

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PAMUKLU KUMAŞLARIN ÖN
TERBİYE PROSESLERİNİN ENZİMATİK YÖNTEMLERLE
KOMBİNE EDİLMESİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Asım DAVULCU

DOKTORA TEZİ
TEKSTİL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA-2008

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PAMUKLU KUMAŞLARIN ÖN
TERBİYE PROSESLERİNİN ENZİMATİK YÖNTEMLERLE
KOMBİNE EDİLMESİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Asım DAVULCU

Prof.Dr.Pervin ANIŞ
(Danışman)

DOKTORA TEZİ
TEKSTİL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA-2008

ÖZET

Tekstil ön terbiye işlemlerinde enzim kullanımının konvansiyonel haşıl sökme, hidrofilleştirme, ağartma ve boyama proseslerine göre avantajları; daha az kimyasal kullanımı, daha çevreci olması, su ve enerji tasarrufu sağlamasıdır.

Bu çalışmada; nişasta haşılı pamuklu kumaşların haşıl sökme, hidrofilleştirme, ağartma ve boyama işlemlerinin enzim kullanımı ile tek banyoda yapılmıştır. Bu yönteme “tek banyo yöntemi” denilmiştir.

Çalışmanın ilk aşamasında, konvansiyonel haşıl sökme proseslerinde kullanılan amilaz esaslı enzimler yerine amiloglikozidaz/pullulenaz karışımı enzim (Dextrozyme DX, Novozymes) ile nişastanın tamamen glikoza parçalanması için çalışma şartlarının optimizasyonu yapılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamada, haşıl sökme banyosundaki glikozdan glikoz oksidaz enzimi ile hidrojen peroksit eldesi ve bu hidrojen peroksit ile maksimum beyazlık derecesinin elde edildiği ağartma işlem koşulları saptanmıştır. Çalışmanın üçüncü aşamasında ise, ağartma işlemi sonunda katalaz enzimi ile hidrojen peroksitin giderimi ve aynı banyoda reaktif boyalarla boyama işlemi yapılmıştır. Bu işlemin ardından tek banyo yönteminin konvansiyonel yönteme göre avantajları ve dezavantajları tartışılmıştır. Ayrıca farklı metotlarla immobilize edilen glikoamilaz ve Glikoz oksidaz enzimlerinin etkinliği de araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Haşıl sökme, Dextrozyme DX, Glikoz oksidaz, Ağartma, İmmobilizasyon, Tek banyo yöntemi.

ABSTRACT

The advantages of biotechnology are: less auxiliary demand; lower environmental impact; and energy and water savings compared to the conventional desizing, scouring, bleaching and dyeing sequence.

The objective of this study was to develop a new process for desizing, scouring, bleaching and dyeing starch-sized cotton fabrics in one bath with enzymatic processes. This process is called “one bath method.”

In the first step of this study, process optimization was done for desizing which was performed with an amyloglucosidase/pullanase enzyme (Dextrozyme DX, manufactured by Novozymes) instead of a conventional amylase enzyme in order to hydrolyze starch into single glucose units. In the second step of this study, glucose oxidase enzyme was used to yield hydrogen peroxide from the glucose generated during desizing and bleaching was performed by this enzymatically-generated hydrogen peroxide to ensure maximum whiteness. In the third step of this study, decomposition of hydrogen peroxide after bleaching was done with catalase enzyme and fabric was dyed in the same bath with reactive dyes. The advantages and disadvantages of one bath method compared with conventional process was discussed. And also, amyloglucosidase and glucose oxidase enzymes immobilizations were done by different methods and its effect on effectiveness were examined.

Key Words: Desizing, Dextrozyme DX, Glucose oxidase, Bleaching, Immobilization, One bath method.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Pamuk	5
2.1.1. Olgun Pamuk Lifinin Anatomik Yapısı	5
2.2. Enzimler	7
2.2.1. Enzimlerin Tarihçesi	8
2.2.2. Enzimlerin İsimlendirilmesi ve Sınıflandırılması	9
2.2.3. Enzimlerin Yapısı ve Görevleri	12
2.2.4. Enzim Substrat İlişkisi	14
2.2.5 Enzim Aktivitesi	16
2.2.5.1 Enzimlerin Aktivitesinin Ölçümü	16
2.2.6. Enzimin Aktivitesini Etkileyen Faktörler	18
2.2.6.1. pH'nın Etkisi	19
2.2.6.2. Sıcaklığın Etkisi	20
2.2.6.3. Enzim konsantrasyonu	20
2.2.6.4. Substrat Konsantrasyonunun Etkisi	21
2.2.6.5. Sürenin Etkisi	22
2.2.6.6. Enzim İnhibitörleri	23
2.2.7. Enzimlerin İmmobilizasyonu	24
2.2.7.1. Taşıyıcıya Bağlama Yöntemleri	25
2.2.7.2. Çapraz Bağlayıcı Maddeler İle İmmobilizasyon	26
2.2.7.3. Tutuklama Yöntemi ile İmmobilizasyon	26
2.2.7.4. Kopolimerizasyon	28
2.2.7.5. İmmobilizasyon Yöntemi Seçiminde Önemli Hususlar	29
2.2.7.6. Taşıyıcı Materyallerin Seçimi	30

2.2.7.7. İmmobilize Enzimlerin Serbest Enzimlere Göre Avantajları	30
2.2.7.8. İmmobilize Enzimlerin Stabilitesi	31
2.3. Tekstil Terbiye İşlemlerinde Enzim Kullanımı	31
2.3.1. Haşıl Sökme İşleminde Enzim Kullanımı	31
2.3.1.2. Nişasta Haşılının Sökülmesinde Kullanılan Enzimler	33
2.3.2. Hidrofilileştirmede Enzim Kullanımı	34
2.3.3. Enzimatik Ağartma	35
2.3.3.1. Lakkazlar	35
2.3.3.2. Peroksidazlar	37
2.3.3.3. Ksilenzazlar	39
2.3.3.4. Glikoz Oksidazlar	39
2.3.3.5. Ağartma Enzim Sistemlerinin Kullanılması	42
2.4. Tekstil Proseslerinin Çevresel Etkilerinin İncelenmesi	47
3. METERYAL VE YÖNTEM	50
3.1. Kullanılan Materyal ve Cihazlar	50
3.1.1 Kumaş	50
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Yardımcı Maddeler	50
3.1.3. Kullanılan Cihaz ve Makineler	53
3.2. Yöntem	54
3.2.1. İşlem Şartlarının Optimizasyonu	55
3.2.1.1. Konvansiyonel Yöntem	56
3.2.1.2. Tek Banyo Yöntemi	58
3.2.2. Yapılan Ölçümler	59
3.2.2.1. Glikoz Miktarı Tespiti	59
3.2.2.2. İmmobilize enzimlerin bağlanma verimi tespiti	64
3.2.2.3. Mukavemet Testleri	65
3.2.2.4. Renk ölçümü	65
3.2.2.5. KOİ ve BOİ Ölçümü	66
3.2.2.6. Yıkama Haslığı Testi	66
3.2.2.7. Haşıl Sökme Testi	66
3.2.2.8 Hidrojen Peroksit Tayini	66
3.2.2.9. Hidrofilite Testi	66
3.2.2.10. Protein Tespiti	66

3.2.3. Enzim İmmobilizasyonu	66
3.2.3.1. Glikoamilaz enzimi immobilizasyonu	67
3.2.3.2. GOx enzimi immobilizasyonu yöntemi	67
3.2.3.3. Sonuçların İstatiksel Değerlendirmesi	69
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	71
4.1. Haşıl Sökme Enzimi Seçimi	71
4.1.1. Tekstil Sektöründe Kullanılan Haşıl Sökme Enzimleri	71
4.1.2. Amiloglikosidaz Esaslı Enzimler	73
4.1.2.1. Dextrozyme DX Enzimi için Optimum pH'nın Belirlenmesi	74
4.1.2.2. Dextrozyme DX Enzimi için Enzim Miktarının Tespiti	74
4.1.2.3. Dextrozyme DX Enzimi için İşlem Süresinin Tespiti	76
4.2. Glikoz Oksidaz Enzimi ile Peroksit Üretimi	77
4.2.1. Gluzyme Mono 10.000 BG Enzimi ile Hidrojen Peroksit Üretimi İçin Optimum İşlem Şartlarının Tespiti	78
4.2.1.2. Çalışma pH'sının Tespiti	78
4.2.1.1. Enzim Miktarının Tespiti	80
4.2.1.3. Çalışma Süresinin Tespiti	80
4.2.1.4. Çalışma Sıcaklığının Tespiti	81
4.2.1.5. Hidrojen Peroksit Miktarını Artırmaya Yönelik Yapılan Çalışmalar	82
4.2.1.6. Gluzyme Mono 10.000 BG Enzimi İle Optimum Ağartma şartlarının Tespiti	83
4.2.1.7. Gluzyme Mono 10.000 BG Enzimi İle Yapılan Çalışmaların Değerlendirilmesi	85
4.2.2. Saf GOx Enzimi ile Hidrojen Peroksit Üretimi İçin Optimum İşlem Şartlarının Tespiti	85
4.2.2.1. Saf GOx ile Çalışmada Optimum pH Tespiti	86
4.2.2.2. Saf GOx ile Çalışmada Enzim Miktarının Belirlenmesi	87
4.2.2.3. Saf GOx ile Çalışmada Optimum Süre Tespiti	87
4.2.2.4. Saf GOx ile Çalışmada Optimum Sıcaklık Tespiti	88
4.2.2.5. Saf GOx ile Çalışmada Çözeltiyeye Glikoz İlave Edilmesi	89
4.2.2.6. Saf GOx Enzimi ile Üretilen Hidrojen Peroksit İçin Optimum Ağartma Şartlarının Tespiti	89
4.2.2.7. Saf Gox Enzimi İle Yapılan Çalışmaların Değerlendirilmesi	92
4.2.3. Multifect GO 5000L Enzimi İle Yapılan Çalışmalar	93
4.2.3.1. Multifect GO 5000L ile Çalışmada Optimum pH Tespiti	93
4.2.3.2. Multifect GO 5000L ile Çalışmada Enzim Miktarının Belirlenmesi	95

4.2.3.3. Multifect GO 5000L ile Çalışmada Optimum Süre Tespiti	95
4.2.3.4. Multifect GO 5000L ile Çalışmada Optimum Sıcaklığın Tespiti	96
4.2.3.5. Multifect GO 5000L Enzimi ile Elde Edilen Hidrojen Peroksit ile Ağartma İşlemi	97
4.2.3.6. Multifect GO 5000L Enzimi İle Yapılan Çalışma Sonuçlarının Değerlendirilmesi	98
4.3. Boyama İşlemleri	99
4.3.1. Procion Yellow HEXL İle Boyama Sonuçları	101
4.3.2. Procion Crimson HEXL İle Boyama Sonuçları	103
4.3.3. Procion Dark Blue HEXL İle Boyama Sonuçları	105
4.3.4. Renk Farklılıklarının Genel Değerlendirilmesi	107
4.3.4.1. İşlemin K/S ve L* Değerlerine Etkisinin İncelenmesi	108
4.3.5. Tek Banyo Yönteminde Tekrarlanabilirliklerin Değerlendirilmesi	110
4.3.5.6. Kumaş Mukavemet Değerlerinin Karşılaştırılması	112
4.4. Tek Banyo Prosesinin Çevresel Etkilerinin İncelenmesi	113
4.5. Enzim İmmobilizasyonu ile ilgili sonuçlar	114
4.5.1. İmmobilize Amiloglukozisaz Enzimi ile İlgili Sonuçlar	114
4.5.2. İmoobilize Glikoz Oksidaz (GOx) Enzimi ile İlgili Sonuçlar	116
5. SONUÇ	118
KAYNAKLAR	126
EKLER	133
ÖZGEÇMİŞ	145
TEŞEKKÜR	146

KISALTMALAR DİZİNİ

ΔE	- CIELAB renk farkı
a*	- Kırmızı-yeşil eksen
AG	- Amiloglikozidaz, glikoamilaz
APHA	- American Public Health Association
APTS	- 3-aminopropyltriethoxysilane
b*	- Sarı-mavi eksen
BOİ	- Biyolojik oksijen ihtiyacı
CNBr	- Siyanojen bromid
CPO	- Kloro peroksidaz
Ç.O	- Çözelti oranı
E	- Enzim
ES	- Enzim substrat kompleksi
GOx	- Glikoz oksidaz
HRP	- Horseradish peroksidaz
IU	- Spesifik enzim aktivitesi
IUB	- Uluslararası Biyokimya Birliği
KOİ	- Kimyasal oksijen ihtiyacı
l	- Litre
L*	- Açıklık koyuluk eksen
LSD	- En Küçük Anlamlı Fark
M	- Molar
Mkat	- Mikrokatal
ml	- Mililitre
Mmol	- Mikromol
nm	- Nanometre
PVA	- Polivinilalkol
S	- Substrat
S.S	- Standart sapma
SNK	- Student-Newman-Keuls
UV	- Ultraviyole
WI	- Beyazlık indeksi

ÇİZELGELER DİZİNİ**Sayfa No**

Çizelge 2.1. Olgun ve olgun olmayan pamuğun bileşimi	5
Çizelge 2.2. Enzimlerin isimlendirilmelerine örnekler	9
Çizelge 2.3. Enzimlerin sınıflandırılması	11
Çizelge 2.4. Farklı İmmobilizasyon tekniklerinin karşılaştırılması	29
Çizelge 2.5. Nişasta ve pamuğun bazı özellikleri	32
Çizelge 2.6. Farklı işlem şartlarında hidrofilleştirme sonunda oluşan glikoz, üretilen peroksit, emicilik ve ağırlık kaybı değerleri	40
Çizelge 2.7. Cam ve alüminyum desteklerle glikoz oksidasyon immobilize etkinliklerinin karşılaştırması	41
Çizelge 2.8. Karbonhidrat oksidaz ve NaOH miktarının ağartmaya etkisi	44
Çizelge 2.9. NaOH ve silikat miktarının ağartmaya etkisi	46
Çizelge 2.10. Eşit ağırlıktaki farklı substratların enzimatik ağartmaya etkisi	48
Çizelge 2.11. Yaygın olarak kullanılan bazı haşıl maddelerinin KOİ ve BOİS değerleri	48
Çizelge 2.12. Non-iyonik yüzey aktif maddelerin özellikleri	49
Çizelge 3.1. Boyama banyosu tuz ve soda miktarları	55
Çizelge 3.2. Farklı glikoz miktarlarına karşılık 500 nm’de elde edilen absorbans değerleri	62
Çizelge 3.3. Glikoz miktarına göre absorbans değişimi	63
Çizelge 4.1. Haşıl sökme enzimleri ve özellikleri	71
Çizelge 4.2. Farklı haşıl sökme enzimleriyle işlem sonucu haşıl sökme çözeltisinde ölçülen glikoz değerleri	72
Çizelge 4.3. Ham pamuklu kumaşın asit tüketimi ve kullanılan asit miktarına göre pH değişimi	74
Çizelge 4.4. Dextrozyme DX enziminin konsantrasyonuna göre oluşan glikoz miktarı	75
Çizelge 4.5. Dextrozyme DX enzimi ile haşıl sökmede süreye göre oluşan glikoz miktarı	76
Çizelge 4.6. Sodyum asetat ilavesine bağlı olarak pH değişimleri	79
Çizelge 4.6. Gluzyme Mono 10.000 ile haşıl sökme banyosunda üretilen peroksit miktarlarının enzim konsantrasyonuna göre değişimi	82
Çizelge 4.7. Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi ile çalışmada pH’ın hidrojen peroksit miktarına etkisi	79
Çizelge 4.8. Gluzyme Mono 10.000 miktarının değişiminin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi	80

Çizelge 4.9. Gluzyme Mono 10.000 ile haşıl sökme banyosunda üretilen peroksit miktarlarına sürenin etkisi	81
Çizelge 4.10. Gluzyme Mono 10.000 ile haşıl sökme banyosunda üretilen peroksit miktarlarına çalışma sıcaklığının etkisi	81
Çizelge 4.11. Banyodaki ilave glikoz miktarının hidrojen peroksit oluşumuna etkisi	82
Çizelge 4.12. Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi kullanılması durumunda ağartma derecesi	83
Çizelge 4.13. Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi ile üretilen peroksit ile yapılan ağartmalarda, beyazlık derecesine pH'nın etkisi	83
Çizelge 4.14. Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi ile peroksit üretimi ve bazik ortamda ağartma sonucu beyazlık dereceleri	85
Çizelge 4.15. GOx enzimi ile çalışmada pH'nın üretilen hidrojen peroksit miktarına etkisi	86
Çizelge 4.16. Saf GOx ile enzim miktarı değişiminin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi	87
Çizelge 4.17. Saf GOx enzimi ile çalışmada sürenin üretilen hidrojen peroksit miktarına etkisi	88
Çizelge 4.18. Saf GOx enzimi ile çalışmada sıcaklığın üretilen hidrojen peroksit miktarına etkisi	88
Çizelge 4.19. Glikoz ilave edilmesi ve saf GOx enzimi kullanılması durumunda üretilen hidrojen peroksit miktarı	89
Çizelge 4.20. Glikoz ilave edilmesi ve Saf GOx kullanılması durumunda H ₂ O ₂ miktarına bağlı olarak elde edilen beyazlık değerleri	90
Çizelge 4.21. Nötr ortamda aktivatörlü yapılan çalışmalar	90
Çizelge 4.22. Saf GOx enzimi ile işlem sonrası alkali pH'larda yapılan ağartmalar	91
Çizelge 4.23. Multifect GO 5000L ile enzim miktarı değişiminin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi	94
Çizelge 4.24. Sodyum asetat miktarının GOx işlemi sonucu PH'ya etkisi	94
Çizelge 4.25. Multifect GO 5000L ile enzim miktarı değişiminin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi	95
Çizelge 4.26. Multifect GO 5000L enzimi ile sürenin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi	96
Çizelge 4.27. Multifect GO 5000L enzimi ile çalışmada sıcaklığının üretilen hidrojen peroksit miktarına etkisi	96
Çizelge 4.28. Multifect GO 5000L enzimi ile işlem sonrası alkali pH'larda yapılan ağartmalar	98

Çizelge 4.29. Procion Yellow hexl ile boyanmış kumaşların renk bilgileri ortalama, standart sapma ve %CV değerleri	101
Çizelge 4.30. Procion Crimson HEXL ile boyanmış kumaşların renk bilgileri ortalama, standart sapma ve %CV değerleri	103
Çizelge 4.31. Procion Dark Blue HEXL ile boyanmış kumaşların renk bilgileri ortalama, standart sapma ve %CV değerleri	105
Çizelge 4.32. Konvansiyonel ve tek banyo yöntemine göre işlemlerde tekrarların ortalamaya göre ΔE CIELab* renk farkı değerleri	111
Çizelge 4.33. Kumaş mukavemet değerleri	112
Çizelge 4.34. Konvansiyonel ve Tek Banyo Yöntemi için KOİ ve BOİ Değerleri	113
Çizelge 4.35. AG enziminin glutaraldehit ile işlemleri sonucu BSA standart eğrisine göre hesaplanmış protein konsantrasyonları	115
Çizelge 4.36. AG enziminin glutaraldehit ile işlemleri sonucu BSA standart eğrisine göre hesaplanmış protein konsantrasyonları	115

ŞEKİLLER DİZİNİ**Sayfa No**

Şekil 2.1. Pamuk lifinin morfolojik yapısı	6
Şekil 2.2. Selülozun birincil çeperinin yapısı	7
Şekil 2.3. Tepkimenin enerji engelini gösteren diyagram	13
Şekil 2.4. Anahtar kilit modeli	14
Şekil 2.5. Bazı enzimlerin farklı pH lardaki aktiviteleri	20
Şekil 2.6. Enzim katalizli bir tepkime üzerine sıcaklığın etkisi	19
Şekil 2.7. Doygun substrat konsantrasyonunda tepkime hızı üzerine enzim miktarının etkisi	21
Şekil 2.8. Sabit enzim derişiminde tepkime hızı üzerine substrat miktarının etkisi	22
Şekil 2.9. Enzimatik reaksiyonlarda oluşan ürün miktarının eğrisi	23
Şekil 2.10. Gluteraldehit yardımıyla enzimin çapraz bağlanması	29
Şekil 2.11. Kalsiyum alginat içersine enzimin hapsedilmesi	27
Şekil 2.12. İmmobilize enzim sistemleri	28
Şekil 2.13. Nişastanın yapısı	31
Şekil 2.14. Lakkaz enzimi substrat enzimi etkileşiminin şematik görünümü	36
Şekil 2.15. Glikoz mevcudiyetinde glikoz oksidazın rekasiyon şeması	39
Şekil 2.16. 3 gram alüminyum destek ile immobilize edilmiş glikoz oksidazın tekrarlı kullanımlarında zamana bağlı hidrojen peroksit üretimi	42
Şekil 2.17. Glukoz oksidaz enzimleri ile peroksidazlar ve ayrıca lakkazların kombine kullanılarak yapılan denemelerin sonuçları	43
Şekil 2.18. Dokuma kumaş işletmeleri atık sulardaki kirleticilerin KOİ değerleri	48
Şekil 3.1. Konvansiyonel yönteme göre işlem akışı	56
Şekil 3.2 Tek banyo yöntemi işlem akışı	58
Şekil 3.2. Glikoz miktarı absorbans değişim grafiği	61
Şekil 3.3. Farklı glikoz miktarlarına karşılık elde edilen absorbans eğrisi	62
Şekil 3.4. Glikoz miktarı absorbans değişim grafiği	63
Şekil 3.5. Bradford yöntemine göre protein tespiti eğrisi	64
Şekil 4.1. Dextrozime DX enzimi ile glikoz oluşumunun pH'a bağlı değişimi	75
Şekil 4.2. Dextrozime DX enziminin konsantrasyonuna göre oluşan glikoz miktarı	76

Şekil 4.3. Dextrozime DX enzimi ile haşıl sökmede süreye göre oluşan glikoz miktarı	77
Şekil 4.4. Konvansiyonel yöntem ve tek banyo yöntemine göre boyanan kumaşın farklı renklerde ve farklı b.m. konsantrasyonunda K/S değerleri	109
Şekil 4.5. Konvansiyonel yöntem ve tek banyo yöntemine göre boyanan kumaşın farklı renklerde ve farklı b.m. konsantrasyonunda L* değerleri	110

1. GİRİŞ

Dünya genelinde çevre bilincinin yerleşmesi ile doğayı koruma anlayışı önem kazanırken, uluslararası kalite standartlarında ve yasal düzenlemelerde de çevreyle ilgili kriterlerin yer almaya başlaması; tüm sektörleri rekabet güçlerini arttırabilmek için bu yönde stratejiler geliştirmeye yöneltmiştir. Tekstil endüstrisinde gelişmiş ülkelerin, özellikle ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelere çevreye duyarlı işletmecilik anlayışı ile ekolojik çevrenin korunması felsefesini Ekotex standartları gibi yasal düzenlemeler çerçevesinde kabul ettirmeye başlaması, tekstil üreticilerinin kaynaklarının etkin kullanımını, çevre dostu ürünler kullanımını ve proses maliyetlerinin azaltılmasını gerekli kılmaktadır.

Günümüzde önemli bir pazar payına sahip olan pamuk lifi, dünya lif tüketiminin yaklaşık %40'ını karşılamaktadır. Lif üzerinde bulunan selülozik olmayan haşıl, yağ, mum, pektin gibi yabancı maddelerin ön terbiye işlemleri ile giderilmesi daha sonraki boya, baskı ve bitim işlemlerinin düzgün bir şekilde yapılması açısından önemlidir. Ön terbiye işlemleri yakma, haşıl sökme, hidrofilleştirme, ağartma ve merserizasyon işlemlerinden oluşmaktadır. Bu işlemlerin belirli bir sırayla veya hepsinin yapılması zorunluluğu yoktur. Uygulanacak diğer terbiye işlemlerinin cinsi, mamülün kalitesi, işletmenin makine parkı ve olanaklarına göre bazı işlemler yapılmayabilir veya daha ılımlı koşullarda uygulanabilir. Tekstil endüstrisinde özellikle çektirme yöntemine göre çalışmalarda proseslerin birleştirilmesinin birçok avantajı vardır. Her bir proses için banyoya yardımcı kimyasal ilavesi ve yeni banyoya gereksinim duyulması; maliyetleri, atık su miktarını ve atık sudaki kimyasal miktarını artırmaktadır. Son yıllarda proseslerin birleştirilmesi için yapılan çalışmalar tekstil endüstrisinde uygulama olanağı bulmuştur.

Tekstil terbiye işlemlerinde kullanılan kimyasalların az veya çok mutlaka ekolojik bir etkisinin olması, çevre dostu temiz üretim yöntemleri çerçevesinde tekstil terbiye işlemlerinde enzimlerin kullanılmasının önemini artırmaktadır. Kullanılan enzimlerin tümünün biyolojik olarak parçalanabilmesi enzim kullanımının “çevre dostu” olduğunun bir göstergesidir. Enzimatik işlemlerin ılıman şartlarda yapılmasının daha düşük enerji gereksinimi sağlaması, reaksiyon kontrollerinin daha kolay olması,

belirli bir substrata etki etmeleri, zararlı kimyasalların yerine kullanılabilmeleri, işlem süresinde tükenmemeleri gibi bir çok avantajı olduğu unutulmamalıdır.

Pamuklu mamüllere uygulanan haşıl sökme, bio-parlatma, hidrofilleştirme, hidrojen peroksit giderimi gibi proseslerde enzimlerin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Özellikle deterjan ve gıda endüstrisinde kullanılan enzim sistemlerinin geliştirilmesi; bu enzimlerin tekstil endüstrisinde kullanımına olanak sağlamaktadır.

Selülozik mamüllerin enzimatik yöntemlerle ağartılması ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma mevcut olup bu çalışmaların tamamı son 15 yıl içerisinde yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda, pamuklu kumaşlarda konvansiyonel yöntemle yapılan ağartmalara yakın beyazlık değerlerine ulaşıldığı rapor edilmiştir. Ancak bu çalışmaların tamamı laboratuvar ortamında yapılmıştır. Tekstil endüstrisinde enzimatik ağartma ile ilgili uygulama olanağı bulmuş bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ağartmada kullanılan enzimlerin pahalı olması endüstriyel uygulamaların olmamasındaki en büyük etkidir. 1960'lı yıllarda, haşıl sökme işleminde kullanılan amilaz enzimleri ilk kullanılmaya başlandığında, enzimatik haşıl sökme prosesi konvansiyonel haşıl sökme proseslerine göre fazla maliyetli olması ve bu enzimi üreten firma sayısının sınırlı olması enzim fiyatının yüksek olmasının en büyük nedenleri olarak görülmüştür. Günümüzde ise; enzimatik haşıl sökme prosesleri konvansiyonel yöntemle göre daha ekonomiktir ve daha iyi sonuçlar elde edilmektedir. Çünkü modifiye haşıl sökme enzimleri geliştirilmiş, haşıl sökme enzimi üreten firma sayısı ve çevre bilinci artmıştır. Son yıllarda moleküler biyoloji ve gen teknolojisi alanlarında kaydedilen büyük gelişmeler, biyoteknolojideki hızlı değişim ve ilerleyişin itici gücü olmuştur. Gelecekte, biyoteknolojideki gelişmelerin ağartma işlemlerinde kullanılan enzimlerin etkinliklerinin artırılmasına ve ekonomik olarak üretilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Bu çalışmada %100 nişasta haşılı ile haşılanmış pamuklu kumaşın enzimatik haşıl sökme, hidrofilleştirme, enzimatik ağartma ve boyama işlemleri aynı banyoda yapılarak işlemlerin optimizasyonuna çalışılmıştır. Boyama prosesinden önce banyoya eklenen ve banyoda oluşan kimyasalların boyama işlemi esnasında etkin bir şekilde işlevlerini yerine getirebileceği düşünüldüğünden aynı banyoda boyamaya devam edilmesi uygun bulunmuştur.

Çalışmanın birinci aşamasında nişasta haşılının tamamının glikoz ünitelerine parçalanması hedeflenmiştir. Tekstil sanayinde kullanılan haşıl sökme enzimleri ve gıda sektöründe nişastadan glikoz elde etme amacı ile kullanılan enzimlerle çalışmalar yapılarak maksimum glikozun üretildiği işlem şartlarının tespiti için çalışmalar yapılmıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında GOx enzimi ile glikozun glikonik asit ve hidrojen peroksit'e dönüşmesi ve elde edilen hidrojen peroksit ile en iyi beyazlık derecesinin eldesi için ağartma koşullarının tespitine çalışılmıştır. Farklı pH'larda yapılan ağartma işlemleri sonucu elde edilen beyazlık ve hidrofilit'e dereceleri karşılaştırılmıştır. Ağartma etkinliğinin artırılması için asidik ve nötr ortamlarda yapılan çalışmalarda hidrojen peroksit aktivatörü kullanılmıştır.

Çalışmanın üçüncü aşamasını ağartma sonrası banyodaki hidrojen peroksitin katalaz enzimi ile parçalanması ve aynı banyoda boyamaya devam edilmesi oluşturmaktadır. Tek banyo yönteminde işlem şartları optimize edildikten sonra konvansiyonel yöntem'e göre boyama işlemleri yapılarak boyarmadde konsantrasyonu, renk ve kullanılan yardımcı kimyasallar gibi parametrelerin renk bilgilerine etkileri incelenmiştir. Tek banyo yöntemi ve konvansiyonel yöntemle boyama sonucu tekrarlanabilirlikler değerlendirilmiştir. Tek banyo yönteminde haşıl sökme işlemi esnasında ilave edilen yüzey aktif maddenin egalize özelliği, GOx ile işlem sonucu oluşan glikonik asit ve ağartma işlemi öncesi banyoya ilave edilen iyon tutucunun boyama banyosunda işlevlerini yerine getirip getirmediğinin tespitine çalışılmıştır. Haşıl sökme, hidrofilleştirme, ağartma ve boyama işlemlerinin aynı banyoda yapılmasının konvansiyonel yöntem'e göre yapılan işlemlere göre; daha az enerji kullanımı, su tüketiminin azaltılması, daha az kimyasal kullanılması, daha çevreci olması gibi birçok avantajı bulunmaktadır.

Ayrıca haşıl sökme ve glikoz oksidaz enzimleri farklı metotlarla immobilize edilerek tekrarlı kullanımlarda enzim aktivitelerindeki değişim ve elde edilen sonuçlar değerlendirilmiştir.

Boya teknolojisindeki gelişmelere paralel olarak reaktif boyarmaddelerin stabiliteeri artmaktadır. Bunun sonucu olarak; tek banyo yönteminde banyodaki safsızlıkların boyama verimine etkisinin azalması ve tekrarlanabilirliklerin daha iyi olması beklenmektedir. Tek banyo yönteminin tekstil endüstrisine önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Pamuk

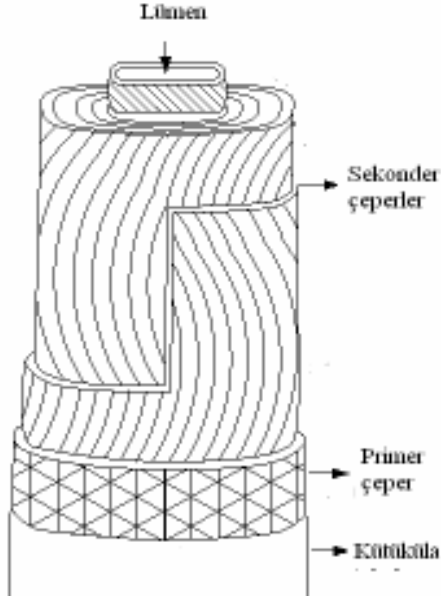
Dünya lif tüketiminin yaklaşık %40'ını karşılayan pamuk günümüzde kullanımı en yaygın doğal liftir (<http://www.icac.org>). Pamuk lifi, selülozik ve selülozik olmayan materyallerden oluşmaktadır (Çizelge 2.1). Lifi en dış kısmında selüloz olmayan maddelerin bulunduğu kütikula tabakası mevcuttur. Bu tabakanın hemen altında sargı şeklindeki primer çeper, ardından sekonder çeper yer almaktadır. Bu iki tabaka yoğun olarak selülozdan oluşmaktadır. Bu tabakalardaki selüloz fibrillerinin eksene göre yerleşim yönünün farklılık göstermesi, her tabakanın kristalinite durumunu etkilemektedir. Bu tabakalar yapısal ve kimyasal olarak birbirinden farklılık göstermektedir (Li 1998).

Çizelge 2.1. Olgun ve olgun olmayan pamuğun bileşimi (Aniş, 1998)

	Olgun Pamuk	Olgunlaşmamış Pamuk
Selüloz	% 90-95	Azalı
Pektin	% 0,7-1,2	-
Şeker	% 0,3	-
Yağlar ve Vakslar	% 0,4-1	Artar
Protein	% 1,1-1,9	Artar
Kül	% 0,7-1,6	-
Diğer Organik Maddeler	% 0,5-1	Artar
Renkli Maddeler	Eser Miktarda	Artar

2.1.1. Pamuk Lifinin Morfolojik Yapısı

Pamuk lifi içi protoplazma sıvısı ile dolu ince duvarlı bir bitki hücresidir. Lifi enine kesiti incelenirse en dıştan en içe doğru kütikula, primer çeper, sekonder çeper ve lümen katmanlarından oluşmaktadır (Şekil 2.1).



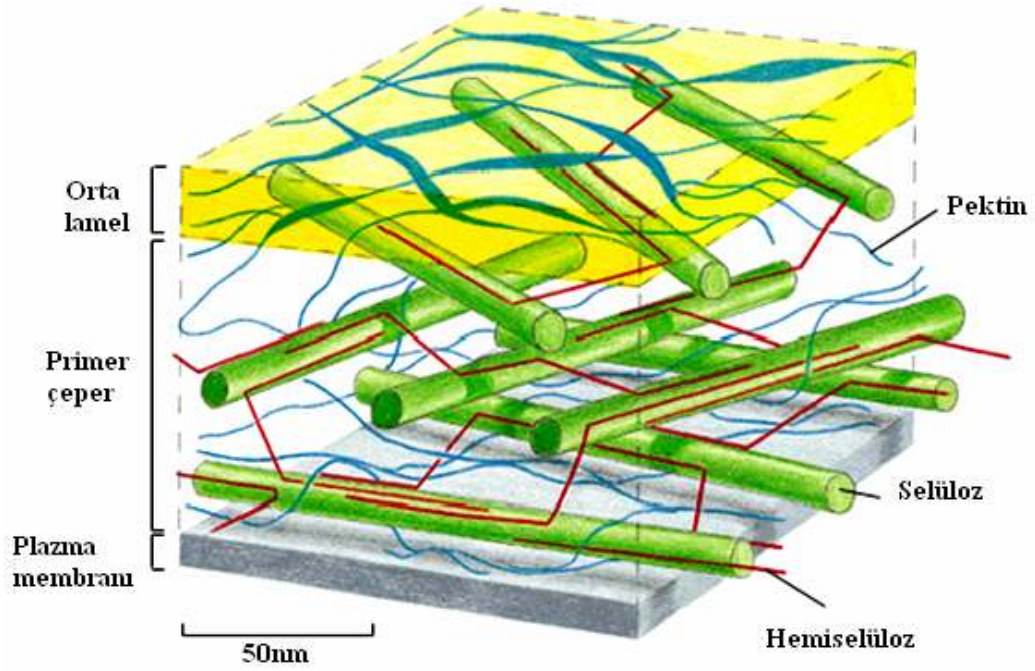
Şekil 2.1. Pamuk lifinin morfolojik yapısı (Shore 1995)

Kütikula ve Mumlu Tabaka

En dışta bulunan ve lifi koruyan çok ince bir çeperdir. Kütikülayı oluşturan bileşenler; protein, pektin, mum ve kütin gibi selülozik olmayan maddelerdir. Bu tabaka amorf yapıdadır ve kütikulanın ağırlığı, lifin toplam ağırlığının yaklaşık %2,5'i kadardır. Kütikulanın dışı mum tabakası ile sarılmış olup; pektik maddeler mum tabakanın altında yer almaktadır (Li 1998).

Primer Çeper

Kalınlığı 1 mikronun altında olan primer çeper, esas hücre çeperidir. Lifin ağırlıkça %5'ini oluşturan primer çeperin esas kimyasal yapısı selülozdan oluşmaktadır. Ayrıca önemli oranda pektin içermektedir. Primer çeper ile onun üzerindeki kütikula ve mumlu tabaka birlikte incelendiğinde %53'ü selüloz ve hemiselüloz, %5'i pektik maddeler, %7'si mum, %8'i kütin, %3 kadar da külden oluşmaktadır. Elektron mikroskobu ile incelendiğinde selülozik fibriller, primer çeperin dış kısmında lif eksenine paralel, iç kısmında ise eksenin etrafında eksene dik sıralanarak bir tür silindirik ağ formu oluştururlar ve böylece lifin dış etkenlerden korunmasına yardımcı olurlar (Şekil 2.2.) Primer çeperdeki selülozun yaklaşık %30'u kristalin yapıdadır (Li 1998, Yazıcıoğlu 1999).



Şekil 2.2. Selülozun primer çeperinin yapısı (<http://users.aber.ac.uk/lum>)

Sekonder Çeper

Sekonder çeper selülozdan oluşmuştur. Bu çeperde selüloz lameller halinde bulunmaktadır. Sekonder çeper fibrilleri, primer çeperdekilerden farklı olarak lif eksenine boyunca belirli açılarda ilerler, eksene göre helezonlar oluşturarak düzenlenirler. Bir pamuk lifinde sekonder çeper, lif uzunluğu boyunca aynı kalınlıkta değildir. Çünkü selülozun lif içinde depolanması lifin her tarafında eşit olmamaktadır (Tarakcioğlu 1979, Yazıcıoğlu 1999).

Lümen

Olgun liflerde büzölmüş halde bulunan lümen tabakasında granüler yapıdaki protein artıkları, mineral tuzları ve renkli maddelerin belli bir kısmı burada toplanmıştır. Lif olgunlaştıkça sekonder çeperin kalınlaşması ile lümen daralmaktadır.

2.2. Enzimler

Enzim olarak adlandırılan bazı proteinlerin biyolojik aktiviteye sahip olmaları ve kimyasal olayları katalize etmeleri çeşitli endüstriyel alanlarda uygulama olanakları bulmalarını sağlamıştır. Günümüzde ekmek, bira ve peynir üretimi gibi ekonomik

sahalarda, temizlik alanları gibi günlük yaşamda ve bir sağlık alanı olan tıpta teşhis ve tedavide büyük rol oynamaktadır (Gözükara 2001).

Enzimler doğada yaşayan tüm canlı organizmaların temelini oluşturan proteinlerdir. Bunlar; uzun peptid bağlarıyla birbirine bağlı amino asitler şeklinde olup, yaşayan hücrelerde bulunmaktadır. Diğer kimyasal bileşikler gibi enzimler de canlı değildir (Duran, 1999). Çoğu enzim sadece zincir şekli açısından değil, ayrıca molekül büyüklükleri açısından da birbirinden farklılık göstermektedir. Molekül ağırlığı genelde 20.000-90.000 g/mol aralığında yer alır ki; bu da yaklaşık 200-900 amino asit yapı taşına denk gelmektedir (Anonim 2002).

Enzimler katalizör olarak, kimyasal reaksiyonları hızlandırmada ve bir molekülü diğer bir moleküle dönüştürmede kullanılır. Bu işlevi, az bir miktar enzim kendisi değişikliğe uğramadan yerine getirmektedir. Her reaksiyon için özel bir enzim vardır. Yalıtılan enzimlerin tümü protein yapısındadır yada protein kısım bulundurmaktadır (Rowe 1994).

2.2.1. Enzimlerin Tarihçesi

Enzimler uzun yıllardan beri kullanılmakta olsa da gerçek özelliklerinin anlaşılması yakın geçmişte olmuştur. Enzimatik işlemler, özellikle de fermantasyon, on dokuzuncu yüzyılın en gözde ilgi alanı olmuştur ve bu dönemde çok değerli buluşlar yapılmıştır. İki Dünya Savaşı arasında enzim teknolojisi alanında yavaş da olsa ilerleme kaydedilmiştir. Bitki ve hayvan hammaddelerinden enzim ayrıştırılması yöntemleri geliştirilmiştir. Aynı zamanda ayrıştırılan enzimlerin saflaştırılması alanında da gelişmeler olmuştur (Akkaya 1999).

Mikrobiyal enzimlerin elde edilmesi için katı ya da sıvı ortamlarda yapılan yüzey kültürleri kullanılmıştır. Yüzey kültürleri kullanılmasının hem zahmetli hem de zaman alıcı bir işlem olması nedeniyle, enzim üretiminde farklı tekniklerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmuştur. Willstatter ve arkadaşları, 1920-1928 yılları arasında yaptıkları araştırmalar sonucunda enzimleri saf bir biçimde elde etmeyi başarmışlardır. 1926'da Amerikalı biyokimyacı James B. Summer, üreaz denen bir enzimi, dört yıl sonra da, yine Amerikalı bir biyokimyacı olan John H. Northrop, pepsin ve tripsin enzimlerini kristal formda elde etme başarısını göstermişlerdir (Akkaya 1999).

Enzimlerin endüstriyel amaçla kullanılmaları 1965'ten sonra iyice yaygınlaşmıştır. Sıvı kültür (Submerged) yönteminin geliştirilmesi enzim üretimine büyük katkı sağlamıştır. 1950'lerde bu yöntem kullanılarak Novo'nun laboratuvarlarında tekstil endüstrisinde kullanılmak üzere bakteriyel amilaz üretilmeye başlanmıştır. Son yıllarda birçok alanda enzimlerden yararlanılmaktadır (Akkaya 1999, Koo ve ark. 1994).

Günümüzde enzimlerin kullanıldığı endüstriyel alanlar oldukça çeşitlenmiş ve mikroorganizmalar kullanılarak üretilen saf enzim miktarı yılda 500 ton gibi değerlere ulaşmıştır.

2.2.2. Enzimlerin İsimlendirilmesi ve Sınıflandırılması

Enzimler önceleri genellikle “az” eki ile biten (katalaz gibi) isimlerle ve bazı proteolitik enzimlerde “in” eki ile biten (tripsin gibi) isimlerle isimlendirilmiştir. Katalitik etkiyle reaksiyona giren maddeye substrat denilmektedir. Substratların sonuna –az (-ase) eki getirilerek isimlendirme yapılmaktadır. Enzime katalize ettiği kimyasal reaksiyona bakılarak isim verilmektedir. Ancak burada enzimin kimyasal yapısı ve substratın kimyasal yapısı dikkate alınmaktadır. Substratın esas alınması daha uygun ve pratiktir (Çizelge2.2).

Çizelge2.2:Enzimlerin isimlendirilmelerine örnekler

Substrata göre		Reaksiyona göre	
Substrat	Enzim	Reaksiyon	Enzim
Protein	Proteinaz	Oksidasyon	Oksidaz
Selüloz	Selülaz	Redüksiyon	Redüktaz
Lipit	Lipaz	Dekarboksilasyon	Dekarboksilaz
Üre	Üreaz	Hidrolizasyon	Hidrolaz

Enzimlerin bu şekilde adlandırılmaları son zamanlarda önemini kaybetmiştir. Uluslar arası Biyokimya Birliği (International Union of Biochemistry) tarafından yeni keşfedilen ve sayıları günden güne artan enzimler için yeni bir adlandırma ve sınıflandırılma oluşturulmuştur. Sınıflandırma yapılırken bazı prensip ve kurallara sadık kalınmıştır. Bu prensipler aşağıda sıralanmıştır (Gözükara 2001).

Sistemantik isim mümkün olduğu kadar kurallara uyularak ve enzimin gerçek katalitik faaliyetlerini yansıtacak şekilde verilmelidir. Sınıflandırmada enzimlere 4 numara verilmektedir.

- 1- İlk numara enzimin altı sınıftan hangisine ait olduğunu belirlemektedir.
- 2- İkinci numara etki ettiği kimyasal yapıyı ve fonksiyonel grubu belirlemektedir.
- 3- Üçüncü numara akseptörü belirlemektedir.
- 4- Dördüncü numara belli bir sınıfta enzimin aldığı sıra numarasıdır. Enzimlerin sınıflandırılması Çizelge 2.3'de verilmiştir.

