi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Kitosan serbest amino ve karboksil grupları sayesinde çapraz bağlama özelliğine sahiptir. Kitosan ile enkapsülasyon çalışmalarında formaldehit, glutaraldehit, poliaspartik asit sodyum tuzu, glioksal, epiklorohidrin, etilen glikol diglisidil eter gibi çapraz bağlayıcılar kullanılmıştır. Bazı çapraz bağlayıcılar toksik ve zayıf mekanik özellik gösterirler ve biyolojik olarak parçalanamazlar. Bu nedenle hem doğa dostu hem de yüksek mekanik özelliklere sahip kitosan parçacıkları üretebilmek için biyolojik olarak parçalanabilen ve yüksek performanslı çapraz bağlayıcılarla çalışmak gerekir (Ali

et al., 2020; Artem et al., 2021; Babakhani and Sartaj, 2020; Biró et al., 2008; Gadkari et al., 2019).

Toksik özellik göstermeyen polianyonik iyon olan tripolifostat (TPP) ile kitosan bir araya geldiklerinde jel oluşturabilme kabiliyeti gösterirler. Kitosanın pozitif yüklü amino grupları ile çok değerlikli çapraz bağlayıcı TPP'nin negatif yüklü polianyonik grupları arasında iyonik etkileşimler meydana gelir. Bu fiziksel çapraz bağlama işlemi iyonotropik jelleşme tekniği olarak adlandırılır. Şekil 5.1'de kitosan ve TPP'nin iyonotropik jelleşme özelliğinden faydalanılarak boncuk oluşumunun örneği verilmiştir. İyonotropik jelleşme sistemleri kolloidal stabilite, polimer ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonu, polimer ve çapraz bağlayıcının oranı, pH, sıcaklık, iyonik kuvvet, karıştırma hızı ve süresi, gibi birçok parametreden etkilenir. TPP çevre dostu, toksik özellik taşımayan ve ekonomik bir çapraz bağlayıcı olduğu için pek çok alanda farklı çalışmalarda kitosan ile birlikte kullanılmaktadır (Fan et al. 2012; Massella et al. 2019; Mi et al. 1999; Sacco et al., 2016).



Şekil 5. 1 Kitosan ve tripolifosfat kullanılarak iyonotropik jelleşme yöntemi ile boncuk oluşumu (Liliana and Vladimir, 2013).

Betigeri and Neau, çalışmalarında biyoteknolojik alanda uygulama yelpazesi çok geniş olan önemli biyokatalizörlerden lipazların agaroz, aljinat ve kitosan olmak üzere üç polimere immobilizasyonu ile oluşturulan boncuklardaki

aktivitesini araştırmışlardır. Kitosan mikroenkapsülasyonunu TPP kullanılarak iyonik jeletasyon yöntemi ile gerçekleştirmışlerdir. Sonuçlarda agaroz boncukların şişme ve parçalanma eğilimde oldukları, aljinat ve kitosan boncuklarda benzer oranda lipaz immobilizasyonu olduğu ancak kitosan-TPP boncuklarında daha yüksek lipaz aktivitesi görüldüğü bulunmuştur (Betigeri and Neau, 2002).

Petrol rafineleri, reçine üretimi, tekstil, plastik, boya ve ilaç endüstriyel atıklarından suya karışan fenol bileşikleri insan ve hayvanlar için düşük konsantrasyonlarda dahi toksiktir. Bu yüzden farklı pek çok yöntemlerle fenollerin atık sulardan giderimi araştırılmıştır. Fenolü aerobik bozunması ile tek enerji ve karbon kaynağını sağlayan mikroorganizmalar sıklıkla kullanılmaktadır. Hsieh ve çalışma arkadaşları; kitosan-TPP mikropartiküllerine immobilize edilen *Pseudomonas putida* 'nın fenol biyodegradasyonunu araştırmışlardır. Yüksek fenol degradasyonu sağlayan *P.putida* yüklü kitosan-TPP boncukları yüksek stabilite, dayanıklılık, tekrar kullanılabilirlik ve kolay depolama etkinlikleri sergilediğı için atık suların arıtımında kullanılması önerilmiştir (Hsieh et al. 2008).

Kitosanın antibakteriyal özelliğı birçok çalışmaya konu olmuş ve bu özelliğı geliştirmek için farklı modifikasyonlar ile kitosan türevleri oluşturulmuştur. Du ve çalışma arkadaşları; iyodotropik jelleşme yönteminden faydalanılarak hazırlanan kitosan-TPP boncuklarına Ag^+ , Cu^{+2} , Zn^{+2} , Mn^{+2} , Fe^{+2} metal iyonları ayrı ayrı yüklenerek *E.coli*, *S.aureus* ve *S.choleraesuis* suşları üzerindeki antibakteriyal aktivitelerini araştırmışlardır. Sonuçlar değerlendirildiğinde Cu^{+2} ve Zn^{+2} ile yüklü kitosan-TPP boncuklarının önemli ölçüde arttığı, Gram-negatif bakterilerin Gram-pozitif bakterilerden daha duyarlı olduğu, Ag^+ yüklü kitosan nanoparçacığının *E.coli* ve *S.aureus* 'a karşı en yüksek antibakteriyal etki gösterdiğini bulmuşlardır (Du et al. 2009).

Carica papaya'dan izole edilen ve bir proteolitik enzim olan papain, kitosan ile birlikte kullanıldığında yaraların iyileşme kapasitesini arttırma, eksüdayı azaltma, anti-inflamatuar, anti-bakteriyal ve antioksidan özellik göstererek tedaviyi destekler. Vasconcellos ve çalışma arkadaşları; yaptıkları bu çalışmada kitosan-TPP ve kitosan-glutaraldehit mikroparçacıklarına yüklenen papainin kontrollü salınımını araştırmışlardır. Salınım profilleri incelendiğinde her iki mikroparçacığın da papain salınım profillerinin benzer olduğunu ifade etmişlerdir. Ancak glutaraldehitin toksisitesi TPP den daha yüksek olduğu için kullanım tercihi

olarak kitosan-TPP mikroparçacıkları önerilmiştir. *In vitro* testlerin sonuçları da farmasötikte kullanımı için oldukça umut verici olduğu, çalışmaların devam ettirilirse potansiyel bir yara iyileştirme materyali olabileceği önerilmiştir (Vasconcellos et al. 2011).

Csaba ve çalışma arkadaşları; iyonotropik jeletasyon tekniği ile oluşturulan kitosan-TPP nanoparçacıklarına plazmit-DNA ve kısa oligonükleotitlerin yüklenmesi ile potansiyel nanogen taşıyıcısı yaratmayı hedeflemişlerdir. Oluşturulan nanopartiküllerin çeşitli ortamlarda inkübasyonunda DNA salınımının tespit edilmediği, yüksek fiziksel stabilite gösterdiği belirtilmiştir. Kitosan-TPP nanoparçacıklarının belirli aralıklarla yapılan incelemelerinde sürekli ve yüksek gen ekspresyonuna devam ettiği, fareler üzerinde intratrakeal uygulamadan sonra gerçekleştirilen *in vivo* deneylerde güçlü bir beta-galaktosidaz ekspresyonu sağladığını gözlemlemişlerdir. Bu avantajlı sonuçlar doğrultusunda iyonik çapraz bağlı kitosan-TPP nanoparçacıklarının biyoyumlu ve viral olmayan bir gen dağıtım sistemi olarak kullanımı önerilmiştir (Csaba et al., 2009).

Srinatha ve çalışma arkadaşları; kitosan-TPP boncukları ilaç salınımı için potansiyel kullanımlarını değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmalarda boncukların iyi su tutma kapasitesine sahip olduğu, Siprofloksasin hidroklorür yüklü kitosan boncuklarının asidik ortamda salınımının daha yüksek olduğu, tekrar kullanılabilirliğinin yüksek olduğu, ilaç konsantrasyonunun artırılıp kitosan oranının azaltıldığı setlerde daha iyi salınım profillerinin görüldüğü bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmanın ileriki optimizasyon ve *in vivo* çalışmalarına zemin hazırladığını ifade etmişlerdir (Srinatha et al., 2008).

Wasso ve çalışma arkadaşları; geviş getiren hayvanlarda antelmintik ilaçlara karşı direncin gelişmesi sonucunda nematodlara karşı yeni formülasyonlar araştırmaktadır. Bu çalışmada bromelain yüklü kitosan-TPP nanotaşıyıcıların nematodlar üzerindeki etkisi *in vitro* ve *in vivo* antelmintik etkinliğini ve toksisitesi araştırılmıştır. Bromelain nanotaşıyıcılar ile birlikte deneklere verildiğinde *in vitro* ve *in vivo* olarak antelmintik özelliklerini arttırdığı ve direnç geliştirilen sentetik muadillerinin yerine kullanılması önerilmiştir (Wasso et al., 2020).

Bu çalışmada atık ananas kabuklarından izole edilen bromelain enzimi kitosana enkapsüle edilerek yün kumaşların modifikasyon çalışmalarında kullanıldı.



6. MATERYAL ve METOD

6.1 Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar

6.1.1 Kullanılan cihazlar

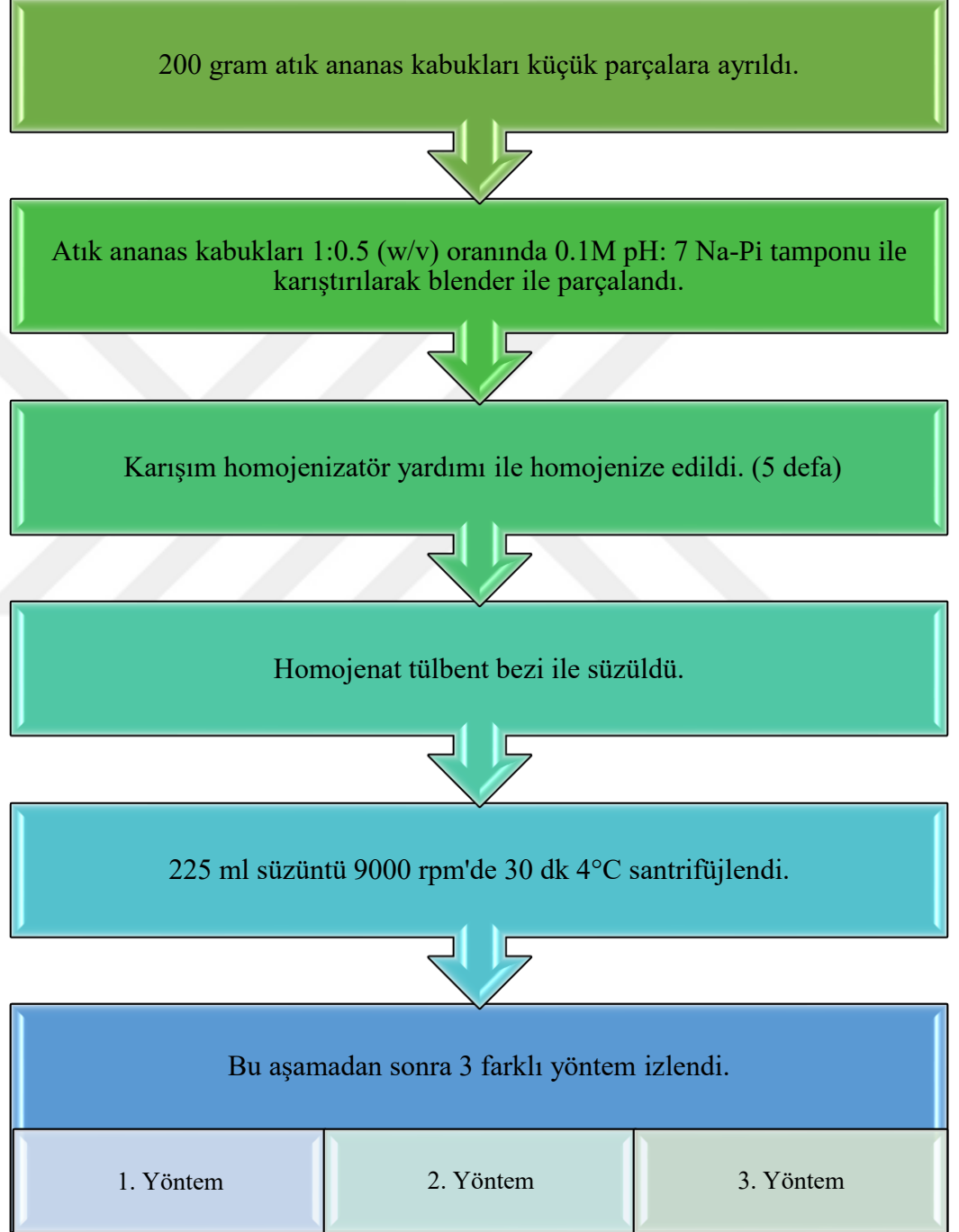
- Denver Instrument SI-234A Terazi
- Sinbo SHB-3142 Doğrayıcı Blender
- Silverson STL2 Homojenizatör
- Elma E120H Elmasonic Sonik Banyo
- Hettich Universal 320R Soğutmalı Santrifüj
- IKA® RH Basic 2 Manyetik Karıştırıcı
- Perkin Elmer Lambda 35 UV/Vis Spektrometre
- Stuart Rotator Orbital Karıştırıcı
- Thermo Scientific Finn timer F2
- WTW pH 538 pH Metre
- Memmert Su Banyosu
- IKA® KS 260 basic 2 Orbital Çalkalayıcı
- Stuart SA8 Vorteks Mikser
- Profilo Turbo Cooler Buzdolabı
- Nu Martindale Aşındırma ve Boncuklanma Test Cihazı
- Zwick/ Roell Uzun Aralıklı Ekstansometre
- James H. Heal Kumaş Daire Numune Kesici

6.1.2 Kullanılan kimyasallar

- SIGMA-ALDRICH Sodyum Fosfat Monobazik $\geq$ %98
- SIGMA-ALDRICH Sodyum Fosfat Dibazik $\geq$ %99
- ISOLAB Etanol %99,9
- SIGMA-ALDRICH Amonyum sülfat $\geq$ %99
- MERCK Bakır Sülfat Pentahidrat
- SIGMA-ALDRICH Sodyum/Potasyum Tartarat
- MERCK Sodyum Hidroksit
- MERCK Sodyum Karbonat
- SIGMA-ALDRICH Folin
- SIGMA-ALDRICH Bovine Serum Albumin (BSA)
- SIGMA-ALDRICH Tirozin $\geq$ %98
- ISOLAB Trikloroasetik asit $\geq$ %99,5
- SIGMA-ALDRICH Kazein
- SIGMA-ALDRICH Tripolifosfat %90-95
- SIGMA-ALDRICH Kitosan
- ISOLAB Asetik asit $\geq$ %99,9
- SIGMA-ALDRICH Ticari Bromelain (E.C. 3.4.22.32)
- SIGMA-ALDRICH Karboksi Metil Selüloz (CMC)
- RUCOWET ®ALC Islatici
- SIGMA-ALDRICH Glutaraldehit %25

6.2 Ananas Kabuklarından Bromelain İzole Edilmesi

Yerel marketten ücretsiz temin edilen atık ananas kabukları enzim kaynağı olarak kullanıldı. Atık ananas kabuğundan bromelain enzimi eldesi için işlem adımları şekil 6.1 'de özetlenmiştir.



Şekil 6. 1 Bromelain izolasyon adımları.

