

**T.C  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİTKİLERDEN BOYA ELDE EDİLMESİ VE MİKROSKOBİK  
PREPARATLARDA KULLANILMA YÖNTEMLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan  
Nazmiye NAMALDI BİTGEN**

**Tezi Yöneten  
Doç.Dr.Nurhan CÜCER**

**Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Ağustos 2007  
KAYSERİ**

**T.C  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİTKİLERDEN BOYA ELDE EDİLMESİ VE MİKROSKOBİK  
PREPARATLARDA KULLANILMA YÖNTEMLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan  
Nazmiye NAMALDI BİTGEN**

**Tezi Yöneten  
Doç.Dr.Nurhan CÜCER**

**Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBT-06-22 nolu  
proje ile desteklenmiştir**

**Ağustos 2007  
KAYSERİ**

**Doç. Dr. Nurhan CÜCER** danışmanlığında **Nazmiye NAMALDI BİTGEN** tarafından hazırlanan “**Bitkilerden Boya Elde Edilmesi ve Mikroskopik preparatlarda Kullanılma Yöntemlerinin Araştırılması**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyoloji** Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

..../..../2007

**JÜRİ :**

**İmza**

**Üye :** Prof. Dr. Hamiyet DÖNMEZ ALTUNTAŞ

**Üye :** Doç. Dr. Nurhan CÜCER

**Üye :** Doç. Dr. Süleyman YAZAR

**ONAY**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun .....tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

**Enstitü Müdürü**  
**Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU**

## TEŞEKKÜR

“Bitkilerden Boya Elde Edilmesi ve Mikroskopik Preparatlarda Kullanılma Yöntemlerinin Araştırılması” isimli Yüksek Lisans tezimin hazırlanmasında ve akademik eğitimimde emek ve yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer hocam Doç.Dr.Nurhan CÜCER’e, çalışmalarım boyunca beni destekleyen ve yönlendiren hocalarım Prof.Dr.Halil DEMİRTAŞ’a, Prof.Dr.Hamiyet DÖNMEZ ALTUNTAŞ’a ve Öğr.Gör.Nilgün KUŞÇULU’ya, laboratuvar çalışmalarımda büyük yardımlarını gördüğüm arkadaşım Araş.Gör.Seçil İLHAN’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Araştırmanın yapılmasında, floresan mikroskopunun kullanılmasına izin veren Prof.Dr.Yusuf ÖZKUL’a ve kromozom preparatlarının hazırlanmasında bana hiç zorluk çıkarmadan yardımcı olan Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’ndaki arkadaşlarım Hilal AKALIN’a, Nazife TAŞÇIOĞLU’na ve Müge ÖNAL’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sürekli olarak maddi ve manevi yönden emeklerini esirgemeyen sevgili eşim Veysel BİTGEN’e ve değerli aileme saygı ve şükranlarımı sunarım.

## **BİTKİLERDEN BOYA ELDE EDİLMESİ VE MİKROSKOBİK PREPARATLARDA KULLANILMA YÖNTEMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

### **ÖZET**

Bu çalışmada, boya kaynağı olarak asma yaprağı (*Vitis vinifera*) (AY) kullanılmıştır. Boya banyosu olarak uygun; çözücü fazı, mordan ve pH değerini bulmak koşuluyla, boya miktarı, boyama süresi, güneşe tutma süresi ve ışık kaynağı gibi parametreleri deneme yanılma yoluyla belirleyerek, soğan kök hücreleri (SKH) ve stimule edilmiş insan t-lenfosit kromozom yayma preparatları (KYP) boyanmıştır.

Boya banyosunda; çözücü olarak, distile su (DS) + metil alkol, DS + etil alkol, DS + asetik asit, DS + sodyum hidroksit; mordan maddeleri olarak demir-2-sülfat ( $\text{FeSO}_4$ ), şap, şap + glisin, şap + L-sistein ve şap + potasyum bikromat ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) tek tek denenmiştir. pH değerleri olarak 1,2,3,4,5,8 ve 11 ; ışık kaynağı olarak güneş ışığı ve ultraviyole (UV) (280 nm dalga boyunda 30 dk); 1,5 ; 2,0 ; 2,5 saatlik kaynatma süreleri ; 15, 30, 45, 60 dakikalık güneş ışığına tutma süreleri ayrı ayrı denenmiştir.

Boya banyosu pH=4' e ayarlandığında, sıvı fazı olarak distile su+asetik asit, mordan maddesi olarak şap ve ışık kaynağı olarak güneş ışığı kullanıldığında boyanma gerçekleşmiş ve en iyi görüntü elde edilmiştir. Sonuç olarak asma yaprağı özütü (AYÖ)' nün potansiyel bir floresan boya değeri olduğu kararı verilmiştir. Diğer denenen boya banyoları (DS + metil alkol, DS + etil alkol, DS + sodyum hidroksit), mordanlar ( $\text{FeSO}_4$ , şap + glisin, şap + L-sistein, şap +  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), pH değerleri ( 1,2,3,5,8,11) ve UV ışık kaynağında, ışık yada floresan mikroskopunda gözlemlenebilir bir boyanma sağlanamamıştır.