Çizelge 2.3. Enzimlerin sınıflandırılması (Gözükara 2001)

1. Oksidoreduktazlar Redoks reaksiyonlarını katalizler.	
EC 1.1	CH-OH grubuna etki ederler
EC 1.2	C-O grubunu etkileyenler
EC 1.3	C-CH grubunu etkileyenler
EC 1.4	CH-NH ₂ grubuna etki ederler
EC 1.5	CH-NH grubuna etki ederler
EC 1.6	NADH+ veya NADPH+ etki ederler
EC 1.7	Diğer azotlu bileşiklere etki ederler
EC 1.8	Kükürt grubuna etki ederler
EC 1.9	Heme grubuna etki ederler
EC 1.10	Difenol ve türevlerine etki ederler
EC 1.11	Akseptör olarak hidrojen peroksite etki ederler
EC 1.12	Doner olarak hidrojen peroksite etki ederler
EC 1.13	Moleküler oksijen inkorporasyonunu sağlar
EC 1.14	Moeküler oksijenin yapıya girmesini sağlar
EC 1.15	Süperoksit radikali gibi bir akseptöre etkilidir.
EC 1.16	Metal iyonlarını oksitler
EC 1.17	CH ₂ grubunu oksitler
2. Transferazlar Fonksiyonel grupların transferinde görev alır.	
EC 2.1	Bir C grubu transfer ederler
EC 2.2	Alde keton gruplarını transfer ederler
EC 2.3	Açıl gruplarını transfer edenler
EC 2.4	Glikozil gruplarını transfer edenler
EC 2.5	Metil gruplarından başka alkil ve aril gruplarını
EC 2.6	N- içeren grupları transfer edenler
EC 2.7	Fosfat gruplarını transfer edenler
EC 2.8	S- içeren grupları transfer edenler
3. Hidrolazlar Hidroliz reaksiyonlarını katalizler.	
EC 3.1	Esterleri hidrolizleyenler
EC 3.2	Glikozid bağlarını hidrolizleyenler
EC 3.3	Eter bağını hidrolizleyenler
EC 3.4	Peptid bağlarını hidrolizleyenler

Çizelge 2.3. (devamı) Enzimlerin sınıflandırılması (Gözükara 2001)

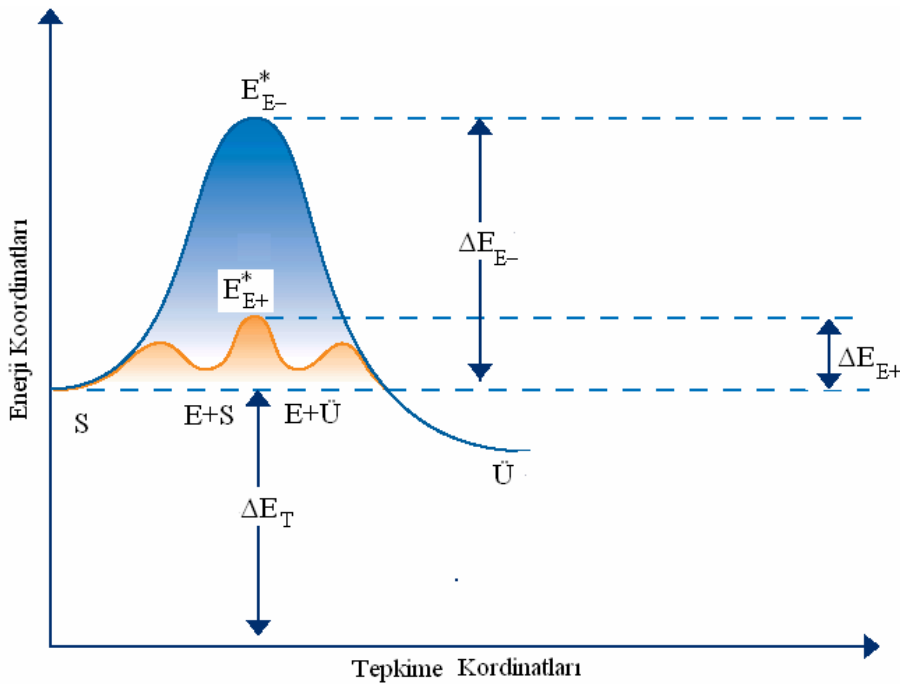
EC 3.5	Diğer C-N bağlarını hidrolizleyenler
EC 3.6	Asit anhidritlerini hidrolizleyenler
EC 3.7	Karbon-Karbon bağına etkilidirler
EC 3.8	Klor ile meydana gelmiş tuzlardaki bağa etkilidirler
EC 3.9	Fosfor-Kükürt bağına etkilidirler
EC 3.10	Kükürt-Azot bağına etkilidirler
EC 3.11	Karbon-Fosfor bağına etkilidirler
4. Liyazlar	Çift bağa katılma ve çift bağ oluştururlar.
EC 4.1	C-C bağına etki ederler
EC 4.2	C-O Liyazlar etki ederler
EC 4.3	C-N Liyazlar etki ederler
EC 4.4	C-S bağına etki ederler
EC 4.5	C-Cl Liyazlar etki ederler
5. İzomerazlar	İzomerleşme reaksiyonlarını katalizlerler.
EC 5.1	Resamazlar
EC 5.2	Cis, trans izomerazlar
EC 5.3	Intramoleküler oksiredüktazlar
EC 5.4	Intramoleküler transferazlar
EC 5.5	İntraoleküler Liyazlar
EC 5.6	Diğer izomerazlar
6. Ligazlar	Sentez reaksiyonlarını katalizlerler.
EC 6.1	C-O bağını oluşturanlar
EC 6.2	C-S bağını oluşturanlar
EC 6.3	C-N bağını oluşturanlar
EC 6.4	C-C bağını oluşturanlar
EC 6.5	Fosfat ester bağı oluşturanlar

2.2.3. Enzimlerin Yapısı ve Görevleri

Tüm enzim proteinleri genler tarafından şifrelenir. Dolayısıyla amino asit dizilimi kendine özgüdür. Bazı enzimler (pepsin ve üreaz gibi) yalnız proteinden oluşmuştur. Enzimlerin büyük bir çoğunluğu iki farklı kısımdan meydana gelmiştir.

a) Protein kısmı (enzimin Apoenzim kısmı): Bu kısım enzimin hangi maddeye etki edeceğini saptamaktadır.

b) Koenzim kısmı: Organik ya da inorganik, çok defa fosfattan meydana gelmiş, protein kısmına göre çok daha küçük molekülü bir kısımdır. Enzimde işlev gören ve esas iş yapan kısımdır. Koenzim kısmı genellikle protein kısmından ayrılabilir ve analizlerinde birçok vitamini bünyesinde bulundurduğu (thiamin, niacin, riboflavin vs.) görülmüştür. Genel olarak bütün vitaminler hücrede enzimlerin koenzim kısmı olarak etkilidirler. Bazen enzimin iş görebilmesi için bir metal iyonuna gereksinim vardır. Yani koenzim kısmı metal iyonu (Ca^{++} , K^{++} , Mg^{+} , Zn^{++}) ise buna 'Kofaktör' denir. Bazı durumlarda koenzim kısmı apoenzim kısmına kuvvetlice (kovalent) bağlanmıştır; bu sıkı bağlanan kısma 'Prostetik Grup'; prostetik grupla apoenzim kısmının her ikisine birden de 'Holoenzim' denir (<http://www.genetikbilimi.com/genbilim/enzimler.htm>).



Şekil 2.3. Tepkimenin enerji engelini gösteren diagram, S: Substrat, E+S: Enzim-substrat kompleksi, E+Ü: Enzim-ürün kompleksi, Ü: Ürün, E^*_{E-} : Enzimatik olmayan reaksiyonun aktiflenmiş kompleksini, E^*_{E+} : Enzim katalizli tepkimenin aktiflenmiş kompleksini, ΔE^*_{E-} : Enzimatik olmayan reaksiyonun aktifleşme enerjisini, ΔE^*_{E+} : Enzimatik tepkimenin aktifleşme enerjisini, ΔE_T : Tepkimenin serbest enerji değişimi (Anonim 2003).

Enzimler, substratlardan (tepkimeye giren maddeler) bir ya da daha fazlasına geçici olarak bağlanarak kataliz etkisi göstermektedir. Enzimler tepkimenin denge

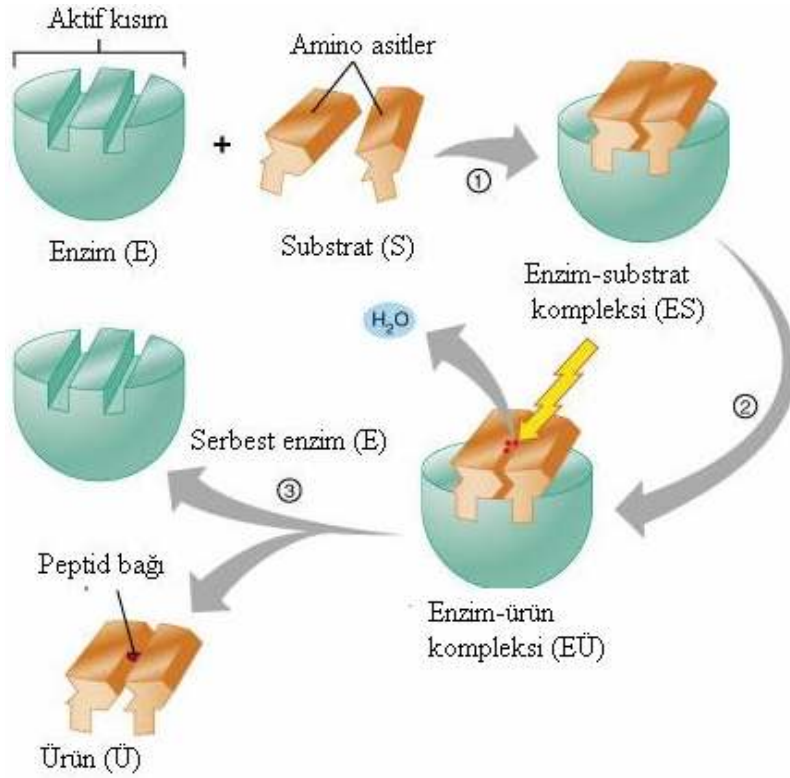
sabitini veya tepkimenin serbest enerji değişimini (ΔE_T) değiştirmeksizin aktivasyon enerjisini (ΔE_{E+}) dūřürerek tepkimenin olağandan daha hızlı geręekleřmesine yardımcı olurlar (şekil 2.3).

2.2.4. Enzim Substrat İlişkisi

Enzimler genellikle büyük moleküllerdir. Buna karşılık substratlar oldukça küçük moleküllerdir. O halde enzim-substrat kompleksini sağlayan bölge enzimin dar bir bölgesini içermektedir. Enzimin aktif merkezinde en az bir amino asit özel bir rol oynamaktadır.

Uzaysal uygunluk enzim substrat ilişkisi için ön koşullardan sadece bir tanesidir. Bir diğeri ise enzim ve substratın kimyasal olarak da uygun olması ve birbirleriyle çok sayıda ve önemli zayıf bağlar kurabilmeleridir. Enzim ve substrat molekülleri kimi zaman kovalent bağlarla bir arada tutuluyorsa da daha çok protein konformasyonunu kararlı kılan iyonik, hidrojen ve Van der Wals bağlarına rastlanır. Bu bağlar normal sıcaklıklarda ısısız hareketler nedeni ile oluşan rasgele çarpışmalar sonucu hızlı bir şekilde oluşmaktadırlar ve kırılğan bir yapıya sahiptirler. Belirli bir enzim molekülüne hangi substratın bağlanabileceği, enzimin aktif merkezini oluşturan amino asitlerin özellikle -R (amino asitlere bağlı yan zincirler) grubundaki gruplarına ve bu grupların birbirlerine göre uzaysal konumlarına bağlıdır. Bir enzimin aktif merkezinin substrat molekülünün reaktif kısmının uyabileceği kavisli bir oluk şeklinde olduğunu ve bu amino asitlerdeki -R gruplarının çoğunluğunun elektrik yüklü olduğunu varsayalım. Substrat molekülünün reaktif kısmının da uygun elektrik yüklü yada polar olması gerektiği açıktır; elektriksel olarak nötr veya polar olmayan bir substrat molekülünün, şans eseri olarak uyum sağlasa bile, enzim aktif merkezi ile tepkimeye girmesi mümkün değildir. Tersine, aktif merkezi büyük hidrofobik -R grupları içeren bir enzimle sadece hidrofobik bir substrat etkileşebilir (Keeton 2003).

Enzim ve substratın birbirine uyumu anahtar - kilit ya da bir bulmacanın parçaları şeklinde hayal edilebilir (şekil 2.4). Substrat molekülünün reaktif kısmı ile enzimin aktif bölgesi olarak bilinen bölgesinin geçici bir bağ kurabilecek kadar uygun olması gerekmektedir. Bu şekilde enzim-substrat formu denilen geçiş formunu oluşturmaktadırlar.



Şekil 2.4. Anahtar kilit modeli (1: Enzim-substrat kompleksinin oluşması, 2: Enzim-ürün kompleksinin oluşması, 3: Enzim-ürün kompleksinin ayrılması (<http://www.biosci.ohiou.edu/faculty/schutte/103schutte>))

Diğer bir görüşe göre de enzim substrat olmadığı zaman serbest olarak bulunmaktadır. Ancak substrat ile buluşacak olursa enzim özel yapısını almakta ve substrat aktif bölgeye bağlanmaktadır. Bu ikinci hipoteze indüklenmiş uyum (induced-fit) hipotezi adı verilmektedir. Uyum modelinde aktif merkez substrat yapısına göre şekillenebilmekte ve bu sırada aktif kısma yakın bazı gruplar enzim molekülüne gömülmüş duruma gelerek substratın enzime bağlanmasını kolaylaştırabilmektedir. (Gözükara 2001, Keeton ve ark. 2003).

Her enzim ancak belirli bir reaksiyonu seçerek katalize etmektedir. Katalizörlerin pek çoğunun çok çeşitli kimyasal reaksiyonlarda görev yapmalarına karşın enzimler genellikle tek bir reaksiyonu katalize etmektedirler. Bir enzim yüzlerce farklı atomlardan oluşan bir kimyasal bileşiği etkilerken, bu molekülün belirli bir kimyasal bölgesini seçerek buradan bir veya iki atomu veya fonksiyonel grubu, molekülün ana yapısını bozmadan koparır veya ilave eder. Başka bir bileşik substrat yapısına çok benzese de aynı enzim bu iki maddeyi birbirinden ayırt edebilmektedir (Gözükara 2001).

2.2.5. Enzim aktivitesi

Enzim aktivitesi, belirli bir substrata karşı enzimatik gücü belirlemekte olup birim zamanda enzim molekülü başına ürüne dönüştürülen substrat molekülerinin bir ölçüsüdür. Enzimin satış fiyatının belirlenmesinde ve kullanım maliyetinde enzim aktivitesi büyük öneme sahip olan enzim aktivitesinin farklı gösterimleri vardır.

Turnover sayısı: 1 mol aktif enzim tarafından 1 dakikada ürüne dönüştürülen substratın mol sayısı olarak tanımlanmaktadır. Bu sayı pH, sıcaklık, gibi deneysel parametrelerin fonksiyonudur. Bu sayının yüksek olması aktivitenin fazla olduğunu göstermektedir.

Ünite: Bir mikromol substratı bir dakikada ve optimal koşullarda ürüne çeviren enzim miktarı bir ünite olarak kabul edilmektedir. Enzim üniteleri UI şeklinde gösterilmektedir.

Spesifik Aktivite: Bir miligram proteinde bulunan enzim ünite sayısı spesifik aktivite olarak kabul edilmektedir. Spesifik aktivite ünite/mg protein olarak kabul edilmektedir. Örneğin; 5 mg proteinde 750 ünite ölçmüşsek, bu enzimin spesifik aktivitesi 150 UI/mg bulunur. Enzim birimleri genellikle o enzimin optimum sıcaklığı ve pH değerine göre hesaplanmaktadır. Bir enzim örneğinin etken derişimini saptamak için enzim tarafından katalize edilen tepkime hızının ölçülmesi gerekmektedir (İşmal 2003).

2.2.5.1 Enzimlerin Aktivitesinin Ölçümü

Enzim aktivite tayininde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Aktivite tayinlerinde genellikle ya kaybolan substrat miktarı yada meydana gelen ürün miktarı tayin edilerek enzimlerin aktiviteleri ölçülmektedir. Çoğunlukla hücredeki enzim proteinini tayin etmek çok zordur. Bunun yerine kaybolan substrat veya oluşan ürünü ölçerek enzim hakkında bir fikir sahibi olunabilmektedir. Enzim aktivite tayininde yöntem seçerken metodun pratik oluşuna ve kısa sürede yapılmasına, ayrıca hassas oluşuna da özen göstermek gerekmektedir. Enzim aktivite tayininde kullanılan yöntemlerden bazıları aşağıda verilmiştir (<http://www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/Ioltp/2282/unite03.pdf>).

Spektrofotometrik Yöntem

Reaksiyona giren maddelerden biri veya reaksiyon ürünlerinden biri UV ya da görünür bölgede karakteristik bir absorpsiyon veriyorsa bu reaksiyonun hızı fotometrik olarak izlenebilmektedir. Bu basit, ucuz ve güvenilir bir işlem olduğu için enzim aktivitesi ölçümlerinde tercih edilen bir yöntemdir.

Monometrik Yöntem

Bir komponenti gaz olan enzimlerin aktivitesini ölçmek için kullanılan yöntemdir. Örneğin; oksidazlarla oksijen alınımı ve dekarboksilazlarla karbon dioksit salınımı bu yöntemle ölçülmektedir.

Thunberg Yöntemi

Çok sayıda dehidrogenaz enziminin aktivitesi bu yöntem kullanılarak ölçülmektedir. Metilen mavisi elektron akseptörüdür. Bu bileşiğin okside durumu renkli, redükte durumu ise renksizdir. Enzim aktivite tayin ortamına belirli miktarda metilen mavisi ilave edilmektedir. Göz ile renk kaybolmasındaki geçen zaman saptanmaktadır. Deney havanın oksijeninden korunmak için Thunberg tüpü" denilen özel bir tüpte yapılmaktadır. Yöntem dını bu tüpten almıştır.

Elektrot Yöntemi

Cam elektrotlarla oluşan asidik ürünlerin ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Substratın ürüne dönüşmesi esnasında meydana gelen pH değişimi tespit edilerek enzim aktivitesi tespit edilmektedir.

Polimerik Yöntem

Pek çok enzimin substratı optikçe aktiftir. Eğer üründe optik aktivite değişmesi görülecek olursa bu yöntem kullanılmaktadır. Substratın aktif ve ürünün optikçe aktif olduğu durumlarda yine bu yöntem uygulanmaktadır. Eğer substrat ve ürünün ikisi de optikçe inaktif ise, o zaman bu yöntemin kullanılması uygun değildir.

Kromatografik Yöntem

Kromatografi tekniğinde yararlanılan temel prensip, bir karışımdaki çeşitli maddelerin hareketli bir faz yardımı ile sabit bir faz üzerinden geçirilmeleri ve bu geçiş sırasında farklı hızlarla hareket etmeleri esasına dayanmaktadır. Enzimatik aktivitelere, ürünün meydana getirdiği değişim tespit edilerek enzim aktivitesi hakkında bilgi edinilebilmektedir.

Kimyasal Tayin Yöntemi

Kimyasal tayin yönteminde enzim ile sustrat etkileşimi sağlandıktan sonra belirli zaman aralıklarında karışımdan örnekler alınıp, substrat ve ürünün kimyasal tayin yöntemi ile miktarları belirlenmektedir (Telefoncu 1986, Copelant 2000, Gözükara 2000).

2.2.6. Enzimlerin Aktivitesini Etkileyen Faktörler

Enzimler kimyasal yapılarının değişmesi veya bozunması (örneğin oksidasyon maddelerinin etkisiyle) sonucu aktivitelerini kaybederler. Enzimin üç boyutlu yapısındaki küçük bir değişim enzim aktivitesi üzerine büyük etki gösterir.

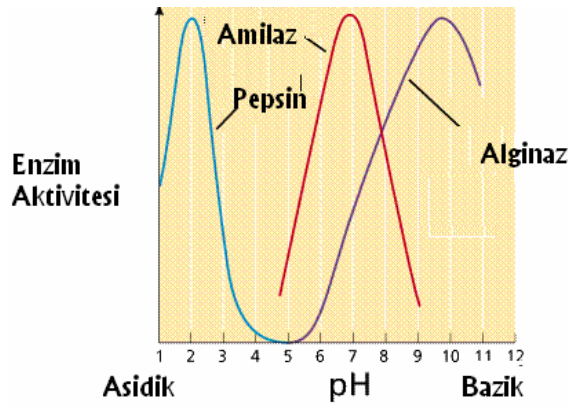
Enzimler tarafından katalizlenen reaksiyonların hızını etkileyen faktörleri aşağıdaki şekilde sıralayabiliriz.

- Ortam pH'ı
- Sıcaklık (direk buhar beslemesi)
- Enzim konsantrasyonu
- Substrat konsantrasyonu
- Zaman
- Reaksiyon ürünü
- Çeşitli iyonların konsantrasyonları ve özellikleri
- Işık ve diğer fiziksel faktörlerin etkisi
- Proteaz enzimleri
- Ağır metaller
- Enzim inhibitörleri

Bu faktörlerin enzim reaksiyonları üzerine olan etkilerini belirlemek için, farklı koşullar altında enzim reaksiyon hızını saptamak gerekmektedir. Enzim aktivitesinin ölçümü, kaybolan substrat miktarı yada ortamda birim zamanda oluşan ürün miktarının ölçülmesi ile yapılmaktadır. Her iki halde de enzim aktivitesi (V) hız olarak tanımlanmaktadır.

2.2.6.1.PH'ın Etkisi

Enzimin en fazla aktivite gösterdiği pH değerine optimum pH denir ve her enzimin aktif olduğu belirli pH aralıkları vardır. Optimum pH'ın her iki yanında enzim reaksiyon hızı yavaşlamaktadır (Şekil 2.5). Çok ekstrem uçlarda ise enzim inaktivite olabilir veya konformasyon değişikliğine uğrayabilir. Enzimin aktif kısmında veya protein kısmında bulunan etkin bir grupta değişiklik olması enzim proteininin denaturasyonuna ve bunun sonucu olarakta enzimin aktivitesini yitirmesine neden olabilmektedir. Bunların tümü enzimde etkinlik kaybına yol açmaktadır. Ortamın enzimin çalışması için uygun şartlara getirilmesi durumunda enzim etkinliğinde, bu değişikliklerin şiddetine bağlı olarak geri dönebilir (reversible) veya geri dönmeyebilir (irreversible) değişimler meydana gelebilmektedir (Murray ve ark. 1996).

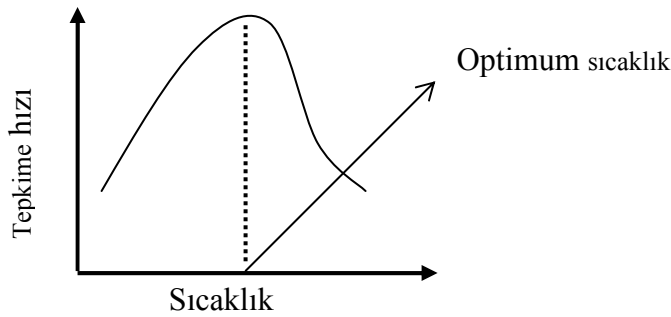


Şekil 2.5. Bazı enzimlerin farklı pH'lardaki aktiviteleri (<http://www.emc.maricopa.edu/faculty/farabee/biobk>)

Optimum pH'ın her iki yanında da enzim reaksiyon hızı yavaşlamaktadır. Bu sebeple enzim çalışmalarında pH'ı optimumda sabit tutmak için tampon çözeltiler kullanılmaktadır. Optimum pH çeşitli koşullara bağlıdır. Bu koşulları, kullanılan tamponun cinsi, özel substratın yapısı ve enzimin elde edildiği kaynak olarak sıralamak mümkündür (Gözükara 2001).

2.2.6.2. Sıcaklığın Etkisi

Sıcaklık artarken enzimle kataliz edilen bir tepkimenin hızı da artmakla birlikte, bu artış sadece çok dar sıcaklık sınırları içinde görülmektedir (Şekil 2.6). Tepkime hızı başlangıçta sıcaklık artışıyla optimum sıcaklığa kadar artmaktadır. Bu artışın nedeni tepkimeye giren moleküllerin kinetik enerjilerinin sıcaklık artışı ile artmasıdır. Enzimdeki bu kinetik enerji artışı en sonunda enzimin ikincil-üçüncül yapısını sürdüren zayıf hidrojen bağlarını yıkacak enerji engelini aştığında enzimler denatüre olmaya başlamaktadır. Bunun sonucu olarak da enzim aktivitesi azalmaya başlamaktadır (Altunata ve ark. 1998).

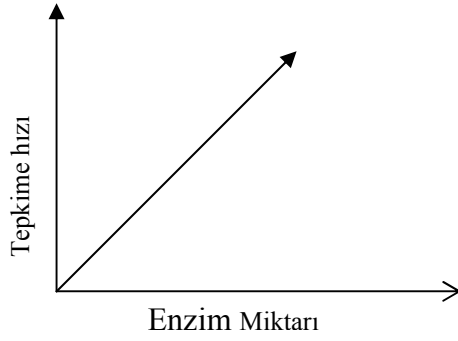


Şekil 2.6. Enzim katalizli bir tepkime üzerine sıcaklığın etkisi

Optimum sıcaklık, Şekil 2.6'da görüldüğü gibi sınır sıcaklıktır. Enzimin bu sıcaklıkta bulunması süreye bağlı olarak denatüre olma olasılığını artırmaktadır. Sıcaklığa karşı duyarlılık enzimden enzime değişmektedir. Enzimlerin büyük çoğunluğu 50-60°C'de aktivitesini yitirmektedir. Bununla beraber 80-90°C sıcaklığa kadar aktivitelerini saklayan enzimlere de rastlanmaktadır. 100°C'de aktivite gösteren volkanik havuzlarda bulunan enzimler de vardır. Enzimlerin büyük bir kısmının optimum sıcaklığının 36-37°C arasında değiştiği gözlenmiştir (Keeton 2003, Altunata ve ark. 1998).

2.2.6.3. Enzim Konsantrasyonunun Etkisi

Enzimatik reaksiyon hızı, enzim substratının doygun olduğu koşullarda enzim konsantrasyonuna bağlı olarak lineer bir şekilde artmaktadır. Bunun nedeni, her enzim molekülünün diğerinden bağımsız olarak vazife görmesidir. Ortamda ne kadar çok enzim molekülü varsa reaksiyonda o kadar hızlı yürüyecektir. Substratın bol olduğu koşullarda reaksiyon hızı lineer bir şekilde artmaktadır (Şekil 2.7).



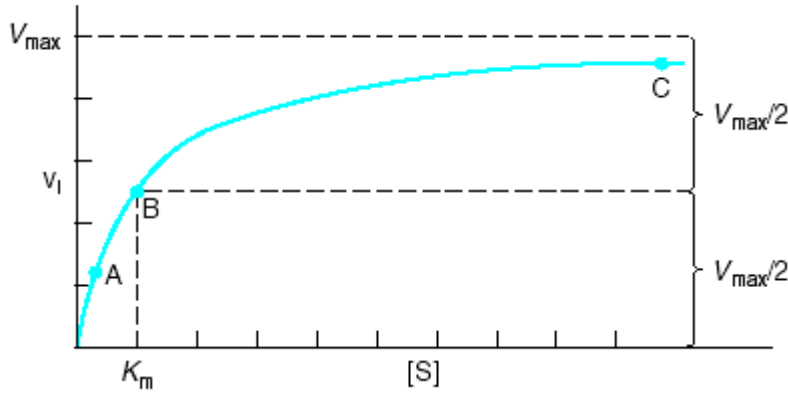
Şekil 2.7. Doygun substrat konsantrasyonunda tepkime hızı üzerine enzim miktarının etkisi

Bir enzim molekülü sonsuz miktarda substratı değişikliğe uğratabilme özelliğine sahiptir. Çünkü enzim molekülleri reaksiyon sonunda hiçbir değişikliğe uğramadan çıkmaktadır. Ancak enzimler çeşitli hücre içi ve çevresel koşullara bağlı olarak aktivite kaybına uğramaktadırlar (Copeland 2002).

2.2.6.4. Substrat Konsantrasyonunun Etkisi

Sabit enzim konsantrasyonunda tepkime hızı substrat konsantrasyonuna bağlı olarak artmaktadır. Başlangıçta bu ilişki doğrusal (lineer) olarak devam ederken daha sonra hiperbolik bir şekil almaktadır (Şekil 2.8). Bu durum reaksiyon kinetiklerinin iki fazlı olduğunu göstermektedir. Başlangıç fazında reaksiyon lineer bir şekilde ilerlemekte ve reaksiyon hızı substrat konsantrasyonunun artışına paralel olarak artmaktadır. Enzim reaksiyonu bu durumda birinci dereceden (first order) bir kinetik göstermektedir. İkinci fazda ise bir platoya erişmekte ve reaksiyon hızı değişmeden devam etmektedir. Enzim reaksiyonu bu durumda sıfırıncı dereceden (zero-order) bir kinetik göstermektedir. Tepkime hızı substrat konsantrasyonunun artması ile bir maksimuma yaklaşmıştır. Bunun sebebi gayet açıktır. Enzim ve substratı ES (enzim-substrat) kompleksi yapmışsa enzimin çalıştığı kabul edilmektedir. Enzim serbest kaldığı zaman, enzimin tekrar bir diğer substrat molekülü ile birleşmesi için bir zaman geçmesi gerekir. Bu zaman esnasında enzim molekülü serbesttir, yani çalışmıyor demektir. Substrat konsantrasyonu arttıkça serbest enzim daha sık çarpışmalar yapacak ve substratla daha kolay birleşecektir. Böylece enzimin boş kaldığı, çalışmadığı süre gittikçe kısalmaktadır. Reaksiyonun hızı da substrat konsantrasyonunun artması ile artış gösterecektir. Bir müddet sonra substrat konsantrasyonu öyle bir düzeye gelecektir ki bu noktadan sonra enzim artık hiç boş kalmayacak ve devamlı çalışacaktır. Bu noktadan

sonra substrat konsantrasyonunun daha fazla artırılması ile enzim reaksiyon hızını arttırmak mümkün değildir. Çünkü böyle bir durumda enzim substratına karşı doymun hale gelmiştir. Bu durumda enzim maksimum hız ile çalışıyor demektir. Sıfırıncı dereceden kinetik davranış gösterdiği noktada enzim reaksiyon hızı bir limite veya diğer bir deyimle maksimum hıza erişmektedir. Maksimum hız genellikle V_{max} veya V_m ile ifade edilmektedir.



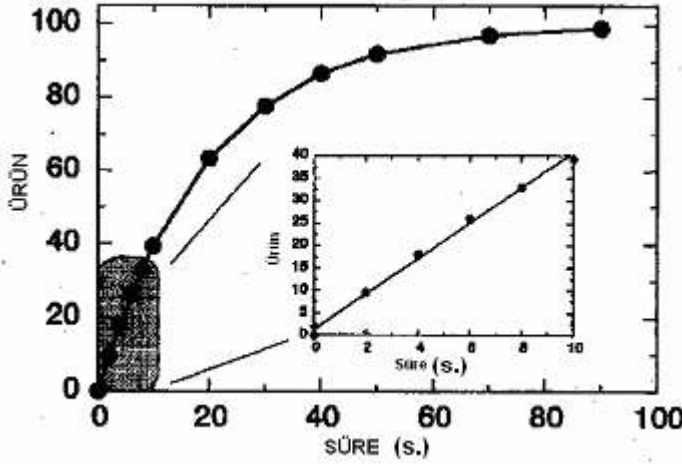
Şekil 2.8. Sabit enzim derişiminde tepkime hızı üzerine substrat miktarının etkisi (Keeton 2003)

Enzim moleküllerinin yarısı enzim-substrat kompleksi halinde iken yani yarısı çalışırken gözlenen reaksiyon hızı, bütün enzim molekülleri çalışırken gözlenen reaksiyon hızının yarısıdır. Başka bir deyimle enzim maksimal hız ile çalışırken enzim moleküllerinin yarısına bağlı substrat konsantrasyonuna MICHAELIS-MENTEN sabitesi adı verilmektedir. Bu sabite Şekil 2.8’de görüldüğü gibi K_m ile gösterilmektedir. Bu değer; enzimin substratına olan ilgisini göstermektedir. Eğer enzimin substratına olan ilgisi fazla ise K_m değeri küçüktür. Çünkü düşük substrat konsantrasyonlarında bile enzim ile substrat ES kompleksi yapıyor demektir. Şayet enzimin substratına olan ilgisi zayıf ise K_m değeri daha büyük bir değerdir (Keton 2003).

2.2.6.5. Sürenin Etkisi

Bir enzim reaksiyonunun hızı belirli bir zamanda üretilen ürünün miktarı ile belirlenmektedir. Genellikle enzim aktivite tayinlerinde tayin süresi 5 dakika olarak belirlenmiştir. Bu süre içerisinde de başlangıç reaksiyon hızı esas alınmaktadır. Örneğin bir saat sonra bir dakikada üretilen ürünün 60 katının üretildiğini tahmin edebiliriz. Bu

tür bir tahmini, bir saat boyunca ürünün lineer bir şekilde oluştuğunu bilirse ileri sürebiliriz. Enzim substrat karışımından belirli zaman aralıkları ile örnekler alıp ürün miktarı tayin edilerek, ürünün bir saat süresince lineer bir şekilde artıp artmadığı anlaşılabilir. Eğer eğimi azalan bir eğri elde edilmişse, ürünün oluşmasında bir azalmanın olduğu söylenebilir. Hızın azalmasına çeşitli faktörler neden olabilir. Ortamda enzim tarafından kullanılan substrat miktarının azalmış olması, ürünün ortamda fazla birikmesi nedeni ile reaksiyon dengesinin sola kayması, ürünün ortamda birikmesinin enzimi denatüre etmesi, ürünün ortam pH'ını değiştirerek optimum çalışma koşullarını bozması gibi nedenler tepkime hızının zamanla azalmasına neden olmuş olabilir (Gözükara 2001).



Şekil 2.9. Enzimatik reaksiyonlarda oluşan ürün miktarının eğrisi (Copelant 2000).

Şekil 2.9'da görüldüğü gibi zamanla oluşan ürün miktarı başlangıçta lineer bir şekilde artmaktadır. Başlangıçtaki reaksiyon hızı eğrinin eğiminden belirlenebilir. Sustrat miktarının %10'u ürüne dönüştüğünde oluşan ürün miktarındaki artış zamana göre azalmıştır.

2.2.6.6. Enzim İnhibitörleri

Enzimler yaşayan mikroorganizmalardaki sayısız kimyasal tepkimeleri kontrol ettiklerinden, bunların kendi aktivitelerini kontrol eden çok çeşitli mekanizmalarının olması şaşırtıcı değildir. Bu mekanizmalar sıcaklık, pH, enzim-substrat konsantrasyonu gibi fiziksel parametrelerin dışında regülasyonlarına yardımcı oldukları enzimlerin aktif merkezlerini maskeleyen, bloke eden yada değiştiren kimyasal ajanlara da bağlıdır.

Bir kısım inhibitör substratın enzime bağlandığı bölgeye bağlanmaktadır. Bu maddelerin substrattan farkı tepkime sırasında kimyasal değişime uğramamasıdır. Bu tip inhibitörlere kompetitif inhibitör, meydana gelen inhibisyona kompetitif inhibisyon adı verilmektedir.

Eğer inhibitör aktif merkezin dışında bir noktadan enzime bağlanarak inhibisyona neden oluyorsa bu tip inhibitöre non-kompetitif inhibitör, meydana gelen inhibisyona da nonkompetitif inhibisyon denmektedir. Nonkompetitif inhibitörler genellikle enzimin üç boyutlu yapısında değişikliğe neden olarak inhibisyona sebep olmaktadır. Bazı inhibitörler de enzimin etkin (prostetik) grubu üzerine etki ederek enzimi inaktif hale getirebilir ve tepkime hızında düşümlere neden olurlar (Keeton 2003).

Tekstil proseslerinde enzimatik işlem sonrası diğer bir prosese geçişlerde enzimin deaktive edilmesi gerekmektedir. Örneğin selüloz enzimi ile işlem sonrası enzim sonraki proseslerde selülozu parçalamaya devam ederse mamülde mukavemet kaybı meydana gelebilmektedir. Tekstil İşlemlerinde enzimlerin deaktivasyonu kimyasal ve fiziksel yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Kimyasal yöntemlerde pH'ın yükseltilmesi veya sıcaklığın artırılması ile enzimdeki protein yapı ve aktif merkezinin bozunması sağlanmaktadır (Stöhr 1995).

2.2.7. Enzimlerin İmmobilizasyonu

Enzim moleküllerinin katalitik aktifliğinin korunarak tekrar ve sürekli kullanımının sağlanması amacı ile destek görevi gören taşıyıcı matrikse fiziksel veya kimyasal olarak bağlanmasına enzim immobilizasyonu denilmektedir. İmmobilize enzimin aktivitesi; immobilizasyonda kullanılan kimyasalların özellikleri, taşıyıcı matriks ile enzimin etkileşimi, kullanılan çapraz bağlayıcı maddelerle enzimlerin etkileşimi gibi faktörlere bağlıdır. Enzim immobilizasyonu için kullanılan çeşitli yöntemler vardır. Bu yöntemler:

- Taşıyıcıya bağlama,
- Çapraz bağlayıcı maddelerle immobilizasyon,
- Tutuklama yöntemleri ile immobilizasyon ve
- Kopolimerizasyon yöntemleridir.
-

2.2.7.1. Taşıyıcıya Bağlama Yöntemleri

Bu yöntemlerde protein yapıya sahip enzim molekülünün yapısından yararlanılmaktadır. Molekül yüzeyindeki fonksiyonel gruplar, iyonik gruplar ve hidrofobik bölgeler bu bağlanmada rol almaktadır.

Kovalent Bağlanma

Bu yöntem enzimlerin immobilizasyonunda çok geniş olarak kullanılmaktadır. Kovalent bağlanma ile enzimler seçilen uygun bir taşıyıcıya kuvvetli bir şekilde bağlanırlar, fakat immobilizasyon işlemi sırasında denaturalizasyon tehlikesi de bulunmaktadır. En genel şekliyle bu immobilizasyon enzim zincirindeki amino asitlerin taşıdığı fonksiyonel gruplar üzerinden gerçekleşmektedir.

Adsorpsiyon ile İmmobilizasyon

Enzimlerin adsorpsiyon ile immobilizasyonu mevcut en ılıman yöntemdir. Yüzey aktif suda çözünmeyen bir absorbanın enzim çözeltisi ile karıştırılması ve enzimin aşırısının yıkamayla uzaklaştırılması esasına dayanmaktadır. Enzimlerin taşıyıcıya bağlanması Van der Waals bağları ile olmaktadır.

İyonik Bağlanma

İyon değiştirme yeteneğine sahip suda çözünmeyen taşıyıcılara enzimin iyonik bağlanması esasına dayanmaktadır. Adsorpsiyonun da aynı zamanda gerçekleştirilmesi söz konusu olabilmektedir. Biyokatalizatorün bir iyon değiştirici reçine ile karıştırılması ile sağlanmaktadır. Fakat pH, iyon gücü ve substrat konsantrasyonunda meydana gelen değişimden sonra genelde immobilizasyon sona erebilmektedir (Telefoncu 1997; Wiseman 1983).

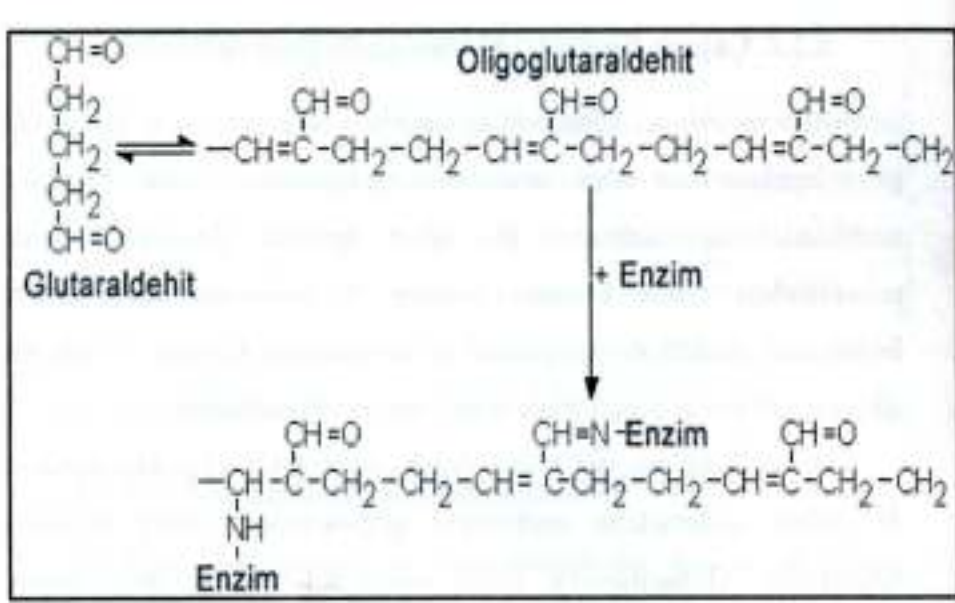
Biyospesifik Bağlanma

Spesifik karbonhidrat artıkları içeren enzimlere Lektinler ve antikolların biyospesifik bağlanması ile gerçekleştirilmektedir.

2.2.7.2. Çapraz Bağlayıcı Maddeler ile İmmobilizasyon

Bazı mikrobiyal hücrelerin agregasyon oluşturmaları doğal olarak gerçekleşirken, bazı hücre enzimlerin agregasyonu çapraz bağlayıcı maddelerle sağlanmaktadır. Bu işlem genelde glutaraldehit gibi proteinlerdeki lysine ve amino grupları ile reaksiyon veren multifonksiyonel maddelerle karıştırılarak sağlanmaktadır. Genelde bunlar bir albumin gibi büyük bir proteinle kopolimerize edilmektedirler.

Dimetil adipimat gibi birçok farklı çapraz bağlayıcı madde bulunsa da sadece glutaraldehit endüstriyel uygulamalarda geniş kullanım bulmaktadır. Glutaraldehitin tercih edilmesinin sebebi daha ılıman koşullar altında reaksiyon verebilmesidir. Glutaraldehit kullanılarak yapılan çapraz bağlama işleminin gerçekleştirilebilmesi için enzimin yapısında lysine amino grupları bulunmalıdır. Aksi takdirde reaksiyonlar gerçekleşmemektedir (Şekil 2.10).



Şekil 2.10. Glutaraldehit yardımıyla enzimin çapraz bağlanması
(<http://www.food.rdg.ac.uk/online/fs560/topic2/t2a/t2a.htm>)

2.2.7.3. Tutuklama Yöntemleri ile İmmobilizasyon

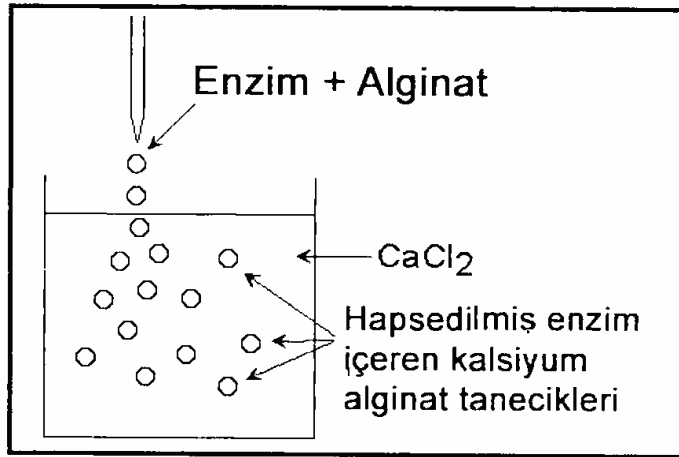
Bu yöntem polimerik matris yapısında veya yarı geçirgen membranlarda enzimin hapsedilmesi esasına dayanmaktadır. Enzim sulu monomer veya polimer çözeltisinde çözülür. Polimer oluşumu veya çapraz bağlanma ısıyla, gama

radyasyonu veya UV ışınları ile başlatılır ve enzim oluşan hidrofilik polimer içine hapsedilmektedir.

Polimer Matriks İçine Hapsetme

Hapsetme işleminde, enzimler veya hücreler direk olarak taşıyıcı madde üzerine bağlanmazlar, basitçe polimer matriksin içine hapsedilmektedirler (Şekil 2.11). Bundan dolayı immobilizasyon esnasında enzim aktivitesinde düşüş görülmemektedir.

Hapsetme işlemi enzimlerin monomer çözeltisi içinde karıştırılması ve sonra sıcaklık değişimi veya kimyasal bir reaksiyonla polimerizasyonunun başlatılması ile gerçekleştirilmektedir. Bu işlemlerde genelde matriks yapılar olarak poliakrilamid, kollojen selüloz asetat ve kalsiyum alginatlar kullanılmaktadır. Hapsetme işlemi enzim immobilizasyonundan daha çok hücre immobilizasyonları için kullanılmaktadır (Telefoncu 1997, Wiseman 1983).



Şekil 2.11. Kalsiyum alginat içersine enzimin hapsedilmesi
(<http://www.food.rdg.ac.uk/online/fs560/topic2/t2a/t2a.htm>)

Yarı Geçirgen Membranlar İçine Kapsülleme (Mikrokapsülleme)

Kapsülleme işleminde hücreler veya enzimler yarı geçirgen membranlarla sarılmaktadırlar. Bu membranlar substrat ve ürün molekülleri geçişine izin verirlerken enzimlerin dışarı çıkışına izin vermemektedirler. Membranlar naylondan, silastik reçine veya selüloz nitrattan oluşturulabilmektedirler.

2.2.7.4. Kopolimerizasyon

Yöntem, bir kopolimerizasyon reaksiyonuna enzimlerin monomerlerden biri gibi davranarak girmesi ile enzimin polimer matrikse bağlanması esasına dayanmaktadır. İmmobilizasyon, biyokatalizatörün aktive ve stabilitesini etkilemektedir. Bunun yanında genel kabul görmüş bir yöntem ve taşıyıcı madde mevcut değildir. Dolayısıyla immobilizasyon yönteminin seçimi oldukça önemlidir.

İmmobilize enzim sistemlerinin şematik gösterimi Şekil 2.12’de gösterilmiştir. Enzimin matriks ile etkileşimi önemlidir. Enzimin aktif merkezi matriks ile veya çapraz bağlayıcılarla bağlanma esnasında korunmalıdır.



Şekil 2.12. İmmobilize Enzim Sistemleri

a) Kovalent olarak bağlanmadan çözünmeyen bir taşıyıcıya absorblanmış enzim b) Çözünmeyen bir taşıyıcıya kovalent olarak bağlanmış enzim c) Çapraz bağlı bir polimer içersine hapsedilmiş enzim d) Yarı geçirgen bir membran içersinde sınırlandırılmış enzim (<http://www.lsbu.ac.uk/biology/enztech/immethode.html>)

2.2.7.5. İmmobilizasyon Yöntemi Seçiminde Önemli Hususlar

Bir immobilizasyon işleminde amaç birim taşıyıcı madde başına mümkün olduğunca fazla aktif enzim yüklemektir. İmmobilizasyon işleminin değerlendirilmesinde genellikle hacim, enzim aktivitesi, kullanılan serbest enzim içindeki protein içeriği, ağırlık, partikül boyut dağılımı, gözeneklilik ve kullanılan taşıyıcı maddelerin kimyasal ve fiziksel doğası, immobilize enzimin aktivitesi ve hacmi, immobilizasyon sonrası kalan serbest enzim aktivitesi ve protein konsantrasyonu parametreleri incelenmektedir. Farklı immobilizasyon tekniklerinin karşılaştırılması Çizelge 2.4’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.4. Farklı İmmobilizasyon tekniklerinin karşılaştırılması
(<http://www.1sbu.ac.uk/biology/enztech/immmethod.html>)

Özellikleri	Adsorbsiyon	Kovalent bağlanma	Hapsedilme	Membran içinde Tutuklanma
Hazırlık	Basit	Zor	Zor	Basit
Maliyet	Düşük	Yüksek	Orta	Yüksek
Bağlanma Kuvveti	Değişken	Kuvvetli	Zayıf	Kuvvetli
Enzim kaçağı	Var	Yok	Var	Yok
Uyunabilirlik	Geniş	Seçici	Geniş	Çok geniş
Problem Yaşanması	Düşük	Düşük	Yüksek	Yüksek
Matriks Etkileri	Var	Var	Var	Yok
Difüzyonel Engeller	Yok	Yok	Var	Var
Mikrobiyal koruma	Yok	Yok	Var	Var

Seçilen immobilizasyon yöntemi basit, tekrar edilebilir, ucuz, güvenli, ılıman koşullarda çalışmaya uygun olmalıdır. Bunun yanında;

- Reaksiyonun kimyasal doğası ve kinetik özellikleri,
- Reaktif maddelerin ve biyokatalizatorlerin kimyasal ve fiziksel stabilitesi,
- İmmobilizasyon için gerekli ürünün üretimi ve saflığı gibi diğer faktörler de yöntem seçiminde göz önünde bulundurulmalıdır.