Birinci yöntemde; santrifüj sonrası süpernatanta farklı yüzdelerde alkol çöktürmesi denendi. Etanol (EtOH) deney öncesi 4°C’de soğutuldu. %30; %70 ve %30-70 etanol çöktürmesi 60 dakika 4°C’ de orbital çalkalayıcı yardımı ile gerçekleştirildi. Örnekler 9000 rpm’de 4°C’de 20 dakika santrifüjlendi. Supernatant EtOH distilasyonu için ayrıldı. Çökelek olarak ayrılan bromelain sonraki adımlarda kullanılmak üzere porsiyonlanarak -20°C ye kaldırıldı (Soares et al. 2012).

İkinci yöntemde; santrifüj sonrası ayrılan üst faza %0-20, %20-40, %40-60 olmak üzere gradient amonyum sülfat çöktürmesi 4°C’de uygulandı. Her bir çöktürme adımı sonrasında örnekler 9000 rpm’de 4°C’de 20 dakika santrifüjlendi. %0-20 amonyum sülfat sonucu elde edilen çökelek (Ç1), %20-40 amonyum sülfat sonucu elde edilen çökelek (Ç2), %40-60 amonyum sülfat sonucu elde edilen çökelek (Ç3) 0,1M pH:7 Pi tamponunda çözöldü ve 36 saat distile suya karşı diyalizlendi. Diyaliz sonrası örnekler 9000 rpm’de 4°C’de 20 dakika santrifüjlendi. Pellet 0,1M pH:7 Pi tamponunda çözöndüröldü ve %30-70 etanol çöktürmesi 60 dakika 4°C’ de uygulandı. 9000 rpm’de 4°C’de 20 dakika santrifüjlendi. Üst faz olarak ayrılan etanol distile edilerek diğör çalışmalarda kullanmak üzere ayrıldı. Çökelek olarak ayrılan örnekler sonraki adımlarda kullanılmak üzere Ç1’, Ç2’ ve Ç3’ olarak etiketlenip porsiyonlanarak -20°C ye kaldırıldı.

Üçöncü yöntemde; santrifüj sonrası ayrılan üst faza %0-20, %20-40, %40-60 olmak üzere gradient amonyum sülfat çöktürmesi 4°C’ de uygulandı. Her bir çöktürme adımı sonrasında örnekler 9000 rpm’de 4°C’de 20 dakika santrifüjlendi. Ç1, Ç2 ve Ç3 0,1M pH:7 Pi tamponunda çözöndüröldü ve 36 saat distile suya karşı diyalizlendi. Diyaliz sonrası örnekler 9000 rpm’de 4°C’de 20 dakika santrifüjlendi. Çökelek olarak ayrılan örnekler sonraki adımlarda kullanılmak üzere porsiyonlanarak -20°C ye kaldırıldı.

6.2.1 Protein tayini

Protein tayini için Lowry metodu kullanıldı (Lowry et al. 1951). Bu yöntemde bakır iyonları (Cu⁺²) alkali ortamda örnek içörisindeki proteinlerin peptit bağları ile kompleks oluşturarak Cu⁺¹ e indirgenir. İndirgenen bakır iyonları ve tirozin, triptofan, sistein aminoasitleri Folin-Ciocalteu reaktifini indirgeyerek mavi-mor renk oluşumu sağlar. Oluşan renk şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. 660 nm’de absorbans ölçölr. Standart grafik 0.02-0.2 mg/ml aralığında sığır serum albümini (BSA) kullanılarak çizildi.

Deneyde kullanılmak üzere alkali bakır reaktifi hazırlandı. Alkali bakır reaktifi için %1 Na/K tartarat, %0,5 CuSO₄.5H₂O ve 0.1M NaOH içerisinde %2 Na₂CO₃ çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan Na/K tartarat ve CuSO₄.5H₂O çözeltilerinin her birinden 1ml alınarak Na₂CO₃ çözeltisi ile 100ml' ye tamamlandı. 0.5ml örnek çözeltisi üzerine 2.5ml alkali bakır reaktifi eklenerek oda sıcaklığında 10dk bekletildi. Sonra 1:1 oranında distile su ile seyreltilen Folin reaktifi eklenerek oda sıcaklığında karanlık ortamda 30 dakika bekletildi ve sonrasında 660nm' de spektrofotometre ile absorbanslar ölçüldü.

6.2.2 Aktivite tayini

Bromelain aktivitesinin belirlenmesi için modifiye Kunitz yöntemi kullanıldı (Kunitz, 1946). Yöntem prensibi; substrat olarak seçilen kazeinin peptit bağlarının bromelain enzimi ile hidrolizi sonucu açığa çıkan tirozin (Tyr) amino asitleri üzerinden hesabına dayanmaktadır. %5'lik trikloroasetik asit (TCA) hidrolize olmamış proteinlerin çöktürülmesi için kullanıldı. Reaksiyon sonrası enzim aktivitesi 280 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü. Standart grafik 0.02-0.25 mg/ml aralığında tirozin kullanılarak çizildi.

0,15 ml enzim çözeltisi üzerine 0,625 ml kazein (%0,65) eklenerek 30 dakika 37°C sıcak su banyosunda bekletildi. 1,250 ml %5'lik TCA çözeltisi eklenerek 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Örnekler 15 dakika 5000rpm de santrifüjlendi. Üst faz ayrılarak 280 nm' de spektrofotometre ile absorbans ölçüldü. Aktivite değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\text{Hacimsel Aktivite (U/ml)} = \frac{(\text{Tyr Absorbans} \times \text{Reaksiyon Hacmi})}{\text{Tyr mA}}$$

$$\text{Reaksiyon süresi} \times \text{Enzim Miktarı}$$

*mA: Moleküler Ağırlık

$$\text{Spesifik Aktivite (U/mg)} = \frac{\text{Hacimsel Aktivite (U/ml)}}{\text{Protein Miktarı (mg/ml)}}$$

$$\text{Protein Miktarı (mg/ml)}$$

6.3 Bromelain Enkapsülasyonu

Bromelain enziminin enkapsülasyonu, katyonlar ile polianyonların arasındaki elektrostatik etkileşimi kullanan iyonotropik jeletasyon tekniğinden yararlanılarak hem ticari bromelain hem de atık ananas kabuklarından izole edilen bromelain kullanılarak üretildi (Fan et al. 2012).

%1-1.5-2-3'lik kitosan çözeltileri tablo 6.1' de belirtilen farklı oranlarda bromelain ile oda sıcaklığında 1 saat 40 rpm'de rotatorde karıştırıldı. Hazırlanan karışımlar 10 ml'lik küt uçlu enjektör yardımı ile 250 rpm'de karışan %0,5-1-2-3-4-5-8-10'lik TPP çözeltilerine damlatıldı. Damlatma sonrası 30 dakika boyunca düşük hızda karıştırılmaya devam edildi. Boncuklar oda sıcaklığında 2 saat TPP çözeltisinin içerisinde bekletildi. Sonrasında boncuklar süzülerek toplandı ve iki kez saf su ile yıkandı. %1'lik karboksimetil selüloz CMC çözeltisi içerisinde oda sıcaklığında gece boyu bekletildi. Daha sonra boncuklar buhner hunisi yardımı ile süzülerek toplandı ve iki kez saf su ile yıkandı. Sonraki adımlarda kullanılmak üzere ependorflara porsiyonlanarak 4°C'de muhafaza edildi.

Tablo 6. 1 Kitosan/ticari bromelain ve kitosan/izole bromelain boncuk oranları.

Ticari Enzim ile Hazırlanan Boncuklar	İzole Enzim ile Hazırlanan Boncuklar	Kitosan/Enzim Oranları
T1	B1	3:0,5
T2	B2	3:1
T3	B3	3:2
T4	B4	4:1
T5	B5	4:2
T6	B6	5:1
T7	B7	5:2

6.4 Yün Kumaş Yüzeyine Enzimlerin (Ticari ve İzole Edilen Bromelain) Uygulanması

Kullanılan yünlü kumaş Yünsa'dan temin edildi. Yün kumaşa hiçbir ön işlem uygulanmadığı için doğası gereği oldukça hidrofobik karakterdedir. Yün kumaşın hidrofilikliğini arttırmak için Rucowet® ALC ısılatıcı (non-iyonik) ile farklı konsantrasyon (2,3,4,5,6,7,8 g/L) ve farklı sürelerde (1,1.5,2,2.5 saat) oda

sıcaklığında muamele edildi. Daha sonra oda sıcaklığında kurutulduktan sonra hidrofilité testi yapıldı. Hidrofilité testi için kumaşlar kuru halde iken yaklaşık 10 cm yükseklikten bir damla su damlatılarak ne kadar sürede kumaşın su damlasını emdiği gözlemlendi.

2g/L Rucowet® ALC ıslatıcı ile 1 saat oda sıcaklığında muamele edildi. Islatıcı ile ön işlem gören kumaşların bir kısmı %0,2'lik glutaraldehit içerisinde 4 saat oda sıcaklığında karıştırıldı (Wang et al. 2009). Daha sonra glutaraldehit ile muamele edilmeyen yün kumaş(K1) ve glutaraldehit ile muamele edilen yün kumaş (K2), %3'lük TPP ile hazırlanan T1 ve B1 boncuklarını içeren distile su içerisine alınarak oda sıcaklığında 1 saat orbital çalkalayıcı yardımı ile karıştırıldı. Ayrıca K1 ve K2 ticari enzim ve izole enzim çözeltileri içerisinde 1 saat orbital çalkalayıcı yardımı ile karıştırıldı. Belirtilen tüm yün kumaş modifikasyonları tablo 6.2'de gösterilmiştir.

Tablo 6. 2 Yün kumaşların farklı yöntemler ile modifikasyonları

* (+): Farklı ön işlem görmüş kumaşların enzim ve enzim enkapsüle boncuklar ile muamele edildiğini ifade eder.

	K1	K2
Ticari Enzim	+	+
Ticari Enzim Boncukları	+	+
İzole Enzim	+	+
İzole Enzim Boncukları	+	+

6.4.1 Yün kumaşlara uygulanan testler

Yün kumaşlar enzimlerle işlem gördükten sonra optimizasyon ile elde edilen en iyi numunelerin fiziksel değişikliklerini incelemek amacıyla ağırlık kaybı TS 251 Metot 6 standardına, kopma mukavemeti Zwick Z010 Mukavemet Test Cihazı'nda TS EN ISO 13934-1 standardına ve boncuklanma testi Martindale cihazında TS EN ISO 12945-2 standardına göre gerçekleştirildi. Ölçüm sonuçları SPSS-25 programı ile istatistiksel olarak değerlendirilerek atık ananas kabuklarından izole edilen bromelain enzimi ve ticari bromelain enzimi ile karşılaştırmaları yapıldı.

7. SONUÇLAR VE BULGULAR

7.1 Atık Ananas Kabuklarından Bromelain İzole Edilmesi

Atık ananas kabuklarından bromelain izolasyonunda blender ile parçalama ve homojenizasyon adımı 0.1M pH 7 Pi tamponu kullanılarak dokulardaki bromelainin sıvı faza geçişi sağlandı. Ananas kabuklarının bıçak yardımı ile kaba parçalama yapıldıktan sonra -20°C de dondurulması ardından homojenizasyon gerçekleştirildiğinde elde edilen enzim miktarı ve aktivitenin arttığı görüldü. Donuk atık ananas kabukları ‘freeze and thaw’ etkisi ile daha iyi parçalandığı için daha fazla proteinin sıvı faza geçtiği görüldü. Ayrıca ananas kabuklarının donuk olması sayesinde homojenizasyon sırasında sıcaklık artışı minimum seviyelerde tutuldu ve buna bağlı olarak aktivitede artış gözlemlendi.

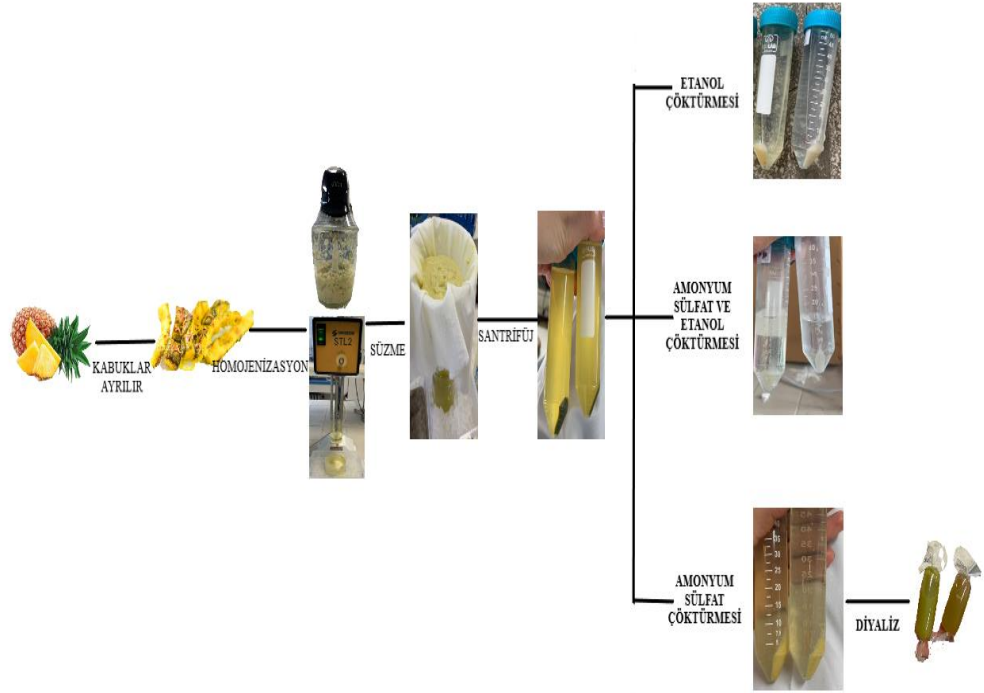
Elde edilen homojenat sadece bromelain enzimini içermez. Homojenat içeriğinde lifler, proteinler, karbohidratlar gibi çeşitli bileşenlerin bir karışımını bulundurmaktadır. Bu yüzden de kolayca denatüre olmaya eğilimlidir. Doğrudan uygulanması pek karlı değildir. Bu yüzden enzim saflaştırma adımları uygulanmaktadır (Abreu and Figueiredo, 2019).

Homojenat hala bir miktar donuk ve kıvamlı bir yapıdaydı. Bu yüzden süzme adımı öncesinde homojenatın 30 dk 4°C de bekletildiğinde elde edilen sıvı fazın daha yüksek hacimde olduğu ve köpüklenmenin azaldığı görüldü. Köpüklenme yüzey alanını arttırdığı için denatürasyon eğilimini artırır. Bu yüzden köpüklenmenin minimum seviyede olması sağlandı.

Ananas kabuklarından bromelain eldesi etanol ile çöktürme, amonyum sülfat ile çöktürme ve bunların kombinasyonu olmak üzere 3 farklı yöntem ile gerçekleştirildi. Etanol ve amonyum sülfat ile çöktürmede, protein-protein etkileşimlerinde bir artış ve protein-su etkileşimlerinde bir azalma ile sonuçlanan proteinlerin dehidrasyonu gerçekleşir. Çözücü konsantrasyonundaki artış, proteinlerin çözünürlüğünde azalma ve dolayısıyla çöken protein miktarında artış sağlar (Benefo and Ofosu, 2018).