**Anahtar kelimeler:** Doğal boyalar, boyarmadde, asma yaprağı, floresan

**ATTAINING DYE FROM THE PLANTS AND THE INVESTIGATION OF THE  
METHODS OF ITS USAGE IN MICROSCOPIC PREPARATIONS**

**ABSTRACT**

In this study vine leaf (*Vitis vinifera*) (VL) was used. For the dying bath the appropriate solvent phase;, mordant and pH degrees were found, and for the hypothetical testing such as dye quantity, dying duration, the sunshine exposure time and the light source were determined depending on the heuristic results. Via these determination onion stem cells (OSC) and stimulated human t-lymphocyte chromosome preparations (CP) were dyed.

In dye bath as solvent phase distiller water (DW) + methyl alcohol, DW +ethyl alcohol, DW +acetic acid, DW+ sodium hydroxide; as mordant materials ferrous-2-sulfate ( $\text{FeSO}_4$ ), alum, alum +glycine, alum + L-sistein and alum + potassium bichromate ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) were tested seperately. As pH degrees 1,2,3,4,5,8 and 11 ; as the light sources sun light and ultraviolet (UV) (30 minutes in 280 nm wave light) ; 1,5 ; 2,0 ; 2,5 hours of dyeing time; 15, 30, 45, 60 minutes of exposure to sun light were tested.

When the dye bath was adjusted to pH=4, as liquid phase;, distiller water + acetic acid; alum mordant and sun light were used, the dying was achieved and the best image was attained. In conclusion, the value of vine leaf extract (VLE) as a potential fluorescence dye has been demonstrated. Other tested dye baths (DW+ methyl alcohol, , DW +ethyl alcohol, DW+ sodium hydroxide) , mordants ( $\text{FeSO}_4$ , alum +glycine, alum + L-sistein, alum+  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ), pH degrees ( 1,2,3,5,8,11) and in UV light source an observable dye in light or fluoresance microscope could not be obtained.

**Key words:** Natural dyes, dying stuff, vine leaf, fluorescent

**İÇİNDEKİLER**

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK .....	I
KABUL VE ONAY SAYFASI .....	II
TEŞEKKÜR .....	III
ÖZET .....	IV
ABSTRACT .....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ .....	VIII
KISALTMALAR .....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. BOYA- BOYAR MADDELER .....	3
2.1.1. Boyar Maddelerin Tarihsel Gelişimi.....	4
2.1.2. Boyarmaddelerin Sınıflandırılması .....	5
2.2. BOYA BİTKİLERİ.....	7
2.2.1. Boya Bitkilerinin Tanınması ve Önemi .....	9
2.2.2. Doğal Boyaların Sınıflandırılması.....	13
2.3. RENK.....	17
2.3.1. Renk ve Molekül Yapısı Arasındaki İlişki .....	19
2.3.2. Renklendiricilerin Tanımı ve Sınıflandırılması .....	19
2.4. FONKSİYONEL HÜCRE GÖRÜNTÜLEME TEKNİKLERİ .....	21
2.4.1. Lüminesans Spektroskopisi .....	24
2.4.2. Floresans .....	25
2.4.3. Floresans Sönüm İşlemleri.....	26
2.4.4. Floresansı Etkileyen Değişkenler .....	27

2.5. BOYAMA.....	28
2.5.1. Histolojik Boyama Yöntemlerinin Hedefi.....	28
2.5.2. Boya ile Boyanmanın Hareket Tarzı .....	29
2.5.3. Boyama Yöntemlerinin Bilimsel Kontrolü .....	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	31
3.1. GEREÇLER .....	31
3.2. YÖNTEM.....	32
4. BULGULAR .....	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	44
6. KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ	