2.2.7.6. Taşıyıcı Materyallerin Seçimi

Çok çeşitli doğal veya sentetik, organik veya inorganik materyaller immobilizasyon taşıyıcı maddesi olarak kullanılmaktadır. Bu materyaller boyut, şekil, yoğunluk, saflık bakımından birbirlerinden ayrılmaktadırlar. Ayrıca bulunuş şekilleri (tüp, lif, küre, tabaka) de enzim aktivitesi üzerinde etkili olduğundan önemli bir faktördür.

Maalesef literatürde bahsedilen çoğu taşıyıcı madde ve immobilizasyon yöntemi endüstriyel kullanımlar için uygun olmayabilmektedir. Bunun en önemli sebebi kullanılan kimyasalların maliyetleri veya zararlı doğal yapısı, taşıyıcı maddelerin kötü mekanik özellikleri veya metotların uygulamasının zor olması veya yüksek laboratuvar kalite ve bilgisi gerektirmesi olabilmektedir (Telefoncu 1997, Wiseman 1983).

2.2.7.7. İmmobilize Enzimlerin Serbest Enzimlere Göre Avantajları

İmmobilize enzimlerin serbest enzimlere göre birçok avantajı vardır. Bunları özetlersek:

- Reaksiyon sonunda ortamdan kolayca uzaklaştırılabilirler (süzme, santrifüjleme, v.b.) ve ürünlerin enzim tarafından kirletilmesi gibi bir problem yaratmazlar.
- Çevre koşullarına (pH, sıcaklık vs.) karşı daha dayanıklıdırlar.
- Birçok kez uzun süre kullanılabilirler.
- Sürekli işlemlere uygulanabilir.
- Doğal enzime göre daha kararlıdır.
- Ürün oluşumu kontrol altında tutulabilir.
- Birbirini izleyen çok adımlı reaksiyonlar için uygundur.
- Bazı durumda serbest enzimden daha yüksek bir aktivite gösterebilir.
- Enzimin kendi kendini parçalama olasılığı düşüktür.

2.2.7.8. İmmobilize Enzimlerin Stabilitesi

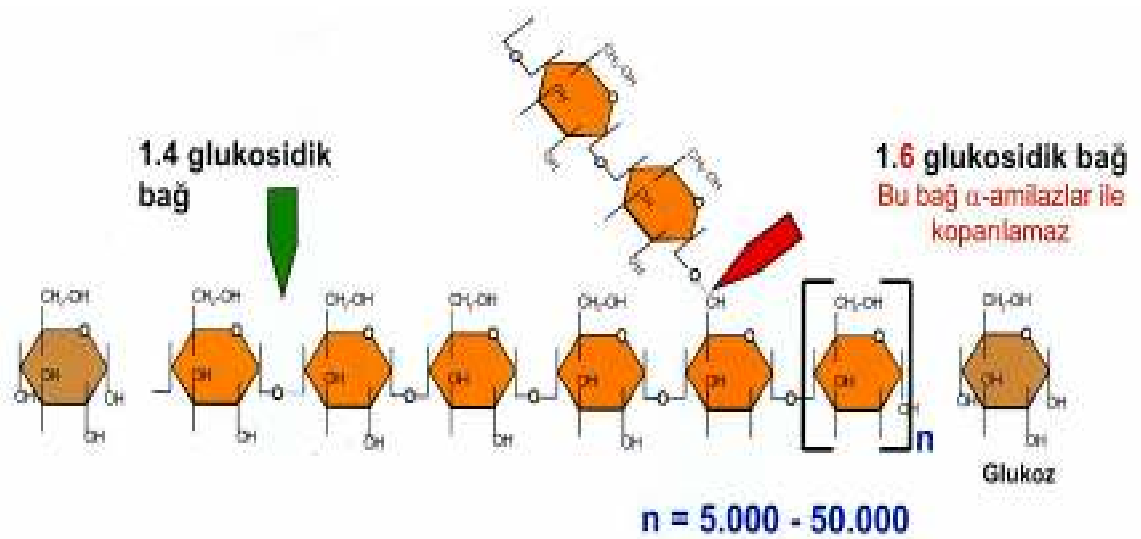
Enzimlerin stabilitesi enzimin karakteristik doğasına ve kullanıldığı koşullara bağlıdır. Enzimi stabilize ve inaktive eden faktörler sistematik olarak anlaşılmış değildir. Enzimler stabilite bakımından çeşitlilik göstermektedirler ve immobilizasyonda işlemsel stabiliteyi etkilemektedirler. Deneysel olarak proteazlar immobilize formda kullanıldıklarında oto sindirime daha çok direnç gösterirler ve taşıyıcı maddeye kovalent bağla bağlanma, yapının aktif durumda tutulması için enzimleri stabilize etmektedir (Telefoncu 1997, Wiseman 1983).

2.3. Tekstil Terbiye İşlemlerinde Enzim Kullanımı

Tekstil sektöründe, yoğun ve fazla miktarda kullanılmakta olan kimyasal maddeler yerine çevre dostu enzimlerin kullanım yerleri aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir:

2.3.1. Haşıl Sökme İşleminde Enzim Kullanımı

Pamuk ipliklerinin haşılmasında en yaygın kullanılan haşıl maddesi nişastadır. Nişastanın yaygın kullanımının nedenleri; doğal kaynaklı, ucuz ve kolay temin edilebilir bir haşıl maddesi olmasıdır (Lange 1997). Tekstilde kullanılan haşıl maddelerinin yaklaşık %75'ini nişasta ve türevleri oluşturmaktadır (Opvis ve ark. 1999).



Şekil 2.13. Nişastanın yapısı (CHT katalog)

Nişasta haşılı amiloz ve amilopektinden oluşmaktadır. Amilopektin, dallanmış yapı gösterir. Amilozdan her 8-9 glikoz ünitesinden sonra α -1-6 glikozidik bağla ayrılır. Her dalda yaklaşık 15-18 adet glikoz bulunur ve nişastanın %70-80'i amilopektin oluşturur. Nişasta haşılıının %20-30 kadarını ise α -1-4 glikozidik bağları ile bağlanmış lineer yapıdaki amiloz kısmı oluşturmaktadır.

Nişastanın haşıl maddesi olarak kullanılmasının en önemli dezavantajı terbiye dairesinde sökülmesinin zor olmasıdır. Nişastanın amiloz kısmı suda zlebilirken, amilopektin kısmı suda znmez. Suda znen diğer haşıl maddelerinden farklı olarak nişastanın önce özel reaksiyonlarla suda znebilir hale getirilmesi ve sonra yıkayarak uzaklaştırılması gerekmektedir.

Nişasta makromoleküllerinin parçalanması çeşitli yöntemlerle yapılabilir. Burada zorluk, nişasta makromoleküllerini parçalarken, yine glikoz yapıtaşlarından meydana gelen bir polisakkarit olan selüloz makromoleküllerine zarar vermemektir. Selüloz ve nişastanın özelliklerinin karşılaştırması izelge 2.5'de gösterilmiştir (Aniş 1998).

Çizelge 2.5. Selüloz ve pamuğun bazı zellikleri. (Aniş, 1998)

	Selüloz	Nişasta
Molekül ağırlığı	500.000-1.000.000	100.000-1.000.000
Suda znrlk	Yok	çok düşük
Enzimlerle reaksiyonu	Yok	şekere dönüşür
Mineral asitler	Bozunur	Bozunur
Oksidanlar	Yavaş bozunma	Hızlı bozunma
Organik asitler	Genellikle etkisiz	Genellikle etkisiz
Alkaliler	Kurutulmadıka etkisi yok	Kurutulmadıka etkisi yok
Su	Mukavemet kazanır	Disperse olur

2.3.1.2.Nişasta Haşılının Sökölmesinde Kullanılan Enzimler

Nişasta haşılının sökölmesi için amilaz enzimlerinin kullanımı en eski enzim uygulamalarındandır. Amilaz enzimleri nişastayı dekstrine ve glikoz ünitelerinden oluşmuş daha küçük polimerlere dönüştürerek parçalamaktadır (Lange ve Ark. 1999, Gupta ve ark. 2003). Bu kısmen parçalanmış oligosakkaritlerin tekrar kullanımları mümkün olmadığı gibi bunlar atık yükünde de önemli artışlara neden olmaktadır (<http://www.mst.dk>).

Nişastayı parçalayan enzimler dört grupta incelenirler: (i) endoamilazlar; (ii) ekzoamilazlar; (iii) dallanmayı kırıcı enzimler ve (iv) transferazlar. Endoamilazlar amiloz ya da amilopektin zincirlerinin içlerindeki α -1-4 glikozidik bağları kırarlar. Bunlara iyi bilinen bir örnek α -amilazdır. Burada oluşan son ürünler oligo sakkaritlerdir. Ekzoamilazlar β -amilazların yaptığı gibi α -1-4 glikozidik bağları ya da amiloglikozidaz yada glikoamilazların yaptığı gibi hem α -1-4 glikozidik bağlarını hem de α -1-6 glikozidik bağları kırmaktadır. Amiloglikozidaz yada glikoamilazların ürünleri sadece glikoz üniteleri iken β -amilazların ürünleri maltoz yada dekstrindir. Üçüncü grup olan dallanma kırıcı enzimler α -1-6 glikozidik bağları kıran izoamilaz ve pullulenaz gibi enzimlerdir. Transferazlar ise donör molekülün bir α -1-4 glikozidik bağını kırarak donörün bir kısmını bir glikozidik alıcıya yeni bir glizidik bağla bağlayan enzimlerdir (Maarel ve ark. 2002)

Günümüzde mevcut ticari haşıl sökme enzimleri genelde α -amilaz esaslıdır. Bununla birlikte haşıl sökme banyosunun ağartmada kullanıldığı enzimatik ağartma uygulamalarında banyoda glikoz bulunması önem arz ettiğinden araştırmalarda haşıl sökmeye yönelik olarak amiloglikozidaz enzimlerinin kullanımına da rastlanılmaktadır. Amiloglikozidaz enzimlerinin α -1-4 glikozidik, α -1-6 glikozidik ve α -1-3 glikozidik bağlarını hidroliz etme hızı sırasıyla 300:6:1 oranındadır. Bu nedenle α -1-6 glikozidik bağlarına etki eden pullanaz enzimlerinin amiloglikozidaz enzimi ile birlikte kullanımı nişastanın daha etkin ve tamamına yakın bir kısmının glikoza hidrolizini sağlamak ve amiloglikozidaz ile birlikte sinerji göstermektedir (Roy ve ark. 2004, Lange 1997, Kirk ve ark. 2002, <http://lsbu.ac.uk/water/chaplin.html>).

2.3.2. Hidrofilileştirmede Enzim Kullanımı

Son yıllarda, selülozik mamüllerin hidrofilileştirme işleminde enzim kullanımı tekstil endüstrisinde uygulama olanağı bulmuştur. Başta pektinaz olmak üzere selülaz, lipaz, proteaz gibi enzimler enzimatik hidrofilileştirmede yaygın olarak kullanılmaktadır (Lenting 2002, Hartzell ve ark. 2000, Stöhr 1995, Eppers 1999).

Enzimatik proses doğrudan selülozik olmayan safsızlıkları hedef alır. Örneğin pektinazlar pektinik maddelerin dekompozisyonu için, proteazlar proteinler için ve lipazlar yağlar için kullanılmaktadır. Doğal pigmentler selülozik olmayan safsızlıklarla birleştirebilir ve biyohidrofilileştirmede uzaklaştırılabilirler. Enzimatik proses, daha az enerji yoğun ve daha çevre dostu olmasının yanında klasik hidrofilileştirme proseslerine göre life daha az zarar vermektedir (Burcler-Diller ve ark. 2001, Li ve ark. 1997).

Pamuklu mamüllerin ön terbiyesinin klasik yöntemlerle yapılması, kullanılan kimyasal ve yardımcı maddelerin yüksek sıcaklıkta ön terbiye işlemlerinde olumsuzluklara neden olmaktadır. Bu olumsuzluklara; liflerin mukavemetinde azalma, oksiselüloz oluşumu, tutumda meydana gelen olumsuzluklar, liflerin ortalama polimerizasyon derecesinin düşmesi örnek olarak verilebilir. Hidrofilileştirme işleminde enzim kullanımı ile daha ılıman şartlarda çalışıldığından bu olumsuzluklar önlenmektedir (Lenting ve ark. 2004, Chong ve ark. 1999).

Proteaz enzimleri proteinlerin hidrolitik yıkımında ve yapısının bozunmasında katalist etki göstermektedir. Protein miktarı fazla olan ipek ve yün gibi liflerin hidrofilileştirme işlemlerinde proteaz enzimleri ile tatmin edici sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca, proteaz enzimleri ile çok geniş bir pH aralığında çalışılabildiği belirlenmiştir. Ancak pamuk lifinde protein miktarının az olması, elde edilen hidrofilite derecelerinin düşük olmasına neden olmaktadır. Bu nedenle pamuklu mamüllerin hidrofilileştirme işlemlerinde proteaz enzimlerinin kullanımı yaygın değildir (Hsieh 1999, Yoon 1996, Chikkodi 1995, Lin ve ark. 2001).

Trigliseritler, mumlar ve yağ esaslı maddeler lipaz enziminin etkisi ile gliserin, yağ asitleri, mono ve digliseritlere dönüşmektedir. Gliserinin tamamen suda çözündüğü, yağ asitlerinin de hidrofilileştirme prosesinde uzaklaştığı görülmüştür. Mono ve digliseritler ise yüzey aktif maddeler veya emülsiyeye edici maddeler gibi etki göstermektedir. Bu nedenle lipaz enzimi haşıl sökmeyi desteklediği gibi

hidrofilileştirmeyi de desteklemektedir. Haşıl sökmede amilaz enzimi ile birlikte lipaz kullanılması haşıl sökme prosesi süresini kısalttığı ve böylece enerji ve zamandan kazanç sağlandığı da görülmüştür (Lange 1997, Lenting 2004).

Selülaz enzimleri; selülozik liflerin yüzeyindeki tüycüklerin, boncukların, lif uçlarının uzaklaştırılarak yüzey düzgünlüğü sağlanması, özellikle havlı mamüllerde kolay alev alma efektinin ortadan kaldırılması, yüzey görünümü modifikasyonu ve parlaklığının artırılması, yumuşak ve dökümlü tutum sağlanması, denim kumaşlara ponza taşı kullanmaksızın eskitilmiş görünüm verilmesi, moda uygun görünüm özellikleri kazandırılması gibi kumaş performansı amacı ile tekstil endüstrisinde kullanılmaktadır (Rousselle 1998,2002, Li ve ark. 2001, Heikinheimo 2000, Yoon 1996, Cortez ve ark. 2000, Sarkar ve ark. 2001).

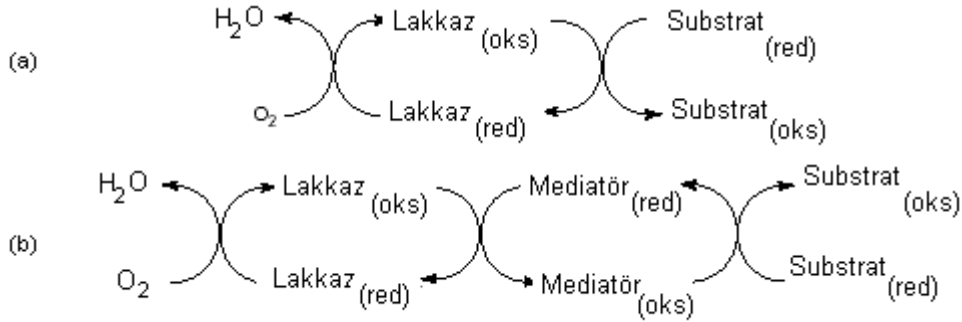
2.3.3. Enzimatik Ağartma

Pamuk terbiyesinde çevresel etkiyi azaltıcı etkin ve maliyeti düşük yeni anlayışlara ihtiyaç vardır. Enzimatik ağartma ile ilgili literatürde az sayıda çalışma bulunmaktadır. Pamuklu mamüllerin enzimatik ağartmasında lakkaz, peroksidaz, ksilenaz ve glikoz oksidaz enzimleri ile çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca bu enzimlerin kombine edildiği enzim sistemleri kullanılarak yapılmış çalışmalar da mevcuttur.

2.3.3.1. Lakkazlar

Lakkazlar (EC 1.10.3.2, p- difenol:dioksijen oksiredüktaz) fenollerin, aromatik ve alifatik aminlerin monooksidatif reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerdir. Lakkazların çeşitli substratlara spesifik etki göstermeleri biyoteknolojik uygulamalarda geniş kullanım alanı bulmasını sağlamıştır. Kağıt endüstrisinde, tekstilde ağartma proseslerinde, atık sudan toksik maddelerin uzaklaştırılması, steroid ve antibiyotiklerin taşınması gibi bir çok alanda lakkazlardan faydalanılmaktadır. Lakkazlar; fenol, alinin gibi basit yapıların yanı sıra çok halkalı aromatik hidrokarbonlardan çeşitli maddelerin elde edilmesini sağlamışlardır. Biyokimyadaki gelişmeler ve yapılarının keşfedilmesi biyoteknolojik öneme sahip bu enzimlerin gelişmesini hızlandırmıştır. Lakkazlar çeşitli bitkiler, mantarlar ve bazı bakterilerden elde edilmektedir. Günümüzde mantarlardan elde edilen lakkazlar en fazla kullanım alanı bulmaktadır. Biyoteknolojik gelişmelerle

bakterilerden elde edilen lakkazların genetik şifrelerinin çözülmesi için yapılan çalışmalar büyük öneme sahiptir. Lakkazların ekaryotlar dışında *Azospirillum lipofenum* bakterilerinde aktivite gösterdiği görülmüştür. Ancak bakteriyel lakkazların genetik kodları tam olarak açıklanamamıştır. Bazı mikrobiyal proteinlerin yapılarının mantarlardan elde edilen lakkazlara benzediği tespit edilmiştir. Lakkazlar genel olarak enzimin katalitik mekanizmasında önemli rol oynayan 4 bakır atomuna sahiptir. Bu bakır atomların bağlandıkları bölgeler enzimin spesifikliğini ve spektroskopik özelliklerini etkiler ve üç farklı tipte olmasını sağlamaktadır. *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Caulobacter crescentus* gibi bakterilerden üretilen lakkazların endüstride kullanımı yaygınlaşmaktadır (Alexandre 2000, Cavaco 2003, Riva 2006).



Şekil 2.14. Lakkaz enzimi substrat enzimi etkileşiminin şematik görünümü (a) mediatör yok, (b) mediatörlü (Riva, 2006)

Substratın büyük olması yada substratın redoks potansiyelinin yüksek olması gibi nedenlerle lakkazlar substratları oksitleyemez. Bunun için mediatör denilen ara bileşikler kullanılarak oksitleme bu bileşikler üzerinden yapılmaktadır (Şekil 2.14). Lakkaz-mediatör sistemleri odun hamurunun ağartılmasında başarılı olarak uygulanmaktadır. Pamuk liflerinin yapısındaki renkli maddelerle odunun yapısındaki renkli maddeler farklı olmasına rağmen pamuğun ağartılmasında da kullanılması düşünülebilir. Bu ağartma sisteminde kullanılan mediatörlerin verimlerinin az olması ve toksik etkilerinin olması kullanımlarında sakıncalara neden olmaktadır. Mediatörler yeterli spesifikliğe sahip olmayan lakkazların elektron transferinde destekleyici etki göstermektedir. Reaksiyon esnasında tüketildiklerinden tam olarak katalizör özelliği göstermezler (Duran 2002, Riva 2006)

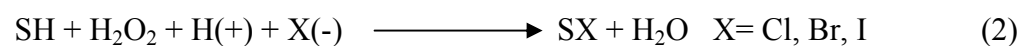
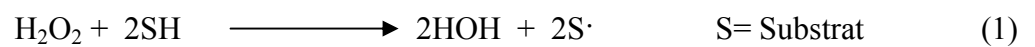
Lakkazların kromofor gruplarına etki etmesi boyama sonrası yıkamalarda renk giderimi için kullanılmalarına olanak sağlamaktadır. Tekstilde kullanılan reaktif boyarmaddeler, boyama verimlerinin düşük olması ve çabuk hidroliz olmaları yüzünden tekstil atık sularında çok miktarda bulunmaktadır. Tekstil atık sularında renk giderimi için farklı filtrasyon teknikleri, bakteriler ve mikroorganizmalar ile bozundurma gibi yöntemler kullanılmaktadır. Bir diğer yöntem ise boyarmaddelerin enzimatik yolla renk gideriminin sağlanmasıdır. Lakkaz, fenoloksidaz, peroksidaz gibi oksiredüktaz enzimleri kullanılması durumunda boyarmaddenin kromofor grubu bozundurulmuş renk giderimi sağlanması ile ilgili literatürde birçok çalışma vardır. Lakkaz enzimlerinin benzer yapıdaki farklı renkteki boyarmaddelere etkisi farklılık göstermiştir. Bunda en büyük etkenin lakkaz enziminin substratı olan boyarmaddenin kromofor grubu olduğu belirtilmiştir (Peralta-Zamora ve ark. 2003, Soares 2006).

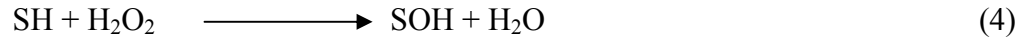
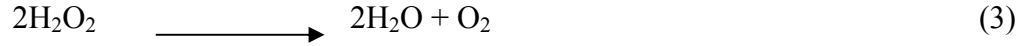
Pamuklu mamüllerin lakkaz enzimi ile ağartma işleminin yapıldığı çalışmalar vardır. Ancak; elde edilen beyazlık dereceleri yetersiz olduğundan iyi beyazlık derecesi eldesi için lakkaz enzimi ile işlem sonrası oksidatif ağartma yapılmasının gerektiği belirtilmiştir. Oksidatif ağartma öncesi lakkazlarla işlem yapılan pamuklu kumaşlarla sadece oksidatif ağartma yapılan kumaşların beyazlık dereceleri karşılaştırıldığında, oksidatif ağartma öncesi lakkazlarla işlem yapılan kumaşlarda sadece oksidatif ağartma yapılan kumaşlardan Berger beyazlık indeksine göre 5-7 derece daha iyi beyazlık derecelerine ulaşılmıştır (Pereira ve ark. 2005, Tzanov ve ark. 2003)

Haşıl sökme ve hidrofilleştirme işlemi yapılmış pamuklu kumaşlara lakkaz enzimi ile ağartma işlemi yapıldıktan sonra ultrasonik ses dalgalarının ağartma derecesini artırdığı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada ultrasonik enerji ile lakkaz enziminin substratı olan pamuktaki aromatik yapılarla daha iyi etkileşim içine girdiği görülmüştür (Basto 2007).

2.3.3.2. Peroksidazlar

Peroksidazlar elektron akseptörünün peroksit olduğu reaksiyonları katalistleyen enzimlerdir. Peroksidazların katalistlediği reaksiyonlar dört gruba ayrılabilir.





Oksidatif dehidrogenasyon reaksiyonlarını lahana bitkisinden elde edilen horseradish peroksidaz (HRP) enzimi sağlamaktadır (1). Marine mantarlarından elde edilen kloroperoksidazlar (CPO) hidrojen peroksit mevcudiyetinde substrataki karbon atomuna Cl, Br, I halojenlerini eklerler (2). Bazı peroksidazlar hidrojen peroksitin dekompozisyonuna neden olabilmektedir (3). Peroksidazlar hidrojen peroksit gibi oksidatiflerin bulunması durumunda oksijen transferini gerçekleştirmektedir. Özellikle düşük sıcaklıklarda ve ılıman şartlarda organik bileşiklerin oksidasyonunun sağlanması büyük avantajlar getirmiştir (4) (Colonna ve ark. 1999).

Peroksidaz enzimler hidrojen peroksit de dahil olmak üzere farklı oksidatif ajanları kataliz edebilirler. Odun pulplarının ağartılmasında başarıyla kullanılmaktadırlar. Peroksidazların lignin bio-bozunmasındaki rolleri de bilinmektedir. Manganez peroksidaz odun pulpu ağartmasında horseradish peroksidazlar ise yine odun pulpu rengi ve atık su rengi giderilmesinde başarıyla denenmişlerdir. Bununla birlikte tekstil ağartmasında peroksidaz uygulaması hakkında çok az çalışma vardır. Bu enzimlerle tatmin edici beyazlık dereceleri elde edilememiştir. Beyazlık derecelerinin düşük olmasının, peroksidaz enzimlerinin stabilitelerinin yetersiz olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.(Bureler 2001).

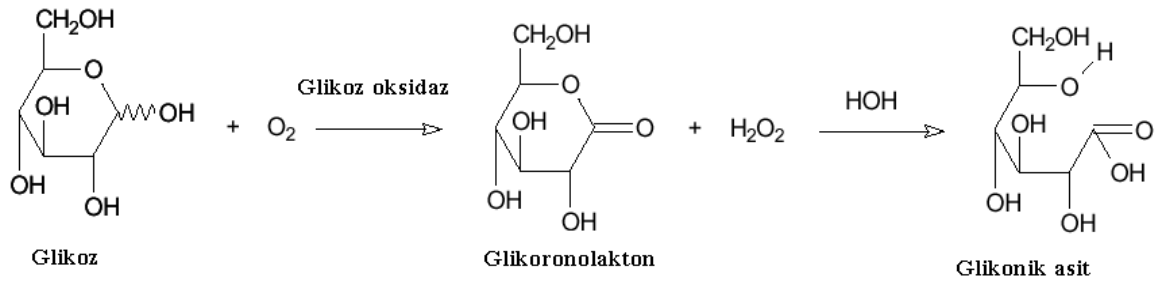
2.3.3.3. Ksilenzazlar

Ksilenzaz enzimi odunsu bitkilerin hücre duvarındaki hemiselüloziklerin temel bileşeni olan ksilan ünitelerine etki etmektedir. Günümüzde çevreyi endüstriyel atıklardan korumak için kağıt ve kağıt hamuru endüstrisinde mikrobiyal enzim sistemlerinin uygulanması önem kazanmıştır. Kağıt endüstrisinde odun hamurunun ağartılmasında ksilenazların kullanılması ile ilgili endüstriyel uygulamalar vardır. Tekstilde selülozik mamüllerin ksilenaz enzimi ile ağartılması ile ilgili çalışmalar yapılmış ancak yeterli beyazlık derecelerine ulaşamadığı için kullanım alanı bulamamıştır. Ketan liflerinde ksilen miktarı yüksek olduğundan bu liflerin ksilenaz enzimi ile ağartılmasında daha iyi sonuçlar alındığı görülmüştür. (Day ve ark. 2004, Vikari ve ark., 1986, Suurnakki ve ark. 1997).

2.3.3.4. Glikoz Oksidazlar

Glikoz oksidaz enzimleri de, peroksidazlar gibi oksidoredüktaz sınıfındadırlar. Glikoz oksidaz enzimi glikoz ve oksijenden hidrojen peroksit ve glukonik asit üretir. Bu enzimlerin kullanımı şeker yüklü daha önceki banyoların geri kazanımını sağlayabilir.

Glikozun, sulu çözeltide oksijen varlığında glikoz oksidaz tarafından hidrojen peroksite dönüştürülmesi mümkündür (Şekil 2.15). H_2O_2 oluşturan benzer enzim sistemleri daha önce deterjan formüllerinde de kullanılmıştır. Enzim reaksiyonunda oluşan glikonik asit, metal iyonlarını tutucu etki yaparak peroksit stabilizatörlerinin ilavesini gereksiz hale getirmektedir.



Şekil 2.15. Glikoz mevcudiyee glikoz oksidazın reaksiyon şeması (Buschle-Diller ve ark. 1999)

Su varlığında δ -D-glukonolakton D-glukonik asit oluşturur ki bu da ağartma prosesi boyunca iyon tutucu olarak işlev yapar. GOx ile peroksit üretilmesinde enzimin deaktive olmaması için hafif asidik şartlar ve düşük sıcaklıklar gerekmektedir. Bununla birlikte bu şartlarda peroksidin beyazlatıcı etkisi yetersizdir.

Çizelge 2.6'da amiloglukozidaz enzimi ile $55^\circ C$ 'de, 1:20 flote oranında, 0,05 Molar sodyum asetat tampon çözeltisinde haşıl sökme işlemi yapılmış ve haşıl sökme sonucu banyoda ortalama 3995 mg/l kadar glikoz oluşmuştur. Oluşan glikozdan 4 U/ml GOx enzimi ile $35^\circ C$ 'de, 45 dakikada sonunda 600 mg/l hidrojen peroksit üretilmiştir. Biyohidrofilleştirme ve haşıl sökme işlemlerinin aynı banyoda pektinaz, selüloz ve amiloglukozidaz enzimleri ile $55^\circ C$ 'de, pH 5'de, 3 saat süre ile yapılması durumunda ise; 4031 mg/l glikoz elde edilmiştir. Bu glikozdan GOx enzimi ile üretilen hidrojen peroksit miktarı 130 mg/l seviyesinde kalmıştır. Hidrojen peroksit miktarının düşük olmasının nedeninin hidrofilleştirme için kullanılan enzimlerin GOx enziminin aktivitesi düşürmesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Pektinaz enziminin

deaktivasyonundan sonra 685 mg/l hidrojen peroksit elde edilmiştir (Buschle-Diller ve ark. 2001).

Çizelge 2.6. 3 saat haşıl sökme ve 2 saat kombine haşıl sökme hidrofilleştirme sonunda oluşan glikoz, üretilen peroksit, emicilik ve ağırlık kaybı değerleri. (Amiloglikosidaz 20 U/g (owf), pektinaz PN 2g/l, selülaz 2 g/l, Ç.O.: 20:1, GOD dozajı 4 U/ml, peroksit üretimi için süre 45 dakika sıcaklık 45 °C. (Buschle-Diller ve ark. 2001)).

İşlem Şartları	Glikoz, mg/l	Peroksit, mg/l	Absorbans, Saniye	Ağırlık kaybı, %
<i>pH 4,5, 50-55 °C</i>				
Haşıl sökme	3995	600	>180	9,92
Haşıl sökme + hidrofilleştirme	4031	685	50	12,65
<i>pH 4,75-5,0, 52-55 °C</i>				
Haşıl sökme	4070	610	>180	9,58
Haşıl sökme+ hidrofilleştirme	4106	669	57	12,06
<i>pH 5,0, 50 °C</i>				
Haşıl sökme	3965	608	>180	9,81
Haşıl sökme+ hidrofilleştirme	4000	718	16	12,47

Banyodaki glikozdan GOx enzimi ile üretilen hidrojen peroksit miktarının 35°C ve pH 5,1'de (sodyum asetat tamponlu çözeltide) en yüksek olduğu görülmüştür. Üretilen hidrojen peroksit ile yaygın olarak kullanılan magnezyum sulfat, üre gibi aktivatörlerle pH 7'de yapılan ağartmalarda ham pamuklu kumaşın beyazlık indeksi WI'ya göre 27 den 50 yükselmiştir. Aynı pH'da, 10 g/l Prestogen SP aktivatörü ile beyazlık indeksi WI'ya göre 66-70'e çıkmıştır. Konvansiyonel yöntemle göre yapılan ağartma işlemleri sonucu elde edilen beyazlık derecesi WI'ya göre 72-74 arasında olduğundan elde edilen sonuçlar tatmin edicidir (Buschle-Diller ve ark. 2001).

Banyoya glikoz ilavesi ve GOx enzimi ile elde edilen hidrojen peroksit ile ağartma yapılan çalışmada; haşıl sökme işlemi yapılan kumaşlara yeni banyoda pektinaz enzimi ile hidrofilleştirme işlemi yapılmıştır. Yıkama işleminden sonra yeni banyoda 20 g/l glikoz ve 3.78 U/ml GOx enzimi ile 35°C'de pH 5,1 de 0,1 M asidik tampon çözeltide 5 L/dakika hava çözelti ile temas ettirilerek hidrojen peroksit üretimi yapılmıştır. Ağartma

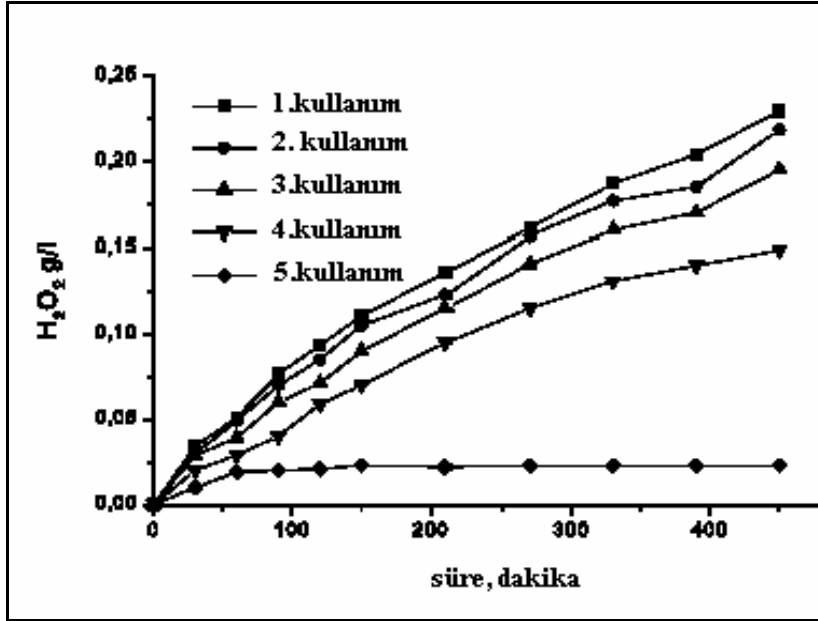
işlemi aynı banyoda pH 10-11'de 90°C'de, 60 dakika süre ile yapılmıştır. 408 mg/l hidrojen peroksit üretilerek alkali ortamda yapılan ağartma sonucu elde edilen beyazlık dereceleri WI'ya göre 66-67 olmuştur. Alkali ortamda yapılan ağartma esnasında banyoda glikoz bulunmasının yüksek pH'larda hidrojen peroksit tüketimini arttırdığı ve banyonun renginin kahverengileştiği görülmüştür. Çözeltilerden hava geçirilmemesi durumunda oluşan hidrojen peroksit miktarında azalma görülmüştür (Tzanov ve ark. 2001).

Haşıl sökme işlemi yapılmış pamuklu kumaşlarla yapılan bir başka çalışmada, banyoya dışardan glikoz ilave ederek GOx enzimi ile hidrojen peroksit elde etmiş ve sodyum hidroksit ile pH 11 civarından ağartma işlemi uygulanmıştır. Banyoya 0,1 Molar glikoz ilave edildiğinde oluşan hidrojen peroksit ile elde edilen ağartma derecelerinin konvansiyonel yöntemle göre elde edilen beyazlık derecelerine yakın olduğu belirtilmiştir (Shin ve ark. 2004).

Çizelge 2.7. Cam ve alüminyum desteklerle immobilize edilen Gox enziminin etkinliklerinin karşılaştırması (Tzanko ve ark. 2002).

	İmmobilizasyondan sonra suyun üzerinde yüzen konsantrasyon (mg/ml)		Protein Geri Kazanımı (%)	
	Cam	Alüminyum	Cam	Alüminyum
Konsantrasyon 1	0.056	0.073	72	64
Konsantrasyon 2	0.100	0.120	75	70
Konsantrasyon 3	0.135	0.189	83	72.2
Konsantrasyon 4	0.240	0.320	82.8	77.1

Glikoz oksidazın ticari olarak mevcut ve ucuz desteklerle kovalent olarak immobilize edildiği bir çalışmada yüksek oranda protein geri kazanımı sağlanmıştır. Düşük enzim konsantrasyonlarıyla oldukça iyi beyazlık dereceleri elde edilmiştir. Daha gözenekli yapısıyla cam destek daha fazla protein bağlamış ve dolayısıyla meydana gelen hidrojen peroksit miktarı artmıştır. Ancak; cam desteğin operasyonel stabilitesi tekrarlı kullanımlar için alüminyum kadar iyi çıkmamıştır. Alüminyum destek en az üç kere başarılı şekilde tekrar kullanılabilmiştir (Çizelge 2.7, Şekil 2.16) (Tzanko ve ark. 2002).

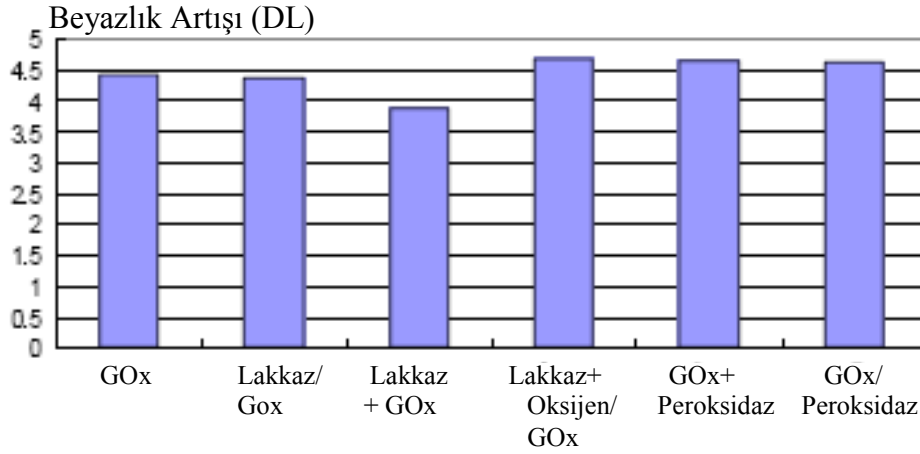


Şekil 2.16. 3 gram alüminyum destek (destek başına protein: 1.06 mg/g) ile immobilize edilmiş glikoz oksidazın tekrarlı kullanımlarında zamana bağlı hidrojen peroksit üretimi. (Çözelti: 50 ml 0,1 M asetat tamponunda 20 g/l glikoz, pH 5, 35°C, aerasyon 5 L/dakika) (Tzanko ve ark. 2002)

Ağartma işlemlerinde kullanılan enzimlerin pahalı olması nedeni ile bu enzimlerin immobilize edilerek kullanılması önemlidir.

2.3.3.5. Ağartmada Kombine Enzim Sistemlerinin Kullanılması

Glikoz oksidaz enzimleri ile peroksidazlar ve ayrıca lakkazlar kombine kullanılarak çalışmalar yapılmıştır. Peroksidazların tek başına yeterli beyazlatma etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Şekil 2.17'de enzimlerin kombine kullanılması sonucu elde edilen sonuçlar karşılaştırmalı olarak görülmektedir. GOx enzimi ile peroksidaz enziminin birlikte kullanılması durumunda beyazlık derecesinde önemli artışlar elde edilmiştir. (<http://www.eng.auburn.edu/department/te/ntc/2004/C2E02.pdf>).



Şekil 2.17. Glukoz oksidaz enzimleri ile peroksidazlar ve ayrıca lakkazların kombine kullanılarak yapılan denemelerin sonuçları (<http://www.eng.auburn.edu/departmen/te/ntc/2004/C02AE02.pdf>).

Selülozik mamüllerin peroksidaz, lakkaz, ksilenaz ve GOx enzimleri ve bu enzimlerin karışımları ile ağartma işlemlerinin yapılması ile ilgili birçok patent vardır. Tekstilde enzimlerin kullanılmasının yaygınlaşmasında farklı endüstrilerin etkileri olmuştur. Bunun en önemli örnekleri; bulaşık deterjanlarında proteaz, lipaz, amilaz gibi enzimlerin kullanılması; çamaşır deterjanlarında katalaz, glikoz oksidaz, peroksidazların kullanılması; kağıt endüstrisinde ksilenaz, lakkaz gibi enzimlerin kullanılması ve gıda endüstrisinde glukoz oksidaz enziminin kullanılmasıdır. Dünyada üretilen enzimler en fazla deterjan endüstrisinde kullanılmaktadır (Day ve ark. 2004, Bachelor 20004, Convents ve ark. 2002, Wang ve ark. 2002, Antheunisse ve ark. 2002, Nonozymes 2000,2003, 2006).

Novozymes firmasının 2006 yılında yayınladığı patentte karbohidrat oksidaz (E.C 1.1.3), lipaz (yağ asiti okside eden E.C 1.13.11.1-1.13.11.49 sınıfı arasındaki 49 enzim) ve farklı enzim karışımları ile ağartma işlemleri yapılmıştır. Karışım enzimlerle çeşitli formda (örme, dokuma, dokusuz yüzey v.b) ve hammaddesi farklı mamüllerin (pamuk, viskon, lyosel, yün v.b) ağartılması için çalışmalar yapılmıştır. Bu enzimlerle pH 5,5-9 arasında 1-5 saat arasında işlem yapılarak hidrojen peroksit üretilmiş ve üretilen hidrojen peroksitle alkali ortamda 10-120 dakika 75-100°C arasında ağartma işlemi yapılmıştır. Kullanılan enzimlerin etki ettiği substratlar çok çeşitlidir. Karbohidrat oksidazlar; glikoz, ksilenoz, sellebioz, maltoz, galaktoz, früktoz, maltoz gibi birçok monosakkarit, disakkarit ve polisakkaritlere etki etmektedir. Yağ asidi okside eden enzimler ise palmoik asit, oloikasit, lineoik asit, arahidonik asit ve bu asitlerin tuzlarını

ve esterlerini okside etmektedir. Ayrıca tekstilde kullanılan selüloz, amilaz, lakkaz, pektinaz, proteaz gibi enzimler ile bu enzimlerin karışımları da kullanılmıştır. Bu patent, tekstil sektöründe kullanılan enzimlerin büyük bir kısmının kombine olarak kullanılması açısından önemlidir. Bu çalışma ile ilgili sonuçların değerlendirilmesi aşağıda yapılmıştır.

Çizelge 2.8. Karbonhidrat oksidaz ve NaOH miktarının ağartmaya etkisi (Salmon 2006)

Numune	Karbonhidrat oksidaz (U/ml)	Glikoz (g/l)	NaOH (g/l)	Ağartma sonu pH	CIE beyazlık derecesi
1	0,1	5	0	6,73	27,47
2	0,1	5	2	8	26,73
3	0,1	5	4	11,69	34,79
4	0,1	5	8	12,37	42,62
5	0,5	5	0	6,34	26,38
6	0,5	5	2	8,12	29,95
7	0,5	5	4	11,8	42,27
8	0,5	5	8	12,4	48,35
9	1,5	5	0	5,14	20,06
10	1,5	5	2	8,45	26,85
11	1,5	5	4	11,9	42,27
12	1,5	5	8	12,45	53,38

Glikoz miktarı sabit tutulup enzim miktarı artırılması durumunda beyazlık dereceleri de artmıştır. Üretilen hidrojen peroksit ile alkali ortamda yapılan ağartmalarda pH'ın artması beyazlık derecesine olumlu etki sağlamıştır. 7 ve 11 nolu numuneler incelendiğinde kullanılan karbonhidrat oksidaz miktarının 0,5 U/ml'den 1,5 U/ml'ye çıkarıldığında beyazlık derecelerinde önemli bir değişim olmadığı görülmüştür (Çizelge 2.8).

Çizelge 2.9. Aynı molariteye sahip farklı substratlarla enzimatik ağartma dereceleri (Salmon 2006)

Numune	Karbonhidrat oksidaz (U/ml)	Şeker (2 mM)	NaOH (g/l)	Ağartma sonu pH	Banyo çözeltisi rengi	CIE beyazlık derecesi
1	3	Ksiloz	8	12,1	Sarı	52,56
2	0	Ksiloz	8	12,1	Sarı+	43,72
3	3	β -glikoz	8	12,1	Sarı	55,48
4	0	β -glikoz	8	12,2	Sarı+	44,17
5	3	α -glikoz	8	12,1	Sarı	58,64
6	0	α -glikoz	8	12,1	Sarı+	48,03
7	3	Sellobioz	8	12,1	Sarı	50,34
8	0	Sellobioz	8	12	Kahverengi	35,52
9	3	Maltoz	8	12	Kahverengi	47,84
10	0	Maltoz	8	12,1	Sarı	29,23
11	3	Maltoriboz	8	11,8	Kahverengi+	50,33
12	0	Maltoriboz	8	12,1	Sarı	35,61
13	3	β -laktoz	8	12,2	Sarı	53,64
14	0	β -laktoz	8	12,0	Kahverengi	37,38
15	3	Dekstrin	8	12,2	Sarı	50,38
16	0	Dekstrin	8	12,2	Sarı	50,89

Eşit molariteye sahip ksiloz, β -glikoz, α -glikoz, sellobioz, maltoz, maltoriboz, β -laktoz ve dekstrin kullanılması durumunda elde edilen beyazlık derecelerinde farklılıklar görülmüştür. Substrat olarak dekstrin kullanılması durumunda karbonhidrat oksidaz enziminin banyoya ilave edilmesinin beyazlık derecesini değiştirmedığı tespit edilmiştir. Karbonhidrat oksidaz enzimi için dekstrinin uygun substrat olmadığı ve eşit molariteye sahip substrat (karbonhidrat) kullanımında karbonhidrat oksidaz enziminin etkinliğinin α -glikoz > β -glikoz > ksiloz = β -laktoz > sellobioz = maltoriboz > maltoz şeklinde olduğu belirtilmiştir (Çizelge 2.9).