İlk yöntemde farklı oranlarda etanol ile çöktürme sonucu elde edilen enzim miktarının oldukça düşük olduğu görüldü. İkinci yöntemde %20-40-60 oranlarında gradient amonyum sülfat ile çöktürme sonrası %30-70 etanol çöktürmesi uygulandı. Amonyum sülfat ile çöktürme bromelaine spesifik bir yöntem olmadığı

için aynı moleküler ağırlığındaki proteinler de bromelain ile birlikte çöker. Amonyum sülfat ile çöktürme sonrasında etanol ile çöktürme gerçekleştirildiğinde diğer proteinlerin nispeten uzaklaştırılması ile daha saf ve aktivitesi yüksek bromelain eldesi hedeflendi. Ancak amonyum sülfat sonrası etanol ile çöktürme uygulandığında aktivitenin düştüğü gözlemlendi. Bu yüzden üçüncü yöntem olan sadece amonyum sülfat ile çöktürme kullanıldı. Amonyum sülfat ile çöktürme sonucunda elde edilen çökeleklerin protein ve aktivite sonuçları karşılaştırıldığında hem bromelain enzim miktarının hem de aktivitenin en yüksek %20-40 amonyum sülfat ile çöktürme sonucunda elde edilen çökelek Ç2’de olduğu görüldü ve denemelere Ç2 ile devam edildi. Atık ananas kabuklarından bromelain enziminin izolasyon adım görselleri şekil 7.1’de verilmiştir.



Şekil 7. 1 Bromelain izolasyon adımları.

7.1.1 Protein tayini

Üç farklı yöntem ile izole edilen bromelain enziminin protein tayin sonuçları tablo 7.1’de verilmiştir. BSA standart grafiği şekil 7.2’ de verilmiştir.

Tablo 7.1 Farklı çöktürme yöntemleri sonucunda elde edilen protein miktarları.

Çöktürme Yöntemleri	Homojenat	EtOH ile Çöktürme			Amonyum Sülfat ile Çöktürme			Amonyum Sülfat ve EtOH ile Çöktürme					
		30%	70%	%30-70	Ç1	Ç2	Ç3	Ç1	Ç2	Ç3	Ç1'	Ç2'	Ç3'
Protein Miktarı (mg/ml)	6,45 ±0,01	0,08 ±0,01	0,32 ±0,01	0,25 ±0,01	1,13 ±0,01	4,42 ±0,01	1,70 ±0,02	0,48 ± 0,01	2,89 ±0,02	0,42 ±0,01	0,3 ±0,01	1,46 ±0,01	1,26 ±0,02

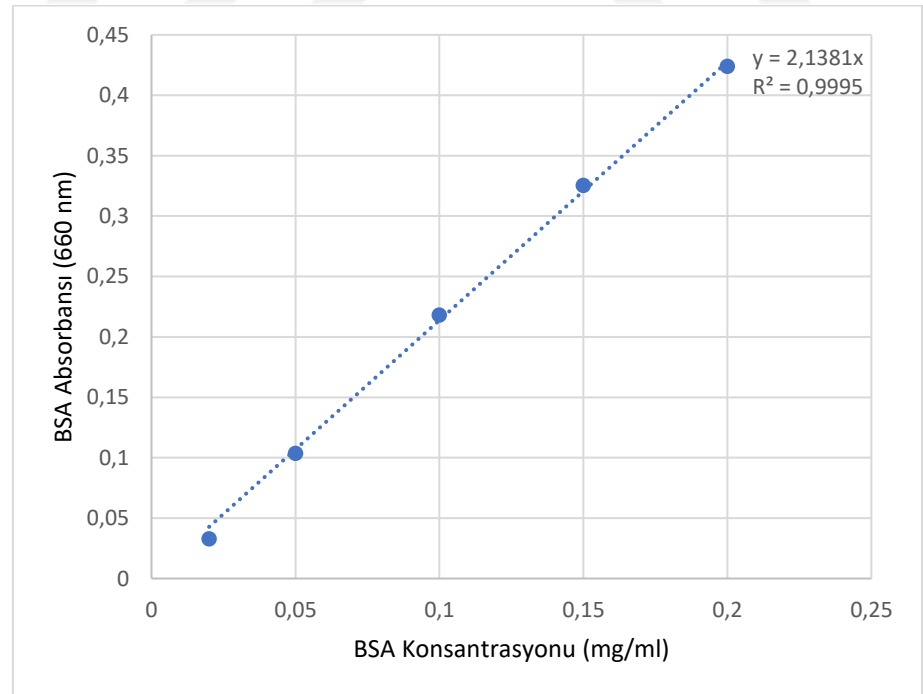
Her üç yöntem birbiri ile kıyaslandığında en yüksek protein miktarı %20-40 amonyum sülfat ile çöktürmede 4,42 mg/ml olarak elde edildi. Soares ve çalışma arkadaşları; ananas sap, kabuk ve yapraklarını kullanarak farklı yüzdelerde amonyum sülfat ile çöktürme yöntemini kullanarak bromelain izole etmişlerdir. En yüksek protein miktarını %20-40 amonyum sülfat ile çöktürme sonucunda 0,089 mg/ml olarak elde etmişlerdir (Soares et al., 2011). Silvestre ve çalışma arkadaşları; ananas kabuklarından bromelain izolasyonu için %0-40 amonyum sülfat ile çöktürme yöntemini uygulamıştır ve sonucunda 2,8 mg/ml protein elde etmişlerdir (Silvestre et al., 2012). Abbas ve çalışma arkadaşları; ananas kabuklarından %0-40 amonyum sülfat ile çöktürme sonucunda 0,128 mg/ml protein elde etmişlerdir (Abbas et al., 2021). Bu çalışmada %20-40 amonyum sülfat ile çöktürmede elde edilen sonuçlar literatür ile karşılaştırıldığında daha yüksek protein elde edildiği görüldü.

Etanol ile çöktürmede yapılan deneme sonuçları karşılaştırıldığında %70 oranında etanol ile yapılan denemede elde edilen protein miktarı; %30 ve %30-70 gradient etanol ile çöktürmede elde edilen protein miktarına göre daha yüksek bulundu. Soares ve çalışma arkadaşları; ananas sap ve kabuklarında %30; %70 ve %30-70 etanol ile çöktürme yöntemini kullanarak bromelain izole etmişlerdir. Çalışmalarının sonucunda en yüksek protein miktarını (0,2 mg/ml) %70 etanol ile çöktürmede elde etmişlerdir (Soares et al., 2012). Etanol çöktürmesiyle elde edilen protein miktarı literatür sonuçları ile karşılaştırıldığında yakın sonuçlar elde edildiği görüldü. Martins ve çalışma arkadaşları; ananas sap, kabuk ve yapraklarında %30-70 etanol ile çöktürme yöntemini kullanarak bromelain izole etmiştir. Bu çalışma sonucunda 0,084 mg/ml protein elde etmişlerdir (Martins et al., 2014). Omotoyinbo

ve Sanni; ananas kabuklarını kullanarak %30-70 etanol ile çöktürme yöntemini uygulamıştır ve 0,67 µg/ml protein elde etmişlerdir (Omotoyinbo and Sanni 2017).

Örneklere önce amonyum sülfat ve sonrasında etanol ile çöktürme uygulandı. Çünkü amonyum sülfat ile çöktürmede bromelain ile birlikte benzer moleküler ağırlıktaki diğer proteinler de çökmektedir. Amonyum sülfat ile çöktürmenin ardından yapılan etanol ile çöktürmede bromelain enzimi dışındaki diğer proteinlerin miktarını azaltmak hedeflendi. Bu denemenin sonucunda amonyum sülfat ile çöktürme sonrasında yapılan etanol ile çöktürmede tüm oranlarda daha düşük protein miktarı elde edildi.

Bromelain izolasyonu sonucunda elde edilen protein miktarları literatür ile karşılaştırıldığında elde edilen sonuçların literatür ile benzer çıkabildiği gibi literatür verilerinden daha yüksek ya da daha düşük çıktığı görüldü. Bunun sebebi ananas bitkisinin protein içeriğinin yetiştiği meyvenin türü, bölgenin toprak çeşidi, iklim koşulları, yetiştirilme yöntemi, sulama suyunun içeriği, sevkiyat ve depolama koşullarının farklanmasına bağlı olarak değişkenlik göstermesidir.



Şekil 7. 2 BSA standart grafiği

7.1.2 Aktivite tayini

Üç farklı yöntem ile izole edilen bromelain enziminin aktivite tayin sonuçları tablo 7.2’de verilmiştir. Tirozin standart grafiği şekil 7.3’de gösterilmiştir.

Tablo 7. 2 Farklı çöktürme yöntemleri sonucunda elde edilen enzim aktiviteleri.

Çöktürme Yöntemleri	Homojenat	EtOH ile Çöktürme			Amonyum Sülfat ile Çöktürme			Amonyum Sülfat ve EtOH ile Çöktürme					
		30%	70%	%30-70	Ç1	Ç2	Ç3	Ç1	Ç2	Ç3	Ç1'	Ç2'	Ç3'
		1,39 ±0,01	2,57 ±0,01	3,14 ±0,01	0,76 ±0,02	2,84 ±0,01	1,09 ±0,01	0,72 ±0,01	1,13 ±0,01	0,36 ±0,01	0,20 ±0,02	0,58 ±0,01	0,19 ±0,02
Enzim Aktivitesi (U/mg)	1,45 ±0,02												

Birinci yöntemle göre etanol ile çöktürme sonuçları değerlendirildiğinde en yüksek aktivite %30-70 gradient etanol ile çöktürme sonucunda elde edildiği gözlemlendi. %70 oranında uygulanan etanol ile çöktürme sonucunda elde edilen protein miktarının gradient etanol ile çöktürmeye göre yüksek bulundu. Ancak aktivite sonuçları karşılaştırıldığında gradient etanol ile çöktürmede daha düşük protein eldesine rağmen daha yüksek aktivite elde edildi. Bunun sebebi %70 oranında etanolün tek adımda eklendiğinde denatürasyona ve buna bağlı olarak da aktivitenin düşmesine sebep olmasıdır. Bu yüzden aşamalı olarak etanol eklenerek denatürasyon riski azaltıldı.

Soares ve çalışma arkadaşları; ananas sap ve kabuklarına %30; %70 ve %30-70 etanol ile çöktürme yöntemini kullanarak bromelain izole etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda en yüksek spesifik aktiviteyi %30-70 oranda 28,2 U/mg olarak elde etmişlerdir (Soares et al. 2012). Martins ve çalışma arkadaşları; ananas kabuk, sap ve yapraklarını kullanarak %30-70 etanol ile çöktürme sonucunda 189,5 U/mg aktiviteye sahip bromelain izole etmişlerdir (Martins et al., 2014). Omotoyinbo and Sanni; ananas kabuklarını kullanarak %30-70 etanol ile çöktürme sonucunda 0,015 U/μg aktivite elde etmişlerdir (Omotoyinbo and Sanni, 2017).

Belirtilen literatürler ile bu çalışmanın spesifik aktivite sonuçları karşılaştırıldığında elde edilen aktivitenin düşük olduğu görüldü. Bunun sebepleri ananasın farklı bölgelerinin izolasyona dahil edilmesi, protein içeriğinin farklı

olması ve meyvenin olgunluk derecesine bağılı olarak proteaz aktivitesinin değişkenlik göstermesi gibi sebeplerden kaynaklanabilir.

Bu çalışmada sadece ananas kabukları enzim izolasyonunda kullanılırken literatür çalışmalarında sap ve yaprak da izolasyona dahil edilmiştir. Ananasın farklı bölümlerinin eklenmesi de enzim aktivitesindeki bu farklanmaya sebep olmaktadır.

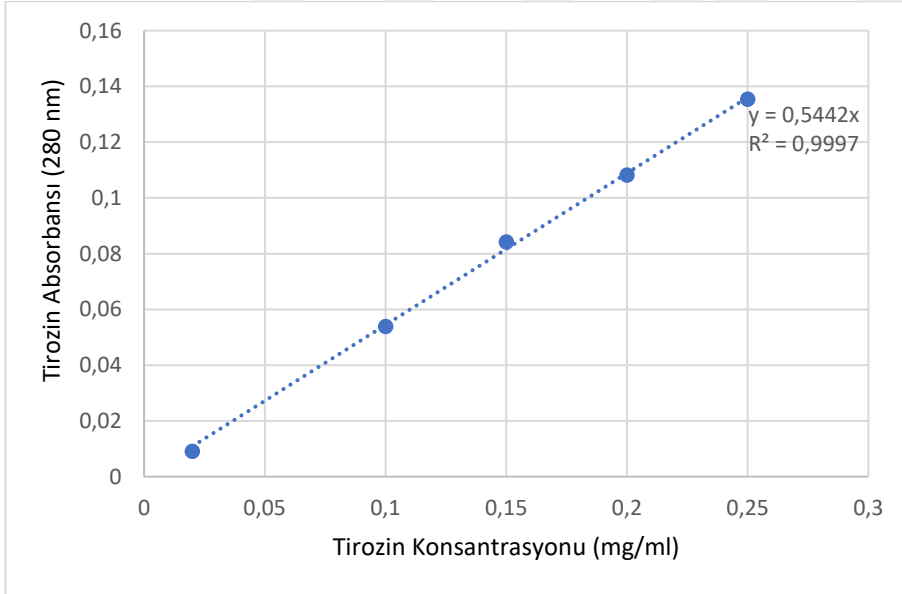
İkinci yöntemde amonyum sülfat ile çöktürmede kısmi saflıkta bromelain elde edildi. Çünkü amonyum sülfat ile çöktürme sonucunda aynı moleküler ağırlıktaki proteinler de çöktürüldü. Amonyum sülfat sonrası yapılan etanol ile çöktürmede bromelain dışındaki diğer proteinlerin kısmen de olsa uzaklaştırılması bekleniyordu. Ancak amonyum sülfat sonrası etanol ile çöktürme işleminin sonuçlarına bakıldığında aktivite değerlerinin neredeyse yarı yarıya düştüğü görüldü. Bunun sebebi etanolün diğer organik solventlere göre polaritesinin daha yüksek olması olabilir. Bu yüzden etanol yerine daha apolar bir organik solvent kullanılması gerekmektedir.

Üçüncü yöntemde gradient amonyum sülfat ile çöktürme sonucunda en yüksek aktivite 2,84 U/mg olmak üzere 2’de elde edildi. 1 ve 3’te sırası ile 0,76 ve 1,09 U/mg olmak üzere daha düşük spesifik aktivite görüldü. Bunun sebebi ananas kabuğunda bromelain enzimi dışında farklı moleküler ağırlığında çeşitli enzimlerinin bulunmasıdır. Farklı moleküler ağırlığındaki bu proteinlerin gradient çöktürme ile farklı tuz yüzdelerinde çökmektedir (Setiasih et al., 2018).

Silvestre ve çalışma arkadaşları; ananas kabuklarına %0-40 amonyum sülfat ile çöktürme uygulayarak 3,4 U/mg aktivite elde etmişlerdir (Silvestre et al., 2012). Soares ve çalışma arkadaşları; ananas sap, kabuk ve yapraklarına %20-40 amonyum sülfat ile çöktürme sonucunda 359,28 U/mg spesifik aktivite elde etmişlerdir (Soares et al., 2011). Abbas ve çalışma arkadaşları; ananas kabuklarını kullanarak %40 amonyum sülfat ile çöktürme uygulamışlar ve 3,417 U/mg spesifik aktivite elde etmişlerdir (Abbas et al., 2021).

Bu çalışma sonucunda elde edilen spesifik aktivite ile literatür verileri karşılaştırıldığında yakın çıkan sonuçlar olduğu gibi daha yüksek aktivite elde edilebildiği görüldü. Bu farklı sonuçların sebebi farklı ananas bölümlerinin, kullanılması, meyvenin olgunluğu ve protein miktarı olabilir. Ananas içeriğindeki bromelain miktarı yetiştiği bölgenin toprak çeşidi, iklim koşulları, yetiştirilme yöntemi, sulama suyunun içeriği, meyvenin türüne bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Ayrıca amonyum sülfat ile çöktürme bromelain enzimine spesifik bir yöntem değildir. Amonyum sülfat ile çöktürmede belirli tuz konsantrasyonlarında moleküler ağırlıkları birbirine yakın olan proteinler çöktürülür. Böylece bromelain enziminin yanında yakın molekül ağırlıktaki proteinlerde çökmektedir.

Üç farklı çöktürme yönteminin sonuçları değerlendirildiğinde en yüksek protein ve aktivite değerlerine %20-40 amonyum sülfat çöktürmesi ile elde edilen Ç2'nin sahip olduğu görüldü. Bu yüzden enkapsülasyon çalışmalarına Ç2 ile devam edildi.



Şekil 7. 3 Tirozin standart grafiği.

7.2 Ticari Bromelain (E.C. 3.4.22.32) ve İzole Edilen Bromelainin Enkapsülasyonu

Ticari ve izole bromelain, %1-3'lük kitosan çözeltileri ile tablo 6.1'de belirtilen oranlarda karıştırılarak %0,5-1-2-3-4-5-8-10'luk TPP çözeltisine damlatılması ile boncuk oluşumu incelendi. TPP konsantrasyonu %4'ün üstüne çıkıldığında boncuk

oluşumunun gerçekleşmediği, kitosan/enzim karışımının TPP çözeltisi içerisinde dağıldığı gözlemlendi.

Boncuk oluşumu; kitosan ve TPP'nin temas ettiği anda TPP fosfat grupları ile kitosanın amino grupları arasında molekül içi ve moleküller arası çapraz bağlar oluşmaktadır. Bu sayede TPP ve kitosan çözeltilerinin karıştırılmasından hemen sonra hızla boncuk oluşumu başlamaktadır. Reaksiyona eklenen TPP miktarı, agregasyon ve hızlı reaksiyon ile doğrudan ilişkilidir. TPP'nin miktarı ne kadar yüksek olursa, reaksiyon o kadar hızlı gerçekleşmektedir. Ancak belirli bir noktadan sonra TPP miktarının artması enzim enkapsülasyon veriminin düşmesine sebep olduğu belirtilmektedir. Bu davranış, kitosan ile TPP etkileşimi nedeniyle enzimlerin serbest kitosan ile arzu edilen etkileşiminin engellenmesine sebep oluşuyla açıklanabilir (Gan et al. 2005; Koyani and Vazquez-Duhalt, 2016; Rampio et al. 2013; Xu and Du, 2003).

%1-2 kitosan ve bromelain karışımları ile yapılan denemelerde stabil boncuk oluşumu gözlenmedi. Bu boncukların; stabil şekli olmayan, dağılmaya ve patlamaya eğilimli, çözelti içerisinde önce oluşup sonra küçülerek boncuk formunu kaybeden düzensiz yapılar oluşturduğu gözlemlendi. Bunun sebebi kitosan konsantrasyonunun yeterli gelmemesi olabilir.

%3 kitosan ve bromelain karışımları ile yapılan denemelerde tablo 7.3 'te boncuk oluşumu gözlenen oranlar belirtildi. Ticari enzim kullanılarak elde edilen boncuklar izole enzim kullanılarak elde edilen boncuklara göre daha stabil yapıda olduğu gözlemlendi. Bunun sebebi izole enzimin diyaliz işlemi sırasında tuz kalıntılarının tam olarak uzaklaştırılamaması olabilir.

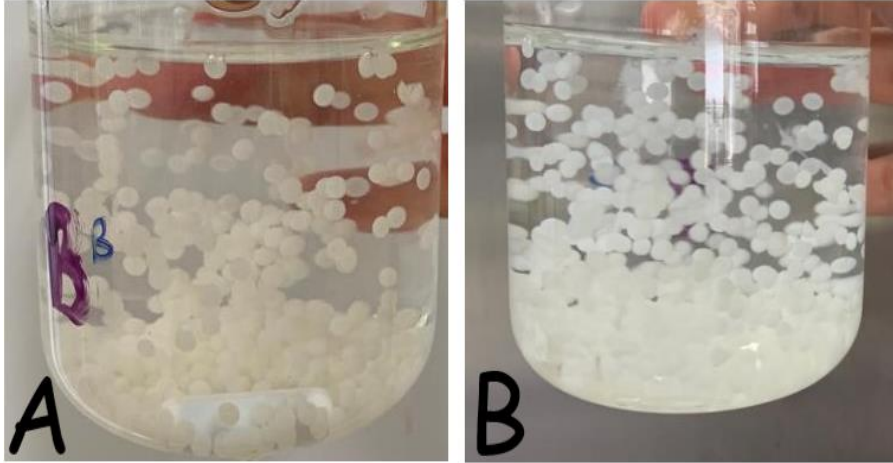
Oluşan boncukların stabilitesini arttırmak için boncuklar TPP çözeltisinden ayrıldıktan sonra %1'lik CMC içerisinde gece boyu bekletildi. Boncukların dış yüzeyi CMC ile kaplandığında sertliğin arttığı, dağılma eğiliminin azaldığı, yıkama sırasında boncuk kaybının azaldığı görüldü. Bir sonraki adımda kullanılmak üzere şekil 7.4'te gösterildiği gibi stabilitesi en yüksek olan %3'lük TPP içerisinde oluşturulan T1 ve B1 boncukları seçildi.

Tablo 7. 3 Farklı oranlarda hazırlanan kitosan/bromelain karışımlarının TPP içerisinde boncuk oluşturma sonuçları.

*(+) Belirtilen oranlarda boncuk oluşumunu ifade eder.

(-) Belirtilen oranlarda boncuk oluşumunun olmadığını ifade eder.

TPP Kitosan/Bromelain	%0,5	%1	%2	%3	%4
3/0,5	-	+	+	+	+
3/1	-	+	+	+	-
3/2	-	-	-	-	-
4/1	-	-	+	-	-
4/2	-	-	-	-	-
5/1	-	+	+	+	-
5/2	-	-	-	-	-



Şekil 7. 4 Sonraki adımda kullanılmak üzere seçilen boncuk görselleri.

*A) ticari enzim boncukları, B) izole enzim boncukları.

7.3 Yün Kumaş Yüzeyine Enzimlerin (Ticari ve İzole Edilen Bromelain) Uygulanması

Yünlü kumaş hiçbir ön işlem uygulanmadığı için oldukça hidrofobik karakterdedir. Islanma süresinin hiçbir yıkama işlemi uygulamadan önce 1 saat 17 dakika olduğu görüldü. Rucowet® ALC ıslatıcısı ile muamele edilen kumaşlarda yapılan hidrofilitte testi sonuçlarına göre konsantrasyon ve süre arttıkça ıslanma süresinin kısaldığı görüldü. Ancak 2 g/L' nin üstünde köpük oluşumu gözlemlendi.

Islatıcı madde uygulamasından sonra yıkama adımı olmadığı için köpüklenme sonraki adımlar için dezavantaja sebep olacaktır. Bu yüzden sonraki adımlarda 2 g/L Rucowet® ALC içerisinde 1 saat yıkama gerçekleştirildi ve ıslanma süresinin 25 dakikaya düştüğü görüldü. Glutaraldehit ile muamele edilmemiş yün kumaş (K1) ve glutaraldehit ile muamele edilmiş yün kumaş (K2), %3'lük TPP içerisinde hazırlanan T1 ve B1 boncukları, ticari ve izole bromelain enzimi ile muamele sonucu ıslanma süreleri tablo 7.4'te verildi.

Tablo 7. 4 Ön işlem görmüş kumaşların ıslanma süreleri.

	K1	K2
Kör	25 dakika	21 dakika
Ticari Enzim	13.4 dakika	11.4 dakika
İzole Enzim	19.4 dakika	19.4 dakika
Ticari Enzim Boncukları	18.4 saniye	23 saniye
İzole Enzim Boncukları	4.4 dakika	5.6 dakika

7.3.1 Yün kumaşlara uygulanan testler

7.3.1.1 Boncuklanma

Boncuklanma testi sonrası şekil 7.7'de gösterilen kumaşlar şekil 7.6'da verilen boncuklanma testi kontrol şablonu ile karşılaştırılarak boncuklanma derecesi belirlendi ve sonuçlar tablo 7.5'te verildi. İşlem görmemiş kumaşın (kör) boncuklanma derecesi 4 olarak belirlendi.

Tablo 7. 5 İşlem görmüş kumaşların boncuklanma dereceleri.

*K1; glutaraldehit ile muamele edilmeyen yün kumaş, K2; glutaraldehit ile muamele edilen yün kumaş.

	K1	K2
Kör	4	-
Ticari Enzim	4-5	5
Ticari Enzim Boncukları	4	4-5
İzole Enzim	4	4-5
İzole Enzim Boncukları	4-5	5

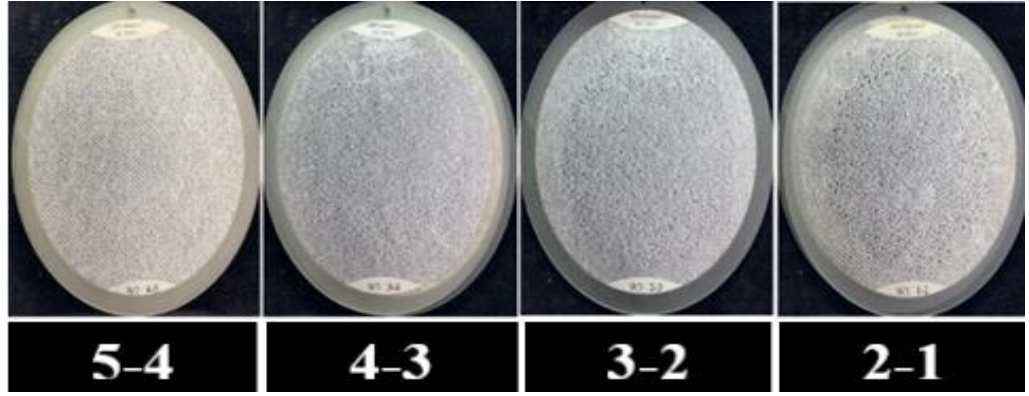
%0,2'lik glutaraldehit ile muamele edilmemiş kumaşların ticari enzim boncukları ve izole enzim ile yapılan denemeler sonucunda boncuklanma derecesinde belirgin bir iyileşme etkisi olmadığı gözlemlendi. Ancak glutaraldehit ile muamele edilmemiş kumaşlarda ticari enzim ve izole enzim boncukları ile işlem gördüklerinde boncuklanma derecesinde bir derece iyileşme görüldü.

Genel olarak tüm sonuçlar göz önüne alındığında glutaraldehit ile işlem görmüş tüm kumaşların boncuklanma derecesinde belirgin oranda iyileşme gözlemlendi. Glutaraldehit ile muamele edilmiş kumaşların ticari enzim boncukları ve izole enzim ile işlem gördükten sonra boncuklanma derecesinde bir derece iyileşme görüldü. Glutaraldehit ile muamele edilmiş kumaşların ticari enzim ve izole enzim boncukları ile yapılan denemeler sonucunda boncuklanmanın neredeyse hiç olmadığı gözlemlendi.

Bu sonuçlardan yola çıkarak, ticari enzim kullanılarak boncuklanma üzerinde elde edilen bu tatmin edici sonucun atık ananas kabuklarından izole edilen bromelain enzimi boncukları ile elde edilebileceği görüldü. Bu sayede ticari bromelainin satın alınarak tekstil endüstrisinde boncuklanma derecesini iyileştirmek için kullanılması yerine atık ananas kabuklarından elde edilen bromelain enziminin kullanılabileceği sonucuna ulaşıldı. Ayrıca atık ananas kabuklarının değerlendirilmesi ile çevreye verilen zararın azaltılabileceği, atık ananas kabuklarından bromelain izole edilerek maliyetin düşürülmesi, katma değeri yüksek bir ürün elde edilmesi gibi pek çok avantaj sağlayacağı görüldü.

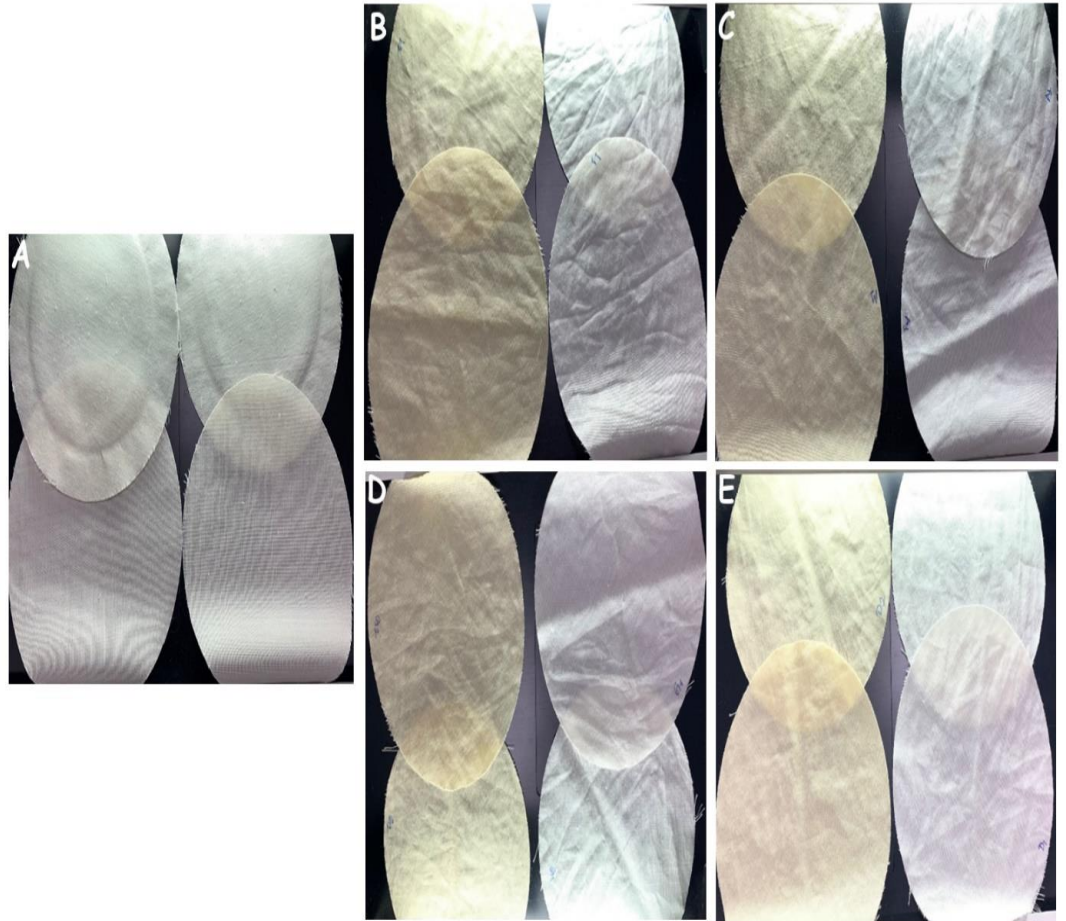


Şekil 7. 5 Boncuklanma testine tabi tutulan kumaşlar.