Çizelge 2.10. NaOH ve silikat miktarının ağartmaya etkisi (Salmon 2006)

Numune	Karbonhidrat oksidaz (U/ml)	Glikoz (g/l)	Silikat (g/l)	NaOH (g/l)	Ağartma sonu pH	CIE beyazlık derecesi
1	3	6	0	0	4,3	19,32
2	3	6	3	0	5,8	34,67
3	3	6	0	1	6,9	27,24
4	3	6	3	1	7,7	42,57
5	3	6	0	2	8,8	36,69
6	3	6	3	2	9	39,17
7	3	6	0	3	11,2	46,09
8	3	6	3	3	11,1	51,62
9	3	6	0	6	12	59,14
10	3	6	3	6	12	65,7
11	3	6	0	8	12,2	65,65
12	3	6	3	8	12,2	70,31
13	3	6	0	10	12,4	60,63
14	3	6	3	10	12,4	68,41

Çizelge 2.10'da, karbonhidrat oksidaz enziminin 3 U/ml ve substrat olarak 6 g/l glikoz kullanılması durumunda ağartma banyosuna sodyum silikat ilavesinin farklı pH'larda beyazlık derecesine etkisi görülmektedir. Enzimatik hidrojen peroksit üretimi sonrası alkali ortamda yapılan ağartmada çözeltiye hidrojen peroksit stabilizatörü (silikat) eklendiğinde ağartma derecesinde artma, NaOH miktarı 8 g/l'nin üzerine çıkarıldığında ise; ağartma derecesinde bir miktar azalma görülmüştür. Banyoya silikat eklenmesi ağartma pH'ında değişime neden olmamıştır (Solmon 2006).

Enzimatik yöntemlerle pamuğun ağartılmasında hidrojen peroksit üretimi için farklı enzim sistemlerinin kullanılması, oluşan hidrojen peroksit miktarını artırabilmektedir. Selülaz enzimlerinin sinerjik etkisine benzer bir etki selülozik mamüllerin enzimatik yolla ağartılmasında da sağlanabilmektedir.

2.4. Tekstil Proseslerinin Çevresel Etkilerinin İncelenmesi

Giderek önemi artan çevre yasaları uzun zamandan beri üretim maliyetlerinin yüksek olduğu gelişmiş ülkelerde, tekstil endüstrisinde özellikle ön terbiye prosesleri için bir tehdit oluşturmaktadır. İçinde bulunduğumuz şartlar terbiye sektörüne büyük görev ve sorumluluk yüklemektedir. Bu durum; yapılan her reçetenin, uygulan her prosesin, seçilen her boya ve kimyevi maddenin çevreye olan etkilerini araştırmayı zorunlu kılmaktadır. Dünyadaki toplam su rezervinin %97.4'ünü okyanuslar ve denizler, % 2.6'sını ise tatlı su kaynakları teşkil etmektedir. Üstelik tatlı su rezervlerinin sadece %0.6'sı kullanılabilir tatlı sudur. Zira geri kalan %99,4'ü, buzullar ve çok derindeki yeraltı sularıdır. Kullanılabilir tatlı suyun %88'i tarımda, %5'i evsel olarak ve %7'si endüstride tüketilmektedir (Anonim, 2007).

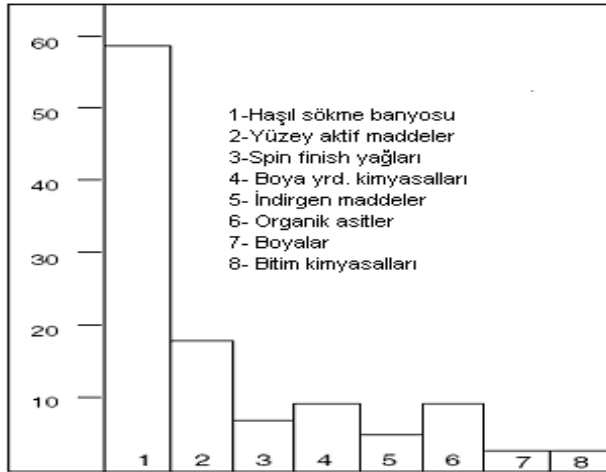
Çevre problemlerinin çözümünde en etkili üç strateji önleme, azaltma ve temizlemedir. Özellikle önleme ve azaltma konusundaki başarı son faaliyet olan temizleme işlemini çok basitleştirecektir. Terbiye proseslerinde su ve kimyasal tüketiminin fazla olması proseslerin optimizasyonunu zorunlu kılmaktadır. Proseslerin birleştirilmesi daha az su ve kimyasal madde kullanımını sağlayabilir.

Tekstil proseslerinde kullanılan su miktarı 1 ton mamül için 100-200 m³ civarında iken ortalama 100 kg KOİ kadar bir kirlenme meydana gelmektedir (Lopez ve ark. 1999).

Dokuma işletmelerinde kullanılan haşıl maddeleri, haşıl sökme işlemi ile uzaklaştırıldığında atık sularda %30-70 gibi yüksek oranda KOİ tüketimine neden olmaktadır. Çizelge 2.11'de görüldüğü gibi nişasta haşılının KOİ değeri diğer haşıl maddelerine yakındır. Pamuk ipliklerinin nişasta ile haşılmasında, ipliklere aldırılacak haşıl miktarı genellikle diğer yarı veya yapay haşıl maddelerinin kullanılmasındakine nazaran daha yüksektir. Nişasta, enzimler ve bakteriler tarafından aerob olarak (oksijen tüketerek) parçalanmaktadır. Bu nedenle atık suyun kanala veya denize dökülmeden önce biyolojik olarak parçalanması istenmektedir. İlk bakışta bu husus nişastanın aleyhine olarak gözükmekte ise de, nişasta biyolojik olarak kolay parçalanabildiğinden bu şekilde parçalanmayan sentetik haşıl maddelerine göre avantajlıdır (Anonim 2001, Aniş 1998).

Çizelge 2.11. Yaygın olarak kullanılan bazı haşıl maddelerinin KOİ ve BOİ5 değerleri (Anonim 2001)

Haşıl Maddesi	KOİ değerleri (mgO ₂ /gram)	BOİ5 değerleri (mgO ₂ /gram)
Nişasta	900 – 1000	500 – 600
Karboksimetil selüloz	800 – 1000	50 – 90
PVA	1700	30 – 80
Poliaktilatlar	900 – 1650	< 50
Galaktomanlar	1000 – 1150	400
PES Dispersiyonları	1450 – 1700	< 50
Protein içerikli haşıllar	1200	700 – 800



Şekil 2.18. Dokuma kumaş işletmeleri atık suları kirleticilerin KOİ değerleri (Anonim 2004)

Haşıl maddelerinin yanında en büyük çevre yükü oluşturan kirleticiler yüzey aktif maddelerdir (Şekil 2.18). Herhangi bir yüzey aktif maddenin molekülü bir hidrofobik uç (bir yada daha fazla karbon zinciri) ve bir hidrofilik uç taşımaktadır. Çizelge 2.12’de non-iyonik yüzey aktif maddelere örnekler verilmiştir. Yüzey aktif maddenin etkin olabilmesi için hidrokarbon kısmında 12 yada daha fazla karbon taşınmalıdır (Adamur 1995, Fessenler 2001).

Çizelge 2.12. Bazı ticari non-iyonik yüzey aktif maddelerin özellikleri (Gieldowska ve ark. 2004)

Adı	Kimyasal Formülü	Molekül ağırlığı (g/mol)	Kritik misel konsantrasyonu (mg/dm ³)	Yoğunluk (g/cm ³)
Tergitol TMN3	C ₁₈ H ₃₈ O ₄	318	-	-
Tergitol TMN6	C ₂₄ H ₅₀ O ₇	450	580	1,009
Tergitol TMN10	C ₃₂ H ₆₆ O ₁₁	626	940	1,044
Synperonic NP5	C ₂₅ H ₄₈ O ₆	444	-	1,028
Synperonic NP10	C ₃₅ H ₆₈ O ₁₁	664	75	1,059
Synperonic NP30	C ₇₅ H ₁₄₈ O ₃₁	1544	287	-
Brij 56	C ₃₆ H ₇₄ O ₁₁	682	1,4	-
Triton X-35	C ₁₂ H ₃₆ O ₄	352	3	-
Triton X-45	C ₂₄ H ₄₂ O ₆	426	43	1,040
Triton X-100	C ₃₄ H ₆₂ O ₁₁	646	150	1,066
Triton X-114	C ₃₀ H ₅₄ O ₉	558	90	1,054

Yüzey aktif maddelerin; birbiri içinde çözünmeyen veya çok güç çözünen iki sıvıdan birinin diğeri içinde dağılmasını sağlama (emulsiye etme), katı/sıvı dan oluşan dispers sistemlerin koagüle olmadan kolloid halde kalmasını sağlama (kolloid koruma), tekstil yüzeyi üzerindeki kir ve yabancı maddeleri uzaklaştırma (temizleme), boyaların çözünmesini kolaylaştırma, tekstil malzemelerini sararak boyaların life hızlı nüfuzunu önleme ve böylece düzgün boyamalar elde etme (egalize ve geciktirme), tekstil malzemesine yumuşaklık ve kayganlık verme gibi çok çeşitli fizikokimyasal etkileri vardır. Yüzey aktif maddelerde özellikle uzun hidrofob yapının KOİ değerinin çok yüksek BOİ değerlerinin ise düşük olması bu maddelerin toksik etkisi olduğunun göstergesidir. (Anonim 2005).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Materyal ve Cihazlar

3.1.1 Kumaş

Çalışmalarda %100 nişasta haşılı, 175 g/m² gramaja sahip (yapısal parametreler: sıklık: 14 çözgü/cm, 13 atkı/cm, iplik no: Ne 10 atkı ve çözgü) olan bezayağı örgü yapısında kumaş kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Kimyasallar ve Yardımcı Maddeler

- *Antisil Konz*: Organik fosfat tuzları içeren iyon tutucu ve hidrojen peroksit stabilizatörü (BAYER)
- *Asetik Asit*: (Ticari %50'lik)
- *Asetik Asit*: Katolog No: 27225, (RIEDEL DE HAEN)
- *Al₂O₃*: ACROS ORGANICS
- *Amonyum sülfat*: Katolog No: 11225 (RIEDEL DE HAEN)
- *APTS*: Katolog No: A0750, (UCT CHEMICALS)
- *BSA*: Katolog No: A7906. (SIGMA)
- *BTCA*: (BAYER)
- *CNBr activated Sepharose-4B*: Katolog No: C9142, (SIGMA)
- *Coomassie Brilliant Blue CBB-G250*: Katolog No: 115444 (MERCK)
- *D-(+) Glikoz*: Katolog No: G-7021, (SIGMA)
- *Dipotasyum hidrojenfosfat*: Katolog No: 04248, (RIEDEL DE HAEN)
- *Etanol*: Katolog No: 32221, (RIEDEL DE HAEN)
- *Glutaraldehit*: Katolog No: 104239, (MERCK)
- *Gliserol*: Katolog No: 15523, (RIEDEL DE HAEN)
- *Glisin*: Katolog No: G-8790, (SIGMA)
- *GPTS*: Katolog No: G6720, (UCT CHEMICALS)
- *H₂SO₄*: Katolog No: 30743, (RIEDEL DE HAEN)
- *HCl* : Katolog No: 100314, (MERCK)
- *KMnO₄*: Katolog No: 5080, (MERCK)

- *Metanol*: Katolog No: 24229, (RIEDEL DE HAEN)
- *NaOH*: Katolog No: 106462, (MERCK)
- *NaOH*: 38 Be° ticari (YILMAZ KİMYA)
- *Potasyum dihidrojenfosfat*: Katolog No: 4243, (RIEDEL DE HAEN)
- *Sephadex G50*: (AMERSHAM)
- *Sıvı azot*: (KARBOGAZ)
- *Silika (60-200 mesh, 100 A°)*: Katolog No: O3220, (ICN)
- *Sodyum Asetat*: (MERCK)
- *Sodyum asetatrinirat*: Katolog No: 32318, (RIEDEL DE HAEN)
- *Sodyumbikarbonat*: (LABORLAR KİMYA)
- *Sodyumklorür*: (RIEDEL DE HAEN)
- *Tris*: Katolog No: 93349, (FLUKA)
- *Tris-HCl*: Katolog No: A3452, (APPLICHEM)
- *Prestogen SP*: Hafif asidik ve nötr ortamlar için hidrojen peroksit aktivatörü (BASF)
- *Rucogen WBL*: Yüzeyaktif maddeler ve solventler karışımı noniyonik ıslatıcı (RUDOLF DURANER)
- *SeraSperserC-SN*: İyon tutucu ve kolloit oluşumunu önleyen madde (DYESTAR)
- *SeraQuestM-PP*: Egalizatör, iyon tutucu (Dyestar)
- *Sodyum Asetat*: (MERCK)
- *Sandoclean PC*: Non-iyonik yüzey aktif madde (ALFA KİMYA)

Kullanılan Enzimler:

- *Aquazym 240L*: α -amilaz esaslı haşıl sökme enzimi (NOVOZYMES)
- *Aquazym ultra 1200 L*: α -amilaz esaslı sıcak haşıl sökme enzimi (NOVOZYMES)
- *BEISOL LVZ*: α -amilaz esaslı orta sıcaklık değerlerinde çalışmaya uygun haşıl sökme enzimi (CHT)

- *BEISOL HTS*: Yüksek sıcaklık değerlerinde çalışmaya uygun haşıl sökme enzimi (CHT)
- *Detrozyme DX*: Amiloglikozidaz/pullulenaz karışımı enzim (*NOVOZYMES*)
- *Gemsize HT*: Orta sıcaklık değerlerinde çalışmaya uygun α -amilaz esaslı haşıl sökme enzimi (GEMSAN)
- *Gemsize 4A*: Yüksek sıcaklık değerlerinde çalışmaya uygun α -amilaz esaslı haşıl sökme enzimi (GEMSAN)
- *Gluzyme Mono 10.000 BG*: *Aspergillus niger*'den genetik olarak modifiye edilmiş glikoz oksidaz enzimi (*NOVOZYMES*)
- *PRENZME 1200L*: α -amilaz esaslı haşıl sökme enzimi (A.B KİMYA)
- *Rucolase CME*: Amilaz, yüzey aktif maddeler ve glikol eter karışımı, non-iyonik madde (RUDOLF DURANER)
- *Rucolase HCH 250*: α -amilaz esaslı haşıl sökme enzimi (RUDOLF DURANER)
- *Saf amiliglikozidaz enzimi*: Amiloglikozidaz esaslı enzim (INOTEX AG)
- *Saf GOx enzimi*: *Aspergillus niger*'den genetik olarak modifiye edilmiş (*BİOZYMES*)
- *Terminox Ultra 10L*: Katalaz enzimi (*NOVOZYMES*)
- *Multifect GO 5000L*: Ticari GOx enzimi (GENENCOR)

Kullanılan Boyarmaddeler:

- *P. Yellow HEXL*: Monoklortriazin grubu reaktif boya (DYESTAR)
- *P. Crimson HEXL*: Monoklortriazin grubu reaktif boya (DYESTAR)
- *P. Dark Blue HEXL*: Monoklortriazin grubu reaktif boya (DYESTAR)

3.1.3. Kullanılan Cihaz ve Makineler

- *Distile su:* Millipore, MilliQ Academic, Fransa
- *Elektroforez Ekipmanı:* Biorad Inc., ABD
- *Hassas terazi:* Scaltec SBA41, Almanya
- *Hassas terazi:* Shimadzu, Libror EB-3200 HU, Japonya
- *Hibridizasyon Fırını:* Model 1012, Biolab, Türkiye
- *İnkübatör:* Memmert, Modell 300, Almanya
- *İnkübatör:* Nüve 5N500 İnkübatör, Türkiye
- *Jet boyama makinesi:* Brazzoli İtalya
- *Kumaş Kalınlık Ölçümü:* James H.HcalHalifax, İngiltere
- *Manyetik Karıştırıcı:* Microstirrer, VELP Scientifica, İtalya
- *Mikropipet:* Labobette, Almanya, Eppendorf
- *Microtiter Plates:* (96-well): TPP
- *Microtiterplate okuyucu:* Model 680, BioRad
- *Mukavemet Ölçümü:* Instron 430, İngiltere
- *Numune Boyama makinesi:* Dytech, Türkiye
- *pH-metre:* Hana HI 8314, Portekiz
- *Serbest kurutucu:* Santa shirink SANTEX, İsviçre
- *Spektrofotometre:* MS 2020 Reflektans Spektrofotometre, ABD
- *Spektrofotometre:* Shimadzu, UV-1208, Japonya
- *Speed Vacuum:* Savant, Refrigerated Vapor Trap RVT 400, ABD
- *Speed Vacuum:* Savant, Speed Vac® Plus Sc100A, ABD
- *Su banyosu:* Nuve BM3002 Su banyosu, Türkiye

3.2. Yöntem

Nişasta haşılı pamuklu kumaşların, enzimatik haşıl sökme, haşıl sökme sonucu oluşan glikozdan glikoz oksidaz enzimi ile elde edilen hidrojen peroksit ile ağartma ve boyama işlemlerinin aynı banyoda yapılması amacıyla üç aşamalı bir çalışma gerçekleştirilmiştir. Her bir aşama için çalışma şartlarının optimizasyonu yapılmış ve bir sonraki aşamaya geçilmiştir.

Çalışmanın birinci aşamasında, haşıl sökme işleminde kullanılacak enzimin seçimi ve haşıl sökme işlemi sonucu banyoda oluşan glikoz miktarının tespiti için en uygun metot belirlenmiştir. Farklı yapıda saf ve ticari haşıl sökme enzimleri ile en fazla glikozun elde edildiği çalışma şartlarının optimizasyonu yapılmıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında, haşıl sökme banyosunda elde edilen glikozdan en fazla hidrojen peroksitin üretildiği glikoz oksidaz enziminin seçimi ve elde edilen hidrojen peroksit ile en iyi beyazlık derecelerinin elde edildiği ağartma koşullarının tespiti için çalışmalar yapılmıştır. Sıcaklık, pH, enzim miktarı, süre gibi parametrelerin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisinin incelediği bu aşamada, banyoda oluşan hidrojen peroksit ile farklı pH'larda, aktivatörlü ve aktivatörsüz ağartma işlemleri yapılarak en iyi hidrofilite ve beyazlık derecelerinin elde edilmesi için çalışılmıştır.

Çalışmanın üçüncü aşamasında ise, ağartma işlemi sonucu katalaz enzimi ile hidrojen peroksit giderimi ve aynı banyoda monoklorotriazin grubu reaktif boyalarla boyama işlemleri yapılmıştır. Bu üç aşamada gerçekleştirilen proseslerin tamamı 'Tek banyo yöntemi' olarak adlandırılmıştır. Tek banyo yönteminde boyama öncesi banyoya yardımcı kimyasal ilave edilmesinin boyama sonuçlarına etkisini görmek amacı ile çalışmalar yapılmıştır. Konvensiyonel yönteme göre haşıl sökme, hidrofilleştirme, ağartma ve boyama işlemleri yapılarak elde edilen ΔE , K/S, L*, a*, b*, h° açısı gibi renk bilgileri ile tek banyo yöntemine göre elde edilen renk bilgileri istatistikî olarak değerlendirilmiştir. Tek banyo yöntemine ve konvensiyonel yönteme göre boyarmadde konsantrasyonu, renk ve yardımcı kimyasalların renk bilgilerine etkileri karşılaştırılmıştır. Tek banyo ve konvensiyonel yönteme göre boyama sonucunda elde edilen renk bilgilerinin ortalamaları referans alınarak ΔE^*CIE_{Lab} değerleri hesaplanmıştır. Bu şekilde, her iki yöntem için tekrarlanabilirlikler değerlendirilmiştir.

Tek banyo yöntemi ve konvansiyonel yöntemle göre işlem sonucu banyoların KOİ ve BOİ değerleri ölçülerek yorumlanmıştır.

Ayrıca amiloglikozidaz ve glikoz oksidaz enzimleri farklı yöntemlerle immobilize edilerek bağlanma verimleri karşılaştırılmıştır. Immobilize enzimlerin tekrarlı kullanımlarında aktivite kayıpları karşılaştırılarak en uygun immobilizasyon yönteminin belirlenmesi için çalışmalar yapılmıştır.

Tek banyo yöntemi ve konvansiyonel yöntemle göre boyama işlemleri laboratuvar şartlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda saf su kullanılmış ve çözelti oranı 1:10 olarak seçilmiştir. Deneylerin hepsi üç tekrarlı yapıp ortalamaları alınmıştır.

3.2.1. İşlem Şartlarının Optimizasyonu

Çalışmada kullanılan enzimlerin tekstilde daha önce kullanılması ile ilgili literatürde çalışma olmaması, bu enzimler için optimum işlem şartlarının tespitini gerekli kılmıştır. Haşıl sökme sonrası banyodaki glikozdan GOx enzimi ile hidrojen peroksit üretimi ve üretilen hidrojen peroksit ile en iyi beyazlık derecelerinin elde edildiği ağartma şartlarının belirlenmesi amacı ile optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Optimizasyon çalışmaları esnasında çalışmada kullanılacak en uygun enzim ve yardımcı kimyasalların seçimi de yapılmıştır. Ağartma işleminin optimizasyonu yapıldıktan sonra aynı banyoda katalaz enzimi ile hidrojen peroksit uzaklaştırılmış ve monoklortriazin grubu reaktif boyarmaddelerle boyama işlemlerine devam edilmiştir. Haşıl sökme, ağartma ve boya işlemleri aynı banyoda yapıldığından bu prosesin tamamı 'tek banyo yöntemi' olarak adlandırılmıştır. Konvansiyonel yöntemle göre haşıl sökme, ağartma ve boyama işlemleri ayrı ayrı yapılarak elde edilen sonuçlar tek banyo yöntemine göre elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

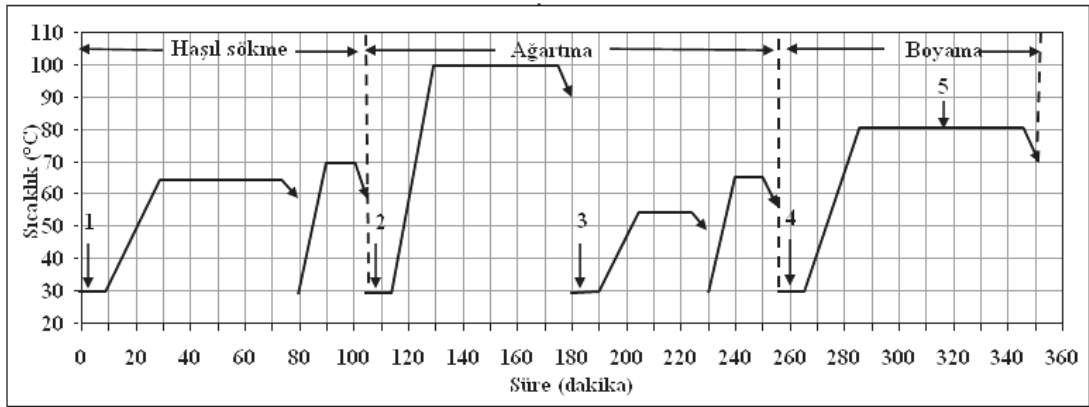
Çizelge 3.1. Boyama banyosu soda ve tuz miktarları

B.m. konsantrasyonu (%)	Na₂CO₃ (g/l)	NaCl (g/l)
0,03	10	10
0,125	10	15
0,25	15	20

Boyama işlemlerinde kullanılan boyarmadde konsantrasyonuna göre tuz ve soda miktarları Çizelge 3.1’de verilmiştir. Konvansiyonel yöntem ve tek banyo yöntemine göre işlem akışı, yapılan optimizasyon çalışmalarına ve boyarmadde üreticisi firmalar tarafından önerilen proses şartlarına göre yapılmıştır.

3.2.1.1. Konvansiyonel Yöntem

Konvansiyonel haşıl sökme ve ağartma işlemleri BİESSECI A.Ş (Bursa) firmasında, Jet boyama makinasında (Brazzoli 2005 model), 1:10 flote oranında yapılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Konvansiyonel haşıl sökme işlem akışı

- | | |
|--|--|
| 1: 2 ml/l Sandoclean PC, %1 Aquazym 240 L,pH 6,5, 65°C., | Haşıl sökme |
| 2: 1,5 ml/l Antisil CONZ, 1 ml/l Sandoclean PC,
%3 H ₂ O ₂ (%50) pH 11-11,5, 98°C., | Ağartma |
| 3: % 0,5 Terminox Ultra 10L, pH 5,5-6,5, 50°C., | H ₂ O ₂ giderimi |
| 4: Reçete A veya Reçete B | Boyama |
| 5: %X soda ilavesi (Çizelge 3.1’de verilmiştir) | Fikse işlemi |

Ağartma işlemi sonrası pH asetik asit ile 5,5-6,5 olacak şekilde ayarlanmış, ardından banyoya katalaz enzimi (Terminox Ultra 10L) ilave edilmiştir. İşlem sonrası kumaş üzerinde hidrojen peroksit kalıp kalmadığı peroksit çubuğu ile kontrol edilmiştir. Konvansiyonel ağartma sonrası kumaşın beyazlık derecesi Stensby beyazlık indeksine göre 80 olarak ölçülmüştür. Hidrojen peroksitin tamamı uzaklaştırıldıktan sonra yıkanan kumaş, 120°C’de serbest kurutucuda (Santa Shrink, Santex) kurutulmuştur.

Konvansiyonel Yönteme göre Boyama İşlemleri

Konvansiyonel yönteme göre işlem görmüş kumaştan 10 gram ağırlığında numuneler kesilmiştir. Kesilen bu kumaşlar, flotte oranı 1:10 olacak şekilde numune boyama makinasında (Dytech, Türkiye) boyanmıştır (Şekil 3.2).

Reçete A

2 ml/l Antisil Conz

1 ml/l Sandoclean PC

%X boya

X g/l Tuz (Miktarlar Çizelge 3.1'de verilmiştir)

Reçete B

2 ml/l SeraSperserC-SN (iyon tutucu ve kolloit oluşumunu önleyen madde)

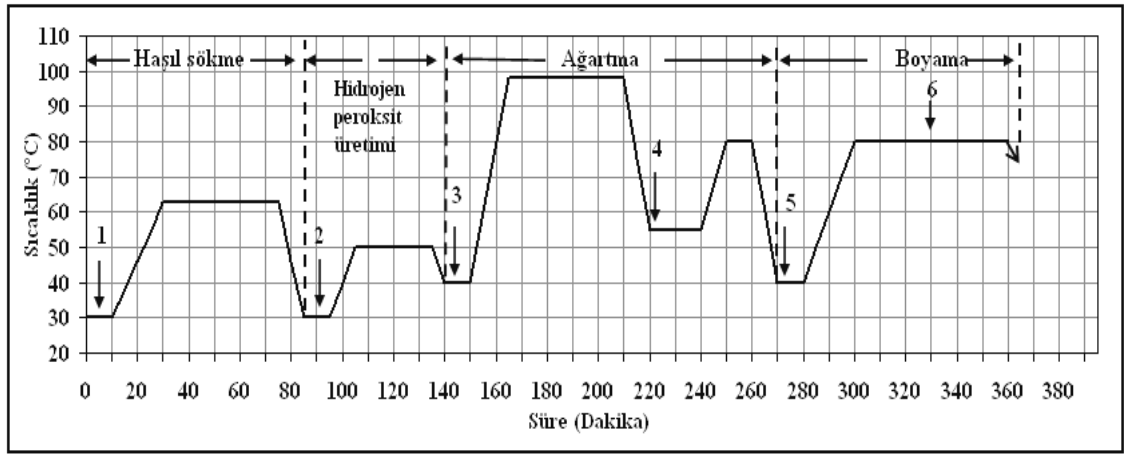
1 ml/l SeraQuestM-PP (egalizatör, iyon tutucu)

%X boya

X g/l Tuz (Miktarlar Çizelge 3.1'de verilmiştir)

Reçete A'da kullanılan yardımcı kimyasallar (Antisil CONZ ve Sandoclean PC) tek banyo yönteminde kullanılan yardımcı kimyasallarla aynıdır. Reçete B'de kullanılan yardımcı kimyasallar (SeraSperserC-SN ve SeraQuestM-PP) ise tek banyo yönteminde boyama öncesi banyoya ilave edilen yardımcı kimyasallarla aynıdır. Tek banyo yönteminde, boyama öncesi banyoya yardımcı kimyasal ilavesinin boyama sonuçlarına etkisinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi için konvansiyonel yönteme göre boyamada iki farklı reçete (Reçete A, Reçete B) uygulanmıştır.

3.2.1.2. Tek Banyo Yöntemi



Şekil 3.2. Tek banyo yöntemi işlem akışı

- | | |
|--|--|
| 1: 2 ml/l sandoclean PC, 0,75% Dextrozyme DX, pH 4,1, 62°C., | Haşıl sökme |
| 2: 2 ml/l Multifect GO 5000L, 3 ml/l sodyum asetat, | H ₂ O ₂ üretimi |
| 3: 1,5 ml/l Antisil CONZ, pH 11-11,5, 98°C., | Ağartma |
| 4: 0,5% Terminox Ultra 10L, pH 5,5-6,5, 50°C., | H ₂ O ₂ giderimi |
| 5: Reçete C, Reçete D | Boyama |
| 6: %X soda (Çizelge 3.1' de verilmiştir), | Fikse işlemi |

Tek banyo yöntemine göre işlem akışı Şekil 3.2'de verilmiştir. Haşıl sökme, hidrojen peroksit üretimi, ağartma ve boyama işlemleri aynı banyoda 10 g kumaş ile, 1:10 flotte oranında numune boyama makinasında (Dytech, Türkiye) yapılmıştır (Şekil 3.2). Boyama işlemi iki farklı reçeteye (Reçete C, Reçete D) göre uygulanmıştır.

Reçete C (Miktarlar Çizelge 3.1'de verilmiştir)

%X boya

X g/l Tuz (NaCl)

Reçete D (Miktarlar Çizelge 3.1'de verilmiştir)

2ml/l SeraSperserC-SN (iyon tutucu ve kolloit oluşumunu önleyen madde)

1 ml/l SeraQuestM-PP (egalizatör, iyon tutucu)

%X boya

X g/l Tuz (NaCl)

Tek Banyo Yöntemine Göre Boyama Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tek banyo yöntemi ile boyama işlemi sonucu tekrarlanabilirliklerin konvansiyonel yöntemle göre boyanmış kumaşlarla elde edilen tekrarlanabilirliklerle karşılaştırılması için çalışmalar yapılmıştır. Buna göre Dyestar firmasının ürettiği rekatif boyarmaddelerin monoklorotriazin grubuna ait sarı (Procion Yellow HEXL), kırmızı (Procion Crimson HEXL) ve Mavi (Procion Dark Blue HEXL) boya ile konvansiyonel ve tek banyo yöntemine göre boyama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Her iki yöntemle göre renk bilgilerinin değerlendirilmesinde üç faktörün etkisinin tespitine çalışılmıştır. Bu faktörler işlem (Tek banyo yöntemi ve konvansiyonel yöntem), renk (%0,03, %0,125 ve %0,25 boyarmadde konsantrasyonu), yardımcı kimyasallar (boyama öncesi banyoya ilave edilmesi ve edilmemesi) olarak belirlenmiştir.

Tek banyo yöntemine göre boyama öncesi banyoya iyon tutucu ve boyarmaddenin çözünmesini kolaylaştırmak ve düzgün boyama sağlamak için yüzey aktif madde eklenmesinin boyama sonuçlarına etkisi incelenmiştir. Buna göre Tek banyo yöntemine göre boyama işlemi Reçete C ve Reçete D'ye göre yapılmıştır. Reçete C, haşıl sökme işleminden önce eklenen yüzey aktif madde ve ağartma işlemi öncesi banyoya ilave edilen iyon tutucunun işlevlerini boyama esnasında yerine getirip getirmediğini tespit etmek için uygulanmıştır. Reçete D ise, tek banyo yönteminde boyama öncesi banyoya iyon tutucu ve egalize özelliği olan yüzey aktif madde ilavesinin boyama sonuçlarına istatistiksel etkisini değerlendirmek için uygulanmıştır.

3.2.2. Yapılan Ölçümler

Yapılan deneyler sonunda glikoz miktarı tespiti, hidrojen peroksit miktarı tespiti, immobilize enzimlerin bağlanma verimi tespiti, mukavemet, renk ölçümü, KOİ ve BOİ tespiti, yıkama haslığı, haşıl sökme derecesi tespiti, hidrofilite ve protein miktarı tespiti için testler yapılmıştır.

3.2.2. 1. Glikoz Miktarı Tespiti

Glikoz oksidaz (GOx) ile yapılacak enzimatik ağartmada banyodaki glikozdan hidrojen peroksit elde edileceğinden bu prosesteki ana parametrelerden biri banyodaki glikozun miktarıdır. Bu çalışmalarda haşıl sökme banyosundaki glikoz miktarını

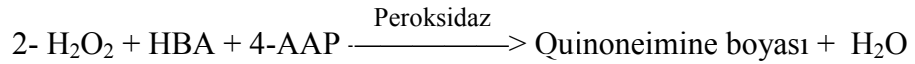
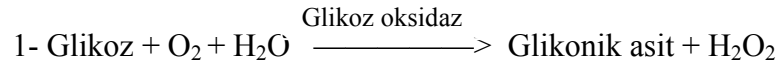
ölçmede daha ekonomik ve daha çok sayıda ölçüm imkânı sağlayan Thermo Trace firmasının glikoz oksidaz kitinin kullanılmasına karar verilmiştir. Kullanılan bu kitin ekonomik olması ve glikoz miktarını çok geniş aralıkta çok az bir hatayla tespit etme imkanı sağlaması gibi avantajları vardır.

Thermo Trace firmasının glikoz oksidaz kit çözeltisi glikoz oksidaz yanında bir kısım yardımcı maddeler de içermektedir. Banyodaki glikoz miktarının tespitinde kullanılan bu kit çözeltisinin kompozisyonunda;

Glikoz Oksidaz	>15 000 U/l,
Peroksidaz	> 100 U/l,
4-aminoantiprin	0,5 mmol/l,
4-hidroksibenzoik asit	10 mmol/l,
Fosfat	119 mmol/l ve reaktif olmayan katkı

maddeleri ve stabilizatör bulunmaktadır.

Metodun esası ise aşağıda verilen iki reaksiyon mekanizması ile açıklanabilir:



HBA = 4-Hidrobenzonoik asit, 4AAP = 4-aminoantiprin

Reaksiyonun birinci aşamasında kit çözeltisinde bulunan glikoz oksidaz enzimi, glikozu glikonik asit ve hidrojen peroksit'e dönüştürmektedir. Daha sonra glikoz oksidaz tarafından sentezlenen hidrojen peroksit, peroksidaz enzimi yardımıyla 4-aminoantiprinin rengini kırmızıya dönüştürmektedir. 460-560 nm dalga boyları arasında spektrofotometrik yöntemle meydana gelen çözeltinin absorbans değeri ölçülmektedir. Oluşan rengin yoğunluğuna göre çözeltideki glikoz miktarı belirlenmektedir. Glikoz miktarının artmasıyla oluşan peroksit miktarı artmakta ve oluşan peroksit miktarının artmasıyla da daha koyu renk elde edilmektedir.

Bu metot ile glikoz ölçümünde çalışma parametreleri aşağıda verilmiştir.

Sıcaklık:	37°C
Birincil dalga boyu:	500 nm (460-560nm)
İkincil dalga boyu:	600-660nm
Çözelti : Kit oranı	1:150
İnkübasyon süresi:	5 dakika
Ölçüm aralığı:	9-35 mmol/l (0-6300 mg/l)

Hesaplama:

İçindeki glikoz miktarı bilinen standart çözelti ile kit karıştırılmaktadır. Meydana gelen rengin 460-560 nm dalga boyunda maksimum absorbands değeri bulunmaktadır. İçindeki glikoz miktarı bilinmeyen çözelti kit ile muamele edilmekte ve oluşan rengin aynı dalga boyundaki maksimum absorbands değeri ölçülmektedir. Daha sonra, glikoz konsantrasyonu bilinmeyen çözeltinin içindeki glikoz konsantrasyonu aşağıdaki eşitlikle belirlenmektedir.

$$G_{ck} = \frac{A_{ck}}{A_s} \times G_s$$

G_{ck} = Çözeltideki glikoz miktarı (mg)

G_s = Standart çözeltideki glikoz miktarı (mg)

A_{ck} = Çözeltinin absorbands değeri

A_s = Standart çözeltinin absorbands değeri

İçindeki glikoz miktarı bilinen *Fluitest Glu* standart çözeltisi ilgili firmadan temin edilmiştir. Glikoz miktarı 1000 mg/l olan standart çözelti kullanılarak maksimum absorbandsın hangi dalga boyunda olduğu ve firmanın tavsiye ettiği absorbands değerinden elde edilen sonuca göre glikoz miktarının doğru olup olmadığı incelenmiştir.

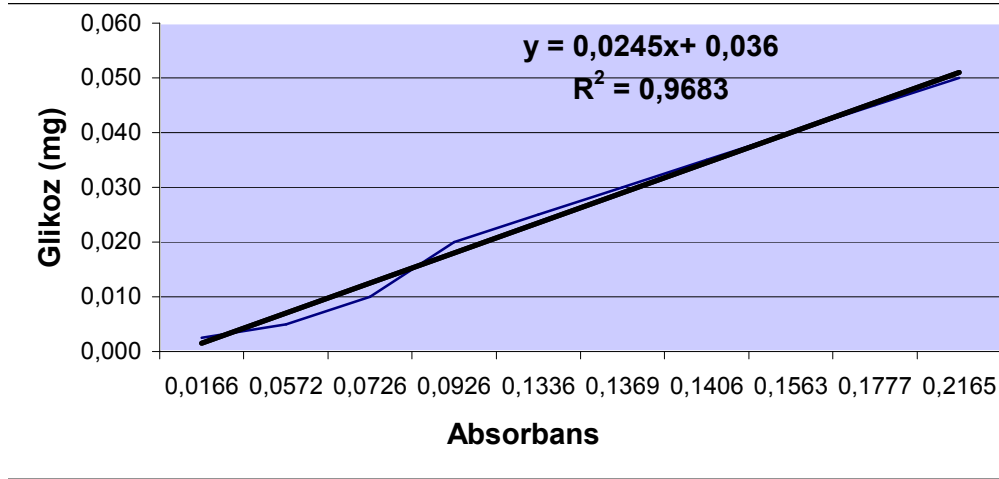
Farklı konsantrasyonlarda glikoz çözeltisi kullanılması durumunda absorbands değeri hesaplandığında maksimum absorbandsın 500 nm dalga boyunda olduğu

görülmüştür. Daha sonraki çalışmalar için bu dalga boyundaki absorbands değerlerinin kullanılması kararlaştırılmıştır.

Glikoz miktarındaki artış ile absorbands değeri arasındaki değişimin doğrusal olmadığı görülmüştür. Glikoz miktarında iki kat artış olması durumunda absorbands değerindeki artışın çok daha az olduğu saptanmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Farklı glikoz miktarlarına karşılık 500 nm’de elde edilen absorbands değerleri.

Glikoz (mg)	Absorbans	Glikoz (mg)	Absorbans
0,00125	0,019315	0,03	0,136856
0,0025	0,016554	0,035	0,140561
0,005	0,057199	0,04	0,156269
0,01	0,072578	0,045	0,177701
0,02	0,092642	0,05	0,216525
0,025	0,133595		



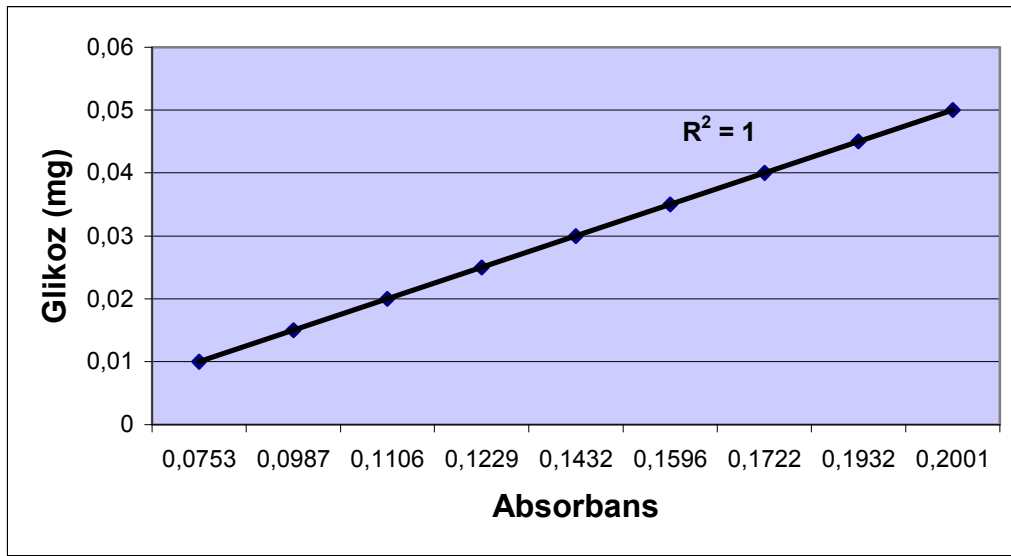
Şekil 3.3. Farklı glikoz miktarlarına karşılık 500 nm’de elde edilen absorbands eğrisi

Bu verilerden de glikoz miktarına karşılık absorbands eğrisi ve denklemi elde edilmiştir (Şekil 3.3). Eğrinin R^2 (regresyon katsayısı) değerinin 0,9683 çıkması hata payının yüksek olduğunu göstermektedir. Bunun nedeni glikoz miktarındaki değişime göre kullanılan kit miktarının değişmesidir. Bu nedenle standart glikoz çözeltisinden (1000 mg/l’lik) alınan glikoz çözeltisi 40µl’ye saf su ile tamamlanarak aynı miktarda kit

ile işlem yapılması sonucu elde edilen glikoz miktarı-absorbans değerleri Çizelge 3.3 de verilmiştir.

Çizelge 3.3. Glikoz miktarına göre absorbans değişimi

Glikoz miktarı	Absorbans değerleri
10µl glikoz + 30 µl saf su	0,075256
15µl glikoz + 25 µl saf su	0,098705
20µl glikoz + 20 µl saf su	0,110586
25µl glikoz + 15 µl saf su	0,122859
30µl glikoz + 10 µl saf su	0,14315
35µl glikoz + 5 µl saf su	0,159643
40µl glikoz	0,172243
45µl glikoz	0,19321
50µl glikoz	0,200066

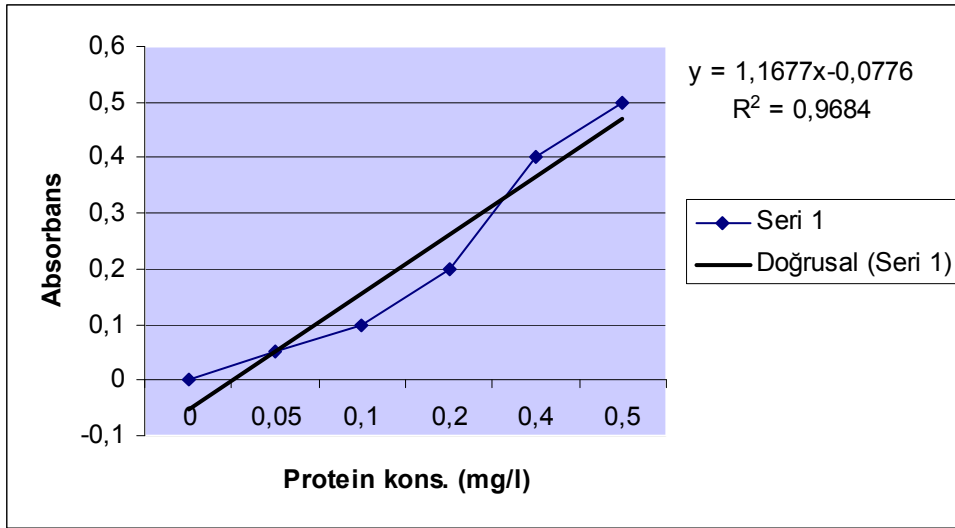


Şekil 3.4. Glikoz miktarı absorbans değişim grafiği

Elde edilen değerler için doğru denklemi $y = 3,24x + 0.0453565$ olarak bulunmuştur (Şekil 3.4). Absorbans değeri (x) ile glikoz miktarı (y) arasındaki bu denklemde regresyon katsayısı arzu edildiği şekilde $R^2=1$ olmuştur. Ancak sonuçların daha kesin olması için hesaplamalarda denklem yerine enterpolasyon tekniği kullanılmıştır.

3.2.2.2. İmmobilize Enzimlerin Bağlanma Verimi Tespiti

Tanecikler üzerine bağlanan protein miktarı Bradford protein tespit yöntemi ile karakterize edilmiştir. BSA (Bovine serum albumin) standard olarak kullanılmıştır. BSA(Bovine serum albumin) standart olarak kullanılarak 595 nm'deki emilimleri BioRad microtiter plate reader ile ölçülmüştür. Farklı konsantrasyonlarda BSA'ya karşılık gelen Absorbans değerleri ölçülerek grafik elde edilmiştir. (Şekil 3.5). İmmobilizasyon işlemlerinde çözeltinin absorbansı ölçülerek karşılık gelen protein konsantrasyonu enterpolasyon yöntemine göre yapılmıştır.



Şekil 3.5. Bradford yöntemine göre protein tespiti eğrisi

İmmobilizasyon işlemlerinin enzim bağlanma verimlerinin tespiti için başlangıçtaki ve santrifüjleme sonrası enzim konsantrasyonu Bradford yöntemine göre ölçülmüş ve bağlanma verimleri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanarak belirlenmiştir.

$$\text{Bağlanma verimi (\%)} = (E_1 - E_2) * 100 / E_1$$

E₁: İmmobilizasyon işlemi için kullanılan enzim konsantrasyonu,

E₂: Santrifüjleme sonrası çözeltideki enzim konsantrasyonu.

3.2.2.3. Mukavemet Testleri

Mukavemet testlerine hazırlık olarak kumaş kalınlıkları, ASTM D-1777 (1975) test yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Test alanı 1 cm^2 ve hassasiyeti 0,01 mm olup cihazın en düşük basınç değeri 10 g/cm^2 'dir.