Şekil 7. 6 Boncuklanma derecesi kontrol şablonu.

- *1: Kumaş yüzeyinin tamamını kaplayan çok yoğun tüy ve boncuk.
- 2: Yüzeyin büyük bir bölümünü kaplayan çeşitli boyut ve yoğunluktaki tüy ve boncuk.
- 3: Orta düzeyde yüzeyi kısmen kaplayan farklı boyut ve yoğunluktaki tüy ve boncuk.
- 4: Çok az yüzeyde tüy ve boncuk oluşumu.
- 5: Yüzey değişikliği yok.



Şekil 7. 7 Boncuklanma testi sonucu elde edilen sonuç görselleri

*A) İşlem görmemiş kumaş, B) Ticari enzim ile muamele edilmiş kumaş, C) Ticari enzim boncukları ile muamele edilmiş kumaş, D) İzole enzim ile muamele edilmiş kumaş, E) izole enzim boncukları ile muamele edilmiş kumaş.

**Sarı renkli kumaşlar glutaraldehit ile muamele edilmiştir.

7.3.1.2 Mukavemet değişimi

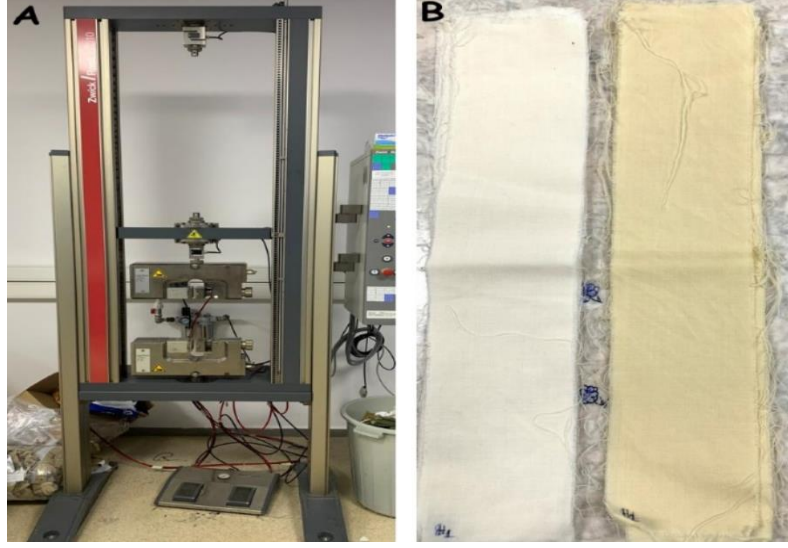
Genel olarak sonuçlar değerlendirildiğinde tablo 7.6’da görüldüğü gibi işlem görmemiş kumaşlara göre glutaraldehit ile muamele edilen kumaşlarda mukavemette azalma meydana geldi. Ancak mukavemette belirli oranlarda düşüş yaşanmiş olsa da kabul edilebilir aralıktadır. Sadece ticari enzim ve glutaraldehit ile muamele edilmiş kumaşta mukavemet artışı olduğu gözlemlendi. Bunun sebebi ticari enzimin tek başına dahi mukavemeti çok arttırmasıdır. Glutaraldehit ile muamele edilmeyen kumaşların tümünde mukavemet artışı meydana geldi.

İşlem görmemiş kumaşlara göre işlem görmüş kumaşların tümünde % uzama miktarları artış meydana geldi. Glutaraldehit ile muamele edilmeyen kumaşlarda % uzama miktarı daha fazla arttığı gözlemlendi.

Tablo 7. 6 Farklı işlem görmüş kumaşların mukavemet değişimleri.

*K1; glutaraldehit ile muamele edilmeyen yün kumaş, K2; glutaraldehit ile muamele edilen y n kumaş.

		K1		K2	
		Mukavemet Değişimi	%Mukavemet Değişimi	Mukavemet Değişimi	%Mukavemet Değişimi
Ticari Enzim	N	21,27	6,29	7,78	2,3
	%Uzama	7,31	17,30	3,59	8,52
İzole Enzim	N	8,54	2,53	-8,98	-2,65
	%Uzama	4,76	11,3	0,44	1,04
Ticari Enzim Boncukları	N	3,23	0,95	-7,04	-2,08
	%Uzama	4,09	9,69	1,08	2,56
İzole Enzim Boncukları	N	1,87	0,55	-10,1	-2,97
	%Uzama	3,38	8,01	0,74	1,76



Şekil 7. 8 Mukavemet testi görselleri.

*A) mukavemet testi için kullanılan cihaz, B) mukavemet testi için hazırlanan örnek kumaşlar.

7.3.1.3Ağırlık değişimi

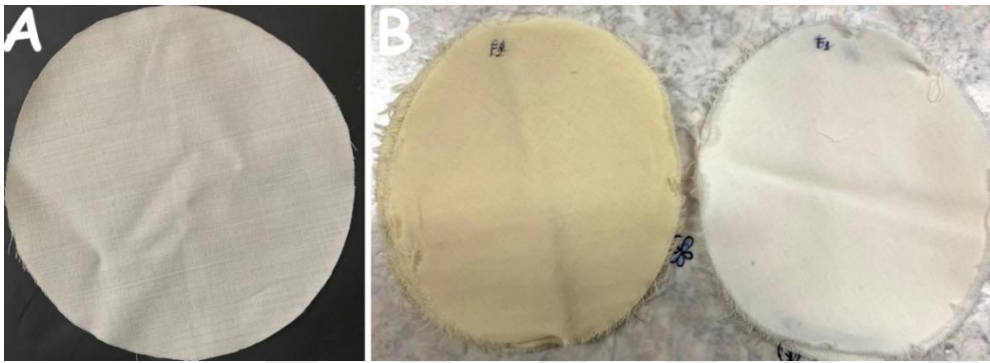
Tekstil endüstrisinde kimyasallara alternatif olarak enzimler kullanılabilir. Ancak tekstil ürünleri hiç işlem görmeden direkt enzim uygulaması yapıldığında kumaş liflerinde ağırlık kaybı ve hasara yol açabilir. Bu olumsuz durumun önüne geçmek için çeşitli yüzey modifikasyonları içeren bir ön işlem adımı eklenerek lif hasarlarının minimum seviyede tutulması hedeflenir. Bu çalışmada da ağırlık kaybı ve lif hasarının önüne geçmek için yün kumaşlar enzim ile işlem görmeden önce glutaraldehit ile muamele edildi. Ayrıca enzimin direkt uygulaması ile boncuklara enkapsüle şekilde uygulanması arasındaki fark da gözlemlendi.

Yapılan tüm işlemler kumaşlarda tablo 7.7’de görüldüğü gibi ağırlık artışı sağladığı gözlemlendi. Genel olarak değerlendirildiğinde glutaraldehit ile işlem görmüş kumaşlarda % ağırlık artışı daha yüksektir. Sonuçlar göz önüne alındığında kumaşların enzim ile muamelesi sırasında enzim miktarı ve muamele süresinin doğru şekilde ayarlandığı gözlemlendi.

Tablo 7. 7 Farklı işlem görmüş kumaşların % ağırlık değişimleri.

*K1; glutaraldehit ile muamele edilmeyen yün kumaş, K2; glutaraldehit ile muamele edilen yün kumaş.

	K1	K2
Ticari Enzim	4,92	6,75
İzole Enzim	2,13	4,49
Ticari Enzim Boncukları	2,44	4,08
İzole Enzim Boncukları	2,03	3,55

**Şekil 7. 9** Ağırlık değişim testi görselleri.

*A) işlem görmemiş kumaş, B) ağırlık değişim testi için hazırlanmış kumaş örneği.

7.3.2 İstatistiksel Analiz Sonuçları

Yünlü kumaşa uygulanan farklı denemeler sonucunda glutaraldehitin varlığı ve yokluğunun, ticari enzim, izole enzim, ticari enzim boncukları ve izole enzim boncuklarının göstermiş oldukları etkilerin anlamlı olup olmadığını belirlemek için SPSS-25 programı ile istatistiksel analizler yapıldı. Veriler üzerinde hangi istatistiksel analizlerin yapılacağına karar vermek için normalite testleri uygulandı. Veri sayısı 100'den az ise Shapiro Wilk, 100'den fazla ise Kolmogonov Smirnov testi uygulanmaktadır. Bu çalışmada veri sayısı 100'den az olduğu için Shapiro Wilk testi uygulandı. Verilerin normalite testi sonuçları değerlendirilirken $\sigma > 0.05$ ise normal dağılım gösteriyor, $\sigma < 0.05$ ise normal dağılım göstermiyor anlamına gelir. Veriler normal dağılıyor ve 2 gruptan oluşuyor ise t-testi, veriler normal dağılıyor ve 2'den fazla gruptan oluşuyor ise ANOVA testi uygulanır. Veriler normal dağılmıyor ve 2 grup varsa Mann-Whitney, veriler normal dağılmıyor ve 2'den fazla gruptan oluşuyor ile Kruskal Wallis testi uygulanır.

7.3.2.1 Mukavemet değişimi için istatistiksel analiz

Veri sayısı 100'den az olduğu için Shapiro Wilk normalite testi uygulandı. Mukavemet değişimi için ortalamalar ve standart sapmalar tablo 7.8'de verildi.

Tablo 7. 8 Mukavemet değişimi için ortalama ve standart sapma değerleri.

*K1; glutaraldehit ile muamele edilmeyen yün kumaş, K2; glutaraldehit ile muamele edilen yün kumaş.

Parametreler		Ortalama	Standart Sapma
Glutaraldehit Muamelesi	K1	2,47	0,67
	K2	-1,36	0,65
Enzim Muamelesi	Ticari Enzim	4,29	0,99
	İzole Enzim	-0,066	1,03
	Ticari Enzim Boncukları	-0,78	0,68
	İzole Enzim Boncukları	-1,22	0,82

Glutaraldehit ile muamele edilen ve glutaraldehit ile muamele edilmeyen kumaşların mukavemet değişimi verilerinin karşılaştırılmasında hangi testin uygulanacağını belirlemek için normalite testi uygulandı. Sonuçlar tablo 7.9'da verildi. Her iki grupta da $\sigma > 0.05$ olduğu görüldü ve verilerin normal dağılım gösterdiği sonucuna ulaşıldı. Veriler normal dağılım gösterdiği ve 2 farklı grup incelendiği için t-testi uygulandı.

Tablo 7. 9 Mukavemet değişimi için glutaraldehit muamelesi etkisinin normalite testi sonuçları.

*K1; glutaraldehit ile muamele edilmeyen yün kumaş, K2; glutaraldehit ile muamele edilen yün kumaş.

	Glutaraldehit Muamelesi	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Mukavemet Degisimi	K1	0,908	20	0,059
	K2	0,919	20	0,096

T-testi sonuçları tablo 7.10'da verildi. Sonuçlara bakıldığında sigma değerlerinin 0,000 olduğu ve veriler arasında anlamlı fark olduğu görüldü.

Tablo 7. 10 Mukavemet değişimi için glutaraldehit muamelesi etkisinin t-testi sonuçları.

		t	df	Sig. (2-tailed)
Mukavemet Degisimi	Equal variances assumed	4,092	38	0,000
	Equal variances not assumed	4,092	37,973	0,000

Ticari enzim, izole enzim, ticari enzim boncukları ve izole enzim boncukları ile muamele edilen yünlü kumaşlara ait verilerin mukavemet değişiminin karşılaştırılmasında hangi testin uygulanacağını belirlemek için normalite testi uygulandı. Sonuçlar tablo 7.11’de verildi. Tüm gruplarda $\sigma > 0.05$ olduğu görüldü ve verilerin normal dağılım gösterdiği sonucuna ulaşıldı. Veriler normal dağılım gösterdiği ve 4 farklı grup incelendiği için ANOVA testi uygulandı.

Tablo 7. 11 Mukavemet değişimi için enzim muamelesi etkisinin normalite testi sonuçları.

	Enzim Muamelesi	Statistic	Shapiro-Wilk	
			df	Sig.
Mukavemet_Degisimi	Ticari Enzim	0,849	10	0,056
	İzole Enzim	0,958	10	0,762
	Ticari Enzim Boncukları	0,865	10	0,088
	İzole Enzim Boncukları	0,923	10	0,380

Mukavemet değişimi için dört farklı enzim muamelesi etkisinin ANOVA testi ile incelenmesi sonucunda sigma değerinin 0,000 olduğu görüldü. Mukavemet değişiminde enzim muamelesi etkisinin incelenmesi için yapılan istatistiksel analizi sonucunda veriler arasında anlamlı fark bulundu. İleri analizler için karşılaştırma amacı ile Bonferroni Post.Hoc.’u kullanıldı. Sonuçlar tablo 7. 13’de verildi.

Tablo 7. 12 Mukavemet değişimi için enzim muamelesi etkisinin incelenmesinde ANOVA testi sonuçları.

Mukavemet_Degisimi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	193,205	3	64,402	8,080	0,000
Within Groups	286,954	36	7,971		
Total	480,160	39			

Bonferroni Post.Hoc.’u sonucunda elde edilen verilerin sigma değerleri incelendiğinde;

- Ticari enzim ile muamele edilen yün kumaşlar ile diğer grupların (izole enzim, ticari enzim boncukları, izole enzim boncukları) arasında anlamlı fark olduğu görüldü.
- İzole enzim ile muamele edilen yün kumaşlar ve her iki boncuk grubu ile muamele edilen yün kumaşlar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü.

- Ticari enzim boncukları ile muamele edilen yün kumaşlar ve izole enzim boncukları ile muamele edilen yün kumaşlar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü.

Tablo 7. 13 Mukavemet değişimi için enzim muamelesinin etkisini incelenmesinde Bonferroni Post.Hoc.'u sonuçları.

* Ortalama fark önem seviyesi 0,05'tir.

(I) Enzim Muamelesi	(J) Enzim Muamelesi	Mean Difference	Std. Error	Sig.
		(I-J)		
Ticari Enzim	İzole Enzim	4,36036*	1,26261	0,009
	Ticari Enzim Boncukları	5,07541*	1,26261	0,002
	İzole Enzim Boncukları	5,51899*	1,26261	0,001
İzole Enzim	Ticari Enzim	-4,36036*	1,26261	0,009
	Ticari Enzim Boncukları	0,71505	1,26261	1,000
	İzole Enzim Boncukları	1,15862	1,26261	1,000
Ticari Enzim Boncukları	Ticari Enzim	-5,07541*	1,26261	0,002
	İzole Enzim	-0,71505	1,26261	1,000
	İzole Enzim Boncukları	0,44358	1,26261	1,000
İzole Enzim Boncukları	Ticari Enzim	-5,51899*	1,26261	0,001
	İzole Enzim	-1,15862	1,26261	1,000
	Ticari Enzim Boncukları	-,44358	1,26261	1,000

7.3.2.2 %Uzama için istatistiksel analiz

Veri sayısı 100'den az olduğu için Shapiro Wilk normalite testi uygulandı. %Uzama değişimi için ortalamalar ve standart sapmalar tablo 7. 14'te verildi.

Tablo 7. 14 %Uzama değişimi için ortalama ve standart sapma değerleri.

*K1; glutaraldehit ile muamele edilmeyen yün kumaş, K2; glutaraldehit ile muamele edilen yün kumaş.