Dokuma kumaşların mukavemet ölçümleri, ASTM D1682-64 test yöntemine göre çözgü yönü doğrultusunda yapılarak bulunmuştur. 60x350 mm boyutlarında kesilen 3 adet kontrol ve deney numunelerinin genişlikleri tel çekme suretiyle 50 mm'ye indirilmiştir. Mukavemet test cihazı, sabit uzama prensibine göre çalışmakta olup çeneler arası mesafesi 200 mm'ye ayarlanarak numune, biri sabit diğeri hareketli olan iki çene arasına sıkıştırılmış; ardından yük hücresi 5 kN, çene hızı 100 mm/dakika ve kopma zamanı 30 ± 5 saniye olacak şekilde kopuncaya kadar çekilmiştir. Elde edilen sonuçlar, mukavemet birimi MPa ve uzama birimi % uzama olacak şekilde 3 ölçümün ortalamasıdır.

3.2.2.4. Renk ölçümü

Renk ölçümünde Macbeth ColorEye MS2020 reflektans spektrofotometresi kullanılmış ve D65/10 aydınlatıcısında ASTM D1642 standartlarına göre ölçüm yapılmıştır. Kumaşın reflektans değerlerinin alındığı dalga boyları;

Procion Yellow HEXL için	420 nm
Procion Crimson HEXL için	540 nm
Procion Dark Blue HEXL için	620 nm

Bu dalga boyları rengin 380-720 nm arasında 20 nm'lik aralıklarla verdiği maksimum değere bakılarak seçilmiştir. Kumaşın üç farklı bölgesinden üç ölçüm sonucu alınarak bu değerlerin ortalamaları esas alınmıştır.

3.2.2.5. KOİ ve BOİ Ölçümü

Kimyasal oksijen ihtiyacı tespiti Metot, 5220 C: APHA (American Public Health Association, 1995)'ya göre yapılmıştır. Biyolojik Oksijen İhtiyacı ölçümü ise; 5 gün BOİ test Metot, 5220 C: APHA'ya göre yapılmıştır.

3.2.2.6. Yıkama Haslığı Testi

Yıkama haslığı testleri BS 1006 C06 yıkama haslığı standardına göre yapılmıştır.

3.2.2.7. Haşıl Sökme Testi

I₂/KI çözeltisi kumaş üzerine damlatıldıktan sonra iyotun nişasta ile verdiği mavi renk Tegewa skalasındaki mavi renklerle subjektif olarak karşılaştırılarak haşıl sökme derecesi belirlenmiştir. Skalada 1 en kötü, 9 ise en iyi haşıl sökme derecesine karşılık gelmektedir.

3.2.2.8 Hidrojen Peroksit Tayini

AATCC 102 standartına göre titrasyon yöntemi ile yapılmıştır.

3.2.2.9. Hidrofilite Testi

DIN 53924 standartına göre su sütunu yöntemi ile yapılmıştır.

3.2.2.10. Protein Tespiti

Bradford protein tespit yöntemine (Bradford 1976) göre 595 nm'de ölçümler yapılmıştır.

3.2.3. Enzim İmmobilizasyonu

Saf amiloglikozidaz enzimi ve saf GOx enzimi ile enzim immobilizasyonu yapılmıştır. Her iki enzim içinde farklı yöntemlerle yapılan immobilizasyon sonucu bağlanma verimleri tespit edilmiştir.

3.2.3.1. Glikoamilaz Enzimi İmmobilizasyonu

Glikoamilaz enzimi farklı metotlarla immobilize edilerek bağlanma veriminin tespitine çalışılmıştır. İmmobilizasyon çalışmaları için saf glikoamilaz (INOTEX, Çek Cumhuriyeti) enzimi kullanılmıştır. İmmobilize enzimle yapılan çalışmalar, Kısım 3.2.1.2.'de belirtilen, tek banyo yöntemi haşıl sökme işlemine göre yapılmıştır.

CNBr ile immobilizasyon

Bu yöntemde enzim CNBr ile aktive edilmiş Sepharose-4B'ye bağlanmıştır. Çapları 40-160 µm arasında değişen agaroz taneciklerinin birbirine bağlanması ile bir tür matriks oluşturmaktadır. Agaroz taneciklerinin 1 gramının 3,5 ml'lik bir hacme şiştiği ve oluşan bu jel matriksin 1 ml'sinin 30-40 mg kimotripsinojeni bağlayabileceği bilinmektedir.

Magnetik parçacıklarla(magnetit, Fe₃O₄) immobilizasyon

Bu yöntemde enzimler magnetik parçacıklara bağlanmıştır. Demir (III) klorür (FeCl₃), Demir sülfat (FeSO₄) ve amonyum hidroksit (NH₄OH) reaksiyonu sonucu oluşan magnetit parçacıklar bir mıknatıs yardımıyla toplanarak fırında kurutulmuştur. Sentezlenen magnetitin bir kısmı APTS (aminopropoxytriethoxysilane) kullanılarak silanize edilmiştir. 10 dakikalık inkübasyondan sonra saf su ile yıkama işlemi yapılmıştır. Sentezlenen imagnetitler glutaraldehit ile 10 dakika inkübe edilerek amiloglikozidaz enzimi (AG) eklenmiştir.

3.2.3.2. GOx Enzimi İmmobilizasyonu

İmmobilizasyon çalışmaları saf GOx (Biozymes) enzimi ile farklı yöntemlere göre yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir.

Gox enziminin Alumina parçacıklara bağlanması

10 gram alumina (Al₂O₃) parçacıklar, 100 ml %10'luk APTS (3-aminopropyltriethoxysilane) ve %50'lik etanol karışımı içinde 100 d/d, 25°C'de, 10 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Parçacıklar APTS ve etanolden tamamen

arındırılmak için 4 kez saf su ile yıkanıp, 60°C fırında kurutulmuştur. 2 gr işlem görmüş alumina parçacıklar farklı konsantrasyonlarda glutaraldehit ile 100 d/d, 25°C'de 12 saat süre inkübe edilmiştir. Bu işlemden sonra parçacıklar santrifüjlenerek sıvı kısmı uzaklaştırılmıştır. 0,25 gr GOx enzimi 50 ml saf suda çözülmüş ve alumina parçacıklar üzerine eklenip 300-400 d/d, 25°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra solüsyon santrifüjlenerek sıvı kısım ayrılmıştır. Sıvı kısım bağlanmayan enzim miktarının belirlenmesi için falkon tüplerde muhafaza edilmek üzere ayrılmıştır. Son olarak, GOx enzimi bağlı parçacıklar, 4 kez saf su ile yıkanmıştır.

GOx enziminin Silika parçacıklara bağlanması

GOx enzimi silika parçacıklara bağlanmadan önce silikalar 3-glysidoksipropiltrimetoksi ile silanize edilmiştir. 1 gram silika parçacıklar %77 metanol, %3 asetik asit, %15 saf su ve %5 3-glysidoksipropiltrimetoksi karışımında, 250 d/d, 25°C'de 12 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra karışım santrifüjlenerek sıvı kısım ayrılmıştır. Geriye kalan kısım 60°C'de fırında kurutulmuştur. 0,2 gram silanize olmuş silikalar, değişik GOx konsantrasyonlarında toplam hacim 5 ml olacak şekilde 400 d/d, 25°C'de, 30 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda karışım santrifüjlenip, sıvı kısım bağlanmayan enzim konsantrasyon tayini için ayrılmıştır. Silikalar ise 4 kez distile su ile yıkanmıştır.

Glikoz Oksidaz enziminin CNBr aktive edilmiş Sepharose-4B parçacıklarına bağlanması

CNBr (siyanojen bromür) aktive edilmiş resin, 1M HCl içinde 30°C'de bekletilip, şişmesi sağlanmıştır. Enzim ile birlikte NaHCO₃/NaCl solüsyonu içinde 4°C'de karıştırılarak 12 saat inkübe edilmiştir. Resin üzerinde kalan enzim ile bağlanmayan grupların kapatılması için karışım pH 8'de, 1M etanolamin ile 2 saat inkübe edilmiştir.

Çapraz bağlı glikoz oksidaz çökeltileri (CLEA)

0,1M pH 7,3'de, potasyum fosfat içinde 1M, 2M ve 3,3M konsantrasyonda amonyum sülfat çözeltileri hazırlanmıştır. 1 ml hacminde, 2,5, 5, ve 10 mg/ml

konsantrasyonundaki GOx enzim solüsyonları potasyum fosfat ile hazırlanmıştır. Hazırlanan karışımlar 1M, 2M ve 3,3M amonyum sulfat üzerine damla damla eklenmiştir. 5 ml, %2,5 glutaraldehit ve 1% fosforik asit (hacim/hacim) karıştırılıp, çözeltinin pH'ı 7,3 e ayarlanmıştır. Glutaraldehit daha önceden hazırlanan enzim karışımına solüsyondaki son konsantrasyonu %1 olacak şekilde eklenmiştir.

Daha sonra karışımlar oda sıcaklığında 2,5 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 0.1M sodyum borhidrit eklenip, amin gruplarının, ikincil amin gruplarına çevrilmesi sağlanmıştır. 10 ml fosfat tampon çözeltisi eklenen karışımlar santrifüjlenip, çökeltileri fosfat tampon çözelti ile yıkanmıştır. Oluşan çökeltiler 1 ml fosfat tampon çözeltisinde muhafaza edilmiştir.

3.2.3. Sonuçların İstatiksel Değerlendirilme Yöntemi

Boyama sonuçlarının değerlendirilmesinde COSTAT programı kullanılmıştır. Bu programda, verilere ait varyans analizi sonucunda bulunan F-istatistik (F_s) değerleri, I. Tip hata $\alpha=0,05$ için bulunan $F_{0,05,n,t}$ tablo değeri ile karşılaştırılmakta ve buna göre faktörün önem durumu belirlenmektedir. $F_s > F_{0,05,n,t}$ olduğu durumda, hangi faktör seviyeleri arasındaki farklılığın $\alpha=0,05$ önem seviyesinde anlamlı olduğunun tespiti için SNK (Student-Newman-Keuls) testi yapılmaktadır. Kumaşlara ait renk bilgileri verileri ile ilgili olarak gerçekleştirilen varyans analizlerine ve SNK testlerine ait ayrıntılı sonuçlar EK'ler kısmında verilmiştir. Bu sonuçlarda; varyans analiz sonucu $F_s < F_{0,05,n,t}$ olduğu durumlar, P değerinin yanına yazılan 'ns' ile ifade edilmiş olup, bu durum incelenen özellik üzerinde faktörün etkisi olmadığını belirtmektedir. Varyans analizi sonucunun $F_s > F_{0,05,n,t}$ olduğu durumlar farkın büyüğüne göre, P değeri üzerine konan tek, çift ve üç yıldız şeklinde belirtilmiştir. Bu faktörün incelenen özellik üzerine etkisi istatistikî önem seviyesinin göstergesidir.

Ölçüm sonuçlarına ait verilerin değerlendirilmesinde üç faktörlü tamamen tesadüfi dağılımlı varyans analizinin matematiksel modeli ve kullanılan hipotezler şu şekildedir:

$$Y_{ijkm} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + C_k + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + \epsilon_{m(ijk)}$$

Y_{ijkm} Birinci faktörün(A) i'inci, ikinci faktörün(B) j'inci ve üçüncü faktörün (C) k'inci seviyelerindeki m'inci gözlem

μ	Her üç faktörün bütün seviyeleri için ortak etki (her zaman sabit)	
A_i	Birinci faktörün i'inci seviyesindeki etkisi	$i = 1,2,\dots,a$
B_j	İkinci faktörün j'inci seviyesindeki etkisi	$j = 1,2,\dots,b$
C_k	Üçüncü faktörün k'inci seviyesindeki etkisi	$k = 1,2,\dots,n$
AB_{ij}	A ve B faktörlerinin ij'deki kesişimlerinin etkisi	
AC_{ik}	A ve C faktörlerinin ik'daki kesişimlerinin etkisi	
BC_{jk}	B ve C faktörlerinin jk'daki kesişimlerinin etkisi	
ABC_{ijk}	A, B ve C faktörlerinin ijk'daki kesişimlerinin etkisi	
$\epsilon_{m(ijk)}$	A, B ve C faktörlerinin ijk'daki kesişimlerindeki m'inci gözlemde bulunan tesadüfi hata	$m = 1,2,\dots,z$

Hipotezler ise;

$H_{01} : A_i=0$ bütün i'ler için

$H_{02} : B_j=0$ bütün j'ler için

$H_{03} : C=0$ bütün k'lar için

$H_{04} : AB_{if}=0$ bütün ij'ler için

$H_{05} : AC_{ik}=0$ bütün ik'lar için

$H_{06} : BC_{jk}=0$ bütün jk'lar için

$H_{07} : ABC_{ijk}=0$ bütün ijk'lar için

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Haşıl Sökme Enzimi Seçimi

Çalışmanın birinci aşamasını, glikoz ölçüm yönteminin belirlenmesi, haşıl sökme işlemi sonucu en fazla glikozun üretildiği enzimin seçilmesi ve seçilen bu enzimle haşıl sökme işleminin optimizasyonu için yapılan deneyler oluşturmuştur. Glikoz ölçüm yöntemi Kısım 3.2.2.1’de verilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasını haşıl sökme sonucu banyoda oluşan glikozdan GOx enzimi ile hidrojen peroksit üretilmesi oluşturduğundan, nişastanın glikoza parçalanması önemlidir.

4.1.1. Tekstil Sektöründe Kullanılan Haşıl Sökme Enzimleri

En fazla glikoz açığa çıkaran haşıl sökme enziminin tespit edilmesi amacıyla yapılan çalışmalarda, kullanımı yaygın 9 farklı ticari haşıl sökme enzimi temin edilmiştir. Kullanılan enzimlerin etkin oldukları pH aralığı, önerilen miktarları, tavsiye edilen uygulama sıcaklıkları ve muamele süreleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Haşıl sökme enzimleri ve özellikleri

Firma ismi	Enzimin adı	pH	Miktar	Sıcaklık (°C)	Süre (Dakika)
Novozymes	Aquazym 240L	6-7	%0,25-1,3 g/l	70	30
Novozymes	Aquazym ultra 120L	6-7	%0,06-0,3 g/l	70-110	30
R- Duraner	Rucolase CML 200	6-7	0,5-2 g/l	90-98	30
R- Duraner	Rucolase HCH 250	6-7	0,2-0,4 g/l	90 -98	30
A,B Kimya	PRENZME 1200L	6,5	%0,02-0,05	80 -90	30
Gemsan	Gemsize HT	7-7,5	%0,05-0,2	90-95	10-20
Gemsan	Gemsize 4A	6,5-7	%0,05-0,2	50-70	20-30
CHT	BEISOL LVZ	5,4-8	1-2 g/l	30-60	30
CHT	BEISOL HTS	5,4-8	0,5-2 g/l	60-100	30

Çizelge 4.2. Farklı haşıl sökme enzimleriyle işlem sonucu haşıl sökme çözeltisinde ölçülen glikoz değerleri

Firma ismi	Enzimin Adı	pH	Miktar	Sıcaklık	Glikoz Miktarları (mg/l)	
Novozymes	Aquazym 240L	6,5	1,3 g/l	70°C	30 dak.	200
					60 dak.	210
					90 dak.	205
Novozymes	Aquazym ultra 1200 L	6,5	0,3 g/l	90°C	30 dak.	210
					60 dak.	205
					90 dak.	210
Rudolf Duraner	Rucolase CML 200	6,5	2 g/l	90°C	30 dak.	180
					60 dak.	200
					90 dak.	190
Rudolf Duraner	Rucolase HCH 250	6,5	0,4 g/l	98°C	30 dak.	213
					60 dak.	200
					90 dak.	208
A,B Kimya	Prenzme 1200L	6,5	0,05 g/l	85°C	30 dak.	180
					60 dak.	200
					90 dak.	190
Gemsan	Gemsiz HT	7	%0,2	90°C	30 dak.	180
					60 dak.	190
					90 dak.	185
Gemsan	Gemsiz 4A	6,5	%0,2	60°C	30 dak.	190
					60 dak.	185
					90 dak.	200
CHT	Beisol LVZ	6,5	2 g/l	50°C	30 dak.	205
					60 dak.	220
					90 dak.	208
CHT	Beisol HTS	6,5	0,2 g/l	90°C	30 dak.	209
					60 dak.	206
					90 dak.	215

Kullanılan ticari haşıl sökme enzimlerinin tamamı α -amilaz esaslıdır. Enzim üretici firmaların önerdiği çalışma pH'ları incelendiğinde çalışma pH'ının 6,5 olması uygun görüldüğünden haşıl sökme işlemleri bu pH'da yapılmıştır. Firmaların tavsiye ettiği en etkin çalışma şartları dikkate alınarak tavsiye edilen enzim miktarının üst sınırı kullanılmıştır. İşlem süreleri 30-60-90 dakika olacak şekilde üç seviyede gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi farklı enzimler kullanılarak açığa çıkan glikoz miktarları 180-220 mg/l arasında ölçülmüştür. İşlem süresinin artması durumunda açığa çıkan glikoz miktarında önemli bir değişim meydana gelmediği görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda haşıl sökme işlemi sonucu GOx enzimi ile ağartma için yeterli hidrojen peroksit üretilmesi için 4000-5000 mg/l seviyesinde glikoz miktarına ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (Buschle-Diller ve ark. 2001). Haşıl sökme işlemi yapılmış kumaşların sıcak ve soğuk yıkama yapılarak kurutulduktan sonra; potasyum iyodür çözeltisi ile haşıl sökme derecesi belirlenmiştir. Ticari enzimlerle yapılan haşıl sökme işlemi sonucu elde edilen haşıl sökme dereceleri, Tegawa skalasına göre 7-8 olarak ölçülmüştür. Elde edilen haşıl sökme dereceleri, haşıl sökme işlemi açısından kabul edilebilir değerlerdir.

Tekstil endüstrisinde kullanılan haşıl sökme enzimlerinin büyük çoğunluğu α -amilaz esaslı olduğundan yeterli glikoz değerlerine ulaşamamıştır. Bu nedenle gıda endüstrisinde kullanılan, nişastayı glikoz ünitelerine kadar parçalayan, genetik olarak modifiye edilmiş *Aspergillus*'tan elde edilen amiloglikozidaz (EC 3.2.1.3) ile genetik olarak *Bacillus*'tan elde edilmiş pullulenaz (EC 3.2.1.41) karışımı olan Dextrozyme DX ile çalışmalara devam edilmiştir.

4.1.2. Amiloglikozidaz Esaslı Enzimler

Dextrozyme DX (Novozymes) enzimi gıda endüstrisinde kullanılan bir enzim olup haşıl sökme prosesi için ilk kez deneneceğinden çalışma koşulları belli değildir. Enzim için en uygun pH aralığının pH 4,1-4,3 ve çalışma sıcaklığının 62°C olduğu üretici firma tarafından belirtilmiştir. Dextrozyme DX enzimi ile haşıl sökme işleminde çalışma sıcaklığı 62°C seçilerek, en fazla glikozun üretildiği çalışma pH'ı, işlem süresi

ve enzim miktarı gibi parametrelerin belirlenmesi için optimizasyon çalışmaları yapılmıştır.

4.1.2.1. Dextrozyme DX Enzimi için Optimum pH'ın Belirlenmesi

Enzimin en fazla aktivite gösterdiği optimum çalışma pH'ının tespiti amacı ile çalışmalar yapılmıştır. Asetik asit, yüzey aktif madde ve enzim eklenerek işleme başlanması durumunda, haşıl sökme işlemi sonucunda banyo pH'ında önemli artışlar görülmüştür (Çizelge 4.3). Bunun nedeninin ham pamuklu kumaşın asit tüketimi olduğu daha önceki yapılan çalışmalarda da rapor edilmiştir (Adanur 1995). Bu nedenle enzim ilavesi yapılmadan önce yüzey aktif madde ve asetik asit banyoya ilave edilerek 10 dakika kumaş ile işlem sonunda tekrar pH ölçümü yapılmıştır.

Çizelge 4.3. Ham pamuklu kumaşın asit tüketimi ve kullanılan asit miktarına göre pH değişimi

Asetik asit (ml/l)	1	1,25	1,5	1,75	2,0	2,25	2,5	2,75	3,0	3,25	3,5	3,75	4,0
İlk pH*	3,50	3,45	3,38	3,28	3,21	3,18	3,16	3,16	3,15	3,14	3,12	3,10	3,08
Giriş pH**	4,55	4,45	4,40	4,25	4,19	4,17	4,14	4,10	4,03	4,0	3,96	3,98	3,94
Çıkış pH***	4,70	4,60	4,47	4,40	4,30	4,23	4,2	4,17	4,10	4,09	4,04	4,0	3,94

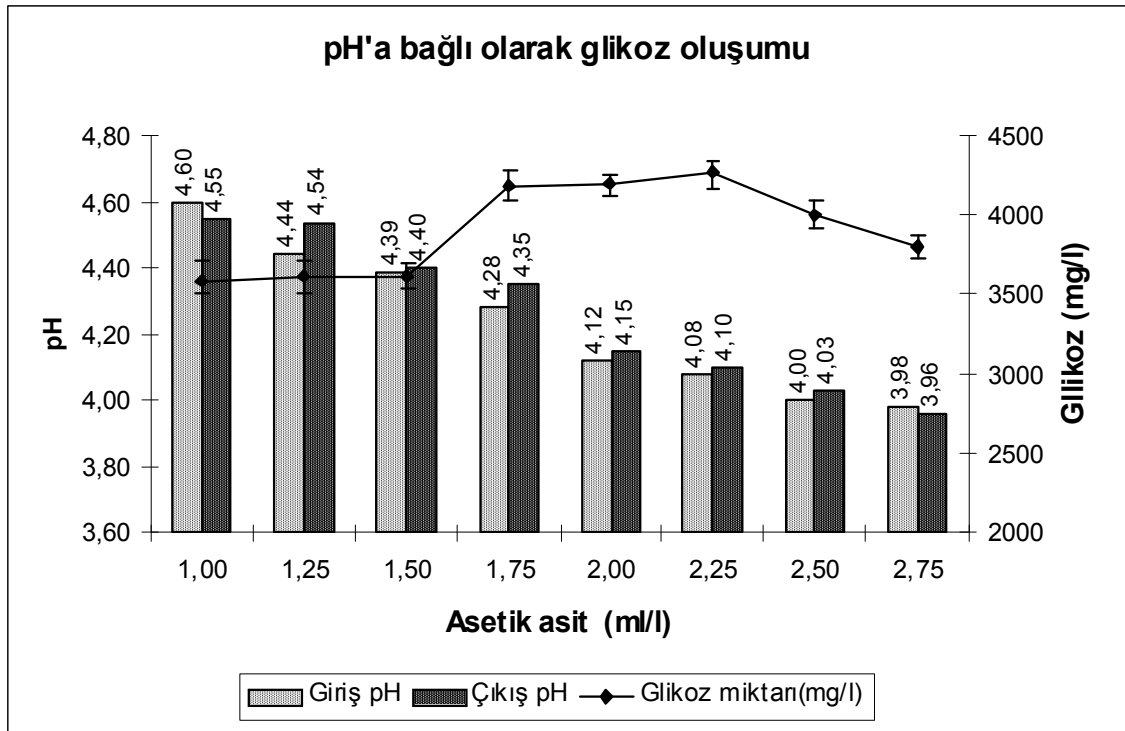
*- kumaş çözeltiye atılmadan önceki pH

** - ham kumaş ile 45°C de 10 dakika çevrim sonundaki pH- haşıl sökme giriş pH'ı

*** - haşıl sökme işlemi sonrası pH

Çizelge 4.3'de ham kumaşın asit tüketimi görülmektedir. Haşıl sökme işlemi esnasında pH değişimlerinin enzim aktivitesini etkilememesi için bütün çalışmalarda kumaş ilavesi ile çözelti çevriminden sonra pH ayarlaması yapılmıştır. Ayrıca Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi enzim için uygun olan pH 4,1-4,3 aralığının sağlanması için 1,5-2,75 ml/l asetik asit miktarlarının yeterli olacağı söylenebilir.

Bu tespitler ışığında belirlenen pH aralığında haşıl sökme işlemi gerçekleştirilerek haşıl sökme çözeltisinde açığa çıkan glikoz miktarlarının tespiti de yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Dextrozyme DX enzimi ile glikoz oluşumunun pH'a bağlı değişimi. (Proses şartları: %1 enzim, 62°C, 30 dakika)

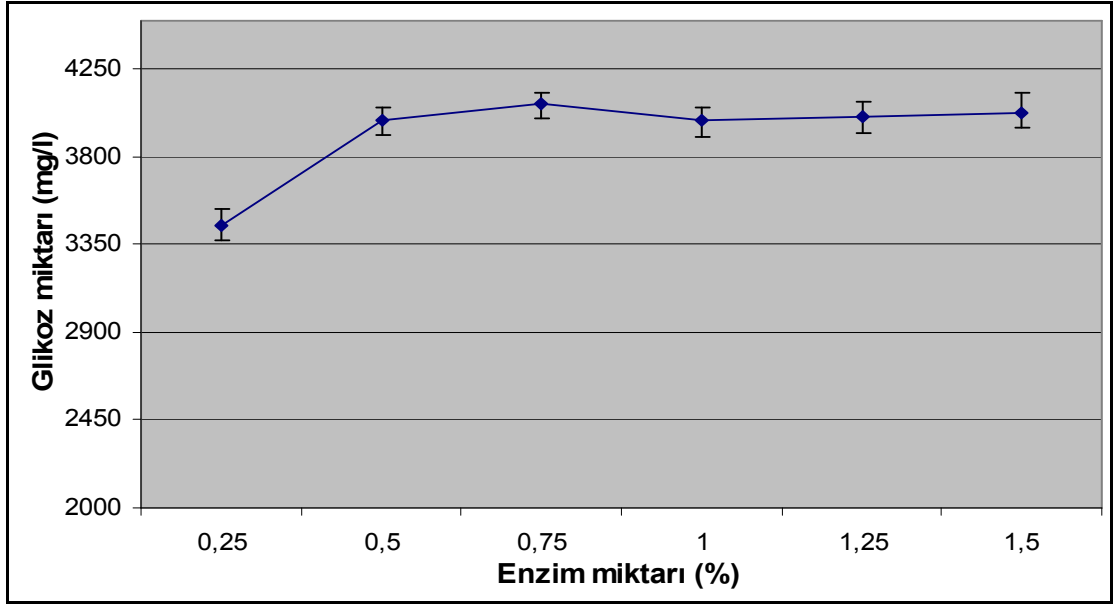
Şekil 4.1'de görüldüğü gibi en fazla glikozun açığa çıktığı pH, 4,1 civarındadır. Bu veriler ışığında daha sonraki çalışmalarda 2,25 ml/l asetik asit kullanılarak pH 4,1 civarında haşıl sökme işlemi yapılmıştır.

4.1.2.2. Dextrozyme DX Enzimi için Enzim Miktarının Tespiti

Dextrozyme DX enzimi ile %0,25-1,5 aralığında 6 farklı konsantrasyonda haşıl sökme işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Şekil 4.2 ve Çizelge 4.4 de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4. Dextrozyme DX enziminin konsantrasyonuna göre oluşan glikoz miktarı (Proses şartları: pH 4,1(asetik asitle), 62°C, 30 dakika)

Enzim (%)	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5
Glikoz (mg/l)	3450	3990	4070	3990	4010	4030



Şekil 4.2. Dextrozime DX enziminin konsantrasyonuna göre oluşan glikoz miktarı. (Proses şartları: pH 4,1, 62°C, 30 dakika)

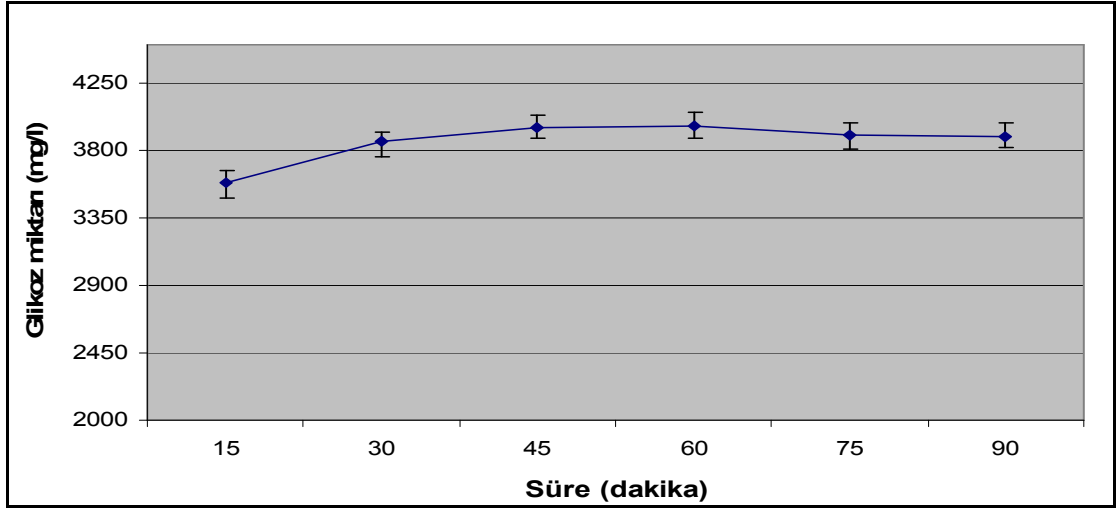
Optimum enzim miktarının tespiti için yapılan çalışmalar sonucunda minimum %0,5'lik bir enzim konsantrasyonuna çıkılması gerektiği görülmüştür. Bununla birlikte, enzim konsantrasyonunun % 0,75'e çıkartılması, oluşan glikoz miktarını bir miktar daha artırdığından deneylerde bu seviyenin kullanılmasının uygun olduğuna karar verilmiştir.

4.1.2.3. Dextrozime DX Enzimi için İşlem Süresinin Tespiti

Dextrozime DX enzimi ile haşıl sökmede optimum sürenin tespiti için 15 dakikalık kademelerle 6 farklı sürede işlem yapılmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.5 ve Şekil 4.3'de görülmektedir.

Çizelge 4.5. Dextrozime DX enzimi ile haşıl sökmede süreye göre oluşan glikoz miktarı (Proses şartları: pH 4,1, 62°C, %0,75 enzim)

Süre (dakika)	15	30	45	60	75	90
Glikoz (mg/l)	3580	3853	3949	3961	3902	3580



Şekil 4.3. Dextrozyme DX enzimi ile haşıl sökmede süreye göre oluşan glüköz miktarı (Proses şartları: pH 4,1 (asetik asit ile), 62°C, %0,75 enzim)

Haşıl sökme işleminin süresinin 45 dakika ve üstü olması durumunda oluşan glüköz miktarında önemli bir değişim meydana gelmemiştir. Bundan sonraki çalışmalarda 45 dakikalık haşıl sökme süresi alınmasının uygun olacağına karar verilmiştir. Çalışmalarda kullanılacak optimum sıcaklık değeri, firmanın önerdiği 62°C alınmıştır.

Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda maksimum glüköz üretimi için:

Enzim tipi	:Dextrozyme DX (amiloglikozidaz/pullulenaz karışımı)
Enzim miktarı	:% 0,75
Sıcaklık	:62°C
pH	:4,1
Süre	:45 dakika olarak tespit edilmiştir.

4.2. Glüköz Oksidaz Enzimi ile Peroksit Üretimi

Çalışmanın ikinci aşamasını oluşturan haşıl sökme banyosundaki glüközden GOx enzimi ile hidrojen peroksit üretilmesi amacıyla, Gluzyme Mono 10.000 BG (Novozymes) isimli ticari GOx enzimi, saf GOx (Biozymes) enzimi ve Multifect GO 5000L (Genencor) isimli ticari GOx enzimleri ile hidrojen peroksit üretimi için optimum şartların belirlenmesi için çalışmalar yapılmıştır. Optimum sıcaklık, süre,

enzim konsantrasyonu ve pH tespit edilerek üretilen hidrojen peroksit ile ağartma şartları her üç enzim içinde ayrı ayrı tespit edilmiştir. Hidrojen peroksit miktarı AATCC 102 standardına göre belirlenmiştir.

4.2.1. Gluzyme Mono 10.000 BG Enzimi ile Hidrojen Peroksit Üretimi İçin Optimum İşlem Şartlarının Tespiti

Gluzyme Mono 10.000 BG GOx enzimi, *aspergillus oryzae* mikroorganizmasından genetik olarak modifiye edilerek Novozymes firması tarafından üretilmiş ticari bir enzimdir. Enzimin ünitesinin 10.000 Ünite/gram gibi çok yüksek değerlerde olması, kullanılacak enzim miktarının düşük seviyelerde kalmasını sağlamıştır. Firmanın tavsiye ettiği kullanım şartları 100 kg hamur için 0,25-5 gr arasındadır. Bu da yaklaşık olarak 1 kg hamur için 25-500 Ünite arasında enzim miktarına denk gelmektedir. Kullanılacak GOx enzimi miktarının belirlenmesinde enzim aktivitesi, süre, banyoda oluşan glikoz miktarı (substrat) gibi parametreler dikkate alınmıştır. Firma tarafından enzimin aktif olduğu pH aralığı için 3,5-7 gibi çok geniş bir aralık ve işlem sıcaklığı için 50-60°C tavsiye edilmektedir. Tavsiye edilen bu şartlar sulu ortam için olmadığından, sulu ortamda en fazla hidrojen peroksitin üretildiği enzim konsantrasyonu, çalışma pH'ı, işlem süresi ve işlem sıcaklığı gibi işlem şartları tespit edilmiştir.

4.2.1.1. Çalışma pH'ının Tespiti

Gluzyme Mono 10.000 BG ile yapılan ön çalışmalar sonucunda, işlem sonunda banyo pH'ında önemli düşüşler meydana geldiği tespit edilmiştir. Glikozdan GOx enzimi ile hidrojen peroksit üretimi esnasında açığa çıkan glikonik asitin pH'ın düşüşüne neden olduğu daha önce yapılan çalışmalarda da rapor edilmiştir (Buschle-Diller ve ark. 2001). Bu nedenle pH'daki düşüşleri önlemek için saf glikoz ile sentetik bir çözelti hazırlanmış ve sodyum asetat ile tamponlanarak pH değişimleri incelenmiştir (Çizelge 4.6). Oluşan glikonik asitin pH değişimine neden olmaması için gerekli sodyum asetat miktarının tespiti amaçlanmıştır.

Çizelge 4.6. Sodyum asetat ilavesine bağlı olarak pH değişimleri (Proses şartları: 5 g/l saf glikoz, %0,4 Gluzyme Mono 10.000 BG, 55°C, 45 dakika)

Sodyum asetat (g/l)	Giriş pH	Çıkış pH
0	6,40	2,8
0,3	6,40	2,8
0,6	6,35	2,9
0,9	6,35	2,95
1,2	6,40	3,4
1,5	6,20	3,5
2,0	6,25	3,65
2,3	6,30	3,65
2,6	6,30	3,7

Çizelge 4.6’da görüldüğü gibi Gluzyme Mono 10.000 BG enziminin etkisi ile glikozun glikonik asite dönüşmesi sonucu ortamın pH’ında düşme meydana gelmiştir. 2 g/l ve üzerinde sodyum asetat kullanılması durumunda çıkış pH’ında önemli bir değişim görülmediğinden, bundan sonraki çalışmalarda tampon maddesi olarak 2 g/l sodyum asetat kullanılması uygun görülmüştür.

Çizelge 4.7 Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi ile çalışmada pH’ın hidrojen peroksit miktarına etkisi (Proses şartları: %0,4 Gluzyme Mono 10.000 BG, 2 ml/l sodyum asetat 55°C, 45 dakika)

İşlem pH’ı	4,1	4,4	4,6	4,65	4,9	5,2	5,4
H ₂ O ₂ (mg/l)	170	161	136	119	119	110	102

Gluzyme Mono 10.000 BG ile işlem öncesi banyo pH’ı 4,1 civarındadır. GOx enzimi ile hidrojen peroksit üretimi farklı pH’larda yapılmıştır. Çözeltiye seyreltik sodyum hidroksit çözeltisi eklenerek pH ayarları yapılmıştır. pH’ın 4,1’in üzerinde olması durumunda oluşan hidrojen peroksit miktarında azalma meydana geldiği gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Sonraki çalışmalarda haşıl sökme sonrası 4,1 olan banyo pH’ının GOx enzimi ile hidrojen peroksit üretimi işleminde değiştirilmemesi uygun görülmüştür.

4.2.1.2. Enzim Miktarının Tespiti

Farklı miktarlarda Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi kullanılarak üretilen hidrojen peroksit miktarları Çizelge 4.8’de verilmiştir. Enzim miktarının %0,4’e kadar artırılması durumunda üretilen hidrojen peroksit miktarında artış sağlanmıştır. Enzim miktarının %0,4’den fazla olması durumunda üretilen hidrojen peroksit miktarında azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4.8). Bu azalmanın nedeninin ticari Gluzyme Mono 10.000 BG enziminin içeriğinde bulunan safsızlıklar kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çizelge 4.8. Gluzyme Mono 10.000 miktarının değişiminin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi (Proses şartları: 55°C, 45 dakika, 2 g/l sodyum asetat)

Enzim miktarı (%)	Giriş pH	Çıkış pH	Peroksit mik. (mg/l)
0,1	4,1	4,2	145
0,2	4,1	4,1	153
0,4	4,1	4,05	161
0,6	4,1	4,0	153
0,8	4,1	4,05	156
1,0	4,1	4,0	149
2,0	4,1	4,05	139
3,0	4,1	4,05	137

Sonraki çalışmalarda kullanılacak Gluzyme Mono 10.000 BG enzim miktarının %0,4 olması uygun görülmüştür.

4.2.1.3. İşlem Süresinin Tespiti

İşlem süresinin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi incelendiğinde; 30-45-60 dakika arasında elde edilen sonuçlarda önemli bir değişim görülmemiştir. Peroksit üretimi için 45 dakikalık sürenin uygun olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Gluzyme Mono 10.000 ile haşıl sökme banyosunda üretilen peroksit miktarlarına sürenin etkisi (Proses şartları: %0,4 Gluzyme Mono 10.000, 55°C, pH 4,0-4,1, 2 ml/l sodyum asetat)

Süre (dakika)	Giriş pH	Çıkış pH	Peroksit mik. (mg/l)
15	4,1	4,15	148
30	4,1	4,11	159
45	4,1	4,15	161
60	4,1	4,11	163
75	4,1	4,05	153
90	4,1	4,08	142

Kısım 4.1.2.3’de Dextrozyme DX enzimi ile haşıl sökme işlemi optimizasyonu yapılırken işlem süresinin artmasının, belirli bir süreden sonra oluşan glikoz miktarında değişime neden olmadığı görülmüştür. GOx enzimi ile çalışmada ise; işlem süresinin artması, oluşan hidrojen peroksit miktarında azalmaya neden olmuştur. Bu durumun; oluşan hidrojen peroksitin stabilitesinin zamanla azalmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.2.1.4. Çalışma Sıcaklığının Tespiti

Gluzyme Mono 10.000 enzimi ile optimum çalışma sıcaklığının tespiti için 30-65 °C arasında 6 farklı seviyede çalışılmıştır.

Çizelge 4.10. Gluzyme Mono 10.000 ile haşıl sökme banyosunda üretilen peroksit miktarlarına çalışma sıcaklığının etkisi (Proses şartları: %0,4 Gluzyme Mono 10.000, 55°C, pH 4,1, 2 g/l sodyum asetat, 45 dakika)

Sıcaklık (°C)	Giriş pH	Çıkış pH	Peroksit mik. (mg/l)
30	4,1	4,15	140
40	4,1	4,11	144
50	4,1	4,15	165
55	4,1	4,11	170
60	4,1	4,05	140
65	4,1	4,08	108

Sıcaklığın artmasıyla enzimin aktivitesini kaybettiği ve üretilen hidrojen peroksit miktarında düşüş meydana geldiği saptanmıştır. İşlem için en uygun sıcaklığın 55°C olduğu görülmüştür (Çizelge 4.10). Bu sıcaklık değerinin altında ve üstünde oluşan hidrojen peroksit miktarı daha azdır. Özellikle sıcaklığın artması, enzimlerin denatüre olmasına ve işlevlerini tamamen yitirmelerine neden olmaktadır.

4.2.1.5. Hidrojen Peroksit Miktarını Artırmaya Yönelik Yapılan Çalışmalar

Hidrojen peroksit miktarının artırılması için banyoya GOx enzimi ile işlem öncesi glikoz eklenmiştir. Substrat miktarının artırılması ile ürün miktarında artış sağlanacağından, daha fazla hidrojen peroksit oluşumunu beklenmektedir.

Çizelge 4.11. Banyodaki ilave glikoz miktarının hidrojen peroksit oluşumuna etkisi (Proses Şartları: %0,4 Gluzyme Mono 10.000 enzimi, 55°C, 45 dakika 2 g/l sodyum asetat)

Glikoz miktarı (%)	Giriş pH	Çıkış pH	Peroksit mik. (mg/l)
0	4,1	4,16	170
5	4,05	4,03	195
7	4,1	4,01	210
9	4,15	4,00	240
11	4,1	4,04	278
13	4,05	4,0	275
15	4,1	4,05	284

Çizelge 4.11'de görüldüğü üzere çözeltiye dışarıdan glikoz ilavesi ile üretilen hidrojen peroksitte az da olsa bir artış sağlanmıştır. Ancak yine de elde edilen hidrojen peroksit miktarları iyi bir ağartma işlemi için yeterli görülmemiştir.

Gluzyme Mono 10.000 enzimi yapılan çalışmalar sonucu optimum işlem şartları;

Enzim miktarı: % 0,4 Gluzyme Mono 10.000 GOx enzimi

pH: 4.1

Sıcaklık: 55°C

Süre: 45 dakika olarak belirlenmiştir.

4.2.1.6. Gluzyme Mono 10.000 BG Enzimi ile Üretilen Hidrojen Peroksit İçin Optimum Ağartma Şartlarının Tespiti

Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi ile farklı pH'larda ağartma işlemleri yapılarak kumaşların beyazlık dereceleri karşılaştırılmıştır. Asidik ve nötr ortamda yapılan ağartmalarda aktivatör kullanılmıştır.

Çalışma pH'ında Yapılan Ağartmalar

Ticari Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi ile yapılan çalışmada; daha önce belirlenen şartlara göre haşıl sökme işlemi ve GOx ile peroksit üretimi yapıldıktan sonra aynı pH'da ağartma işlemine devam edilmiştir. Ağartma öncesi banyo pH'ı 4,1 civarında olduğundan hidrojen peroksiti aktive etmek amacıyla çözeltiliye bir aktivatör ilave edilmiş, 80°C'de, 60 dakika süre ile ağartma yapılmıştır. Farklı enzim miktarları ile çözeltiliye glikoz ilave edilerek de denemeler yapılmıştır.

Çizelge 4.12. Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi kullanılması durumunda ağartma derecesi (Proses şartları: % 10 aktivatör (Prestogen SP), 80°C, 60 dak., pH 4,1)

Enzim (%)	İlave glikoz (%)	Peroksit (mg/l)	Beyazlık derecesi (Stensby)
2	-	136	59,69
2	5	170	60,85
10	-	137	60,15
10	5	178	62,12

Elde edilen beyazlık dereceleri Çizelge 4.12'de verilmiştir. Ham kumaşın beyazlık indeksi 52,26 iken glikoz ilave edilme durumunda bile elde edilen beyazlık değeri 62 Stensby'nin üzerine çıkamamıştır. GOx miktarının artırılması durumunda da elde edilen beyazlık derecelerinde önemli bir artış görülmemiştir.

Hafif Asidik ve Nötr Çalışma pH'ında Yapılan Ağartmalar

GOx enzimi optimize edilen işlem şartlarında peroksit üretimi tamamlandıktan sonra çözeltiliye alkali ilave edilerek hafif asidik ve nötr ortamlarda 80°C'de, 60 dakika süre ile ağartma işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen beyazlık dereceleri 56,20-61,40

Stensby arasında olup, sonuçlar Çizelge 4.13’de verilmiştir. En iyi ağartma pH 4,8’de yapılan işlem sonucu elde edilmiştir. Hafif asidik ve nötr ortamlarda yapılan ağartma sonucu kumaş beyazlık derecelerinde önemli bir değişim görülmemiştir.

Çizelge 4.13 Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi ile üretilen peroksit ile yapılan ağartmalarda, beyazlık derecesine pH’ın etkisi (Proses şartları: pH 4,1-7,8, %10 aktivatör (Prestogen SP), 80°C, 60 dak.)

Haşıl sökme sonu pH	Ağartma pH’ı	Beyazlık (Stensby)
4,1	4,8	61,40
4,1	5	57,23
4,1	5,1	56,12
4,1	6,40	57,49
4,1	7,35	57,20
4,1	7,8	56,20

Bazik Ortamda Yapılan Ağartmalar

Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi ile belirlenen optimum şartlara göre hidrojen peroksit üretilerek aşağıdaki reçeteye göre 60 dakika 98°C’de farklı pH’larda ağartma işlemi yapılmıştır. Ağartma işlemi reçetesi;

X mg/l Hidrojen peroksit,

2 ml/l peroksit stabilizatörü ve iyon tutucu (Antisil CONZ),

2-6 ml/l NaOH ile farklı pH’larda, 98°C’de, 60 dakikadır.

Çizelge 4.14. Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi ile peroksit üretimi ve bazik ortamda ağartma sonucu beyazlık dereceleri (Ağartma prosesi şartları: x mg/l peroksit, 2 ml/l peroksit stabilizatörü, 2 ml/l kompleks yapıcı, 60 dakika, 98°C)

Ağartma pH’ı	8,02	8,5	9,1	10,2	11,1	12,3
Beyazlık derecesi (Stensby)	59,32	60,23	60,16	61,46	63,18	63,96

Bazik ortamda yapılan ağartma denemeleri sonucunda Çizelge 4.14’de görüldüğü gibi kumaşın beyazlık derecesi 59,32-63,96 arasında değişmektedir. pH’ın artması ile beyazlık derecesinde artış olmuştur. Ancak elde edilen beyazlık dereceleri yeterli görülmemiştir.

4.2.1.7. Gluzyme Mono 10.000 BG Enzimi İle Yapılan Çalışmaların Değerlendirilmesi

Her enzimin etkin olduğu optimum şartlar enzim üreticileri tarafından önerilmektedir. GOx enziminin ticari olarak gıda sektöründe kullanılması ve firma tarafından önerilen optimum şartların sulu ortama göre belirlenmemesi (özellikle ekmek hamurunun beyazlatılmasında kullanılmaktadır) enzimin optimum çalışma şartlarının belirlenmesinde sorunlara neden olmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda istenilen peroksit düzeylerine (çözeltiye dışarıdan glikoz takviyesi yapıldığı durumlarda bile) ulaşamamıştır. Kaldı ki çözeltiye dışarıdan glikoz ilave edilmesi zaten çalışmadan beklenen kazanımlarla örtüşmemektedir. İstenilen peroksit konsantrasyonlarına ulaşamadığı için gerek peroksit üretim pH’ında yapılan aktivatörlü, gerekse nötr ve alkali ağartmalarda istenilen beyazlık değerlerini elde etmek mümkün olmamıştır. GOx enziminin aktivitesinin düşük olması, oluşan hidrojen peroksit miktarını azaltabilmektedir. Ancak GOx ile işlem sonucu banyoda glikoz kalmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca enzim miktarındaki artış, oluşan hidrojen peroksit miktarını azaltmaktadır. Enzimin içindeki safsızlıkların hidrojen peroksiti parçaladığı düşünülmektedir. Oluşan hidrojen peroksit miktarının azalmasına gösterilebilecek diğer bir neden ise işlem süresinin artmasıdır.

4.2.2. Saf GOx Enzimi ile Hidrojen Peroksit Üretimi İçin Optimum İşlem Şartlarının Tespiti

Saf GOx enzimi ile çalışma pH’ı, enzim miktarı, işlem süresi ve işlem sıcaklığının oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi incelenmiştir. Banyoya dışardan glikoz ilave edilmesi durumunda meydana gelen hidrojen peroksit miktarı değerlendirilmiştir. Optimum şartlar belirlendikten sonra asidik, nötr ve bazik ortamda yapılan ağartmalar sonucu elde edilen beyazlık dereceleri karşılaştırılmıştır.

4.2.2.1. Saf GOx ile Çalışmada Optimum pH Tespiti

Saf GOx enzimi ile çalışmada, optimum pH'ın belirlenmesi amacıyla haşıl sökme sonucunda banyoya farklı seviyelerde soda ilave edilerek farklı pH'larda meydana gelen hidrojen peroksit miktarlarının tespitine çalışılmıştır.

Çizelge 4.15. GOx enzimi ile çalışmada pH'ın üretilen hidrojen peroksit miktarına etkisi (Proses şartları: :%0,01 saf GOx, 2 g/l sodyum asetat, 55°C'de, 45 dak.)

Soda (g/l)	GOx işlem öncesi pH	GOx işlem sonu pH	Peroksit mik. (mg/l)
-	4,0	3,85	780
1	4,4	3,95	745
1,5	4,6	4,1	720
2	4,8	4,3	730
2,5	4,95	4,55	680
3	5,1	4,6	550
3,5	5,5	4,95	550
4	6,0	5,3	510

Haşıl sökme sonrası soda ilavesi ile banyo pH'ının artırılması durumunda saf GOx enzimi ile üretilen hidrojen peroksit miktarında azalma meydana gelmiştir. En fazla hidrojen peroksit soda ilavesinin yapılmadığı durumda üretilebilmiştir (Çizelge 4.15). Bu nedenle; sonraki çalışmalarda haşıl sökme sonu banyo pH'ının değiştirilmemesi uygun görülmüştür.

4.2.2.2. Saf GOx ile Çalışmada Enzim Miktarının Belirlenmesi

Biozymes firmasından temin edilen saf GOx enzimi ünitesi 1 000 000 U/gr'dır. Yüksek saflıktaki bu enzimin ünitesi, daha önce kullanılan Gluzyme Mono 10.000 BG ticari GOx enzimine göre 100 kat fazladır. Bu nedenle saf GOx enziminden daha az kullanılarak haşıl sökme banyosundaki glikozdan hidrojen peroksit üretilebileceği beklenmektedir.

Çizelge 4.16. Saf GOx ile enzim miktarı değişiminin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi (Proses şartları: 2g/l sodyum asetat, 55°C’de, 45 dak.)

Enzim miktarı (%)	Giriş pH	Çıkış pH	Peroksit mik. (mg/l)
0,004	4,1	3,95	510
0,008	4,1	3,9	620
0,01	4,1	3,9	772
0,012	4,1	3,85	780
0,016	4,1	3,80	775
0,02	4,1	3,80	785

Farklı konsantrasyonlarda kullanılan enzim ile elde edilen peroksit miktarları Çizelge 4.16’da gösterilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda %0,01’lik konsantrasyonun yukarısında çok büyük değişimler olmadığı görülmüştür. Optimum enzim miktarı %0,01 olarak kabul edilmiştir.

4.2.2.3. Saf GOx ile Çalışmada Optimum Süre Tespiti

Bir enzim reaksiyonunun hızı, belirli bir zamanda üretilen ürünün miktarı ile belirlenmektedir. Ortamdaki substratın tamamı ürüne dönüştüğünde enzim işlevini yapmayacaktır. Optimum çalışma süresinin belirlenmesi zaman ve maliyet açısından önemlidir. GOx enzimi ile meydana gelen hidrojen peroksitin zamanla bozulma riski bulunmaktadır.

Çizelge 4.17. Saf GOx enzimi ile çalışmada sürenin üretilen hidrojen peroksit miktarına etkisi (Proses şartları: %0,01saf GOx enzimi, 2g/l sodyum asetat, 55°C)

Süre (dak.)	Giriş pH	Çıkış pH	Peroksit mik. (mg/l)
15	4,1	3,9	660
30	4,1	3,95	775
45	4,1	3,9	770
60	4,1	3,9	780
75	4,1	3,96	770
90	4,1	3,85	765

İşlem süresinin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi incelendiğinde; 30-75 dakika arasında elde edilen hidrojen peroksit miktarı değişiminde önemli bir fark görülmemiştir (Çizelge 4.17). Hidrojen peroksit üretimi için 45 dakikalık sürenin yeterli olduğuna karar verilmiştir.

4.2.2.4. Saf GOx ile Çalışmada Optimum Sıcaklık Tespiti

Saf GOx enzimi ile farklı sıcaklıklarda 45 dakika süre ile yapılan çalışmalarda oluşan hidrojen peroksit miktarında önemli değişimler görülmüştür. GOx ile işlem sıcaklığı arttıkça meydana gelen hidrojen peroksit miktarında da artma saptanmıştır. Ancak; 55°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda çalışılması durumunda üretilen peroksit miktarında düşüş meydana gelmiştir. Bu düşüşün nedeninin sıcaklıkla enzim aktivitesinin azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Optimum çalışma sıcaklığının 55°C olması uygun görülmüştür.

Çizelge 4.18. Saf GOx enzimi ile çalışmada sıcaklığın üretilen hidrojen peroksit miktarına etkisi (Proses şartları: %0,01saf GOx enzimi, 2 g/l sodyum asetat, 45 dak.)

Sıcaklık	35°C	40°C	45°C	50°C	55°C	60°C	65°C	70°C
Peroksit miktarı (mg/l)	540	620	690	784	765	720	430	280
	532	585	685	767	779	745	450	325
	508	614	680	750	802	735	410	310
	508	632	630	760	786	721	220	280

Saf GOx enzimi ile yapılan çalışmalar sonucu optimum işlem şartları;

Enzim miktarı: %0,01 GOx enzimi

pH: 4,1

Sıcaklık: 55°C

Süre: 45 dakika olarak tespit edilmiştir.

4.2.2.5. Saf GOx ile Çalışmada Çözeltiye Glikoz İlave Edilmesi

Banyoya dışardan glikoz eklenerek saf GOx enzimi ile hidrojen peroksit üretiminde artış görülmüştür. Elde edilen peroksit miktarları 1310 mg/l'ye kadar ulaşmıştır (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. Glikoz ilave edilmesi ve saf GOx enzimi kullanılması durumunda üretilen hidrojen peroksit miktarı (Proses şartları: %0,1saf GOx enzimi,2 g/l sodyum asetat, 45 dak., 55°C)

Enzim (%)	Glikoz (%)	GOx ile işlem sonu pH	Peroksit mik. (mg/l)
0,01	-	4,25	731
0,01	2	4,35	909
0,01	4	4,20	1106
0,01	6	4,30	1310

Kısım 4.2.1.5.'de Gluzyme Mono 10.000 GOx enzimi ile yapılan çalışmada glikoz miktarının artırılmasının oluşan hidrojen peroksit miktarında önemli bir artışa neden olmadığı görülmüştü. Saf GOx enzimi ile çalışmada ise; glikoz miktarının artması, hidrojen peroksit miktarında artışa neden olmuştur (Çizelge 4.19). Çözeltiye glikoz ilave etmek çalışmanın amacı ile örtüşmediğinden daha sonraki çalışmalarda glikoz ilave edilmeksizin işlemlere devam edilmiştir.

4.2.2.6. Saf GOx Enzimi ile Üretilen Hidrojen Peroksit İçin Optimum Ağartma Şartlarının Tespiti

Saf GOx enzimi ile daha önce tespit edilen en fazla hidrojen peroksitin elde edildiği şartlara (%0,01 saf GOx enzimi, pH 4,1, 55°C, 45 dakika) göre işlem yapılarak kumaşlara, farklı pH'larda ağartma işlemleri uygulanmıştır.

Çalışma pH'ında Yapılan Ağartmalar

Saf GOx enzimi daha önce optimizasyonu yapılan şartlarda hidrojen peroksit üretimi yapıldıktan sonra banyo pH'ı değiştirilmeksizin çözeltiye aktivatör ilave edilmiş, 80°C'de, 60 dakika süre ile ağartma yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.20'de verilmiştir. Glikoz miktarındaki artış, oluşan hidrojen peroksit miktarını

artırmıştır. Ancak artan hidrojen peroksit konsantrasyonu elde edilen beyazlık derecelerinde önemli bir artış meydana getirmemiştir. Beyazlık derecesi hidrojen peroksit miktarının 1310 mg/l olması durumunda bile Stensby beyazlık indeksine göre 63,11 olmuştur.

Çizelge 4.20. Glikoz ilave edilmesi ve saf GOx enzimi kullanılması durumunda üretilen hidrojen peroksit miktarına bağlı olarak elde edilen beyazlık değerleri (Proses şartları: % 10 aktivatör (Prestogen SP), 80°C, 60 dak.)

Glikoz (%)	GOx ile işlem sonu pH	Peroksit mik. (mg/l)	Beyazlık (Stensby)
-	4,15	731	59,69
2	4,35	909	60,85
4	4,2	1106	62,16
6	4,3	1310	63,11

Hafif Asidik ve Nötr Çalışma pH'ında Yapılan Ağartmalar

Haşıl sökme işlemi ve peroksit üretimi tamamlandıktan sonra nötr ortamda 80°C'de ağartma işlemi 60 dakika süreyle yapılmıştır. Ağartma işleminde %10 aktivatör kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde nötr ortamda aktivatörlü ağartma ile beyazlık derecelerinin asidik ortamda yapılan ağartmaya göre artış gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Nötr ortamda aktivatörlü yapılan çalışmalar (Proses şartları: Ağartma: nötr pH, %10 aktivatör, 80°C, 60 dak.)

Ağartma pH'ı	Beyazlık (Stensby)	Hidrofilite (Su Sütunu, 300 s) (mm)
7,13	64,97	37
6,85	64,85	33
6,95	63,86	35
6,90	64,65	36
6,80	64,66	34
6,75	64,611	33

Nötr ortamda yapılan ağartma işlemlerinde su sütunu yöntemine göre ölçülen hidrofilite değerleri Çizelge 4.21’de verilmiştir. Elde edilen hidrofilite değerleri yeterli değildir. En iyi hidrofilite değerleri banyo pH’ının en yüksek olduğu çalışmada elde edilmiştir.

Bazik Ortamda Yapılan Ağartmalar

Optimize edilen haşıl sökme ve saf GOx ile yapılan çalışmalardan sonra pH sodyum hidroksit ilavesiyle 9-12 arasında ayarlanmış ve klasik peroksit ağartma prosedürü uygulanmıştır (98°C, 60 dakika, 1,5 ml/l peroksit stabilizatörü). Yapılan işlem sonucu alkali miktarındaki artışa paralel olarak beyazlık derecesinde değişimler görülmüştür. En iyi beyazlık derecelerine, alkali ortamda yapılan ağartma çalışmaları sonucu ulaşılmıştır. Ağartma sonrası elde edilen hidrofilite değerleri aşağıda verilmiştir (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. Saf GOx enzimi ile işlem sonrası alkali pH’larda yapılan ağartmalar (Proses şartları: bazik pH, 98°C, 60 dakika, 1,5ml/l peroksit stabilizatörü)

Hidrojen peoksit (mg/l)	Kostik (ml/l)	Ağartma sonu pH	Stenbsy beyazlık	Hidrofilite (Su Sütunu, 300 s) (mm)
720	5	9,3	66,12	62
680	5	8,8	62,15	60
730	5	10,85	64,16	62
730	6	10,70	72,11	63
650	6	10,65	70,12	64
720	6	10,52	70,62	63
630	7	11,80	73,50	64
725	7	12,10	74,11	64
730	8	11,50	72,52	63
770	8	12,50	71,25	65
660	8	12,30	70,11	63

Elde edilen sonuçlar, uygun enzim seçimi ve proses şartları belirlenmesiyle haşıl sökme banyosunda ağartma için yeterli hidrojen peroksitin üretilebileceğini göstermiştir. Ağartma işleminin asidik veya nötr ortamda yapılması elde edilen hidrofilitte değerlerinin düşük çıkmasına neden olmuştur. Hafif asidik veya nötr ortamda yapılan ağartmalarda su sütunu testine göre 33-37 mm'lik yükselme olurken bazik ortamda yapılan ağartmada, 60-65 mm'lik yükselme olmuştur. Kısım 3.2.2.1'de belirtilen şartlarda konvansiyonel yöntemle göre ağartma işlemi yapılan kumaşların hidrofilitte değerleri su sütunu testine göre 63-66 mm olmuştur. Çizelge 4.22'de görüldüğü gibi ağartma işleminin pH 11-12 arasında yapılması durumunda elde edilen beyazlık dereceleri 73-74 Stensby seviyelerine ulaşmıştır.

4.2.2.7. Saf GOx Enzimi İle Yapılan Çalışmaların Değerlendirilmesi

Saf GOx enzimi ile yapılan çalışmalarda 600-800 mg/l hidrojen peroksit üretilmiştir. Üretilen hidrojen peroksitle bazik ortamda yapılan ağartma işlemleri sonucu beyazlık dereceleri koşullara bağlı olarak 70-74 Stensby arasında değişmektedir. Saf glikoz oksidaz enzimi ile çalışma koşullarının optimizasyonu için yapılan çalışmalar sonucu kumaş üzerinde bitlerin (ham pamuk lifinden gelen bitkisel atıklar) tamamen okside olduğu görülmüştür. Konvansiyonel ağartma işlemlerinde elde edilen beyazlık dereceleri 78-85 Stensby arasında değişmektedir. Hidrojen peroksit ağartmasındaki asıl amaç pamuk lifindeki renkli pigmentleri okside ederek renksizleştirmektir. Ağartma derecesinin artırılması, mukavemet kaybına neden olduğu gibi kumaşın tutumunu da olumsuz etkilemektedir (Adanur 1995). Ağartmada kullanılan hidrojen peroksit miktarının artırılması yüksek beyazlıkların yanı sıra mukavemet kaybı, polimerizasyon derecesinde düşüşler, tutumun sertleşmesi gibi olumsuzlukları da beraberinde getirmektedir. Elde edilen beyazlık dereceleri konvansiyonel yöntemle elde edilen beyazlık derecelerinden düşük olsa da, özellikle açık ve orta renk boyanacak kumaşlar için yeterli seviyede olduğu söylenebilir. Saf GOx enzimi ile yapılan çalışmalarda tekrarlanabilirlikler, Gluzyme Mono 10.000 BG enzimi ile yapılan çalışmalara göre daha iyi çıkmıştır. Kullanılan enzimin saf olması bazı sorunlara neden olmuştur. Bu enzimin saklama koşullarının -15°C ve altında olması, işletme şartlarında kullanımını zorlaştırmaktadır. Hafif asidik ve nötr ortamda aktivatör kullanılarak yapılan ağartma

işlemi sonucunda kumaş üzerinde bitlere rastlanmıştır. Alkali ortamda yapılan ağartmalarda ise kumaş üzerinde bit gözlemlenmemiştir.

4.2.3. Multifect GO 5000L Enzimi İle Yapılan Çalışmalar

GENENCOR INTERNATIONAL firması tarafından yüksek oranda saflaştırılmış Multifect GO 5000L ticari GOx enzimi ile çalışmalar yapılmıştır. Enzimin ünitesi 4000 Titremetrik ünite/ml olarak belirtilmiştir (Bir titremetrik ünite 3 mg glikozu pH 5,1 ve 35°C'de glikonik asite dönüştürmektedir). Çalışma şartları pH 3,5-7 ve 35-60°C arasında önerilmiştir. En iyi verimin ise pH 5,1 ve 50°C'de alındığı belirtilmiştir. Enzimin bir yıl süre ile +4°C de saklandığında aktivite kaybının %6, 25°C de saklandığında ise aktivite kaybının %9 olduğu üretici firma tarafından belirtilmiştir. Bu enzimlerle yapılacak işlemlerde optimum çalışma koşullarının belirlenmesine çalışılmıştır.

4.2.3.1. Multifect GO 5000L ile Çalışmada Optimum pH Tesbiti

Kısım 4.2.2.1'de belirtildiği üzere saf GOx enzimi ile yapılan çalışmada pH 4,1 civarında en yüksek hidrojen peroksit miktarına ulaşılmış ve banyoya 2 g/l sodyum asetat ilave edilmesi ile ise hidrojen peroksiti üretimi esnasında pH değişimi meydana gelmemiştir. Multifect GO 5000L GOx enzimi ile yapılan çalışmada ise optimum pH'ın belirlenmesi amacıyla haşıl sökme sonucunda banyoya 2 ml/l sodyum asetat ve seyreltik sodyum hidroksit (NaOH) eklenerek farklı pH'larda açığa çıkan hidrojen peroksit miktarları incelenmiş, pH 5,1 civarında en fazla hidrojen peroksit oluştuğu görülmüştür (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. Multifect GO 5000L ile enzim miktarı değişiminin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi (Proses şartları:2 ml/l Oxy GO HPL5000, 2 g/l sodyum asetat, 50°C’de, 45 dak.)

GOx işlem öncesi pH	GOx işlem sonu pH	Peroksit mik. (mg/l)
4,1	3,8	670
4,3	3,9	680
4,5	4,0	695
4,56	4,15	720
4,7	4,35	745
4,82	4,45	754
5,1	4,76	745
5,4	5,1	765
6,0	5,6	710
6,6	6,2	610
7	6,3	525

Multifect GO 5000L enzimi ile çalışmada işlem sonunda banyo pH’ında değişimler meydana geldiği görülmüştür. Çizelge 4.23’de görüldüğü gibi 2 g/l sodyum asetat kullanımı ile pH’ı 5,1 yapmakta sorunlarla karşılaşmıştır. Bu nedenle kullanılacak sodyum asetat miktarının tespiti için çalışmalar yapılmıştır.

Çizelge 4.24. Sodyum asetat miktarının GOx işlemi sonucu pH’a etkisi(Proses şartları: 2 ml/l Multifect GO 5000L, 50°C’de, 45 dak.)

Sodyum asetat (g/l)	GOx işlemi giriş pH	GOx işlemi çıkış pH
-	5,1	4,2
1	5,15	4,8
2	5,1	4,85
3	5,12	5,1
4	5,07	5,01
5	5,16	5,1
6	5,12	5,08

Haşıl sökme sonunda banyoya farklı miktarlarda sodyum asetat ilave edilerek seyreltik NaOH çözeltisi ile pH'nın 5-5,2 arasında olması sağlanmıştır. Multifect GO 5000L GOx enzimi ile işlem yapıldıktan sonra 3 g/l sodyum asetat kullanılması durumunda işlem esnasında pH değişiminin en az olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.24). Sonraki çalışmalarda 3 g/l sodyum asetat ve seyreltik NaOH çözeltisi ile pH 5,1'e ayarlanarak işlemlere devam edilmesi uygun görülmüştür.

4.2.3.2. Multifect GO 5000L ile Çalışmada Enzim Miktarının Belirlenmesi

Çizelge 4.25. Multifect GO 5000L ile enzim miktarı değişiminin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi (Proses şartları: 3g/l sodyum asetat, 50°C'de, pH 5,1, 45 dak.)

Enzim (ml/l)	0,5	1	1,5	2	2,5	3	3,5	4	4,5	5
Peroksit (mg/l)	442	449	762	765	762	730	742	732	720	726

Multifect GO 5000L GOx enziminin sıvı formda olması kullanımı kolaylaştırmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucu, Multifect GO 5000L enzim miktarının 2ml/l olması durumunda en fazla hidrojen peroksit miktarına ulaşılmıştır. Açığa çıkan hidrojen peroksit miktarı, saf GOx enzimi ile elde edilen miktara yakındır. Enzim miktarındaki artış, oluşan hidrojen peroksit miktarında azalmaya neden olmuştur. 2 ml/l'nin altındaki enzim konsantrasyonlarında oluşan ise hidrojen peroksit miktarının yetersiz olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 4.25).

4.2.3.3. Multifect GO 5000L ile Çalışmada Optimum Süre Tespiti

İşlem süresinin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi incelendiğinde; Çizelge 4.26'da görüldüğü gibi 30 dakika ve üzeri işlemlerde elde edilen hidrojen peroksit miktarı değişiminde önemli bir fark görülmemiştir. Peroksit üretimi için 30 dakikalık sürenin uygun olduğuna karar verilmiştir.

Çizelge 4.26. Multifect GO 5000L enzimi ile sürenin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi (Proses şartları:2ml/l Multifect GO 5000L, pH 5,1, 3 g/l sodyum asetat, 50°C)

Süre (dak.)	Peroksit mik. (mg/l)
15	720
30	772
45	770
60	765

4.2.3.4. Multifect GO 5000L ile Çalışmada Optimum Sıcaklığın Tespiti

Multifect GO 5000L enzimi ile sıcaklık tespiti yapılırken sıcaklık aralığının 35-60°C arasında olması gerektiği, en iyi performansa ise 50°C’de ulaşıldığı enzimi üreten firma tarafından belirtilmiştir.

Çizelge 4.27. Multifect GO 5000L enzimi ile çalışmada sıcaklığının üretilen hidrojen peroksit miktarına etkisi (Proses şartları: 3g/l sodyum asetat, 2ml/l Multifect GO 5000L, pH 5,1, 30 dak.)

Sıcaklık	40°C	45°C	50°C	55°C	60°C
Peroksit miktarları (mg/l)	720	718	765	740	735
	714	732	780	755	760
	729	738	772	775	755
	732	716	758	753	748

Çizelge 4.27’de görüldüğü gibi 50°C de üretilen hidrojen peroksit miktarları daha fazladır. Bundan sonraki çalışmalarda GOx işlemi sıcaklığının 50°C olması uygun görülmüştür.

Multifect GO 5000L enzimi ile yapılan çalışmalar sonucu optimum işlem şartları;

Enzim miktarı: 2ml/l Multifect GO 5000L enzimi

pH: 5,1

Sıcaklık: 50°C

Süre: 30 dakika olarak tespit edilmiştir.

4.2.3.5. Multifect GO 5000L ile Elde Edilen Hidrojen Peroksit ile Ağartma İşlemi

Ağartma işlemi öncesi açığa çıkan hidrojen peroksit miktarı daha önce kullandığımız saf GOx enzimi ile elde edilen peroksit miktarına yakındır. Bu nedenle pH 11-12 aralığında bazik ortamda ağartma yapılması uygun görülmüştür. Ayrıca ağartma işlemi saf GOx enzimi ile 98°C’de 60 dakika süreyle yapılmaktaydı. Multifect GO 5000L GOx enzimi ile hidrojen peroksit üretimi sonrası alkali ortamda yapılan ağartmada, 40 dakikadan sonra banyoda hidrojen peroksit kalmadığı tespit edilmiştir. Bu nedenle hem zamandan hem de enerjiden kazanmak amacı ile ağartma işleminin 98°C’de 45 dakikada yapılması uygun görülmüştür. Hafif asidik ve nötr ortamda yeterli beyazlık derecelerine ulaşamadığından Multifect GO 5000L enzimi ile çalışmalarda sadece alkali ortamda ağartma işlemi yapılmıştır.

Çizelge 4.28. Multifect GO 5000L enzimi ile işlem sonrası alkali pH’larda yapılan ağartmalar (Proses şartları: bazik pH, 98⁰C, 45 dakika, 1,5ml/l peroksit stabilizatörü)

Hidrojen peroksit (mg/l)	Ağartma sonu pH	Stenbsy beyazlık	Hidrofilite (Su sütunu, 300 s) (mm)
775	11,81	70,92	64
750	11,63	71,15	62
775	11,71	71,33	64
762	11,65	71,65	63
764	11,89	71,23	65
745	11,73	71,9	65
772	11,88	72,01	64
776	11,66	70,86	65
770	11,85	71,62	65
748	12,01	71,54	63
772	11,87	71,67	64
780	11,80	70,32	65

Çizelge 4.28’de görüldüğü gibi ağartma işleminin tekrarlanabilirliği oldukça iyidir. Elde edilen beyazlık seviyesi konvansiyonel ağartmada elde edilen 78-85 Stensby

beyazlık derecesinden az olsa da kumaş üzerinde bit denilen safsızlıkların tamamen giderildiği gözlenmiştir. Hidrofilite testi sonuçları saf GOx enzimi ile yapılan çalışmalarda elde edilen değerlere yakın çıkmıştır. pH 11,5-12 aralığında yapılan ağartma işlemi sonucunda elde edilen beyazlık dereceleri 70-72 stenbsy arasında çıkmıştır.

4.2.3.6. Multifect GO 5000L Enzimi İle Yapılan Çalışma Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Multifect GO 5000L GOx enzimi ile işlem şartları optimizasyonu sonuçları saf GOx enzimi ile yapılan optimizasyon sonuçlarına benzerlik göstermektedir. Multifect GO 5000L GOx enzimi ile pH 5,1 civarında en fazla hidrojen peroksit üretilmiştir. Bu farklılığın nedeni, saf enzimin stabilitesinin ticari Multifect GO 5000L GOx enziminin stabilitesinden daha düşük olması olarak açıklanabilir. Ayrıca Multifect GO 5000L GOx enzimi ile yapılan çalışmaların tekrarlanabilirliklerinin diğer GOx enzimleri ile yapılan çalışmalardan daha iyi olduğu görülmüştür. Enzim stabilitesinin yüksek olmasının enzimin çalışma esnasında banyodaki kimyasallardan daha az etkilenmesini sağlamış olabileceği düşünülmektedir.

Multifect GO 5000L GOx enzimi ile yapılan çalışmalar sonucu optimum işlem şartları; 2ml/l Multifect GO 5000L, pH 5,1'de, 30 dakika işlem süresi, çalışma sıcaklığı 50°C olarak belirlenmiş ve pH 11,5-12 aralığında ağartma işleminin yapılması uygun görülmüştür.

4.2.4. GOx Enziminin Seçimi

Haşıl sökme işleminden sonra hidrojen peroksit üretiminin Multifect GO 5000L GOx enzimi ile tespit edilen koşullarda yapılması uygun görülmüştür. Multifect GO 5000L GOx enzimi ile devam edilmesinin nedenlerini, enzim stabilitesinin diğer GOx enzimlerinden iyi olması, saf GOx ile ağartma işlemi sonucu elde edilen beyazlık derecelerine yakın olması, tekrarlanabilirliklerinin diğer GOx enzimlerinden daha iyi olması, sıvı halde olmasının kullanımını kolaylaştırması ve ılıman şartlarda depolandığından aktivite kaybının çok az olması olarak sıralayabiliriz.

4.3. Boyama İşlemleri

Ön terbiye işlemlerinde pamuktaki safsızlıklar ve kullanılan kimyasalların boyama öncesi uzaklaştırılması, boyamanın etkinliği açısından önemlidir (Anonim 2004). Bu safsızlıklar kumaş üzerine çökerek boyamada düzgünsüzlüğe ve boyarmaddeyi hidroliz ederek boyama veriminin düşmesine neden olurlar (Shore 1995). Son yıllarda tekstil yardımcı kimyasalları üreten firma sayısının artması rekabeti de artırmıştır. Tekstil terbiyecileri, yardımcı kimyasal üretici firmalardan istenilen etkiyi her koşulda gösteren (asidik, bazik ortamda çalışmaya uygun), ekonomik, dayanıklı yardımcı kimyasallar geliştirmesini beklemektedir. Günümüzde üretilen yardımcı kimyasallar birçok işleve sahip olduğundan farklı proseslerde ve farklı koşullarda kullanılma olanağı bulmaktadır.

Çektirme yöntemine göre çalışmada ön terbiye işlemlerinde kullanılan yüzey aktif madde; dispersant, iyon tutucu gibi yardımcı kimyasallar işlemler sonunda banyo ile birlikte atılmaktadır. Bu yardımcı maddelerin işlevlerini başka proseslerde de yerine getirebilme özelliklerinin olduğunu tekstil yardımcı kimyasalları üreten firmalar belirtmektedir. Son yıllarda özellikle pamuklu örme mamüllerine aynı banyoda enzimatik hidrofilleştirme ve boyama yapılması ile uygulamalar artmaktadır. Literatürde ise aynı banyoda %100 nişasta haşılı kumaşa enzimatik haşıl sökme, hidrofilleştirme, enzimatik ağartma ve boyamanın yapıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Haşıl sökme işleminden sonra boyamaya aynı banyoda devam edilmesi durumunda en büyük problem, boya banyosundaki haşıl maddesinin boyamaya olumsuz etki etmesidir. Prosesimizde glikozu glikonik asite dönüştürdüğümüz için boya banyosunda glikozun yaratacağı problemler elimine edilmiştir. Boyama adımından önce katalaz enzimi ile pH 5,5-6,5 arasında işlem yapılmıştır. Bu işlemin en büyük faydası ağartma işlemi sonrası banyoda kalan hidrojen peroksitin giderilmesi ve boyaya giriş pH'nın ayarlanmasını kolaylaştırmasıdır. Boyadaki sodyum asetatın tampon görevi yaparak boyama esnasında pH dalgalanmalarını önlemesi beklenmektedir. Haşıl sökme banyosunda kullanılan çok fonksiyonlu yüzey aktif maddenin egalize özelliği bulunması da diğer bir avantajdır. Çalışmanın son aşamasını aynı banyoda boyama işlemlerine devam edilmesi için yapılan çalışmalar oluşturmaktadır.

Konvansiyonel yönteme ve tek banyo yöntemine göre boyanmış kumaşların L^* , a^* , b^* , K/S , h° açısı, %R (Reflektans) gibi renk parametrelerinin ortalama, standart sapma, %CV değerleri çizelgeler halinde verilmiştir. Buna göre Kısım 3.2.4'de açıklandığı gibi üç faktörlü sınırlamasız varyans analizi ile %5 anlamlılık seviyesinde ANOVA ve SNK test sonuçları Ekler kısmında verilmiştir. Üç farklı boyarmadde için elde edilen sonuçların değerlendirilmesi yapılmıştır. Tek banyo ve konvansiyonel yönteme göre boyama sonucunda elde edilen renk bilgilerinin ortalamaları referans alınarak ΔE^* CIELab değerleri hesaplanmıştır. Bu şekilde her iki yöntem içinde tekrarlanabilirlikler karşılaştırılmıştır.

4.3.1. Procion Yellow HEXL İle Boyama Sonuçları

Çizelge 4.29. Procion Yellow HEXL İle boyanmış kumaşların renk bilgileri ortalama, standart sapma ve %CV değerleri(1: Konvansiyonel yöntem, 2: Tek banyo yöntemi, Ort.: Ortalama, SS: Standart sapma)

İşlem	Reçete	Boya(%)	Yrd.Madde	%R	K/S	L*	a*	b*	C*	h
1	Reçete A	0,03	Ort	47,88	0,28	88,37	5,93	21,77	22,57	74,76
			SS	0,57	0,01	0,08	0,13	0,45	0,47	0,13
			%CV	1,19	3,39	0,09	2,15	2,07	2,06	0,17
1	Reçete B	0,03	Ort.	47,53	0,29	88,22	6,05	21,90	22,72	74,56
			SS	0,45	0,01	0,20	0,15	0,25	0,28	0,20
			%CV	0,95	2,69	0,22	2,44	1,12	1,21	0,26
1	Reçete A	0,125	Ort.	29,20	0,86	82,79	14,19	35,40	38,14	68,16
			SS	0,25	0,01	0,17	0,29	0,49	0,56	0,15
			%CV	0,85	1,56	0,20	2,05	1,38	1,47	0,22
1	Reçete B	0,125	Ort.	28,90	0,87	82,38	14,15	35,15	37,89	68,08
			SS	0,58	0,03	0,36	0,41	0,82	0,90	0,21
			%CV	2,02	3,68	0,43	2,87	2,33	2,39	0,31
1	Reçete A	0,25	Ort.	20,69	1,52	78,95	19,79	42,90	47,25	65,24
			SS	0,44	0,05	0,70	0,52	0,57	0,39	0,80
			%CV	2,13	3,23	0,88	2,62	1,32	0,82	1,23
1	Reçete B	0,25	Ort.	20,38	1,56	78,92	19,24	43,36	47,43	66,08
			SS	0,35	0,04	0,38	0,60	0,26	0,46	0,57
			%CV	1,72	2,58	0,49	3,14	0,60	0,97	0,86
2	Reçete C	0,03	Ort.	45,78	0,32	87,26	5,76	22,05	22,79	75,37
			SS	0,46	0,01	0,13	0,13	0,27	0,27	0,31
			%CV	1,01	2,73	0,15	2,34	1,22	1,20	0,42
2	Reçete D	0,03	Ort.	45,95	0,32	87,34	5,81	22,01	22,76	75,20
			SS	0,28	0,01	0,07	0,17	0,20	0,23	0,30
			%CV	0,62	1,67	0,08	2,96	0,89	1,02	0,40
2	Reçete C	0,125	Ort.	29,72	0,83	82,48	13,16	34,13	36,58	68,92
			SS	0,43	0,02	0,10	0,34	0,53	0,61	0,25
			%CV	1,43	2,66	0,13	2,60	1,57	1,68	0,37
2	Reçete D	0,125	Ort.	29,36	0,85	82,46	13,58	34,61	37,18	68,59
			SS	0,98	0,05	0,37	0,56	0,87	1,01	0,31
			%CV	3,34	6,19	0,44	4,09	2,51	2,72	0,45
2	Reçete C	0,25	Ort.	21,81	1,40	79,29	18,34	41,44	45,32	66,12
			SS	0,41	0,04	0,33	0,05	0,27	0,27	0,09
			%CV	1,90	2,93	0,41	0,30	0,65	0,59	0,13
2	Reçete D	0,25	Ort.	21,25	1,46	78,98	18,53	41,92	45,84	66,16
			SS	0,27	0,03	0,48	0,58	0,97	0,92	0,18
			%CV	1,21	2,01	0,61	2,99	2,31	2,01	0,27

Procion Yellow HEXL ile konvansiyonel ve tek banyo yöntemine göre 3 farklı boyarmadde konsantrasyonu ve boyama sonucu kumaş renk bilgileri ortalama değer, standart sapma ve %CV değerleri Çizelge 4.29'da verilmiştir. Reflektans değerleri incelendiğinde; tek banyo yöntemi - %0,125 boyarmadde konsantrasyonu-reçete D ile çalışmanın %CV değeri 3,34, diğer bütün çalışmalardaki reflektans değerinin %CV değerleri, 3' ün altında çıkmıştır. Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre K/S değerlerine $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde yardımcı kimyasalın etkisi olmadığı, işlemin etkisinin çok çok az olduğu, boyarmadde konsantrasyonun ise anlamlı etkisi olduğu görülmüştür (EK-1.1). K/S değerlerinin boyarmadde konsantrasyonu ile değiştiği daha önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir (Tzanov ve ark. 2001).

L* değeri incelendiğinde reçetelerin hepsinin kendi içindeki %CV değerleri 1'in altında çıkmıştır (Çizelge 4.29). Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre L* değerlerine işlem ve yardımcı kimyasalın $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde etkisi olmadığı, boyarmadde konsantrasyonunun etkisi olduğu görülmüştür (EK-1.2). SNK testi sonucunda boyarmadde konsantrasyonu arttıkça L* değerinde düzenli bir azalma görülmüştür. Aynı sonuca daha önce yapılan çalışmalarda da ulaşıldığı bilinmektedir (Dimitrovski ve ark. 2004).

a* değerleri incelendiğinde konvansiyonel yöntem-reçete B-%0,25 boyarmadde konsantrasyonu ve tek banyo yöntemi-reçete D-%0,125 boyarmadde konsantrasyonu ile yapılan işlemlerin %CV değerleri sırasıyla 3,14 ve 4,09 çıkmıştır. Diğer çalışmalar için a*, %CV değerlerinin hepsi 3'ün altında çıkmıştır (Çizelge 4.29). Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde a* değerlerine yardımcı kimyasalın etkisi olmadığı, işlemin etkisinin olduğu; fakat işlemin etkisinin boyarmadde konsantrasyonunun etkisine göre çok az olduğu görülmüştür (Ek-1.3). b* için %CV değerlerinin hepsi 3'ün altında çıkmıştır (Çizelge 4.29). Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde b* değerleri işlem, boyarmadde konsantrasyonu ve yardımcı kimyasalın etkisi, a* için elde edilen sonuçlara benzer çıkmıştır (Ek-1.4).

4.3.2. Procion Crimson HEXL İle Boyama Sonuçları

Çizelge 4.30. Procion Crimson HEXL ile boyanmış kumaşların renk bilgileri ortalama, standart sapma ve %CV değerleri(1: Konvansiyonel yöntem, 2: Tek banyo yöntemi, Ort.: Ortalama, SS: Standart sapma)

İşlem	Reçete	Boya(%)	Yrd.Madde	%R	K/S	L*	a*	b*	C*	h
1	Reçete A	0,03	Ort.	43,39	0,37	78,63	23,15	-6,28	23,99	344,87
			SS	0,49	0,01	0,07	0,48	0,20	0,51	0,13
			%CV	1,14	2,91	0,09	2,07	-3,11	2,14	0,04
1	Reçete B	0,03	Ort.	43,25	0,37	78,53	23,46	-6,32	24,29	345,00
			SS	0,31	0,01	0,15	0,15	0,03	0,14	0,04
			%CV	0,72	1,75	0,19	0,66	-0,41	0,59	0,01
1	Reçete A	0,125	Ort.	23,86	1,22	67,01	37,15	-7,48	37,89	348,61
			SS	0,57	0,05	0,43	0,40	0,07	0,38	0,21
			%CV	2,37	3,81	0,65	1,07	-0,89	1,00	0,06
1	Reçete B	0,125	Ort.	24,53	1,16	67,51	36,41	-7,39	37,15	348,51
			SS	0,64	0,05	0,40	0,96	0,24	0,98	0,10
			%CV	2,61	4,25	0,60	2,63	-3,21	2,65	0,03
1	Reçete A	0,25	Ort.	17,07	2,01	61,49	42,89	-7,26	43,50	350,39
			SS	0,24	0,04	0,25	0,20	0,03	0,20	0,04
			%CV	1,43	2,01	0,41	0,47	-0,48	0,47	0,01
1	Reçete B	0,25	Ort.	16,94	2,04	61,39	42,86	-7,34	43,49	350,30
			SS	0,13	0,02	0,06	0,26	0,08	0,25	0,12
			%CV	0,75	1,05	0,10	0,60	-1,05	0,57	0,04
2	Reçete C	0,03	Ort.	44,01	0,36	78,70	21,67	-4,19	22,08	348,89
			SS	0,86	0,02	0,44	0,54	0,19	0,57	0,57
			%CV	1,96	5,09	0,56	2,51	-4,48	2,57	0,16
2	Reçete D	0,03	Ort.	44,08	0,35	78,92	21,81	-4,51	22,28	348,79
			SS	0,40	0,01	0,17	0,30	0,30	0,33	0,71
			%CV	0,90	2,33	0,21	1,38	-2,66	1,49	0,20
2	Reçete C	0,125	Ort.	24,70	1,15	67,56	36,19	-6,92	36,85	349,09
			SS	0,66	0,05	0,50	0,37	0,02	0,36	0,15
			%CV	2,65	4,37	0,74	1,02	-0,26	0,98	0,04
2	Reçete D	0,125	Ort.	25,14	1,12	67,83	35,71	-7,05	36,40	348,83
			SS	0,58	0,04	0,42	0,48	0,15	0,44	0,37
			%CV	2,33	3,94	0,62	1,34	-2,13	1,22	0,11
2	Reçete C	0,25	Ort.	18,31	1,83	62,65	41,85	-7,39	42,49	349,98
			SS	0,53	0,04	0,78	0,99	0,07	0,46	0,30
			%CV	2,01	2,18	1,24	2,36	-0,90	1,01	0,09
2	Reçete D	0,25	Ort.	17,82	1,90	62,19	42,16	-7,22	42,77	350,28
			SS	0,05	0,01	0,11	0,13	0,09	0,14	0,10
			%CV	0,25	0,36	0,17	0,30	-1,26	0,32	0,03

Procion Crimson HEXL ile konvansiyonel ve tek banyo yöntemine göre 3 farklı boyarmadde konsantrasyonu seviyesinde yapılan boyama sonucu renk bilgileri, ortalama değer, standart sapma ve %CV değerleri Çizelge 4.30'da verilmiştir. Reflektans değerleri incelendiğinde, farklı boyarmadde konsantrasyonu ve farklı reçetelerle yapılan boyama sonucu tekrarlarının %CV değerlerinin hepsinin %3'ün altında olduğu görülmüştür. Reflektans değeri için, konvansiyonel ve tek banyo yöntemine göre boyamada %CV değerleri önemli bir farklılık göstermemiştir. Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre K/S değerlerine $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde yardımcı kimyasalın etkisinin olmadığı, işlemin etkisinin çok az olduğu, boyarmadde konsantrasyonun ise anlamlı etkisi olduğu görülmüştür (EK-2.1). L* değeri incelendiğinde tek banyo yöntemi-reçete C-%0,25 boyarmadde konsantrasyonu ile yapılan işlemlerin %CV değeri 1,24 iken diğer bütün %CV değerleri 1'in altında çıkmıştır (Çizelge 4.30). L* değerlerine işlem ve yardımcı kimyasalın $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde etkisi olmadığı, işlemin anlamlı bir etkisi olduğu, fakat bu etkinin boyarmadde konsantrasyonunun etkisine göre çok az olduğu görülmüştür. Faktörlerin kendi aralarında ve kesişimlerinin L* değerlerine etkisi olmadığı görülmüştür. SNK testi sonucunda boyarmadde konsantrasyonu arttıkça L* değerinde düzenli bir azalma görülmüştür (EK-2.2).

a* değerleri incelendiğinde, tekrarların %CV değerlerinin hepsinin 3'ün altında çıktığı görülmüştür. Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde a* değerlerine yardımcı kimyasalın etkisi olmadığına işlemin etkisinin olduğu, işlem ve boyarmadde konsantrasyonunun anlamlı bir etkisi olduğu görülmüştür (EK-2.3) Faktörlerin kendi aralarında kesişimlerinin ve üç faktörün kesişimlerinin $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde a* değerlerine etkisi olmadığı görülmüştür.

b* değerleri için konvansiyonel yöntem-reçete A-%0,03 boyarmadde konsantrasyonu, konvansiyonel yöntem-reçete B-%0,125 boyarmadde konsantrasyonu ve tek banyo yöntemi-reçete C-%0,03 boyarmadde konsantrasyonu ile işlemlerin %CV değerleri sırası ile 3,11-3,21 ve 4,48 olduğu görülmüştür. Diğer %CV değerlerinin hepsi 3'ün altında çıkmıştır (Çizelge 4.30). Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde b* değerlerine yardımcı kimyasalın etkisi olmadığı, işlemin ve boyarmadde konsantrasyonunun etkisi olduğu görülmüştür (EK-2.4).