Parametreler		Ortalama	Standart Sapma
Glutaraldehit Muamelesi	K1	11,57	1,02
	K2	3,45	0,82
Enzim Muamelesi	Ticari Enzim	12,91	1,60
	İzole Enzim	6,15	1,90
	Ticari Enzim Boncukları	6,11	1,45
	İzole Enzim Boncukları	4,87	1,36

Glutaraldehit ile muamele edilen ve glutaraldehit ile muamele edilmeyen kumaşların %uzama değişimi verilerinin karşılaştırılmasında hangi testin uygulanacağını belirlemek için normalite testi uygulandı. Sonuçlar tablo 7.15'te verildi. Her iki grupta da $\sigma > 0.05$ olduğu görüldü ve verilerin normal dağılım gösterdiği sonucuna ulaşıldı. Veriler normal dağılım gösterdiği ve 2 farklı grup incelendiği için t-testi uygulandı.

Tablo 7. 15 %Uzama değişimi için glutaraldehit muamelesi etkisinin normalite testi sonuçları.

*K1; glutaraldehit ile muamele edilmeyen yün kumaş, K2; glutaraldehit ile muamele edilen yün kumaş.

Uzama_Degisimi	Glutaraldehit_Muamelesi	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Uzama_Degisimi	K1	0,957	20	0,477
	K2	0,950	20	0,371

T-testi sonuçlarına bakıldığında sigma değerlerinin 0,000 olduğu görüldü. Bu sonuçlardan yola çıkarak veriler arasında anlamlı fark olduğu görüldü.

Tablo 7. 16 %Uzama değişimi için glutaraldehit muamelesi etkisinin t-testi sonuçları.

Uzama Degisimi		t	df	Sig. (2-tailed)
Uzama Degisimi	Equal variances assumed	6,196	38	0,000
	Equal variances not assumed	6,196	36,187	0,000

Ticari enzim, izole enzim, ticari enzim boncukları ve izole enzim boncukları ile muamele edilen yünlü kumaşlara ait verilerin %uzama değişimlerinin karşılaştırılmasında hangi testin uygulanacağını belirlemek için normalite testi uygulandı. Sonuçlar tablo 7. 17'de verildi. Tüm gruplarda $\sigma > 0.05$ olduğu görüldü ve verilerin normal dağılım gösterdiği sonucuna ulaşıldı. Veriler normal dağılım gösterdiği ve 4 farklı grup incelendiği için ANOVA testi uygulandı.

Tablo 7. 17 %Uzama değişimi için enzim muamelesi etkisinin normalite testi sonuçları.

	Enzim Muamelesi	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Uzama_Degisimi	Ticari Enzim	0,893	10	0,184
	İzole Enzim	0,892	10	0,181
	Ticari Enzim Boncukları	0,927	10	0,417
	İzole Enzim Boncukları	0,870	10	0,100

%Uzama değişimi için dört farklı enzim muamelesi etkisinin ANOVA testi ile incelenmesi sonucunda sigma değerinin 0,004 olduğu görüldü. %Uzama değişiminde enzim muamelesi etkisinin incelenmesi için yapılan istatistiksel analizi sonucunda veriler arasında anlamlı fark bulundu. İleri analizler için karşılaştırma amacı ile Bonferroni Post.Hoc.'u kullanıldı. Sonuçlar tablo 7. 19'de verildi.

Tablo 7. 18 %Uzama değişimi için enzim muamelesi etkisinin incelenmesinde ANOVA testi sonuçları.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	400,275	3	133,425	5,276	0,004
Within Groups	910,329	36	25,287		
Total	1310,604	39			

Bonferroni Post.Hoc.'u sonucunda elde edilen verilerin sigma değerleri incelendiğinde;

- Ticari enzim ile muamele edilen yün kumaşlar ile diğer grupların (izole enzim, ticari enzim boncukları, izole enzim boncukları) arasında anlamlı fark olduğu görüldü.
- İzole enzim ile muamele edilen yün kumaşlar ve her iki boncuk grubu ile muamele edilen yün kumaşlar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü.
- Ticari enzim boncukları ile muamele edilen yün kumaşlar ve izole enzim boncukları ile muamele edilen yün kumaşlar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü.

Tablo 7. 19 %Uzama değişimi için enzim muamelesinin etkisini incelenmesinde Bonferroni Post.Hoc.'u sonuçları.

* Ortalama fark önem seviyesi 0,05'tir.

(I) Enzim Muamelesi	(J) Enzim Muamelesi	Mean Difference	Std. Error	Sig.
		(I-J)		
Ticari Enzim	İzole Enzim	6,76227*	2,24886	0,029
	Ticari Enzim Boncukları	6,80730*	2,24886	0,027
	İzole Enzim Boncukları	8,05167*	2,24886	0,006
İzole Enzim	Ticari Enzim	-6,76227*	2,24886	0,029
	Ticari Enzim Boncukları	0,04503	2,24886	1,000
	İzole Enzim Boncukları	1,28941	2,24886	1,000
Ticari Enzim Boncukları	Ticari Enzim	-6,80730*	2,24886	0,027
	İzole Enzim	-0,04503	2,24886	1,000
	İzole Enzim Boncukları	1,24437	2,24886	1,000
İzole Enzim Boncukları	Ticari Enzim	-8,05167*	2,24886	0,006
	İzole Enzim	-1,28941	2,24886	1,000
	Ticari Enzim Boncukları	-1,24437	2,24886	1,000

7.3.2.3 Ağırlık değişimi için istatistiksel analiz

Veri sayısı 100'den az olduğu için Shapiro Wilk normalite testi uygulandı. Ağırlık değişimi için ortalamalar ve standart sapmalar tablo 7.20'de verildi.

Tablo 7. 20 Ağırlık değişimi için ortalama ve standart sapma değerleri.

*K1; glutaraldehit ile muamele edilmeyen yün kumaş, K2; glutaraldehit ile muamele edilen yün kumaş.

Parametreler		Ortalama	Standart Sapma
Glutaraldehit Muamelesi	K1	2,88	0,31
	K2	4,72	0,31
Enzim Muamelesi	Ticari Enzim	5,83	0,38
	İzole Enzim	3,31	0,41
	Ticari Enzim Boncukları	3,26	0,36
	İzole Enzim Boncukları	2,79	0,33

Glutaraldehit ile muamele edilen ve glutaraldehit ile muamele edilmeyen kumaşların ağırlık değişimi verilerinin karşılaştırılmasında hangi testin uygulanacağını belirlemek için normalite testi uygulandı. Sonuçlar tablo 7.21'da verildi. Glutaraldehit ile muamele edilmeyen yün kumaşların Shapiro-Wilk testi sonucunda $\sigma < 0.05$ olduğu görüldü ve verilerin normal dağılım göstermediği

sonucuna ulaşıldı. Glutaraldehit ile muamele edilen yün kumaşların Shapiro-Wilk testi sonucunda $\sigma > 0.05$ olduğu görüldü ve verilerin normal dağılım gösterdiği sonucuna ulaşıldı. Veriler genel olarak değerlendirildiğinde normal dağılım göstermediği ve 2 farklı grup incelendiği için Mann-Whitney testi uygulandı.

Tablo 7. 21 Ağırlık değişimi için glutaraldehit muamelesi etkisinin normalite testi sonuçları.

*K1; glutaraldehit ile muamele edilmeyen yün kumaş, K2; glutaraldehit ile muamele edilen yün kumaş.

	Glutaraldehit Muamelesi	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Ağırlık_Degisimi	K1	0,860	20	0,008
	K2	0,906	20	0,054

Sıfır hipotezi ‘veriler arasında anlamlı fark yoktur.’u ifade eder. Tablo 7.22’de Mann-Whitney testi sonuçlarına bakıldığında σ değerlerinin 0,000 olduğu görüldü. Böylece glutaraldehit muamelesi sonuçları değerlendirildiğinde veriler arasında anlamlı fark olduğu görüldü. Sıfır hipotezi reddedilmiştir.

Tablo 7. 22 Ağırlık değişimi için glutaraldehit muamelesi etkisinin Mann-Whitney testi sonuçları.

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The distribution of Ağırlık_Degisimi is the same across categories of Glutaraldehit_Muamelesi.	Independent-Samples Mann-Whitney U Test	,000 ^a	Reject the null hypothesis.

Ticari enzim, izole enzim, ticari enzim boncukları ve izole enzim boncukları ile muamele edilen yünlü kumaşlara ait verilerin ağırlık değişimlerinin karşılaştırılmasında hangi testin uygulanacağını belirlemek için Shapiro- Wilk normalite testi uygulandı. Sonuçlar tablo 7. 23’te verildi. Tüm gruplarda $\sigma > 0.05$ olduğu görüldü ve verilerin normal dağılım gösterdiği sonucuna ulaşıldı. Veriler normal dağılım gösterdiği ve 4 farklı grup incelendiği için ANOVA testi uygulandı.

Tablo 7. 23 Ağırlık değişimi için enzim muamelesi etkisinin normalite testi sonuçları.

	Enzim_Muamelesi	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Ağırlık_Degisimi	Ticari Enzim	0,957	10	0,753
	İzole Enzim	0,865	10	0,087
	Ticari Enzim Boncukları	0,892	10	0,177
	İzole Enzim Boncukları	0,962	10	0,809

Ağırlık değişimi için dört farklı enzim muamelesi etkisinin ANOVA testi ile incelenmesi sonucunda sigma değerinin 0,000 olduğu görüldü. Ağırlık değişiminde enzim muamelesi etkisinin incelenmesi için yapılan istatistiksel analizi sonucunda veriler arasında anlamlı fark bulundu. İleri analizler için karşılaştırma amacı ile Bonferroni Post.Hoc.'u kullanıldı. Sonuçlar tablo 7. 25'te verildi.

Tablo 7. 24 Ağırlık değişimi için enzim muamelesi etkisinin incelenmesinde ANOVA testi sonuçları.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	56,973	3	18,991	13,814	0,000
Within Groups	49,491	36	1,375		
Total	106,464	39			

Bonferroni Post.Hoc.'u sonucunda elde edilen ağırlık değişimi verilerinin sigma değerleri incelendiğinde;

- Ticari enzim ile muamele edilen yün kumaşlar ile diğer grupların (izole enzim, ticari enzim boncukları, izole enzim boncukları) arasında anlamlı fark olduğu görüldü.
- İzole enzim ile muamele edilen yün kumaşlar ve her iki boncuk grubu ile muamele edilen yün kumaşlar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü.
- Ticari enzim boncukları ile muamele edilen yün kumaşlar ve izole enzim boncukları ile muamele edilen yün kumaşlar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü.

Tablo 7. 25 Ağırlık değişimi için enzim muamelesinin etkisini incelenmesinde Bonferroni Post.Hoc.'u sonuçları.

* Ortalama fark önem seviyesi 0,05'tir.

(I) Enzim Muamelesi	(J) Enzim Muamelesi	Mean Difference	Std. Error	Sig.
		(I-J)		
Ticari Enzim	İzole Enzim	2,52400*	0,52436	0,000
	Ticari Enzim Boncukları	2,57800*	0,52436	0,000
	İzole Enzim Boncukları	3,04600*	0,52436	0,000
İzole Enzim	Ticari Enzim	-2,52400*	0,52436	0,000
	Ticari Enzim Boncukları	0,05400	0,52436	1,000
	İzole Enzim Boncukları	0,52200	0,52436	1,000
Ticari Enzim Boncukları	Ticari Enzim	-2,57800*	0,52436	0,000
	İzole Enzim	-0,05400	0,52436	1,000
	İzole Enzim Boncukları	0,46800	0,52436	1,000
İzole Enzim Boncukları	Ticari Enzim	-3,04600*	0,52436	0,000
	İzole Enzim	-0,52200	0,52436	1,000
	Ticari Enzim Boncukları	-0,46800	0,52436	1,000

8. GENEL DEĞERLENDİRME

Dünya nüfusunun artışı ile birlikte gıda üretim ve tüketimi de hızla artmaktadır. Bununla birlikte her yıl milyonlarca ton sebze ve meyve atığı çöplerde birikerek çevre kirliliğine neden olmaktadır. Gıda atıklarının bertarafı için arazi doldurma, yakma, toprağa gömme ve kompostlama gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bu bertaraf yöntemleri mikrobiyal üremeler, kötü koku oluşumu, çürüme gibi durumlara neden olur. Bu istenmeyen durumlar hava, su ve toprağa karışarak bütün ekosistemi olumsuz etkilemektedir. Atık olarak ayrılan sebze ve meyvelerin kabuk ve posaları protein, karbohidrat, lipit, vitamin ve mineral gibi pek çok faydalı bileşen açısından oldukça zengin içeriklere sahiptir. İçerikçe zengin bu atıklar kullanılarak çevre kirliliği azaltılması, katma değeri yüksek ürünler elde edilmesi, üretim maliyetlerinin düşürülmesi mümkündür.

Meyvesi ayrıldıktan sonra çöpe atılmak üzere ayrılan ananas atıkları ticari olarak önemi yüksek olan bromelain enzimini içermektedir. Atık olarak ayrılan kabuklar, çekirdekler, posalar; ayrıca hasat sonrası tarlada kalan kök, sap, yaprak gibi kısımları ve gıda işleme endüstrilerinden (meyve suyu, marmelat, konserve gibi) temin edilen atıklar potansiyel enzim kaynağı olarak değerlendirmek mümkündür. Bu atıklardan bromelain enzimi izole edilerek; sağlık, gıda, farmasötik, tekstil gibi birçok sektörde değerlendirilebilir. Böylece atıkların değerlendirilmesi ile ekosisteme katkı sağlarken, maliyeti düşük hammadde ve katma değeri yüksek ürünler elde edilebilir.

Tekstil ürünleri geçmişten günümüze hayatımızın pek çok alanında kullanılmaktadır. İnsan nüfusu arttıkça tekstil ürünlerine talep artmaktadır. Buna bağlı olarak fabrikaların sayısı, işlenen ürün miktarı, ürünlerin hazırlıktan bitim işlemlerine kadar kullanılan toksik kimyasalların kullanımı, su ve enerji tüketimi, fabrika atıkları hızla artmaktadır. Bu artışın ekosistem üzerinde olumsuz etkilerini azaltmak için yeni, sürdürülebilir alternatif yollar döngüsel ekonominin bir parçası haline getirilmelidir. Günümüz modern tekstilinde üretim ve işleme sırasında toksik kimyasalların yerine yeşil bir yaklaşım olan enzimlerin kullanımı son yıllarda artmaktadır. Fakat bu enzimleri çeşitli endüstriyel proseslerle üretilmesi sebebiyle maliyetleri oldukça yüksektir ve bu durum firmalar için sorun teşkil etmektedir.

Tekstil endüstrisinde en çok karşılaşılan sorunlardan biri de keçeleşmedir. Keçeleşme ürünün işlenmesini, boyutsal stabilitesini, boyama ve baskı kalitesini

zorlaştırmaktadır. Bu dezavantajlar da ürün kalitesini olumsuz etkilemektedir. Keçeleşme probleminin önüne geçmek için çeşitli toksik kimyasallar kullanılmaktadır. Bu toksik kimyasallar suya, havaya ve toprağa karışarak tüm ekosistemi olumsuz etkilemektedir

Bu çalışmada yün kumaşlarda boncuklanmanın önüne geçmek için kullanılan toksik kimyasalların yerine yerel marketlerden ücretsiz temin edilen atık ananas kabuklarından izole edilen bromelain enzimi kullanıldı. İzole edilen enzimin stabilitesini korumak, ortamdan geri kazanımını kolaylaştırmak, aynı miktarda enzim ile daha fazla ürün işlenmesini sağlamak ve maliyeti düşürmek amacı ile enkapsülasyon işlemi yapıldı. Kitosan enkapsüle bromelain boncukların stabilitesini arttırmak için boncuk yüzeyleri CMC ile kaplanarak daha dayanıklı hale getirildi. Elde edilen boncuklardan en iyi oran seçilerek yün kumaşların ağırlık değişimi, mukavemet değişimi ve boncuklanmayı azaltma için yün kumaş modifikasyonunda kullanıldı.

Yün kumaşın hidrofobikliğini azaltmak ve modifikasyon işlemleri sırasında sorun yaşamamak için ıslatıcı ile muamele edildi. Yün kumaşların bir kısmı glutaraldehit ile muamele edilirken bir kısmı glutraldehit ile muamele edilmedi. Her iki gruba da ticari bromelain, izole bromelain, ticari bromelain boncukları ve izole bromelain boncukları ile uygulama yapıldı. İşlem görmüş tüm kumaşlara boncuklanma, mukavemet ve ağırlık değişimi testleri yapıldı.

Tez çalışmasında atık ananas kabuklarından izole edilen bromelain enziminin kitosana enkapsülasyonu sonucunda elde edilen boncukların yün kumaş yüzeyinde oluşan boncuklanma problemini çözmek için kullanılan toksik kimyasalların yerine kullanılabileceği sonucu bulundu. Ticari bromelain ve izole bromelain boncukları yün kumaşın boncuklanma derecesini oldukça iyi seviyeye taşıdı. Boncuklanmanın önlenmesinde ticari bromelain ile atık ananas kabuklarından izole edilen bromelain enzimlerinin boncukları aynı iyileşme etkisi gösterdi. Sonuç olarak yün kumaşların boncuklanmasını önlemek için atık ananas kabuklarının değerlendirilmesi ile düşük maliyetli, katma değeri yüksek ve çevre dostu bir yöntem geliştirildi.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abbas, S., Shanbhag, T., and Kothare, A.**, 2021, Applications of bromelain from pineapple waste towards acne, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1): 1001-1009 pp.
- Abreu, D. C. A., and Figueiredo K. C. S.**, 2019, Bromelain separation and purification processes from pineapple extract, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 36(2):1029-1039 pp.
- Al-Sa'ady, A., Al-Hadban, W., and Al-Zubaidy, M.**, 2016, Optimal conditions for bromelain extraction from pineapple fruit (*Ananas Comosus*), *Engineering and Technology Journal*, 34(5):675–682 pp.
- Ali, Z., Khalil, S., Ayub, A., and Banat, I. M.**, 2020, Recent developments in chitosan encapsulation of various active ingredients for multifunctional applications. *Carbohydrate Research*, 492.
- Aly, A. S., Moustafa, A.B., and Hebeish, A.**, 2004, Bio-technological treatment of cellulosic textiles, *Journal of Cleaner Production*, 12(7):697–705 pp.
- An, F., Fang, K., Liu, X., Yang, H., and Qu, G.**, 2020, Protease and sodium alginate combined treatment of wool fabric for enhancing inkjet printing performance of reactive dyes, *International Journal of Biological Macromolecules*, 146:959–964 pp.
- Arshad, Z. I. M., Amid, A., Yusof, F., Jaswir, I., Ahmad, K., and Loke, S. P.**, 2014, Bromelain: an overview of industrial application and purification strategies, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(17):7283–7297 pp.
- Ataide, J. A., Geraldes, D. C., Gérios, E. F., Bissaco, F. M., Cefali, L. C., Oliveira-Nascimento, L., and Mazzola, P. G.**, 2021, Freeze-dried chitosan nanoparticles to stabilize and deliver bromelain, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61.
- Babakhani, A., and Sartaj, M.**, 2020, Removal of cadmium (II) from aqueous solution using tripolyphosphate cross-Linked chitosan, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(4).

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Bakker, C., Ghosh, A., Tandon, S., and Ranford, S.**, 2018, Surface modification of wool fabric with POSS ® nanomaterial, *Fibers and Polymers*, 19(10):2127–2133 pp.
- Banerjee, S., Arora, A., Vijayaraghavan, R., and Patti, A. F.**, 2020, Extraction and crosslinking of bromelain aggregates for improved stability and reusability from pineapple processing waste, *International Journal of Biological Macromolecules*, 158:318–326 pp.
- Banerjee, S., Ranganathan, V., Patti, A., and Arora, A.**, 2018, Valorisation of pineapple wastes for food and therapeutic applications, *Trends in Food Science and Technology*, 82:60–70 pp.
- Bayat, S., Amiri, N., Pishavar, E., Kalalinia, F., and Movaffagh, J.**, 2019, Bromelain-loaded chitosan nanofibers prepared by electrospinning method for burn wound healing in animal models, *Life Sciences*, 229:57–66 pp.
- Benefo, E. O., and Ofosu, I. W.**, 2018, Bromelain activity of waste parts of two pineapple varieties, *Sustainable Food Production*, 2:21-28 pp.
- Betigeri, S. S., and Neau, S. H.**, 2002, Immobilization of lipase using hydrophilic polymers in the form of hydrogel beads, *Biomaterials*, 23:3627–3636 pp.
- Biró, E., Németh, Á. S., Sisak, C., Feczko, T., and Gyenis, J.**, 2008, Preparation of chitosan particles suitable for enzyme immobilization, *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70(6): 1240–1246 pp.
- Bulut, M. O., and Sana, N. H.**, 2018, Modification of woolen fabric with plasma for a sustainable production, *Fibers and Polymer*, 19(9): 1887–1897 pp.
- Chauhan, A., Singh, S., Dhar, A., and Powar, S.**, 2021, Optimization of pineapple drying based on energy consumption, nutrient retention, and drying time through multi-criteria decision-making, *Journal of Cleaner Production*, 292.
- Chaurasiya, R. S., and Umesh Hebbar, H.**, 2013, Extraction of bromelain from pineapple core and purification by RME and precipitation methods, *Separation and Purification Technology*, 111: 90–97 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Csaba, N., Köping-Höggård, M., and Alonso, M. J.,** 2009, Ionically crosslinked chitosan/tripolyphosphate nanoparticles for oligonucleotide and plasmid DNA delivery, *International Journal of Pharmaceutics*, 382(1-2): 205–214 pp.
- Dahunsi, S. O.,** 2019, Liquefaction of pineapple peel: Pretreatment and process optimization, *Energy*, 185:1017–1031 pp.
- Dalbaşı, E. S., and Özçelik Kayseri, G.,** 2015, A reserch about the effect of the antipilling treatments on different structured cotton knitted fabrics, *Tekstil ve Konfeksiyon*, 25(1): 54-60 pp.
- De Lencastre Novaes, L. C., Jozala, A. F., Lopes, A. M., de Carvalho Santos-Ebinuma, V., Mazzola, P. G., and Pessoa Junior, A.,** 2015, Stability, purification, and applications of bromelain: A review, *Biotechnology Progress*, 32(1):5–13 pp.
- De Oliveira Neto, G. C., Teixeira, M. M., Souza, G. L. V., Arns, V. D., Tucci, H.N.P., Amorim, M.,** 2022, Assessment of the Eco-Efficiency of the Circular Economy in the Recovery of Cellulose from the Shredding of Textile Waste, *Polymers*, 14.
- Demirkan, E., Kut, D., Sevgi, T., Dogan, M., and Baygin, E.,** 2019, Investigation of effects of protease enzyme produced by *Bacillus subtilis* 168 E6-5 and commercial enzyme on physical properties of woolen fabric, *The Journal of The Textile Institute*, 111(1):26-35 pp.
- Du, W. L., Niu, S. S., Xu, Y. L., Xu, Z. R., and Fan, C. L.,** 2009, Antibacterial activity of chitosan tripolyphosphate nanoparticles loaded with various metal ions, *Carbohydrate Polymers*, 75(3): 385–389 pp.
- Elmastaş Gültekin, Ö., Kılıç, A., and Özçelik Kayseri, G.,** 2022, Stochastic modelling of pilling degree changes during the pilling process of wool fabrics, *Tekstil ve Konfeksiyon*, 32(1): 65-76 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Engidayehu, A., and Sahu, O.,** 2020, Enzymatic recovery of silver from waste radiographic film: Optimize with response surface methodology, *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 15.
- Fan, W., Yan, W., Xu, Z., and Ni, H.,** 2012, Formation mechanism of monodisperse, low molecular weight chitosan nanoparticles by ionic gelation technique, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 90: 21–27 pp.
- Fu, J., Su, J., Wang, P., Yu, Y., Wang, Q., and Cavaco-Paulo, A.,** 2015, Enzymatic processing of protein-based fibers, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(24):10387–10397 pp.
- Gadkari, R. R., Suwalka, S., Yogi, M. R., Ali, W., Das, A., and Alagirusamy, R.,** 2019, Green synthesis of chitosan-cinnamaldehyde cross-linked nanoparticles: characterization and antibacterial activity, *Carbohydrate Polymers*, 226.
- Gan, Q., Wang, T., Cochrane, C., and McCarron, P.,** 2005, Modulation of surface charge, particle size and morphological properties of chitosan–TPP nanoparticles intended for gene delivery, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 44(2-3):65–73 pp.
- Ghazali, A. A., Abd Rahman, S., and Abu Samah, R.,** 2021, Preparation and characterisation of pineapple peel waste as nanoadsorbent incorporated into Pebax 1657 nanocomposite membrane for CO₂/CH₄ separation, *Materials Today: Proceedings*, 41: 88–95 pp.
- Hale, L. P., Greer, P. K., Trinh, C. T., and James, C. L.,** 2005, Proteinase activity and stability of natural bromelain preparations, *International Immunopharmacology*, 5(4):783–793 pp.
- Hassan, M. M., and Carr, C. M.,** 2019, A review of the sustainable methods in imparting shrink resistance to wool fabrics, *Journal of Advanced Research*, 18:39–60 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Hassan, M. M., and Leighs, S. J.,** 2017, Effect of surface treatments on physicochemical, stain-resist, and UV protection properties of wool fabrics, *Applied Surface Science*, 419:348–356 pp.
- Hazarika, D., Gogoi, N., Jose, S., Das, R., and Basu, G.,** 2017, Exploration of future prospects of Indian pineapple leaf, an agro waste for textile application, *Journal of Cleaner Production*, 141:580–586 pp.
- Hidayat, Y., Hermawati, E. Setiasih, S., Hudiyono, S., and Saepudin, E.,** 2019, Antibacterial activity test of the partially purified bromelain from pineapple core extract (*Ananas Comosus* [L .] Merr) by fractionation using ammonium sulfate acetone antibacterial activity test of the partially purified bromelain from pineapple core, *AIP Conference Proceedings*, 2023(1).
- Hikal, W. M., Mahmoud, A. A., Said-Al Ahl, H. A. A., Bratovic, A., Tkachenko, K. G., Kačániová, M., and Rodriguez, R. M.,** 2021, Pineapple (*Ananas Comosus* L. Merr.), waste streams, characterisation and valorisation: an overview, *Open Journal of Ecology*, 11(09):610–634 pp.
- Holyavka, M., Faizullin, D., Koroleva, V., Olshannikova, S., Zakhartchenko, N., Zuev, Y., Kondratyev, M., Zakharova, E., and Artyukhov, V.,** 2021, Novel biotechnological formulations of cysteine proteases , immobilized on chitosan . Structure , stability and activity, *International Journal of Biological Macromolecules*, 180:161–76 pp.
- Hou, X., Chen, X., Cheng, Y., Xu, H., Chen, L., and Yang, Y.,** 2013, Dyeing and UV-protection properties of water extracts from orange peel, *Journal of Cleaner Production*, 52:410–419 pp.
- Hsieh, F. M., Huang, C., Lin, T. F., Chen, Y. M., and Lin, J. C.,** 2008, Study of sodium tripolyphosphate-crosslinked chitosan beads entrapped with *Pseudomonas putida* for phenol degradation, *Process Biochemistry*, 43(1):83–92 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Hu, H., Zhao, Q., Xie, J., and Sun, D.**, 2018, Polysaccharides from pineapple pomace: New insight into ultrasonic-cellulase synergistic extraction and hypoglycemic activities, *International Journal of Biological Macromolecules*, 121:1213–1226 pp.
- Jia, F., Yin, S., Chen, L., and Chen, X.**, 2020, The circular economy in the textile and apparel industry: A systematic literature review, *Journal of Cleaner Production*, 259.
- Kadam, V., Rani, S., Jose, S., Shakyawar, D. B., and Shanmugam, N.**, 2021, Biomaterial based shrink resist treatment of wool fabric: A sustainable technology, *Sustainable Materials and Technologies*, 29.
- Kaur, A., and Chakraborty, J. N.**, 2015, Controlled eco-friendly shrink-resist finishing of wool using bromelain, *Journal of Cleaner Production*, 108:503–513 pp.
- Kaur, A., and Chakraborty, J. N.**, 2015, Optimization of bromelain treatment pH with wool for antifelting and reduced pilling behaviour: objective assessment approach, *Journal of Textiles*, 2015:1–7 pp.
- Ketnawa, S., Chaiwut, P., and Rawdkuen, S.**, 2012, Pineapple wastes: A potential source for bromelain extraction, *Food and Bioproducts Processing*, 90(3):385–391 pp.
- Korzeniewska, E., Sekulsaka Nalewaiko, J., Goclowski, J., and Walczak, M.**, 2018, Assessment of pilling effect on the laser modified textile substrates, *Applications of Electromagnetics in Modern Techniques and Medicine (PTZE)*, 129-132 pp.
- Koyani, R. D., and Vazquez-Duhalt, R.**, 2016, Laccase encapsulation in chitosan nanoparticles enhances the protein stability against microbial degradation, *Environmental Science and Pollution Research*, 23(18):18850–18857 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ(DEVAM)