4.3.3. Procion Dark Blue HEXL İle Boyama Sonuçları

Çizelge 4.31. Procion Dark Blue HEXL ile boyanmış kumaşların renk bilgileri ortalama, standart sapma ve %CV değerleri (1: Konvansiyonel yöntem, 2: Tek banyo yöntemi, Ort.: Ortalama, SS: Standart sapma)

İşlem	Reçete	Boya(%)	Yrd.Madde	%R	K/S	L*	a*	b*	C*	h
1	Reçete A	0,03	Ort.	45,20	0,33	77,62	-4,54	-8,61	9,73	242,21
			SS	0,16	0,01	0,05	0,06	0,08	0,10	0,10
			%CV	0,35	0,94	0,06	-1,22	-0,95	1,00	0,04
1	Reçete B	0,03	Ort.	45,61	0,32	77,93	-4,60	-8,62	9,77	241,88
			SS	0,21	0,00	0,11	0,01	0,08	0,08	0,15
			%CV	0,46	1,24	0,15	-0,32	-0,96	0,82	0,06
1	Reçete A	0,125	Ort.	25,88	1,06	64,51	-5,37	-13,67	14,68	248,56
			SS	0,06	0,00	0,05	0,07	0,12	0,14	0,09
			%CV	0,23	0,39	0,08	-1,31	-0,88	0,94	0,03
1	Reçete B	0,125	Ort.	25,76	1,07	64,39	-5,40	-13,56	14,59	248,28
			SS	0,09	0,01	0,17	0,04	0,20	0,20	0,15
			%CV	0,36	0,61	0,26	-0,72	-1,47	1,36	0,06
1	Reçete A	0,25	Ort.	17,71	1,91	56,74	-5,74	-15,83	16,84	250,06
			SS	0,18	0,03	0,22	0,02	0,05	0,05	0,10
			%CV	0,99	1,41	0,38	-0,33	-0,33	0,28	0,04
1	Reçete B	0,25	Ort.	17,66	1,92	56,65	-5,72	-15,78	16,79	250,06
			SS	0,19	0,03	0,20	0,04	0,09	0,09	0,11
			%CV	1,08	1,53	0,34	-0,67	-0,58	0,55	0,04
2	Reçete C	0,03	Ort.	44,46	0,35	77,09	-5,32	-6,65	8,51	231,34
			SS	0,45	0,01	0,19	0,16	0,18	0,24	0,32
			%CV	1,02	2,67	0,24	-3,00	-2,72	2,77	0,14
2	Reçete D	0,03	Ort.	43,91	0,36	77,05	-5,43	-6,80	8,71	235,13
			SS	0,60	0,01	0,72	0,02	0,21	0,18	5,81
			%CV	1,36	3,47	0,94	-0,38	-3,12	2,03	2,47
2	Reçete C	0,125	Ort.	24,64	1,15	63,64	-6,22	-13,09	14,49	244,58
			SS	0,66	0,05	0,64	0,06	0,09	0,05	0,35
			%CV	2,68	4,35	1,00	-0,92	-0,67	0,38	0,14
2	Reçete D	0,125	Ort.	24,02	1,20	63,18	-6,27	-13,48	14,87	245,03
			SS	0,25	0,02	0,24	0,05	0,16	0,13	0,40
			%CV	1,05	1,72	0,38	-0,76	-1,20	0,90	0,16
2	Reçete C	0,25	Ort.	17,27	1,98	56,59	-6,61	-15,51	16,86	246,92
			SS	0,37	0,06	0,41	0,06	0,15	0,14	0,26
			%CV	2,16	3,09	0,73	-0,98	-0,95	0,84	0,10
2	Reçete D	0,25	Ort.	16,37	2,14	55,51	-6,58	-15,68	17,01	247,22
			SS	0,36	0,07	0,37	0,05	0,17	0,18	0,11
			%CV	2,21	2,99	0,67	-0,79	-1,09	1,04	0,05

Procion Dark Blue HEXL ile konvansiyonel ve tek banyo yöntemine göre farklı boyarmadde konsantrasyonu ve boyama sonucu renk bilgileri ortalama değer, standart sapma ve %CV değerleri Çizelge 4.31’de verilmiştir. Reflektans değerleri incelendiğinde farklı boyarmadde konsantrasyonu ve farklı reçetelerle yapılan boyama sonucu tekrarların %CV değerlerinin hepsinin %3’ün altında olduğu görülmüştür. Konvansiyonel yönteme göre boyama %CV değerleri tek banyo yönteminden daha düşük çıkmıştır. Bunun nedeni tek banyo yönteminde aynı banyoda farklı pH’larda çalışıldığından, boyama öncesinde tekrarlı denemelerin pH’larında sıcaklığın etkisiyle oluşan dalgalanmalar olabilir. Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre K/S değerlerine $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde yardımcı kimyasalın, işlemin ve boyarmadde konsantrasyonunun anlamlı etkisi olduğu görülmüştür. Boyarmadde konsantrasyonunun K/S değerlerine etkisinin çok fazla olduğu, yardımcı kimyasalın ve işlemin anlamlı bir etkisi olsa da bu etkinin çok az olduğu söylenebilir (EK3.1.). L^* ve %CV değerleri 1 ve 1’in altında çıkmıştır (Çizelge 4.31). Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre L^* değerlerine $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde yardımcı kimyasalın, işlemin ve boyarmadde konsantrasyonunun anlamlı etkisi olduğu görülmüştür. Yardımcı maddenin L^* değerine etkisinin çok düşük olduğu söylenebilir. Ayrıca yardımcı madde ve işlemin kesişimlerinin L^* değerlerine $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde etkisi olduğu, diğer kesimlerin ise anlamlı etkisi olmadığı görülmüştür (EK-3.2.).

a^* değerleri incelendiğinde tek banyo yöntemi–reçete C-%0,03 boyarmadde konsantrasyonu ile boyamaların %CV’ si 3 iken diğer %CV’ ler 2’nin altında çıkmıştır (Çizelge 4.34). Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde a^* değerlerine yardımcı kimyasalın etkisinin olmadığı, işlemin etkisinin olduğu, işlem ve boyarmadde konsantrasyonunun anlamlı bir etkisinin olduğu görülmüştür. Faktörlerin kendi aralarında kesişimlerinin $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde a^* değerlerine etkisi olmadığı görülmüştür (EK-3.2.).

b^* değerleri incelendiğinde tek banyo yöntemi–reçete C-%0,03 boyarmadde konsantrasyonu ve tek banyo yöntemi–reçete D-%0,03 ile boyama tekrarlarının %CV’ leri sırası ile 2,72 ve 3,12 olduğu gözlenmiş, diğer %CV değerlerinin hepsi 2’nin altında çıkmıştır (Çizelge 4.31). Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde a^* değerlerine yardımcı kimyasalın etkisinin olmadığı, işlemin etkisinin olduğu, işlem ve boyarmadde konsantrasyonunun anlamlı bir etkisi olduğu görülmüştür.

Yardımcı kimyasal ve boyarmadde konsantrasyonunun kesişimi ve yardımcı kimyasal, işlem ve boyarmadde konsantrasyonunun kesimlerinin b^* değerine etkisi olmadığı;. faktörlerin kendi aralarındaki diğer kesişimlerinin b^* değerine etkisi olduğu görülmüştür (Çizelge 4.31).

C^* , rengin kroma değeri, a^* ve b^* kroma değerlerine bağlı bir fonksiyon olduğundan konvansiyonel ve tek banyo yöntemine göre işlemlerde değişimi a^* ve b^* değerlerine benzerlik göstermiştir. H° , renk açısının Procion Dark Blue HEXL-tek banyo yöntemi-reçete D-%0,03 boyarmadde konsantrasyonu ve Procion Yellow HEXL - konvansiyonel yöntem-reçete A-%0,125 boyarmadde konsantrasyonu ile boyama tekrarlarının %CV değerleri sırası ile 2,47 ve 1,23 olduğu görülmüştür. h° , renk açısı için diğer tekrarların hepsinin %CV değerleri 1'in altında çıkmıştır.

4.3.4. Renk Farklılıklarının Genel Değerlendirilmesi

Birinci faktör, işlemin konvansiyonel ya da tek banyo yöntemine göre yapılması durumunda renk bilgilerinden bazılarında yapılan varyans analizi sonuçlarına göre $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde anlamlı etkisi olmasının en önemli nedenlerinden birinin boyama öncesi kumaşların zemin renklerinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Konvansiyonel yöntemine göre boyamada kumaşların ağartma sonrası beyazlık indeksi 80 Stensby iken, tek banyo yöntemi ağartma sonrası beyazlık indeksi 71-73 Stensby arasındadır. Her üç renk içinde konvansiyonel ve tek banyo yöntemine göre boyamada tekrarlanabilirliğin göstergesi olan %CV değerleri çok büyük farklılık göstermemiştir. Çalışmanın en önemli amaçlardan birisi tek banyo yönteminde tekrarlanabilirliklerin konvansiyonel boyama sonucu elde edilen tekrarlanabilirliklere yaklaştırılmasıdır. Konvansiyonel yöntem için %CV değerleri ve tek banyo yöntemi için %CV değerlerinin birbirine yakın olması çalışmanın uygulanabilirliğini desteklemektedir.

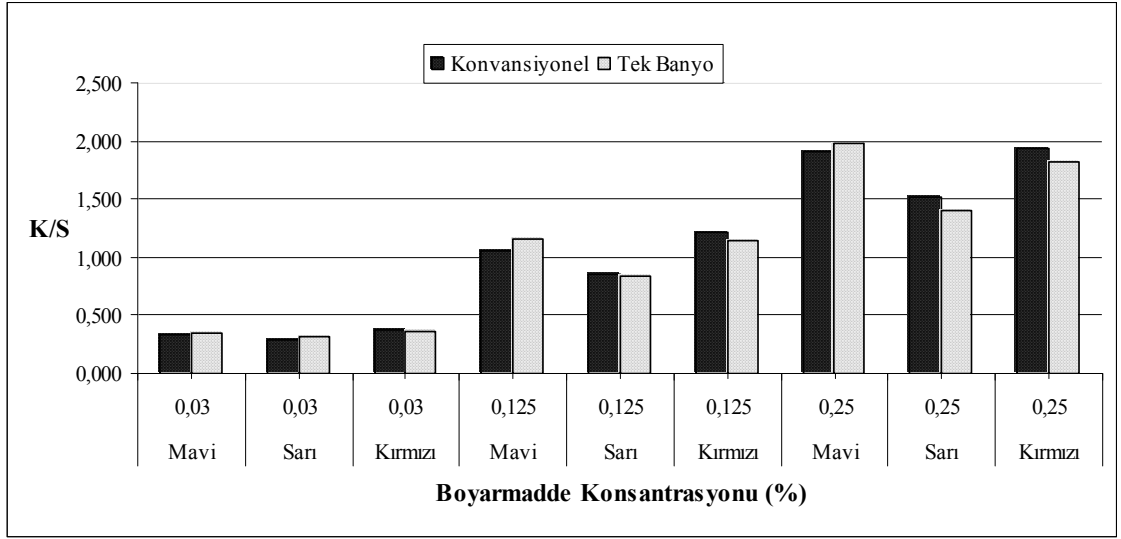
İkinci faktör, boyarmadde konsantrasyonunun üç farklı renkte boyama için de yapılan varyans analizi sonuçlarına göre $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde renk bilgilerinin hepsine anlamlı etkisi olduğu görülmüştür. Boyarmadde konsantrasyonunun artması K/S, L^* , a^* , b^* gibi renk bilgilerini etkilediği daha önce yapılan çalışmalarda da görülmüştür. Yapılan varyans analizi SNK sonuçlarına göre, boyarmadde

konsantrasyonundaki artışa lineer olarak renk bilgisi değerlerinin de değişim gösterdiği tespit edilmiştir.

Üçüncü faktör, yardımcı kimyasal madde kullanılmasının renk bilgilerine etkisi incelendiğinde, varyans analizi sonuçlarına göre Procion Dark Blue HEXL ile boyamada yardımcı kimyasalın L* ve K/S değerlerine $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde anlamlı etkisi olduğu görülmüştür. Bu etkinin seviyesinin varyans analizi sonuçlarından düşük olduğu söylenebilir. Procion Yellow HEXL ve Procion Crimson HEXL ile boyama işlemlerinde $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde yardımcı kimyasalın renk bilgileri üzerine anlamlı etkisi görülmemiştir. Bu sonuçlara göre, tek banyo yönteminde boyama öncesi iyon tutucu ve dispergator verilmesine gerek yoktur. Haşıl sökme işleminde banyoya eklenen yüzey aktif madde (dispergator özelliği var), ağartma işleminde ilave edilen peroksit stabilizatörü (iyon tutucu özelliği var) ve glikozdan GOx enzimi ile üretilen glikonik asit (iyon tutucu özelliği var), banyoma işleminde tek banyo yöntemi için yeterli olmaktadır. Böylece hem maliyetler azalacak hem de daha az kimyasal atıldığı için, BOİ ve KOİ değerleri yüksek yardımcı kimyasalların atık sulardaki miktarları azalacaktır. Tek banyo yöntemine göre boyama işleminde boyama öncesi yardımcı kimyasal kullanılmaksızın boyama yapılması tavsiye edilebilir.

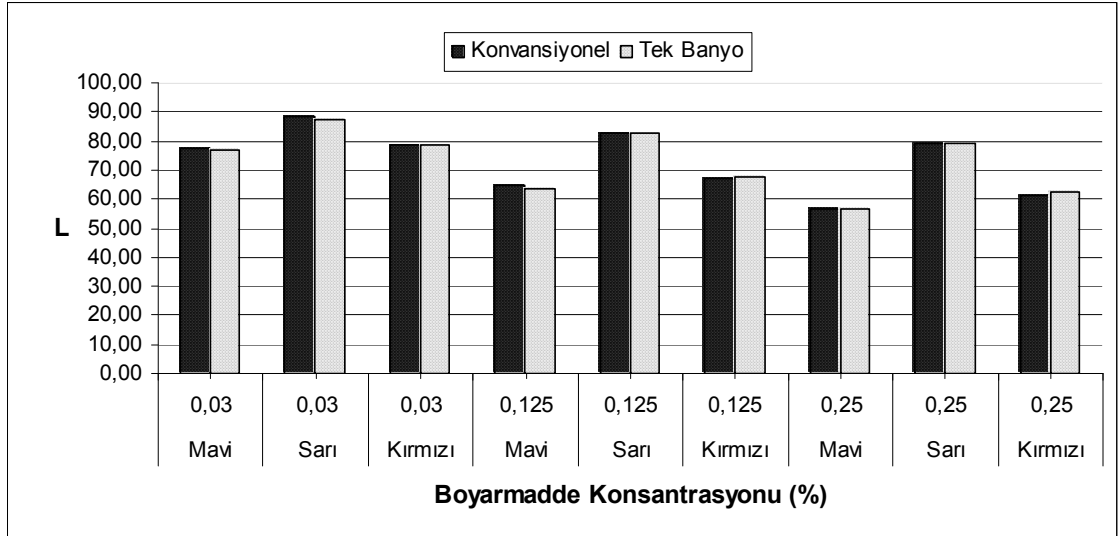
4.3.4.1. İşlemin K/S ve L* Değerlerine Etkisinin İncelenmesi

Konvansiyonel yöntem ve tek banyo yönteminde, aynı boya konsantrasyonlarında işlemler sonucu elde edilen L* ve K/S değerlerinin incelenmesi boyama verimliliğinin tespiti açısından önemlidir. Tek banyo yöntemine göre Reçete C, konvansiyonel yöntemine göre boyamalarda ise Reçete A uygulanmıştır.



Şekil 4.4. Konvansiyonel yöntem ve tek banyo yöntemine göre boyanan kumaşın farklı renklerde ve farklı boyarmadde konsantrasyonunda K/S değerleri (Tek banyo yönteminde boyama öncesi yardımcı madde kullanılmamıştır)

Procion Dark Blue HEXL (mavi) ile boyama sonuçları için, tek banyo yöntemine göre elde edilen K/S değerleri konvansiyonel yöntemine göre elde edilen K/S değerlerinden daha yüksektir (Şekil 4.4.). Procion Yellow HEXL (sarı) ile boyamalarda; tek banyo yöntemine göre elde edilen K/S değerleri konvansiyonel yöntemine göre elde edilen K/S değerlerinden %0,03 boyarmadde konsantrasyonu ile yapılan boyamada yüksek, %0,125 ve %0,25 boyarmadde konsantrasyonu ile yapılan boyamalarda daha düşük çıkmıştır. Procion Crimson HEXL (kırmızı) ile boyama sonuçları değerlendirildiğinde ise; tek banyo yöntemine göre elde edilen K/S değerleri, konvansiyonel yöntemine göre boyama sonucu elde edilen K/S değerlerine göre %0,03 boyarmadde konsantrasyonu ile yapılan boyamalarda birbirine yakın, %0,125 ve %0,25 boyarmadde konsantrasyonu ile yapılan boyamalarda ise daha düşük çıkmıştır.



Şekil 4.5. Konvansiyonel yöntem ve tek banyo yöntemine göre boyanan kumaşın farklı renklerde ve farklı boyarmadde konsantrasyonunda L* değerleri (Tek banyo yönteminde boyama öncesi yardımcı madde kullanılmamıştır)

Konvansiyonel yöntem ve tek banyo yöntemine göre boyanama işlemi sonucu L* değerlerinin değişimi Şekil 4.5’de verilmiştir. Üç renk ve farklı seviyede boyarmadde konsantrasyonları için tek banyo yöntemine göre elde edilen L* değerleri ile konvansiyonel yöntemle elde edilen L* değerleri arasında belirgin farklar yoktur.

4.3.5. Tek Banyo Yönteminde Tekrarlanabilirliklerin Değerlendirilmesi

Tek banyo yöntemi ve konvansiyonel yöntemle göre boyamalarda renk bilgilerinin ortalamaları referans alınarak $\Delta E^*CIELab$ değerleri hesaplanmıştır. Boyama işlemlerinde aynı yardımcı kimyasalların her iki yöntem için de kullanılması için konvansiyonel yöntemi ile boyama işlemleri Reçete A’ya, tek banyo yöntemine göre boyama işlemlerinde Reçete C’ye göre yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda konvansiyonel yöntem için ve tek banyo yöntemi için $\Delta E^*CIELab$ renk farklılıklarının hepsinin 1’in altında olduğu görülmüştür (Çizelge 4.32). Bu sonuçlara göre, tek banyo yöntemine göre elde edilen boyama sonuçlarının tekrarlanabilirliklerinin konvansiyonel yöntemle elde edilen tekrarlanabilirliklere yakın olduğu söylenebilir.

Çizelge 4.32. Konvansiyonel yöntem ve tek banyo yöntemine göre işlemlerde tekrarların ortalamaya göre ΔE^* CIELab renk farkı değerleri

Proses	Kons(%)	Boyarmadde	ΔE^* (R1)	ΔE^* (R2)	ΔE^* (R3)
Konvansiyonel	0,03	P.Yellow HEXL	0,45	0,38	0,24
Konvansiyonel	0,125	P.Yellow HEXL	0,40	0,30	0,33
Konvansiyonel	0,25	P.Yellow HEXL	0,54	0,32	0,21
Konvansiyonel	0,03	P. Crimson HEXL	0,45	0,48	0,51
Konvansiyonel	0,125	P. Crimson HEXL	0,48	0,53	0,22
Konvansiyonel	0,25	P. Crimson HEXL	0,42	0,34	0,72
Konvansiyonel	0,03	P. D. Blue HEXL	0,34	0,52	0,48
Konvansiyonel	0,125	P. D. Blue HEXL	0,30	0,15	0,18
Konvansiyonel	0,25	P. D. Blue HEXL	0,50	0,38	0,32
Tek Banyo	0,03	P.Yellow HEXL	0,67	0,37	0,35
Tek Banyo	0,125	P, Yellow HEXL	0,56	0,39	0,40
Tek Banyo	0,25	P, Yellow HEXL	0,33	0,36	0,45
Tek Banyo	0,03	P. Crimson HEXL	0,57	0,34	0,27
Tek Banyo	0,125	P. Crimson HEXL	0,72	0,45	0,40
Tek Banyo	0,25	P. Crimson HEXL	0,31	0,26	0,71
Tek Banyo	0,03	P. D. Blue HEXL	0,32	0,49	0,38
Tek Banyo	0,125	P. D. Blue HEXL	0,29	0,35	0,48
Tek Banyo	0,25	P. D. Blue HEXL	0,36	0,44	0,49

Aynı banyoda ağartma ve boyama işlemleri yapılması durumunda banyoda bulunan safsızlıkların boyama verimini düşürdüğü daha önce yapılan çalışmalarda görülmüştür. Hidrojen peroksit ile ağartma işlemi yapılmış pamuklu örme kumaşların ağartma banyosuna katalaz enzimi ilavesi ile peroksit giderimi yapılarak aynı banyoda monoklortriazin grubu reaktif boyarmadde ile boyanması durumunda, yeni banyoda boyama işlemine göre boyarmadde fiksaj miktarının azaldığı belirtilmiştir (Tzanov 2001).

Tek banyo yönteminde boyama işlemi öncesi banyoda; haşıl sökme işleminden gelen maddeler (haşıl sökme enzimi, glikonik asit, asetik asit, ıslatıcı), GOx enzimi ile hidrojen peroksit üretiminde banyoya eklenen maddeler (sodyum asetat, GOx enzimi), ağartma banyosundan gelen maddeler (iyon tutucu, pamukta bulunan safsızlıklar) ve hidrojen peroksit giderimi için banyoya eklenen katalaz enzimi bulunmaktadır. Bütün bu safsızlıklara karşın; tek banyo yöntemi ile yapılan boyamadaki tekrarlanabilirliklerin konvansiyonel yöntemle yapılan boyamadaki tekrarlanabilirliklere yakın olması ümit vericidir.

4.3.5.6. Kumaş Mukavemet Değerlerinin Karşılaştırılması

Çizelge 4.33. Kumaş mukavemet değerleri

	Atkı yönü (MPa)	Çözü yönü (MPa)
Ham kumaş	11,80 ± 1,1	14,30± 1,3
Konvansiyonel haşıl sökme sonu	11,39 ± 1,3	13,42±1,0
Tek banyo yöntemi haşıl sökme sonu	12,39 ± 1,1	12,88±1,1
Konvansiyonel boyama sonu	11,60± 1,4	11,02± 1,2
Tek banyo yöntemi boyama sonu	12,60± 1,2	13,80± 1,1

Farklı prosesler sonucu kumaş mukavemet değerlerine ait sonuçlar Çizelge 4.33'de verilmiştir. Konvansiyonel haşıl sökme prosesi Kısım 3.2.1.1'de, tek banyo yöntemine göre haşıl sökme işlemi Kısım 3.2.1.2'de gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemine göre haşıl sökme işlemi sonucu atkı ve çözgü yönünde mukavemet değerleri sırası ile 11,39 ± 1,3 ve 13,42 ± 1 MPa'dır. Tek banyo yöntemine göre haşıl sökme sonucu atkı ve çözgü yönünde mukavemet değerleri sırası ile 12,39 ± 1,1 ve 12,88± 1,1 MPa'dır.

Tek banyo yöntemine göre haşıl sökmenin konvansiyonel yöntemine göre haşıl sökmeye göre daha düşük pH'da yapılmasının kumaş mukavemetinde azalmaya neden olmadığı görülmüştür. Tek banyo yöntemine göre boyama sonucu mukavemet değerleri, konvansiyonel yöntemine göre boyama sonucu mukavemet değerlerinden hem atkı hem çözgü yönünde daha fazla çıkmıştır. Bu durum; ağartma prosesinde banyodaki hidrojen peroksit miktarının tek banyo yönteminde konvansiyonel yöntemine göre daha düşük olmasından kaynaklanabilir. Pamuklu mamüllerin ağartma işlemlerinde hidrojen peroksit miktarının artmasının pamuk lifinde meydana gelen hasarın artmasına ve mukavemet kayıplarına neden olduğu daha önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir (Adanur 1995).

4.4. Tek Banyo Prosesinin Çevresel Etkilerinin İncelenmesi

Tek banyo yönteminin çevresel etkilerini değerlendirmek amacı ile boyama sonrası banyonun KOİ ve BOİ değerleri ölçülmüştür. Konvansiyonel yöntemine göre haşıl sökme, ağartma ve boyama işlemleri Kısım 3.2.1.1'de gösterilmiştir.

Konvansiyonel yöntemle göre boyama işleminde Reçete A, tek banyo yönteminde boyama işleminde Reçete C uygulanmıştır. Her iki yöntem için %0,125 Procion Dark BLue HEXL ile boyama işlemi uygulanmıştır. Ölçülen KOİ ve BOİ değerleri son banyolara ait olup yıkama banyoları için ölçüm yapılmamıştır.

Çizelge 4.34. Konvansiyonel ve Tek Banyo Yöntemi için KOİ ve BOİ Değerleri

İşlem Basamağı	KOİ (mgO₂)/l	BOİ (mgO₂)/l
Haşıl sökme banyosu	18560 ± 900	8.700 ± 450
Konvansiyonel ağartma banyosu	9320 ± 550	1.800 ± 110
Konvansiyonel boyama banyosu	8720 ± 510	500 ± 30
Konvansiyonel yöntem toplam	36600	11000
Tek banyo yöntemi	21120	8730

Tek banyo yöntemi sonucu ölçülen KOİ miktarı; haşıl sökme, ağartma ve boyama işlemlerinin ayrı banyolarda konvansiyonel yöntemle göre yapılması sonucu ölçülen toplam KOİ miktarından %43 daha azdır (Çizelge 4.3). Konvansiyonel haşıl sökme, ağartma ve boyama banyolarına ilave edilen yardımcı kimyasallar KOİ değerini artırmıştır.

Tek banyo yöntemi sonucu ölçülen BOİ miktarı; haşıl sökme, ağartma ve boyama işlemlerinin ayrı banyolarda konvansiyonel yöntemle göre yapılması durumunda ölçülen toplam BOİ miktarından %20 daha azdır. Konvansiyonel ağartma banyosu ve konvansiyonel boyama banyosunun BOİ değerleri, KOİ değerlerine oranla çok düşük çıkmıştır. Konvansiyonel boyama banyosunun BOİ değerinin KOİ değerine göre düşük çıkması, boyarmadde ve yüzey aktif maddenin toksit etkisinden kaynaklanmaktadır. Boyarmaddelerin ve yüzey aktif maddelerin KOİ değerleri yüksek, BOİ değerleri düşüktür.

Tek banyo yönteminin çevresel etkileri bakımından konvansiyonel yöntemle göre bir çok avantajı vardır. Her bir işlem için ayrı ayrı yardımcı kimyasal kullanmak yerine tek banyo yönteminde aynı işleve sahip kimyasalı ikinci kez banyoya ilave etmeye gerek yoktur. Bunun sonucu olarak hem maliyetlerde hem de atık sulardaki kimyasal madde miktarında azalma sağlanabilir. Tek banyo yönteminde nişasta haşılı en

küçük monomerine kadar parçalandığından, atık sularındaki biyolojik parçalanması daha kolay olacaktır. Zira konvansiyonel haşıl sökme enzimleri nişasta haşılını parçalayarak uzaklaştırmak amacı ile kullanılmaktadır. Parçalanmış nişastanın kirliliği yüksek tekstil atık sularında biyolojik olarak parçalanması daha zordur. Nişasta haşılı pamuklu bir kumaşın konvansiyonel yöntemle çektirme metoduna göre haşıl sökme işlemi yapılması durumunda haşılının uzaklaştırılmasının ardından bir yıkama tavsiye edilmektedir (Anonim 2002). Konvansiyonel ağartma işleminde çektirme yöntemine göre yapılan çalışmalarda hidrojen peroksitin parçalanması için katalaz enzimi kullanılmaması durumunda, boyama işlemlerine kadar boyama öncesinde banyonun 5-8 kez doldurulup boşaltılması gerekmektedir (İbrahim ve ark. 2004). Tek banyo yönteminde haşıl sökme, hidrofilleştirme, ağartma ve boyama işlemlerinin aynı banyoda yapılması su tüketimini azaltmaktadır.

4.5. İmmobilize Enzimler ile İlgili Sonuçlar

Amiloglikozidaz (Inotex) ve GOx (Biozymes) enzimlerinin farklı yöntemlere göre immobilizasyonu yapılarak bağlanma verimleri ve tekrarlı kullanımlarda aktivite değerlerinin tespitine ve en uygun immobilizasyon yönteminin belirlenmesine çalışılmıştır.

4.5.1. İmmobilize Amiloglikozidaz Enzimi ile İlgili Sonuçlar

CNBr ile İmmobilizasyon Sonuçları

Amiloglikozidaz enziminin immobilizasyonu Kısım 3.2.3.1'de belirtilen yöntemle yapılmıştır. Kontrol grubu olarak; aynı miktarda enzim glutaraldehit kullanılmaksızın immobilize edilmiştir. Tanecikler üzerine bağlanan protein miktarı Kısım 3.2.2.2'de açıklanan Bradford yöntemi ile karakterize edilmiştir.

Çizelge 4.35. AG enziminin glutaraldehit ile işlemi sonucu BSA standart eğrisine göre hesaplanmış protein konsantrasyonları

İşlem	Absorbans	Protein Kons., (g/l)
İmmobilize AG	0,101	0,152
İmmobilize AG + Glutaraldehit	0,153	0,197
Saf AG (immobilize edilmemiş)	2,262	2,003

İmmobilize edilmemiş saf AG enziminin protein konsantrasyonu 2,003 g/l iken; CNBr ile immobilize edildiğinde bu miktar 0,152 g/l'ye düşmüştür. Enzim CNBr ile immobilize edildikten sonra glutaraldehit ile işlem gördüğünde protein konsantrasyonu 0,197 g/l ölçülmüştür (Çizelge 4.5). Glutaraldehit ile enzimin bağlanma miktarında artış sağlanmıştır.

Magnetik Parçacıklar (Magnetit, Fe_3O_4) ile Yapılan İmmobilizasyon Sonuçları

Amiloglikozidaz enziminin immobilizasyonu Kısım 3.2.3.1'de belirtilen yöntemle göre yapılmıştır. Kontrol grubu olarak farklı miktarlarda immobilize edilmemiş enzim kullanılarak çalışmalar yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.36'da verilmiştir.

İmmobilize AG enziminin haşıl sökme işlemi sonucu banyodan toplanması önemlidir. Enzimin bağlanacağı taşıyıcının işlem sonrası kolaylıkla uzaklaştırılması gerekir. Bu nedenle taşıyıcı olarak magnetik parçacıklar kullanılarak işlem sonucu mıknatıs yardımı ile toplanmıştır.

Çizelge 4.36. İmmobilize amiloglikozidaz enzim miktarlarının oluşan glikoz miktarına etkisi

Enzim Miktarı	Oluşan Glikoz Miktarı (mg/l)
%1 (saf enzim)	3423
%2 (saf enzim)	3287
%3 (saf enzim)	3769
%1 (immobilize enzim)	2695
İmmobilize enzimin tekrar kullanımı	1108

İmmobilize enzimle üretilen glikoz miktarının serbest enzim ile üretilen glikoz miktarından %20 civarında daha düşük olduğu görülmüştür. Ancak burada asıl önemli nokta, immobilize enzimin tekrar kullanımında oluşan glikoz miktarının 2695 mg/l'den 1108 mg/l seviyesine düşmesidir (Çizelge 4.36). İmmobilize enzimin kullanımdan sonra toplanması miknatis vasıtasıyla yapılmıştır. Bu yöntem çözeltideki immobilize enzimin kazanımında etkili olsa da kumaşa tutunan ya da kumaş arasında kalan immobilize enzimin toplanmasında problemlere neden olmuştur. Tekrarlı kullanımda aktivite kaybının büyük olmasının, bu durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca kumaş üzerinde kalan demir içerikli bu maddeler, hidrojen peroksit ağartmasında katalitik etki göstererek kumaşa kalıcı hasar meydana getirebilir (Adanur 1995).

4.5.2. İmmobilize Glikoz Oksidaz (GOx) Enzimi ile İlgili Sonuçlar

Alumina küreler üzerine immobilize edilen enzimler için yapılan çalışmalarda bağlanma veriminin %82 olduğu tespit edilmiştir. Ancak APTS ile silanize edilen Aluminanın glutaraldehit ile reaksiyona sokulduğunda renginin kırmızıya dönmesi ağartma denemelerinde kumaşın kırmızıya boyanmasına neden olmuştur. Tekrarlı yıkamalarda bile kumaştaki kırmızı renk tam olarak giderilememiştir.

GOx enziminin silika parçacıklara bağlanarak immobilize edilmesi sonucu elde edilen bağlanma veriminin %84 olduğu ve hidrojen peroksit üretimi esnasında %70'lik bir aktivite kaybı görülmüştür.

Sepharose-4B üzerine bağlanan GOx enzimlerinin silikaya bağlananlardan daha aktif olduğu görülmüştür. Hidrojen peroksit üretimi esnasında ise %55'lik bir aktivite kaybı tespit edilmiştir.

Çapraz bağlı GOx çökeltileri (%0,3 glutaraldehit konsantrasyonunda bağlanmış) saf enzime göre %82 oranında aktivitesini korumuştur. Glutaraldehit konsantrasyonunun artması, enzim aktivitesinde düşüğe neden olmuştur. Enzimin işlem sonunda kumaşa tutunması ve uzaklaştırılamaması uygulamada sorunlara neden olmuştur. Tekrarlı kullanımlarda immobilize GOx enziminin banyodan toplanmasında sorunlarla karşılaşmıştır. Bez torbalar içine immobilize enzim konularak işlemler yapılmış ve işlem sonucu torbalar çıkarılarak tekrarlı kullanım sağlanmıştır. İkinci

kullanımda %70'e kadar aktivite kaybı olmuştur. Ayrıca bez torbaların enzim substrat etkileşimini olumsuz yönde etkilediği düşünülmektedir.

5.SONUÇ

Pamuk terbiyesinde çevresel etkiyi azaltıcı ve maliyeti düşük yeni stratejilere ihtiyaç vardır. Pamuklu mamüllerin ön terbiyesinde haşıl sökme ve hidrofilleştirme işlemlerinde enzim kullanımı ile ilgili birçok uygulama mevcut olmasına rağmen ağartma işlemlerinde enzim kullanımı ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Enzimatik ağartmanın tekstil endüstrisinde uygulanabilirliğini sağlamak için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmada; nişasta haşılı pamuklu kumaşların enzimatik haşıl sökme işlemi ile glikoz üretimi, haşıl sökme banyosundan enzimatik yöntemle üretilmiş hidrojen peroksit ile ağartma işlemi, katalaz enzimi ile hidrojen peroksit giderimi ve boyama işlemleri aynı banyoda yapılmıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında haşıl sökme banyolarında üretilen glikozun artırılması amaçlanmıştır. Bir mol glikozdan GOx enzimi ile bir mol hidrojen peroksit açığa çıktığından, haşıl sökme banyosundaki glikoz miktarı, oluşacak hidrojen peroksit miktarına etki edecektir. Bu nedenle haşıl sökme enziminin seçimi çalışmanın sonraki aşamaları açısından çok önemlidir. Haşıl sökme banyosunda maksimum glikoz üretimi için piyasada yaygın olarak kullanılan haşıl sökme enzimleri ile çalışmalar yapılmıştır. Tekstil endüstrisinde kullanılan haşıl sökme enzimlerinin büyük çoğunluğunun α -amilaz esaslı olması nişasta haşılının en fazla %15'inin glikoza parçalanabilmesini sağlamıştır. Gıda endüstrisinde nişastadan glikoz şurubu eldesinde kullanılan amiloglikozidaz (EC 3.2.1.3) ve pullulenaz (EC 3.2.1.41) esaslı Dextrozyme DX enzimi kullanılmaktadır. Tekstil endüstrisinde kullanılmayan Dextrozyme DX enzimi ile nişasta haşılının tamamının glikoza dönüştürülmesi için çalışma şartlarının optimizasyonu yapılmıştır. Yapılan optimizasyon çalışmaları neticesinde; haşıl sökme işleminin %0.75 Dextrozyme DX enzimi ile 62°C'de, 45 dakikada ve pH 4,1'de yapılması durumunda nişastanın tamamına yakın bir kısmının glikoza dönüşmesi sağlanmıştır.

Çalışmanın ikinci aşamasında haşıl sökme banyosundaki glikozdan GOx enzimi ile en fazla hidrojen peroksitin elde edildiği koşulların tespitine çalışılmıştır. Üç farklı GOx enzimi temin edilerek, her bir enzim için çalışma şartlarının optimizasyonu yapılmıştır. Enzim miktarı, çalışma pH'ı, işlem süresi, işlem sıcaklığı gibi parametrelerin oluşan hidrojen peroksit miktarına etkisi incelenmiştir. Üretilen hidrojen

peroksit ile farklı pH'larda ağartma işlemleri yapılarak en iyi beyazlık derecelerinin elde edildiği ağartma şartlarının belirlenmesine çalışılmıştır.

Haşıl sökme banyosundaki glikozdan hidrojen peroksit üretmek için kullanılan ilk enzim Gluzyme Mono 10.000 BG enzimidir. Bu enzimle çözeltiliye dışarıdan glikoz ilavesi yapılması durumunda bile istenilen hidrojen peroksit düzeylerine ulaşılamamıştır. Çözeltiliye dışarıdan glikoz ilave edilmesi zaten çalışmadan beklenen kazanımlarla örtüşmemektedir. İstenilen hidrojen peroksit konsantrasyonlarına ulaşamadığı için gerek asidik ve nötr pH'larda aktivatörlü, gerekse alkali pH'larda yapılan ağartmalarda beklenen beyazlık değerlerini elde etmek mümkün olmamıştır. GOx enziminin aktivitesinin düşük olması, oluşan hidrojen peroksit miktarını azaltmış olabilir. Enzim miktarı artırıldığında oluşan hidrojen peroksit seviyesinde azalma meydana gelmiştir. Bu azalmanın nedeninin enzim bileşimindeki safsızlıkların hidrojen peroksiti parçalamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer önemli bir husus ise işlem süresi artmasının hidrojen peroksit miktarını azaltmış olmasıdır.

Haşıl sökme banyosundaki glikozdan hidrojen peroksit üretmek için kullanılan ikinci enzim saf GOx enzimidir. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda; haşıl sökme banyosundaki glikozdan hidrojen peroksit üretimi %0,01 saf GOx enzimi ile 55°C'de, 45 dakikada ve pH 4,1'de yapılması durumunda 600-800 mg/l hidrojen peroksit seviyelerine ulaşılmıştır. Üretilen hidrojen peroksit ile asidik ve nötr pH'larda yapılan ağartmalarda aktivatör kullanılması durumunda bile yeterli beyazlık dereceleri ve hidrofilitate değerlerine ulaşılamamıştır. Bazik ortamda yapılan ağartma işlemleri sonucu beyazlık dereceleri, koşullara bağlı olarak 70-74 stensby arasındadır. Konvansiyonel yöntemle göre elde edilen beyazlık dereceleri 78-85 stensby arasında değişmektedir. Elde edilen beyazlık dereceleri konvansiyonel yöntemle göre elde edilen beyazlık derecesinden düşük olsa da; özellikle açık ve orta renk boyanacak kumaşlar için yeterli seviyede olduğu söylenebilir. Saf GOx enzimi ile üretilen hidrojen peroksit ile alkali ortamda yapılan ağartmalarda açık ve orta renk boyanacak kumaşlar için yeterli beyazlık derecelerine ulaşılmıştır. Alkali ortamda yapılan ağartmalar sonucu elde edilen hidrofilitate değerleri konvansiyonel yöntemle göre elde edilen hidrofilitate değerlerine yakın çıkmıştır. Saf GOx enzimi ile yapılan çalışmalarda tekrarlanabilirlikler iyi çıkmamıştır. Kullanılan enzimin saf olması bir takım sorunlara

neden olmuştur. Bu enzimin saklama koşullarının -15°C ve altında olması kullanımını zorlaştırmaktadır.

Hidrojen peroksit üretimi için kullanılan üçüncü enzim Multifect GO 5000L GOx enzimidir. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda; haşıl sökme banyosundaki glikozdan 2ml/l Multifect GO 5000L GOx enzimi ile 50°C 'de, 30 dakikada ve pH 5,1'de en fazla hidrojen peroksitin üretildiği görülmüştür. Bu enzimle yapılan optimizasyon çalışmaları sonuçları saf GOx enzimi ile yapılan optimizasyon çalışmaları sonuçlarına benzerlik göstermiştir. Saf GOx enzimi ile yapılan çalışmalarda hidrojen peroksit üretimi öncesi banyo pH'ının artırılması durumunda oluşan hidrojen peroksit miktarının azaldığı görülmesine rağmen Multifect GO 5000L GOx enzimi ile pH 5,1'de en fazla hidrojen peroksit üretilmiştir. Ayrıca Multifect GO 5000L GOx enzimi ile yapılan çalışmaların tekrarlanabilirliklerinin diğer GOx enzimleri ile yapılan çalışmalardan daha iyi olduğu görülmüştür. Hafif asidik ve nötr ortamlarda aktivatör kullanılarak yapılan ağartmalarda yeterli hidrofilit ve beyazlık derecelerine ulaşamadığı için ağartma işlemi bazik ortamda yapılmıştır. Bazik ortamda yapılan ağartma işlemleri sonucu 70-72 Stensby beyazlık derecelerine ulaşılmış olup; kumaş üzerinde renkli safsızlıklar giderilmiştir. Ağartma işlemi alkali ortamda yapıldığından ağartma sonrası elde edilen hidrofilit değerleri konvansiyonel hidrofilleştirme işlemlerindeki hidrofilit değerlerine yakın çıkmıştır. Üretici firma Multifect GO 5000L enziminin bir yıl sonunda 4°C 'de saklandığında %6, 25°C 'de saklandığında ise %9 oranında aktivite kaybına uğradığını belirtmektedir. Aktivite kaybının az olması enzim stabilitesinin iyi olduğunun bir göstergesidir. Multifect GO 5000L GOx enzimi ile tekrarlanabilirliklerin iyi olmasının en büyük nedeni enzim stabilitesinin iyi olmasıdır. Ayrıca enzim stabilitesinin iyi olması endüstriyel uygulanabilirliği destekleyecektir. Bu nedenlerden dolayı; haşıl sökme banyosundan hidrojen peroksit üretiminin Multifect GO 5000L GOx enzimi ile yapılması ve alkali ortamda ağartma işleminin uygulanması uygun görülmüştür.

Çalışmanın üçüncü aşamasını ağartma işlemi sonrası banyodaki hidrojen peroksitin katalaz enzimi ile giderimi ve aynı banyoda boyama işlemleri oluşturmaktadır. Bu işlemlerin hepsi aynı banyoda yapıldığından bu yöntem, "tek banyo yöntemi" olarak adlandırılmıştır. Tek banyo yöntemine göre elde edilen boyama sonuçlarının konvansiyonel yöntemle elde edilen boyama sonuçları ile karşılaştırılması

için üç farklı renkte boyarmadde (P.Crimson HEXL, P.Dark Blue HEXL, P.Yellow HEXL) çalışmaları yapılmıştır. Konvansiyonel yöntemle göre haşıl sökme ve ağartma işlemleri işletme şartlarında yapılan kumaşların boyama işlemleri tek banyo yöntemine benzer şekilde yapılmıştır. Her iki yöntemle göre boyama sonucu ölçülen L^* , a^* , b^* , K/S, h° açısı, reflektans gibi renk parametrelerinin ortalama, standart sapma ve %CV değerleri karşılaştırılmıştır. İşlem, boyarmadde konsantrasyonu ve yardımcı kimyasal kullanımının renk bilgilerine etkisi üç faktörlü varyans analizi yapılarak değerlendirilmiştir.

Birinci faktör olan işlem, konvansiyonel yöntem ve tek banyo yöntemi olacak şekilde iki farklı seviyede değerlendirilmiştir. Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde işlemin, renk bilgilerinden bazılarında anlamlı etkisi olduğu görülmüştür. Bunun nedeninin boyama öncesi zemin renklerinin yöntemlere göre farklılık göstermesi olduğu düşünülmektedir. Zira, konvansiyonel yöntemle göre boyamada kumaşların ağartma sonrası beyazlık indeksi 80-81 Stensby iken tek banyo yöntemi ağartma sonrası beyazlık indeksinin 70-72 Stensby arasında olduğu görülmüştür. Her üç renk içinde konvansiyonel yöntem ve tek banyo yöntemine göre boyamada tekrarlanabilirliğin göstergesi olan %CV değerleri çok büyük farklılık göstermemiştir. Boyama sonuçlarının değerlendirilmesinde tekrarlanabilirlik önemli bir parametredir. Tek banyo yöntemi ile boyama sonucu tekrarlanabilirliklerle konvansiyonel yöntemle göre boyama sonucu elde edilen tekrarlanabilirlikler benzerlik göstermiştir. Ayrıca konvansiyonel yöntem ve tek banyo yöntemi için %CV değerlerinin birbirine yakın olması çalışmanın uygulanabilirliğini desteklemektedir.

İkinci faktör boyarmadde konsantrasyonudur. Üç farklı renkte boyama için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde boyarmadde konsantrasyonunun renk bilgilerinin hepsine anlamlı etkisi olduğu görülmüştür. Boyarmadde konsantrasyonu artmasının K/S, L^* , a^* , b^* gibi renk bilgilerini etkilediği daha önceki yapılan çalışmalarda da belirlenmiştir (Dimitrovski ve ark. 2004). Yapılan varyans analizi SNK sonuçlarına göre, boyarmadde konsantrasyonundaki artışa lineer olarak renk bilgisi değerlerinin değişim gösterdiği görülmüştür.

Üçüncü faktör olan yardımcı kimyasalın tek banyo yönteminde boyama işleminden önce banyoya ilave edilmesinin renk bilgilerine etkisi incelenmiştir. Yapılan

varyans analizi sonuçlarına göre Procion Dark Blue HEXL ile boyamada yardımcı kimyasalın L* ve K/S değerlerine $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde anlamlı etkisi olduğu görülmüştür. Bu etkinin derecesinin az olduğu yapılan varyans analizi sonuçlarından söylenebilir. Procion Yellow HEXL ve Procion Crimson HEXL ile boyamada yardımcı kimyasalın renk bilgilerine $\alpha = 0,05$ önem seviyesinde anlamlı etkisi görülmemiştir. Bu sonuçlara göre tek banyo yönteminde boyama öncesi iyon tutucu ve dispergator verilmesine gerek yoktur. Haşıl sökme işleminde banyoya eklenen yüzey aktif madde (dispergator özelliği var), ağartma işleminde ilave edilen peroksit stabilizatörü (iyon tutucu özelliği var) ve glikozdan GOx enzimi ile üretilen glikonik asitin iyon tutma özelliği boyama işleminde tek banyo yönteminde yeterli olduğu düşünülmektedir. Tek banyo yöntemine göre boyama işleminde boyama öncesi yardımcı kimyasal kullanılmaksızın boyama yapılması tavsiye edilebilir.

K/S değerleri boyama veriminin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Farklı renklerde K/S değerleri iki yöntem arasında değişiklik göstermiştir. Tek banyo yöntemi ile konvansiyonel yöntemle göre boyama sonucu elde edilen K/S değerleri farkı en fazla %7'olmuştur. Tek banyo yönteminde, boyama işlemi öncesi banyoda haşıl sökme işleminden gelen maddeler (haşıl sökme enzimi, glikonik asit, asetik asit, ıslatıcı), GOx enzimi ile hidrojen peroksit üretiminde banyoya eklenen maddeler (sodyum asetat, GOx enzimi), ağartma banyosundan gelen maddeler (iyon tutucu, sodyum hidroksit, pamukta bulunan yabancı maddeler) ve hidrojen peroksit giderimi için banyoya eklenen katalaz enzimi gibi maddelerin banyoda bulunması boyarmadde verimliliğini azaltıcı etki göstermiş olabilir. Tek banyo yönteminde boyama verimliliğinin konvansiyonel yöntemle göre boyamalara yakın olması, yöntemin uygulanabilirliği açısından umut vericidir.

Tek banyo ve konvansiyonel yöntemle göre boyama işlemlerinin kendi içlerinde tekrarlanabilirlikleri çok önemlidir. Tek banyo ve konvansiyonel yöntemle göre boyama sonucunda elde edilen renk bilgilerinin ortalamaları referans alınarak $\Delta E^*CIELab$ değerleri hesaplanmıştır. Bu şekilde her iki yöntem içinde tekrarlanabilirlikler karşılaştırılabilmiştir. Konvansiyonel yöntem için ve tek banyo yöntemi için $\Delta E^*CIELab$ renk farklılıklarının hepsinin 1'in altında olduğu görülmüştür. Bu sonuçlara göre tek banyo yöntemine göre elde edilen boyama sonuçlarının tekrarlanabilirliklerinin konvansiyonel yöntemle göre elde edilen tekrarlanabilirliklere yakın olduğu

görülmüştür. Hidrojen peroksit ile ağartma işlemi yapılmış pamuklu örme kumaşların ağartma banyosuna katalaz enzimi ilavesi ile peroksit giderimi yapılarak aynı banyoda monoklortriazin grubu reaktif boyarmadde ile boyanması sonucu boyama veriminin azaldığı ve ΔE^*CIE_{Lab} renk farkının 1-2 arasında değiştiği, daha önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir (Tzanov ve ark. 20001).

İki yöntem için mukavemet değerleri karşılaştırıldığında tek banyo yöntemine göre işlem sonucu mukavemet değerleri, konvansiyonel yöntemine göre boyama sonrası mukavemet değerlerinden hem atkı hem çözgü yönünde daha fazla çıkmıştır. Bunun nedeni, tek banyo yönteminde konvansiyonel yöntemine göre yapılan ağartma işlemine göre daha az hidrojen peroksit kullanılmasıdır. Ağartma işleminde banyodaki hidrojen peroksit miktarının artması sonucu kumaş mukavemet değerlerinde azalma meydana geldiği daha önceki yapılan çalışmalarda da rapor edilmiştir.

Tek banyo yöntemi sonucu ölçülen KOİ miktarının; haşıl sökme, ağartma ve boyama işlemlerinin ayrı banyolarda yapılması durumunda toplam KOİ miktarından %43 daha az olduğu görülmüştür. Konvansiyonel ağartma banyosunda iyon tutucu, yüzey aktif madde ve haşıl sökme işleminde uzaklaştırılmamış nişasta bulunmaktadır. Ayrıca ağartma işlemi alkali ortamda yapıldığından pamuktaki yağ ve vaksler yağ asitlerinin sodyum tuzuna sabunlaşmaktadır. Bu nedenlerden dolayı ağartma banyosunun KOİ değeri yüksek çıkmıştır. Konvansiyonel boyama banyosuna ilave edilen boyarmadde ve yardımcı kimyasallar, konvansiyonel boyama banyosu KOİ değerini artırmıştır.

Tek banyo yöntemi sonucu ölçülen BOİ miktarının haşıl sökme, ağartma ve boyama işlemlerinin ayrı banyolarda yapılması durumunda toplam BOİ miktarından %20 daha az olduğu görülmüştür. Konvansiyonel ağartma banyosunun ve konvansiyonel boyama banyosunun BOİ değerlerinin KOİ değerlerine göre daha düşük çıkması; boyama banyosunda bulunan boyarmaddenin KOİ değerinin yüksek, BOİ değerinin düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Boyarmaddenin toksik etkisinin BOİ değerinin düşük çıkmasına neden olmuştur.

Tek banyo yönteminin çevresel etkileri bakımından konvansiyonel yöntemine göre birçok avantajı vardır. Her bir işlem için ayrı ayrı yardımcı kimyasal kullanmak yerine tek banyo yönteminde aynı işleve sahip kimyasalı ikinci kez banyoya ilave

etmeye gerek yoktur. Bunun sonucu olarak maliyetlerde azalma ve atık sulardaki kimyasal madde miktarında düşüş sağlanmıştır. Konvansiyonel haşıl sökme enzimleri nişasta haşılını parçalayarak uzaklaştırmak amacı ile kullanılmaktadır. Parçalanmış nişastanın kirliliği yüksek tekstil atık sularında biyolojik olarak parçalanması daha zordur. Tek banyo yönteminde nişasta haşılının en küçük monomerine kadar parçalanması biyolojik olarak parçalanmasını kolaylaştıracaktır. Konvansiyonel yöntemle çektirme metoduna nişasta haşılı pamuklu bir kumaşın göre haşıl sökme işlemi yapılması durumunda haşılının uzaklaştırılmasının ardından bir yıkama tavsiye edilmektedir. Konvansiyonel ağartma işleminde çektirme yöntemine göre çalışmalarda hidrojen peroksitin parçalanması için katalaz enzimi kullanılmaması durumunda boyama öncesinde 5-8 kez doldurup boşaltılması gerekmektedir. Bu çalışmada, konvansiyonel yöntemle yapılan işlemlerde ağartma işlemi sonrası peroksit giderimi enzimatik yöntemle yapılmasına rağmen 6 banyo kullanılmıştır. Tek banyo yönteminde ise; haşıl sökme, hidrofilleştirme, ağartma ve boyama işlemleri aynı banyoda yapılması su tüketimini önemli miktarda azaltmıştır.

Enzimler ile yapılan işlemler her ne kadar çevre dostu olsa da enzimlerin maliyetleri yüksektir. Enzimlerin tekrar kullanımları ile bu maliyetler düşürülebilir. Saf amiloglikozidaz ve glikoz oksidaz enzimleri ile farklı yöntemlerle immobilize edilerek bağlanma verimleri ve enzim aktiviteleri değerlendirilmiştir. Haşıl sökme işleminde kullanılan amiloglikozidaz enzimi tutuklama yöntemine göre immobilize edildiğinde enzim substrat etkileşimini olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle enzimin taşıyıcıya bağlama yöntemine göre immobilizasyonu yapılmıştır. Enzimin bağlanacağı taşıyıcıların işlemde sonra toplanabilmesi önemlidir. Taşıyıcı olarak magnetit kullanılmış ve haşıl sökme işlemi sonrası mıknatıs yardımı ile magnetitlerin toplanması sağlanmıştır. Ancak magnetitlerin kumaş üzerinde kalması ve ağartma esnasında hidrojen peroksitin bozunmasında katalitik etki göstermesine neden olacağı düşünüldüğünden başka yöntemler araştırılmıştır. Enzimleri bez torbalara koyarak çözeltiye bırakma ve böylece işlem sonrası torbalar çözeltiden çıkarılarak tekrarlı kullanım sağlanması amaçlanmıştır. Bu yöntemde de enzim aktivitesinde azalma ve uygulamalarda zorluklarla karşılaşmıştır. Banyoda bulunan safsızlıklar immobilize enzimlerin stabilitesine olumsuz etki göstermiştir. Ayrıca bez torba kullanımı enzim-substrat etkileşimini azaltmıştır. Saf Gox enziminin alumina küreler üzerine immobilize

edilen enzimler için yapılan çalışmalarda bağlanma veriminin %82 olduğu tespit edilmiştir. Ancak APTS ile silanize edilen alüminanın glutaraldehit ile reaksiyona sokulduğunda renginin kırmızıya dönmesi ağartma denemelerinde kumaşın kırmızıya boyanmasına neden olmuştur. Tekrarlı yıkamalarda bile kumaştaki kırmızı renk tam olarak giderilememiştir. Saf glikoz oksidaz enzimi ile yapılan immobilizasyon işlemlerinde elde edilen sonuçlar beklentilerin altında kalmıştır.

Bu çalışma ile nişasta haşılı pamuklu kumaşların enzimatik haşıl sökme, enzimatik hidrojen peroksit üretimi, üretilen hidrojen peroksit ile alkali şartlarda ağartma, katalaz enzimi ile hidrojen peroksit giderimi ve boyama işleminin aynı banyoda yapılabileceği görülmüştür. Tek banyo yönteminin konvansiyonel yöntem göre; daha az kimyasal kullanımı, atık sudaki BOİ ve KOİ değerlerinin daha düşük olması, düşük sıcaklıklarda çalışıldığı için daha az enerji sarf edilmesi ve su tüketiminin daha az olması gibi avantajları vardır. Ayrıca boyamada tekrarlanabilirlik ve kumaşın hidrofilitate değerleri açısından da konvansiyonel yöntemden kötü değildir. Kullanılan enzimlerin ticari olmasının, çalışmanın tekstil endüstrisinde uygulanabilirliğini destekleyeceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

ADANUR, S. 1995. Wellnsngton Sears Handbook of Industrial Textiles, Teconomic Publishing CO, INC., 832s.

AKKAYA, E. U. 1999. Enzim Teknolojisi, Bilim ve Teknik, Sayı: 383, s74-80.

ALEXANDRE, G. ve I.B. ZHULIN. 2000. Laccases are Widespread in Bacteria, Tibitech Vol 18, s41-42.

ALTUNATA, A., T.ALTUNATA, 1998. Fizikokimya, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları No:159, İzmir, 381s.

ANIŞ, P. 1998. Tekstil Ön terbiyesi, Alfa Kitabevi Bursa, 203s.

ANONİM, 2001. Integrated Pollution Prevention and Control, European Commission Report, 221s.

ANONİM 2002. Rudolf Duraner katalog.

ANONİM, 2003, Enzymes at Work, Novozymes katalog.

ANONİM, 2004. Draft Emission Scenario On Textile Manufacturing Woven Mills”, Environment Directorate Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology, 29s

ANONİM, 2005. Gürsoy, N. Ç. Tekstil Terbiyesi Yardımcı Maddeleri Lisans Ders Notları, 99s.

ANONİM, 2007. Anış, P.,Tektilde Enerji ve Su Tasarrufu Dersi ders notları, Uludağ Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölümü, 35s.

ANTHEUNISSE, W., C. PAUL, N.J. PARRY ve T. SWARTHOFF. 2001. Bleaching Detergent Compositions, United States Patent Application, Patent no: US 2001/0007857 A1.

BACHELOR, S.N., 2004. Composition and Method fot Bleaching a substate, Patent Coooperation Treaty, Patent no: WO 2004/029354 A1.

BASTO, C., T. Tzanov, A. Cavaco-Paulo. 2007. Combined Ultrasound-Laccase Assisted Bleaching of Cotton, Ultrasonics Sonochemistry, Vol. 14, s350-354.

BUSCHLE-DILLER G. ve D.Y. XIANG. 2001. Enzymatic Bleaching of Cotton Fabrics with Glucose Oxidase, Textile Research Journal, Vol. 71 (5), s388-394.

BUSCHLE-DILLER, G., S.H. ZERONIAN,N. PAN ve N. YOON. 1994. Enzymatic Hydroysis Of Cotton, Linen, Ramie, And Viskose Rayon Fabrics, Textile Research Journal, 1994, Vol.64(5), s270-279.

BUSCHLE-DILLER G., R. RADHAKRISHNAIAH, H. FREEMAN ve S.H. ZERONIAN. 1999. Environmentally Benign Preparatory Process – Introducing a Closed-Loop System. Annual Report C99-A07, s1-6.

BUSCHLE-DILLER, G., S.H. ZERONIAN, N. PAN ve M.Y. YOON. 1994. Enzymatic Hydrolysis Of Cotton, Linen, Ramie, and Viskose Rayon Fabrics, Textile Research Journal, Vol. 64(5), s270-279.

CANAL, J.M., A.NAVARROV, M. CALAFELL, C. RODRIQUEZ, G. CABALLERO, B. VEGA, C. CANAL ve R. PAUL. 2004. Effect of Various Bioscouring Systems on the Accessibility of Dyes in Cotton, Coloration Technology, Vol 120 s311-315.

CAVABATO, A. ve L. ALMEIDA. 1996. Effects of Agitation and Endoglucanase Pretreatment on Hydrolysis of Cotton Fabric by a Total Cellulase, Textile Research Journal, Vol.66(5), s287-297.

CAVACO-PAULO, A. ve G.M. GUBITZ. 2003. Textile Processing with Enzymes, CRC Pres LLC USA, 228s.

CHIKKODI, S.V., S. KHAN ve R.D. META. 1995. Effects of Biofinishing on Cotton/Wool Blended Fabrics, Textile Research Journal, Vol. 65(10), s564-569.

CHONG, C.L. ve P.C. YIP. 1999. Bio-Finishing of Cotton Knits, American DyeStuff Reporter, s54-58.

COLONNA, S., N. GAGGERO, C. RICHELME ve P. PASTA. 1999. Recent Biotechnological Developments in the Use of Peroxidases, Tibitech, Vol. 17, s163-168.

CONVENTS, D., M. DOORNINC, M. HEDEN, R.G. SMIRH ve N. ZWES. 2002. Enzymatic Oxidation Composition and Process, United States Patent Application, Patent no: US 2002/0016279 A1.

COPELAND, R.A., 2002, Enzymes A Practical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis, John Wilwy publication, New York, 397s.

CORTEZ, J.M., J. ELLIS ve D.P. BISHOP. 2000. Using Cellulases to Improve Dimensional Stability of Cellulosic Fabrics, Textile Research Journal, Vol. 72(8), s673-680.

CSISZAR, E. G. SZAKACS ve I. RUSZNAK. 1998. Combining Traditional Scouring with Cellulase Enzymatic Treatment. Textile Research Journal, Vol. 68 (3), s163-167.

DAY, A. G., S.D. POWER, D. VICTORIA ve D.S. VINETZKY. 2004. Enzymatic Bleaching of Natural Non-Cotton Cellulosic Fibers, United States Patent Application, US Patent no: US 6,685,748 B1.

Dimitrovski, K. ve Helena G., 204. Correction of Colour Values of Woven Fabrics Using Changes to Constructional Parameters, AUTEX Research Journal, Vol. 4 (4), s187-193.

- DİKMEN, N. Ve TUNCAY Ö. 2000, Harper'ın Biyokimyası, Beta Basım Yayım, İstanbul, 937s.
- DURAN, N., M.A. ROSE, A. ANNIBALE ve L. GIANFREDA. 2002. Application of Laccases and Tyrosinases (Phenoxidases) Immobilized on Different Supports
- ETTERS, J.N. 1999. Cotton Preparation with Alkaline Pectinase: An Environmental
- FESSENDEN, R.J., J.S. FESSENDER, M.W. LOGUE, 2001, Organic Chemistry, California, 1169s.
- GİELDOWSKA B., J. PERKOWSKI, L. KOS. 2004. The Application of Ozone in the Decomposition of Aqueous Solutions of Nonionic Surfactants, Science and Engineering, Vol:26, s217–225
- GÖZÜKARA, E.M., 2001. Biyokimya cilt 2, Nobel Tıp Kitapevleri, s572-675.
- HARTZELL, M. ve S.K. DURRANT. 2000. The Efficiency of Pectinase Scouring with Agitation to Improve Cotton Fabric Wettability. Textile, Chemist and Colorist & American Dyestuff Reporter, Vol. 32 (8), s86-90.
- HARTZELL, M. ve Y.L. HSIEH. 1998. Enzymatic Scouring to Improve Cotton Fabric Wettability. Textile Research Journal, Vol. 68 (4), s223-241.
- HEIKINHEMO, L., J. BUCHERT, A. MIETTINEN-QINONEN ve P. SUOMINEN. 2000. Treating denim fabrics with Trichoderma Reesei cellulases, Textile Research Journal, Vol. 70(11), s969-973.
- HSIEH, Y. Ve L.A. CRAM. 1999. Proteases as Scouring Agents for Cotton. Textile Research Journal, Vol. 69(8), s590-597.
- IBRAHİM, N.A., M. EL-HOSSAMY., M.S. MAHMOUD., ve M.I., BASMA. 2004. Development of New Eco-Friendly Options for Cotton Wt Processing, Polymer Science, Vol. 93, s182-1836.
- İŞMAL, E., 2003. Pamuklu Kumaşların Enzimatik Yöntemlerle Hidrofileştirilmesi Üzerine bir Araştırma, Ege Üniversitesi, Doktora tezi, 273s.
- KARMAKAR, S.R. 1999. Application of Biotechnology in the Pre-treatment Processes of Textiles. Colourage Annual, s75-84.
- KEETON, W.T., L.G. JAMES ve G. CARAL, 2003. Biological Science, W.W. Norton and Company, Newyork, 581s.
- KIRK, O., V. BORCHERT, ve C.C. FUGLSANG. 2002. Protein research, proteomics and applied enzymology, Current Opinion in Biotechnology, Vol:13, s345-351.
- KOO, H., M. UEDA, T. WAKIDA, Y. YOSHİUMA ve T. IGARASHİ. 1994. Cellulase Treatments of Cotton Fabrics, Textile Research Journal, Vol. 64(2), s70-74.

LANGE, N.K. 1997. Lipase-assisted Desizing of Woven Cotton Fabrics Textile Chemist and Colorist, Mayıs sayısı, s23-26.

LENTING, H.B.M. ve M.M.C.G WARMOESKERKEN. 2004. A Fast, Continius Enzyme-based Pretreatment Process Concept for Cotton Containing Textiles, Vol.22(5/6), s361-368.

LENTING, H.B.M. ve M.M.C.G. WARMOESKENDER. 2004. A Fast, Continous Enzyme-based Prereatment Process for Cotton Containing Textiles, Biocatalysis and Biotransformation, Vol. 22, No. 5/6, s361-368.

LENTING, H.B.M., A. ZWEIER ve V.A. NEIRSTRASZ. 2002. Identifying Important Parameters for a Continuous Bioscouring Process, Textile Research Journal, Vol. 72 (9), s825-831.

LI, Y. ve I.R. HARDIN. 1998. Treating Cotton with Cellulases and Pectinases: Effects on Cuticle Properties. Textile Research Journal, Vol. 68, No:9, s671-679.

Lİ, Y., ve I.R. HARDİN 1998. Enzymatic Scouring of Cotton- Surfactants, Agitation, and Selection of Enzymes. Textile Chemist and Colorist & American Dyestuff Reporter, Vol. 30, No. 9, s23-29.

LI, C., C.M LADISCH ve M.R. LADISCH. 2001. Pore charcterization of cellulase enzyme treated cotton fabric, Textile Research Journal ,Vol.71(5) s407-414.

LI, Y. ve I.R. HARDİN, 1997. Enzymatic Scouring of Cotton: Effects on Structure and Properties. Textile Chemist and Colorist & American Dyestuff Reporter, Vol. 29, No:8, s71-76.

LIN, C.H. ve Y.L. HSIEH. 2001. Direct Scouring of Greige Cotton Fabrics with Proteases. Textile Research Journal, Vol. 71, No. 5, s 425-434.

Lopez A., G. Ricco, R. Ciannarella, A. Rozzi, A.C. Di Pinto, R. Passino, 1999. Textile Wastewater Reuse: Ozonation of Membrane Concentrated Secondary Effluent, Water Science and Technology, Vol. 40(4), s99-105.

LOSANCZI, A., E. CRISZAR ve G. SZAKAZ. 2004. Bleachability and Dying Properties of Biopretreated and Conventionally Scoured Cotton Fabrics, Textile Research Journal, Vol.74(6), s501-508).

MAAREL , M.J.E.C., B. VEEN, J.C.M. UITDEHAAG, H. LEEMHUIS, ve L. DIJKHUISEN. 2002. Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family, Journal of Biotechnology, 94, s137-155.

NONOZYMES. 2003. Single-bath Preparation of Cellulosic Meterials, Patent Cooeration Treaty, Patent no: WO 03/002810 A1.

NOVOZYMES. 2000. Enzymatic Treatment of Textiles at High Temperatures, Patent Cooeration Treaty, Patent no: WO 00/26464 A3.

NOVOZYMES. 2006. Treatment of Fabrics, Fibers, or Yarns, Patent Coooperation Treaty, Patent no: WO 2006/0042020 A1.

MURRAY, R.K., D.K. GRANNER, P.A. MAYES, V.W. RODWELL, 1996. Harper's Biochemistry. California, Appleton & Lange, 382s.

MUTLU, Y. 1998. Çevre Mühendisliğinin Esasları, İ.T.Ü. İnşaat Fakültesi Matbaası, 309s.

ORTLEPP, G., M.W.QUARSDOF ve K.P. MIECK. 1997. Cellulases Open Up New Possibilities For Textile Recyling, Melliand Textilberichte, Vol.11-12, s199-200.

OPWIS, K., D. KNITTEL, A. KELE, E. SCHOLLMMEYER, 1999. Starch/Starke, 51(10), p348-353.

PEREIRA L., C. BASTOS, T.TZANOV, A.CAVACO-PAULO, ve G.M. GUEBITZ. 2005. Environmentally friendly bleaching of cotton using laccases. Environ. Chem. Lett. 3, s66-69.

PERALTA-ZAMORA, P., C.M.PEREIRA, E.R.L. TIBURTIUS, S.G. MORAES, M.A. ROSA, R.C. MINUSSI, ve N. DUAN, 2003. Decolorization of Reactive Dyes by Immobilized laccase, Applied Catalysis B: Enviromental, 42, s131-144.

RAMACHANDRAN, S., P. FONTANILLE, A. PANDEY, ve C. LOROCHE. 2006. Gloconic Acid: Properties, Aplications and Microbial Production, Food Techol. Biotechnol. 44 (2), s185-195.

RIVA, S. 2006. Laccases: Blue Enzymes for Gren Chemistry, Treds in Biotechnology, Vol.24 (5), s219-226

ROUSSELLE M.A., N.R. BERTONIERE, P.S. HOWLEY ve W.R. GOYNES. 2002. Effect of Whole Cellulase on the Supramolecular Structure of Cotton Cellulose, Textile Research Journal, Vol. 72 (11), s963-972.

ROWE, J. 1994. Dictionary of Science, Brockhampton Press, London, 230s.

ROUSSELLE, M.A. ve P.S. HOWLEY. 1998. Molecular Weight of Cotton Cellulose: Effect of Treatment with a Total Cellulase, Textile Research Journal, Vol.68(8), s606-610.

ROY, I., ve M.A.MUNISHWAR.. 2004. Hydrolysis of Starch by a Mixture of Glucoamylase and Pullulanase Entrapped Individually in Calcium Alginate Beads, Enzyme and Microbial Technology, Vol. 34, p26-32.

SALMON, S., C. SHI ve J. LIU. 2006. Treatments of Fabrics, Fibers, or Yarns, Partent: US2006/0042020 A1

SHIN, Y., S. HWANG ve I. AHN. 2004. Enzymatic Bleaching of Desized Cotton Fabrics with Hydrogen Peroxide Produced by Glucose Oxidase, *Textile Research Journal*, Vol. 10 (4), s.577-581.

SHORE, J., 1995, *Cellulosics dyeing*, The Alden Pres, Oxford, 396s.

SOARES, G.M.B., T.P. AMORIM, M.LAGEIRO, M. COSTA-FERREIRA. 2006. Pilot-scale Enzymatic Decolorization of Industrial Dyeing Process Wastewater, *Textile Research Journal*; Vol. 76 (1), s4-10

STOHR, R. ve G. PETRY. 1995. Enzymes-biocatalysts in Textile Finishing, *Melliand Textilberichte*, Vol.11, s253-255.

SUURNAKKI, A., M. TENKANEN, J. BUCHERT ve L. VIIKARI. 1997. Hemicellulases in the Bleaching of Chemical Pulps, *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, Vol.57, s261-287.

TARAKCIOĞLU, I. 1979. *Tekstil terbiyesi ve Makinaları*, Ege Üniversitesi Matbaası, İzmir 496s.

TELEFONCU A. 1997. *Enzimoloji*, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Baskı Atölyesi, İzmir, s193-239.

TRAORE, M.K. ve G. BUSCHLE-DILLER. 2000. An Environmentally Friendly Scouring Processes. *Textile Chemist and Colorist & American Dyestuff Reporter*, Vol. 32, No. 12, s.40-43.

TZANKO, T., A.C. SILGIA, N.G. GEORGE ve C.P. ARTUR. 2002. Hydrogen Peroxide Generation with Immobilized Glucose Oxidase for Textile Bleaching, *Journal of Biotechnology*, Vol.93, s87-94.

TZANOV, T., C. CARLOS BASTO, G.M. GUBITS ve A. CAVACO-PAULO. 2007. Combined Ultrasound-Laccase Assisted Bleaching of Cotton, *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol 14, s350-354.

TZANOV, T., S.A. COSTA, G.M. GUBITZ ve A. CAVACO-PAULO. 2001. Dyeing in Catalase-treated Bleaching Baths, *Coloration Technology*, Vol. 117, s1-5.

TZANOV, T., M. CALAFELL, G.M. GUEBITZ, ve A. CAVACO-PAULO. 2001. Bio-preparation of Cotton Fabrics. *Enzyme and Microbial Technology*, No:29, 357-362

TZANOV, T., S.A. COSTA, G.M. GUBITZ ve A. CAVACO-PAULO. 2003. Laccases to Improve the Whiteness in a Conventional Bleaching of Cotton, *Macromolecula, Materials and Engineering*, Vol. 288, s807-810.

TZANOV, T., S.A. COSTA, G.M. GUBITZ, A. CAVACO-PAULO. 2001. Bio-preparation of Cotton Fabrics. Vol.29, s357-362.

UEDA, M., H. KOO. ve T. WAKIDA. 1994. Cellulase Treatments of Cotton Fabrics Part II: Inhibitory Effects of Surfactants on Cellulase Catalytic Reaction, Textile Research Journal, Vol. 64(10), s615-618.

VIKARI, L., M. RANUA, A. KANTELINEN, J. SUNDQUIST ve M. LINKO. 1986. Bleaching with Enzymes, 3rd Int. Conf. Biotechnology in the Pulp and Paper Industry, STFI, Stockholm, Sweden, s67-69.

WANG, J. 2002. Method for the one Step Preparation of Textiles, United States Patent Application, Patent no: US/2002/0007516 A1.

WIESMAN, A., 1983. Principles of biotechnology, Surrey University Press, Londra, 217s.

YAZICIOĞLU G. 1999. Pamuk ve Diğer Bitkisel Lifler, D.E.Ü.Mühendislik Fakültesi Yayınları, No:274. D.E.Ü.Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi, İzmir. 377s.

WEINER, R.F. ve ROBIN A.M. 2003, Enviromental Engineering, Elsevier Science, USA, 483s.

YOON, N.S. ve Y.J. LIM. 1996. Mechanical and Dying Properties of Wool and Cotton Fabrics Treated with Low Temperature Plazma and Enzymes, Textile Research Journal, Vol.66(6), s329-336.

<http://www.genetikbilimi.com/genbilimi/enzimler/html>

<http://www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/IOLTP/2282/unite03.pdf>

<http://www.emc.maricopa.edu/faculty/farabee/biobk>

<http://www.food.rdg.ac.uk/online/fs560/topic2/t2a/t2a.htm>

<http://www.lsbu.ac.uk/biology/enztech/immmethod.html>

<http://www.sbu.ac.uk/biology/enztech/immmethod.html>

<http://www.mst.dk>

<http://lsbu.ac.uk/water/chaplin.html>

<http://lsbu.ac.uk/water/chaplin.html>

<http://www.eng.auburn.edu/department/te/ntc/2002/C02-A02.pdf>

EKLER

Ek-1.1 Yardımcı Kimyasal, Boyarmadde Konsantrasyonu ve İşlemin Procion Yellow HEXL İle Boyama Sonucu Elde Edilen K/S Değerlerine Etkisini Gösteren Üç Faktörlü Varyans Analizi ve SNK Testi Sonuçları

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P
Faktörler					
Yardımcı kim., y	0,0045113611	1	0,0045113611	2,2370693811	,1478 ns
B.m. kons., k	8,402798	2	4,201399	2083,3670	,0000 ***
İşlem, i	0,00970225	1	0,00970225	4,8110993264	,0382 *
Kesişimleri					
y x k	0,0033135556	2	0,0016567778	0,8215540159	,4517 ns
y x i	9,669444E-05	1	9,669444E-05	0,0479483188	,8285 ns
k x i	0,0290846667	2	0,0145423333	7,2111737076	,0035 **
y x k x i	4,648889E-04	2	2,324444E-04	0,1152632956	,8916 ns
Hata	0,0483993333	24	0,0020166389		
Toplam	8,49837075	35			

Student-Newman-Keuls Testi

Faktör: Yardımcı Kimyasal

EMS = 0,002	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,03	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	2	0,89	18	a
2	1	0,87	18	a

Faktör: Boyarmadde Konsantrasyonu

EMS = 0,002	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,03	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	%0,25	1,48	12	a
2	%0,125	0,85	12	b
3	%0,03	0,30	12	c

Faktör: İşlem

EMS = 0,002	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,03	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	0,89	18	a
2	2	0,87	18	b

Ek-1.2. Yardımcı Kimyasal, Boyarmadde Konsantrasyonu ve İşlemin Procion Yellow HEXL İle Boyama Sonucu Elde Edilen L* Değerine Etkisini Gösteren Üç Faktörlü Varyans Analizi ve SNK Testi Sonuçları

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P
Faktörler					
Yardımcı kim., y	1,57293402	1	1,57293402	2,008887076	,1692 ns
B.m. kons., k	462,3890195	2	231,19450975	295,27218216	,0000 ***
İşlem, i	0,0046466944	1	0,0046466944	0,0059345682	,9392 ns
Kesişimleri					
y x k	1,7914267223	2	0,8957133612	1,1439685096	,3353 ns
y x i	0,4331833612	1	0,4331833612	0,5532440907	,4642 ns
k x i	4,6227300556	2	2,3113650278	2,9519809803	,0714 ns
y x k x i	0,8735357221	2	0,4367678611	0,5578220675	,5797 ns
Hata	18,791706667	24	0,7829877778		
Toplam	490,47918275	35			

Student-Newman-Keuls Testi

Faktör: Yardımcı Kimyasal

EMS = 0,78	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,60	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	83,46	18	a
2	2	83,05	18	a

Faktör: Boyarmadde Konsantrasyonu

EMS = 0,78	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,74	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	%0,03	87,79	12	a
2	%0,125	82,94	12	b
3	%0,25	79,03	12	c

Faktör: İşlem

EMS = 0,78	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,60	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	83,27	18	a
2	2	83,24	18	a

Ek-1.3. Yardımcı Kimyasal, Boyarmadde Konsantrasyonu ve İşlemin Procion Yellow HEXL İle Boyama Sonucu Elde Edilen a* Değerine Etkisini Gösteren Üç Faktörlü Varyans Analizi ve SNK Testi Sonuçları

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P
Faktörler					
Yardımcı kim., y	0,0088673611	1	0,0088673611	0,0571925563	,8130 ns
B.m. kons., k	1041,8293212	2	520,91466058	3359,7866019	,0000 ***
İşlem, i	4,3381946944	1	4,3381946944	27,980415054	,0000 ***
Kesişimleri					
y x k	0,2167407222	2	0,1083703611	0,6989653294	,5069 ns
y x i	0,3201673611	1	0,3201673611	2,0650100518	,1636 ns
k x i	1,1825160556	2	0,5912580278	3,8134860666	,0365 *
y x k x i	0,2423840556	2	0,1211920278	0,781662299	,4690 ns
Hata	3,7210553333	24	0,1550439722		
Toplam	1051,8592468	35			

Student-Newman-Keuls Testi

Faktör: Yardımcı Kimyasal

EMS = 0,15	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,27	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	2	12,89	18	a
2	1	12,86	18	a

Faktör: Boyarmadde Konsantrasyonu

EMS = 0,15	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,33	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	%0,25	18,97	12	a
2	%0,125	13,76	12	b
3	%0,03	5,88	12	c

Faktör: İşlem

EMS = 0,15	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,27	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	13,22	18	a
2	2	12,53	18	b

Ek-1.4. Yardımcı Kimyasal, Boyarmadde Konsantrasyonu ve İşlemin Procion Yellow HEXL İle Boyama Sonucu Elde Edilen b* Değerine Etkisini Gösteren Üç Faktörlü Varyans Analizi ve SNK Testi Sonuçları

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P
Faktörler					
Yardımcı kim., y	0,3948027778	1	0,3948027778	1,118609222	,3007 ns
B.m. kons., k	2571,345558	2	1285,672779	3642,7439422	,0000 ***
İşlem, i	4,6987787778	1	4,6987787778	3,313222624	,0013 **
Kesişimleri					
y x k	0,3093815556	2	0,1546907778	0,4382910666	,6502 ns
y x i	0,0886054444	1	0,0886054444	0,2510490626	,6209 ns
k x i	4,1919082222	2	2,0959541111	5,9385438239	,0080 **
y x k x i	0,3337682222	2	0,1668841111	0,4728388862	,6289 ns
Hata	8,470578	24	0,35294075		
Toplam	2589,833381	35			

Student-Newman-Keuls Testi

Faktör: Yardımcı Kimyasal

EMS = 0,35	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,40	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	2	33,15	18	a
2	1	32,94	18	a

Faktör: Boyarmadde Konsantrasyonu

EMS = 0,35	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,50	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	%0,25	42,40	12	a
2	%0,125	34,82	12	b
3	%0,03	21,93	12	c

Faktör: İşlem

EMS = 0,35	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,48	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	33,41	18	a
2	2	32,69	18	b

Ek-2.1. Yardımcı Kimyasal, Boyarmadde Konsantrasyonu ve İşlemin Procion Crimson HEXL İle Boyama Sonucu Elde Edilen K/S Değerlerine Etkisini Gösteren Üç Faktörlü Varyans Analizi ve SNK Testi Sonuçları

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P
Faktörler					
Yardımcı kim., y	6.4E-05	1	6.4E-05	0.024479388	.8770 ns
B.m. kons., k	14.981587056	2	7.4907935278	2865.1568955	.0000 ***
İşlem, i	0.051076	1	0.051076	19.536081598	.0002 ***
Kesişimleri					
y x k	00.0146085	2	0.00730425	2.7938057799	.0811 ns
y x i	0.0016537778	1	0.0016537778	0.6325541861	.4342 ns
k x i	0.0369995	2	0.01849975	7.0759774756	.0038 **
y x k x i	0.0011820556	2	5.910278E-04	0.2260624734	.7993 ns
Hata	0.0627466667	24	0.0026144444		
Toplam	15.149917556	35			

Student-Newman-Keuls Testi

Faktör: Yardımcı Kimyasal

EMS = 0,002	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,03	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	1.155	18	a
2	2	1.15	18	a

Faktör: Boyarmadde Konsantrasyonu

EMS = 0,002	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,03	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	%0,25	1.94	12	a
2	%0,125	1.15	12	b
3	%0,03	0.36	12	c

Faktör: İşlem

EMS = 0,002	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,03	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	1.191	18	a
2	2	1.11	18	b

Ek-2.2. Yardımcı Kimyasal, Boyarmadde Konsantrasyonu ve İşlemin Procion Crimson HEXL İle Boyama Sonucu Elde Edilen L* Değerlerine Etkisini Gösteren Üç Faktörlü Varyans Analizi ve SNK Testi Sonuçları

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P
Faktörler					
Yardımcı kim., y	0.02772225	1	0.02772225	0.1946379827	.6630 ns
B.m. kons., k	1750.5838202	2	875.29191011	6145.426561	.0000 ***
İşlem, i	2.7274522501	1	2.7274522501	19.149448667	.0002 ***
Kesişimleri					
y x k	0.66365	2	0.331825	2.3297441059	.1189 ns
y x i	0.0169433611	1	0.0169433611	0.1189593779	.7332 ns
k x i	0.8908986666	2	0.4454493333	3.1275008176	.0621 ns
y x k x i	0.1933975556	2	0.0966987778	0.6789223465	.5166 ns
Hata	3.4183153332	24	0.1424298056		
Toplam	1758.5221996	35			

Student-Newman-Keuls Testi

Faktör: Yardımcı Kimyasal

EMS = 0,14 Df = 24 SL = 0,05 LSD 0,05 = 0,26

Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	2	69.39	18	a
2	1	69.34	18	a

Faktör: Boyarmadde Konsantrasyonu

EMS = 0,14 Df = 24 SL = 0,05 LSD 0,05 = 0,32

Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	%0,03	78.69	12	a
2	%0,125	67.47	12	b
3	%0,25	61.92	12	c

Faktör: İşlem

EMS = 0,14 Df = 24 SL = 0,05 LSD 0,05 = 0,26

Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	2	69.64	18	a
2	1	69.09	18	b

Ek-2.3. Yardımcı Kimyasal, Boyarmadde Konsantrasyonu ve İşlemin Procion Crimson HEXL İle Boyama Sonucu Elde Edilen a* Değerlerine Etkisini Gösteren Üç Faktörlü Varyans Analizi ve SNK Testi Sonuçları

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P
Faktörler					
Yardımcı kim., y	0.06225025	1	0.06225025	0.2349917328	.6322 ns
B.m. kons., k	2500.1505509	2	1250.0752754	4718.9747057	.0000 ***
İşlem, i	10.64390625	1	10.64390625	40.180239823	.0000 ***
Kesişimleri					
y x k	1.2579606667	2	0.6289803333	2.3743708413	.1146 ns
y x i	0.0475966944	1	0.0475966944	0.1796752576	.6754 ns
k x i	1.0123606667	2	0.5061803333	1.9108066822	.1698 ns
y x k x i	0.1085875556	2	0.0542937778	0.2049564287	.8161 ns
Hata	6.357696	24	0.264904		
Toplam	2519.640909	35			

Student-Newman-Keuls Testi

Faktör: Yardımcı Kimyasal

EMS = 0,26	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,35	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	33.81	18	a
2	2	33.73	18	a

Faktör: Boyarmadde Konsantrasyonu

EMS = 0,26	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,43	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	%0,25	42.44	12	a
2	%0,125	36.36	12	b
3	%0,03	22.52	12	c

Faktör: İşlem

EMS = 0,26	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,35	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	34.32	18	a
2	2	33.23	18	b

Ek-2.4. Yardımcı Kimyasal, Boyarmadde Konsantrasyonu ve İşlemin Procion Cirimson HEXL İle Boyama Sonucu Elde Edilen b* Değerlerine Etkisini Gösteren Üç Faktörlü Varyans Analizi ve SNK Testi Sonuçları

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P
Faktörler					
Yardımcı kim., y	0.0252280278	1	0.0252280278	1.131638592	.2980 ns
B.m. kons., k	29.912144667	2	14.956072333	670.87561444	.0000 ***
İşlem, i	5.7496046944	1	5.7496046944	257.90658779	.0000 ***
Kesişimleri					
y x k	0.0803228889	2	0.0401614444	1.8014979547	.1867 ns
y x i	0.0153346944	1	0.0153346944	0.6878592406	.4151 ns
k x i	6.2852648889	2	3.1426324444	140.96718879	.0000 ***
y x k x i	0.1248722222	2	0.0624361111	2.8006593891	.0807 ns
Hata	0.5350406667	24	0.0222933611		
Toplam	42.72781275	35			

Student-Newman-Keuls Testi

Faktör: Yardımcı Kimyasal

EMS = 0,02	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,10	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	-6.58	18	a
2	2	-6.64	18	a

Faktör: Boyarmadde Konsantrasyonu

EMS = 0,02	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,13	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	%0,25	-5.3	12	a
2	%0,125	-7.2	12	b
3	%0,03	-7.30	12	b

Faktör: İşlem

EMS = 0,02	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,10	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	2	-6.21	18	a
2	1	-7.01	18	b

Ek-3.1. Yardımcı Kimyasal, Boyarmadde Konsantrasyonu ve İşlemin Procion Dark Blue HEXL İle Boyama Sonucu Elde Edilen K/S Değerlerine Etkisini Gösteren Üç Faktörlü Varyans Analizi ve SNK Testi Sonuçları

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P
Faktörler					
Yardımcı kim., y	0,0122471111	1	0,0122471111	11,316341983	,0026 **
B.m. kons., k	16,300158	2	8,150079	7530,6805267	,0000 ***
İşlem, i	0,0784	1	0,0784	72,441672442	,0000 ***
Kesişimleri					
y x k	0,0095335556	2	0,0047667778	4,4045070712	,0235 *
y x i	0,0105404444	1	0,0105404444	9,739380406	,0046 **
k x i	0,0229286667	2	0,0114643333	10,593054593	,0005 ***
y x k x i	0,0070542222	2	0,0035271111	3,2590539257	,0560 ns
Hata	0,025974	24	0,00108225		
Toplam	16,466836	35			

Student-Newman-Keuls Testi

Faktör: Yardımcı Kimyasal

EMS = 0,001	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,02	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	2	1,17	18	a
2	1	1,13	18	b

Faktör: Boyarmadde Konsantrasyonu

EMS = 0,001	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,03	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	%0,25	1,98	12	a
2	%0,125	1,12	12	b
3	%0,03	0,34	12	c

Faktör: İşlem

EMS = 0,001	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,02	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	2	1,197	18	a
2	1	1,10	18	b

Ek-3.2. Yardımcı Kimyasal, Boyarmadde Konsantrasyonu ve İşlemin Procion Dark Blue HEXL İle Boyama Sonucu Elde Edilen L* Değerlerine Etkisini Gösteren Üç Faktörlü Varyans Analizi ve SNK Testi Sonuçları

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P
Faktörler					
Yardımcı kim., y	0,54686025	1	0,54686025	4,5023464292	,0444 *
B.m. kons., k	2729,5582271	2	1364,7791135	11236,341219	,0000 ***
İşlem, i	5,6890200278	1	5,6890200278	46,838180333	,0000 ***
Kesişimleri					
y x k	0,7872481667	2	0,3936240833	3,2407401817	,0568 ns
y x i	0,7002900277	1	0,7002900277	5,7655466925	,0244 *
k x i	0,2724317222	2	0,1362158611	1,12147664	,3423 ns
y x k x i	0,2095043889	2	0,1047521945	0,8624336267	,4348 ns
Hata	2,915068	24	0,1214611667		
Toplam	2740,6786496	35			

Student-Newman-Keuls Testi

Faktör: Yardımcı Kimyasal

EMS = 0,12	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,24	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	66,03	18	a
2	2	65,78	18	b

Faktör: Boyarmadde Konsantrasyonu

EMS = 0,12	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,30	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	%0,03	77,42	12	a
2	%0,125	63,92	12	b
3	%0,25	56,37	12	c

Faktör: İşlem

EMS = 0,12	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,24	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	66,31	18	a
2	2	65,51	18	b

Ek-3.3. Yardımcı Kimyasal, Boyarmadde Konsantrasyonu ve İşlemin Procion Dark Blue HEXL İle Boyama Sonucu Elde Edilen a* Değerlerine Etkisini Gösteren Üç Faktörlü Varyans Analizi ve SNK Testi Sonuçları

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P
Faktörler					
Yardımcı kim., y	0,009216	1	0,009216	1,8127557738	,1908 ns
B.m. kons., k	9,0430067222	2	4,5215033611	889,36429301	,0000 ***
İşlem, i	6,315169	1	6,315169	1242,1722079	,0000 ***
Kesişimleri					
y x k	0,0198351667	2	0,0099175833	1,9507548232	,1641 ns
y x i	0,002601	1	0,002601	0,5116078307	,4813 ns
k x i	0,0060631667	2	0,0030315833	0,5963021041	,5588 ns
y x k x i	0,0017711667	2	8,855833E-04	0,1741912218	,8412 ns
Hata	0,1220153333	24	0,0050839722		
Toplam	15,519677556	35			

Student-Newman-Keuls Testi

Faktör: Yardımcı Kimyasal

EMS = 0,005	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,05	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	-5,64	18	a
2	2	-5,67	18	a

Faktör: Boyarmadde Konsantrasyonu

EMS = 0,005	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,06	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	%0,25	-4,97	12	a
2	%0,125	-5,82	12	b
3	%0,03	-6,16	12	c

Faktör: İşlem

EMS = 0,005	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,05	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	-5,23	18	a
2	2	-6,07	18	b

Ek-3.4. Yardımcı Kimyasal, Boyarmadde Konsantrasyonu ve İşlemin Procion Dark Blue HEXL İle Boyama Sonucu Elde Edilen b* Değerlerine Etkisini Gösteren Üç Faktörlü Varyans Analizi ve SNK Testi Sonuçları

Varyans Kaynağı	SS	df	MS	F	P
Faktörler					
Yardımcı kim., y	0,0790546944	1	0,0790546944	3,931059298	,0590 ns
B.m. kons., k	412,01854439	2	206,00927219	10243,979445	,0000 ***
İşlem, i	5,9349080278	1	5,9349080278	295,11815269	,0000 ***
Kesişimleri					
y x k	0,0103667222	2	0,0051833611	0,257746868	,7749 ns
y x i	0,19140625	1	0,19140625	9,5178322306	,0051 **
k x i	5,2556670556	2	2,6278335278	130,67117008	,0000 ***
y x k x i	0,0507185	2	0,02535925	1,261009434	,3015 ns
Hata	0,4826466667	24	0,0201102778		
Toplam	424,02331231	35			

Student-Newman-Keuls Testi

Faktör: Yardımcı Kimyasal

EMS = 0,02	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,1	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	1	-12,22	18	a
2	2	-12,32	18	a

Faktör: Boyarmadde Konsantrasyonu

EMS = 0,02	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,1	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	%0,25	-7,67	12	a
2	%0,125	-13,44	12	b
3	%0,03	-15,70	12	c

Faktör: İşlem

EMS = 0,02	Df = 24	SL = 0,05	LSD 0,05 = 0,1	
Sıralama	Faktör seviyeleri	Ortalamalar	n	Farklılık derecesi
1	2	-11,86	18	a
2	1	-12,68	18	b

ÖZ GEÇMİŞ

1976 yılında Amasya’da doğdu. İlk öğrenimini Amasya’da tamamladı. 1994 yılında Ankara Atatürk Anadolu Lisesinden mezun oldu. 1995 yılında Uludağ Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölümünde başladığı lisans öğrenimi 1999 yılında tamamladı. Yüksek lisans öğrenimi Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde tamamlamıştır. Halen doktora öğrenimini sürdürmektedir.

TEŞEKKÜR

İlk Olarak, doktora çalışmamın her aşamasında bana destek olan değerli hocam Prof. Dr. Pervin ANIŞ'e teşekkür ederim.

Tezimin gerçekleştirilmesi sırasında rahatlıkla çalışabilmem için her türlü kolaylığı gösteren Uludağ Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölüm başkanı Prof. Dr. Şükriye ÜLKÜ, Prof. Dr. Halil Rifat ALPAY, Doç.Dr. Hüseyin Aksel EREN, Araş. Gör. Serkan TEZEL ve Uludağ Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyeleri ve Araştırma Görevlilerine teşekkür ederim.

Tezde kullanılan kumaşların boyanmasında yardımını esirgemeyen BİESSCİ A.Ş. Boyahane Müdürü Refik PALAZOĞLU'na, İhsan Berkok ARI'ya, Yrd.Doç.Dr. Hüseyin Gazi ÖRTLEK'e ve BİESSECI çalışanlarına teşekkür ederim.

Çalışmalarda kullanılan enzimleri temin eden Novozymes firması, Genencor firması ve Cargil A.Ş'ye teşekkür ederim.

Çalışmanın yapılmasında maddi destek sağlayan TÜBİTAK kurumuna TAM 2003-08 projesi ile destek olduğu için teşekkür ederim.