- Kumar, P., Tanwar, R., Gupta, V., Upadhyay, A., Kumar, A., and Gaikwad, K. K.**, 2021, Pineapple peel extract incorporated poly (vinyl alcohol)-corn starch film for active food packaging: Preparation, characterization and antioxidant activity, *International Journal of Biological Macromolecules*, 187:223–231 pp.
- Kunitz, M.**, 1946, Crystalline Soybean Trypsin Inhibitor, *The Journal of General Physiology*, 29:149–154 pp.
- Laftah, W. A., and Abdul Rahaman, W. A. W.**, 2015, Chemical pulping of waste pineapple leaves fiber for kraft paper production, *Journal of Materials Research and Technology*, 4(3):254–261 pp.
- Li, W., Zhang, N., Wang, Q., Wang, P., Yu, Y., and Zhou, M.**, 2021, A sustainable and effective bioprocessing approach for improving anti-felting, anti-pilling and dyeing properties of wool fabric, *Fibers and Polymers*, 22:3045-3054 pp.
- Liliana, S. C., and Vladimir, V. C.**, 2013, Probiotic encapsulation, *African Journal of Microbiology Research*, 7(40):4743–4753 pp.
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. L., and Randall, R.**, 1951, Protein measurement with the folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 193(1):265–275 pp.
- Manzoor, Z., Nawaz, A., Mukhtar, H., and Ikram H.**, 2016, Bromelain: methods of extraction, purification and therapeutic applications, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59:1–16 pp.
- Martins, B. C., Rescolina, R., Coelho, D. F., Zanchetta, B., Tambourg, E. B., and Silveira E.**, 2014, Characterization of bromelain from ananas comous agroindustrial residues purified by ethanol factional precipitation, *Chemical Engineering Transactions*, 37:781-786 pp.
- Massella, D., Giraud, S., Guan, J., Ferri, A., and Salaün, F.**, 2019, Textiles for health: a review of textile fabrics treated with chitosan microcapsules, *Environmental Chemistry Letters*, 17(4):1787–1800 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Mccloskey, S. G., and Jump, J. M.,** 2005, Bio-polishing of polyester and polyester/cotton fabric, *Textile Research Journal*, 75(6): 480–484 pp.
- Mi, F. L., Shyu, S. S., Lee, S. T., and Wong, T. B.,** 1999, Kinetic study of chitosan-tripolyphosphate complex reaction and acid-resistive properties of the chitosan-tripolyphosphate gel beads prepared by in-liquid curing method, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 37(14):1551-1564 pp.
- Miranda, Í. K. S. P. B., Santana, F. R., Camilloto, G. P., Detoni, C. B., Souza, F. V. D., Cabral Albuquerque, E. C. de M., Alves, S. L., Neco G. L., Lima, F. O., and Assis, S. A. De.,** 2021, Development of membranes based on carboxymethyl cellulose/acetylated arrowroot starch containing bromelain extract carried on nanoparticles and liposomes, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 110:2372–2378 pp.
- Misran, E., Idris, A., Sarip, S. H. M., and Ya’akob, H.,** 2019, Properties of bromelain extract from different parts of the pineapple variety Morris, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18.
- Mohan, R., Sivakumar, V., Rangasamy, T., and Muralidharan, C.,** 2016, Optimisation of bromelain enzyme extraction from pineapple (*Ananas Comosus*) and application in process industry, *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 12(3):188–195 pp.
- Mohd Ali, M., Hashim, N., Abd Aziz, S., and Lasekan, O.,** 2020, Pineapple (*Ananas comosus*): a comprehensive review of nutritional values, volatile compounds, health benefits, and potential food products, *Food Research International*, 137.
- Mustafa, E., Malek, A. S., El Gholmy, S., El Geiheini, A., and El Kateb, S.,** 2022, A statistical prediction model for pilling grades of blended worsted fabrics based on fabric bending rigidity, *Alexandria Engineering Journal*, 61:1615–1621 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Omotoyinbo, O. V., and Sanni, D. M.,** 2017, Characterization of bromelain from parts of three different pineapple varieties in Nigeria, *American Journal of BioScience*, 5(3):35-41 pp.
- Polania, A. M., Londono, L., Ramirez, C., Bolivar, G., and Aguilar, C. N.,** 2022, Valorization of pineapple waste as novel source of nutraceuticals and biofunctional compounds, *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(8).
- Provin, A. P., Dutra, A. R. de A., de Sousa e Silva Gouveia, I. C. A., and Cubas, e A. L. V.,** 2021, Circular economy for fashion industry: Use of waste from the food industry for the production of biotextiles, *Technological Forecasting and Social Change*, 169.
- Rahma, A., Adriani, M., Rahayu, P., Tjandrawinata, R. R., and Rachmawati, H.,** 2019, Green isolation and physical modification of pineapple stem waste starch as pharmaceutical excipient, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 45(6):1-9 pp.
- Ramli, A. N. M., Aznan, T. N. T., and Illias, R. M.,** 2016, Bromelain: from production to commercialisation, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(5):1386–1395 pp.
- Ramli, A. N. M., Manas, N. H. A., Hamid, A. A. A., Hamid, H. A., and Illias, R. M.,** 2018, Comparative structural analysis of fruit and stem bromelain from *Ananas comosus*, *Food Chemistry*, 266:183–191 pp.
- Rampino, A., Borgogna, M., Blasi, P., Bellich, B., and Cesàro, A.,** 2013, Chitosan nanoparticles: Preparation, size evolution and stability, *International Journal of Pharmaceutics*, 455(1-2):219–228 pp.
- Raza, Z. A., Khalil, S., Ayub, A., and Banat, I. M.,** 2020, Recent developments in chitosan encapsulation of various active ingredients for multifunctional application, *Carbohydrate Research*, 492.
- Rico, X., Gullón, B., Alonso, J. L., and Yáñez, R.,** 2020, Recovery of high value-added compounds from pineapple, melon, watermelon and pumpkin processing by-products: An overview, *Food Research International*, 132.

KAYNAKLAR DİZİNİ(DEVAM)

- Roda, A., De Faveri, D. M., Giacosa, S., Dordoni, R., and Lambri, M.,** 2016, Effect of pre-treatments on the saccharification of pineapple waste as a potential source for vinegar production, *Journal of Cleaner Production*, 112:4477–4484 pp.
- Rodsamran, P., and Sothornvit, R.,** 2019, Preparation and characterization of pectin fraction from pineapple peel as a natural plasticizer and material for biopolymer film, *Food and Bioproducts Processing*, 118:198–206 pp.
- Sacco, P., Paoletti, S., Cok, M., Asaro, F., Abrami, M., Grassi, M., and Donati, I.,** 2016, Insight into the ionotropic gelation of chitosan using tripolyphosphate and pyrophosphate as cross-linkers, *International Journal of Biological Macromolecules*, 92:476–483 pp.
- Saengsuk, N., Laohakunjit, N., Sanporkha, P., Kaisangsri, N., Selamassakul, O., Ratanakhanokchai, K., and Uthairatanakij, A.,** 2021, Physicochemical characteristics and textural parameters of restructured pork steaks hydrolysed with bromelain, *Food Chemistry*, 361.
- Salampessy, J., Phillips, M., Seneweera, S., and Kailasapathy, K.,** 2010, Release of antimicrobial peptides through bromelain hydrolysis of leatherjacket (*Meuschenia* sp.) insoluble proteins, *Food Chemistry*, 120(2):556–560 pp.
- Sathees Kumar, S., Muthalagu, R., and Nithin Chakravarthy, C.,** 2020, Effects of fiber loading on mechanical characterization of pineapple leaf and sisal fibers reinforced polyester composites for various applications, *Materials Today: Proceedings*, 44:546-553 pp.
- Sekulska Nalewajko, J., Goclawski, J., and Korzeniewska, E.,** 2020, A method for the assessment of textile pilling tendency using optical coherence tomography, *Sensors*, 20(13):1-19 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Setiasih, S., Adimas, A. C. D., Dzikria, V., and Hudiyono, S.,** 2018, Stability Test of Partially Purified Bromelain from Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) Core Extract in Artificial Stomach Fluid, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 299.
- Shahid-ul-Islam, and Butola, B. S.,** 2018, Effect of chitosan biological macromolecule on colorimetric analysis and radical scavenging activity of linen using pineapple peel extract biomolecules, *International Journal of Biological Macromolecules*, 124:708–715 pp.
- Shahid-ul-Islam, Butola, B. S., and Kumar, A.,** 2019, Green chemistry based in-situ synthesis of silver nanoparticles for multifunctional finishing of chitosan polysaccharide modified cellulosic textile substrate, *International Journal of Biological Macromolecules*, 152:1135-1145 pp.
- Silvestre, M. P. C., Carreira, R. L., Silva, M. R., Corgosinho, F. C., Monteiro, M. R. P., and Morais, H. A.,** 2012, Effect of pH and Temperature on the Activity of Enzymatic Extracts from Pineapple Peel, *Food and Bioprocess Technology*, 5(5):1824–1831 pp.
- Silva, C. J. S. M., Prabakaran, M., Gübitz, G., and Cavaco-Paulo, A.,** 2005, Treatment of wool fibres with subtilisin and subtilisin-PEG, *Enzyme and Microbial Technology*, 36(7):917–922 pp.
- Silva, C. J. S. M., Zhang, Q., Shen, J., and Cavaco-Paulo, A.,** 2006, Immobilization of proteases with a water soluble–insoluble reversible polymer for treatment of wool, *Enzyme and Microbial Technology*, 39(4):634–640 pp.
- Singh, L. R., Ranjana, Y., and Devi, S. K.,** 2003, Enzymological characterization of pineapple extract for potential application in oak tasar (*Antheraea Proylei* J .) silk cocoon cooking and reeling, *Electronic Journal Biotechnology*, 6(3):198-207pp

KAYNAKLAR DİZİNİ(DEVAM)

- Smith, E., and Shen, J.**, 2011, Surface modification of wool with protease extracted polypeptides, *Journal of Biotechnology*, 156(2):134–140 pp.
- Soares, P. A. G., Vaz, A. F. M., Correia, M. T. S., Pessoa, A., and Carneiro-da-Cunha, M. G.**, 2012, Purification of bromelain from pineapple wastes by ethanol precipitation, *Separation and Purification Technology*, 98:389–395 pp.
- Soares, P., Coelho, Mazzola, P., Silveira, E., Cunha, M. G. C., Pessoa, A., and Tambourgi, E.**, 2011, Studies on bromelain precipitation by ethanol, poly (ethylene glycol) and ammonium sulphate, *Chemical Engineering Transactions*, 24:979-984 pp.
- Song, A. R., Kim, H. R., and Song, W. S.**, 2012, Optimization of enzymatic treatment of polyamide fabrics by bromelain, *Fibers and Polymers*, 13(3):282–288 pp.
- Srmatha, A., Pandit, J. K., and Singh, S.**, 2008, Ionic cross-linked chitosan beads for extended release of ciprofloxacin : *in vitro* characterization, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(1):16-21 pp.
- Sukri, S. A. M., Andu, Y., Harith, Z. T., Sarjian, S., Pauzi, M. N. F., Wei, L. S., Dawood, M. A. O., and Kari, Z. A.**, 2022, Effect of feeding pineapple waste on growth performance, texture quality and flesh colour of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4):2514-2519 pp.
- Telli A.**, 2019, An image processing research consistent with standard photographs to determine pilling grade of woven fabrics, *Tekstil ve Konfeksiyon*, 29(1):268-276 pp.
- Todkar, S. S., and Patil, S. A.**, 2019, Review on mechanical properties evaluation of pineapple leaf fibre (PALF) reinforced polymer composites, *Composites Part B: Engineering*, 174.

KAYNAKLAR DİZİNİ (DEVAM)

- Tusief, M., Mahmood, N., and Saleem, M.,** 2011, Effect of different anti-pilling agents to reduce pilling on polyester/ cotton fabric, *Journal of The Chemical Society Pakistan*, 34(1):53-57 pp.
- Ukponmwan, J. O., Mukhopadhyay, A., and Chatterjee, K. N.,** 1998, Pilling, *Textile Progress*, 28(3): 1–57 pp.
- Wang, L., Li, W., Liu, Y., Zhi, W., Han, J., Wang, Y., and Ni, L.,** 2019, Green separation of bromelain in food sample with high retention of enzyme activity using recyclable aqueous two-phase system containing a new synthesized thermo-responsive copolymer and salt, *Food Chemistry*, 282:48-57 pp.
- Wang, Q., Fan, X., Hu, Y., Yuan, J., Cui, L., and Wang, P.,** 2008, Antibacterial functionalization of wool fabric via immobilizing lysozymes, *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 32(5):633–639 pp.
- Wasso, S., Maina, N., and Kagira, J.,** 2020, Toxicity and anthelmintic efficacy of chitosan encapsulated bromelain against gastrointestinal strongyles in small east african goats in Kenya, *Veterinary Word*, 13(1):177–183 pp.
- Wu, J., Wang, L., Xiao, Z., Geng, L., Zhang, F., and Liu, Y.,** 2020, Wool knitted fabric pilling objective evaluation based on double-branch convolutional neural network, *The Journal of The Textile Institute*, 112(7):1037–1045 pp.
- Xu, Y., and Du, Y.,** 2003, Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles, *International Journal of Pharmaceutics*, 250(1):215–226 pp.
- Vasconcellos, F. C., Goulart, G. A. S., and Beppu, M. M.,** 2011, Production and characterization of chitosan microparticles containing papain for controlled release applications, *Powder Technology*, 205(1-3):65–70 pp.
- Verma, M., Gahlot, N., Singh, S. S. J., and Rose, N. M.,** 2021, UV protection and antibacterial treatment of cellulosic fibre (cotton) using chitosan and onion skin dye, *Carbohydrate Polymers*, 257.

KAYNAKLAR DİZİNİ(DEVAM)

- Vílchez, S., Jovančić, P., and Erra, P.,** 2010, Influence of chitosan on the effects of proteases on wool fibers, *Fibers and Polymers*, 11(1):28–35 pp.
- Vílchez, S., Jovancic, P., Manich, A. M., Julià, M. R., and Erra, P.,** 2005, Chitosan application on wool before enzymatic treatment, *Journal of Applied Polymer Science*, 98(5):1938–1946 pp.
- Vílchez, S., Manich, A. M., Jovancic, P., and Erra, P.,** 2008, Chitosan contribution on wool treatments with enzyme, *Carbohydrate Polymers*, 71(4):515–523 pp. **Yang, S., Zhang, C., and Shen, X.,** 2017, Reducing pilling of knitted woolen fabric based on micro-scale, *International Journal of Clothing Science and Technology*, 29(2): 138–147 pp.
- Yap, P. H., Wang, X., Wang, L., and Ong, K. L.,** 2009, Prediction of Wool Knitwear Pilling Propensity using Support Vector Machines, *Textile Research Journal*, 80(1), 77–83 pp.
- Zhu, L., Ding, X., and Wu, X.,** 2020, A novel method for improving the anti-pilling property of knitted wool fabric with engineered water nanostructures, *Journal of Materials Research and Technology*, 9(3):3649-3658 pp.

TEŞEKKÜR

Tezimin ilk gününden bu yana hep yanımda olup son derece ilgili, özverili ve yardımsever davranan; deneyimleri ve bilgisiyle ile yoluma ışık tutan, bilim insanlığının getirdiği vizyonu her zaman biz öğrencileri ile paylaşan, danışmanım Doç. Dr. Burcu OKUTUCU ve ikinci danışmanım Doç. Dr. Banu ÖZGEN KELEŞ'e teşekkürlerimi sunarım.

Beni bugünlere getiren, hayatım boyunca aldığım her kararda beni destekleyen, cesaretlendiren, elimi her uzattığımda uzakta olmalarına rağmen manevi olarak her anlamda yanımda olan sevgili annem Arzu AÇIKGÖZ, babam Kemal AÇIKGÖZ ve kardeşim Batuhan AÇIKGÖZ'e teşekkür ederim.

Tüm çalışma sürecim boyunca sabır ve anlayışla beni destekleyen erkek arkadaşım Hüseyin ÖZAY' a, manevi desteklerini esirgemeyen ÖZAY ailesine, motivasyonumu yükseltmemi sağlayan ve her koşulda beni cesaretlendiren canım arkadaşım Ayça ÖZDEMİR'e, birlikte çalışmaktan zevk aldığım ve çalışma sürecim boyunca bana destek olan sevgili arkadaşlarım Özge YILMAZ ve Selva Bozkurt'a teşekkür ederim.

Çalışma süresince bilgisi ve tecrübesi ile yardımını esirgemeyen Dr. Öğretim Görevlisi Taylan K. ÖZTÜRK ve Prof. Dr. Aslı DEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

TUBİTAK 2210-A Yurt İçi Genel Yüksek Lisans Burs Programı'na maddi destek verdikleri için teşekkürlerimi sunarım. Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım. Destek proje no: 23009.

Yünsa Yünlü Sanayi ve Tic. A.Ş. firmasına teşekkürlerimi sunarım. Ege Üniversitesi Tekstil ve Konfeksiyon Araştırma Uygulama Merkezi (TEKAUM) 'a teşekkürlerimi sunarım.