**TABLO, ŞEKİL VE RESİM LİSTESİ**

	<u>Sayfa no</u>
<b>Tablo 2.1.</b> Beyaz ışıktan absorplanan renk- cismin rengi .....	18
<b>Tablo 2.2.</b> Bazı kromofor ve oksokrom gruplar .....	19
<b>Tablo 4.1.</b> Doğal boya kaynağı, mordanlar ve diğer değişken parametrelere göre boyamadan elde edilen sonuçlar.....	38
<b>Tablo 4.2.</b> pH, boyama süresi, boya miktarı ve güneşe tutma süresinin boyamaya etkisi.....	39
<b>Şekil 2.1.</b> Quercetin'in kimyasal yapısı.....	11
<b>Şekil 2.2.</b> Quercitrin'in kimyasal yapısı.....	11
<b>Şekil 2.3.</b> $\alpha$ -karoten'in kimyasal yapısı.....	12
<b>Şekil 2.4.</b> $\beta$ -karoten kimyasal yapısı.....	12
<b>Şekil 2.5.</b> Floresans'ın Prensibi .....	23
<b>Şekil 2.6.</b> Floresans Mikroskopisi .....	23
<b>Şekil 2.7.</b> Atom veya molekülleri temel ve uyarılmış halleri .....	24
<b>Şekil 2.8.</b> Singlet ve triplet hallerin temel ve uyarılmış halleri .....	25
<b>Resim 3.1.</b> Deney Düzeneği.....	34
<b>Resim 3.2.</b> Hazırlanan boya - mordan karışımı poşetler .....	35
<b>Resim 4.1.</b> Deney 4'e göre boyanan soğan kök hücrelerinin floresan mikroskopta .....	40
<b>Resim 4.2.</b> Deney 4'e göre boyanan soğan kök hücrelerinin floresan mikroskopta .....	41
<b>Resim 4.3.</b> Deney 4'e göre boyanan T-lenfosit kromozomlarının floresan mikroskopta .....	42
<b>Resim 4.4.</b> Deney 4'e göre boyanan T-lenfosit kromozomlarının floresan mikroskopta .....	43

**KISALTMALAR**

AY	: Asma yaprağı
AYÖ	: Asma yaprağı özütü
SKH	: Soğan kök hücreleri
KYP	: T-lenfosit kromozom yayma preparatları
FeSO <sub>4</sub>	: Demir-II-sülfat
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	: Potasyum bikarbonat
UV	: Ultraviyole
SK	: Soğan kökleri
DS	: Distile su
GI	: Güneş ışığı
AÖBM	: Asma yaprağı özütündeki boyar maddeler

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda bitkisel boya maddelerine olan ilgi giderek artmakta, özellikle gelişmiş ülkelerde bu bitkilerin tarımı ve kullanımına oldukça önem verilmektedir. Boya bitkilerinin gıda, tekstil, kozmetik ve eczacılık gibi birçok kullanım alanı bulunmaktadır. En yaygın bilinen boya bitkilerinin başında çivit otu (*Isatis tinctoria*), kökboya (*Rubia tinctoria*), papatya (*Anthemis tinctoria*), muhabbet çiçeği (*Reseda lutea*), asma yaprağı (*Vitis vinifera*) gibi bitkiler gelmektedir. Ülkemiz ekolojik açıdan bu bitkilerin yetiştirilmesi için oldukça elverişlidir.

Ülkemizde kullanılan boya bitkilerinin birçoğu doğadan toplamalar şeklinde karşılanmaktadır. Bu durum standart bir ürün ihtiyacını karşılayamamaktadır. Bitkisel boyamacılıkta boyama metodu yanında kullanılacak bitkinin ne zaman toplanacağı en önemli aşamalardan biridir. Bununla birlikte diğer kültürel (ekim zamanı, gübreleme v.d.) koşullarda boyamalarda kullanılan bitkinin boyar madde içeriğini ve boyama kalitesini etkileyebilmektedir.

Modern çalışmalarda floresan maddelerin kullanımı artarak birçok alana yayılmaktadır. Bitkisel boyar maddelerden bir kısmı (flavonoidler, antosiyaninler v.d.) floresans özelliğe sahip olduklarından, daha sonraki araştırmalarda bu özelliklerden yararlanma çabalarının yolu açılacaktır.

Asmayaprağı (AY) en fazla bilinen boya kaynaklarından biridir ve bitkisel boyacılıkta yararlanılır. Kimyasal açıdan AY'da; Quercetin, Quercitrin ve Karoten gibi boyar maddeler vardır. Birçok bitkisel kaynaktan olduğu gibi, AY'nın da flavonoid grubu boyar maddelerce zengin olduğu bilinmektedir. Bu maddeler yün ve ipek boyacılığında kullanılmaktadır. Bu boyaların mikroskopi amaçlı kullanılabilirliğinin araştırılması, bildiğimiz kadarıyla henüz çalışılmamıştır. Yün ve ipek protein yapısında oldukları için flavonoidlerin en azından hücre yapısındaki bazı proteinleri boyamada kullanılabilme ihtimali vardır. Asma yaprağının flavonoid grubu boyar maddelerce zengin olması, AY ile çalışılmasına tercih nedeni olmuştur.

Bu çalışmada, mordan boyalarla yapılan tekstil renklendirmesindeki teknikler temel alınarak doğal boyalarla hücre boyanması koşulları incelenmiştir. Çözücü faz, mordan maddesi, pH, ısı işlemi, ışık etkisiyle aktivasyon ve ısımanın ömrü gibi parametrelerin deneme yanılma yolu ile belirlenmesi ve mikroskopik preparatlardaki hücrelerin asma yaprağı özütü (AYÖ) ile floresan boyama metodunun ana hatlarıyla oluşturulması amaçlanmıştır. Soğan kök hücresi (SKH) ve kromozom yayma preparatları (KYP) üzerinde AYÖ'nün floresan boyamada kullanılabilirliği araştırılacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. BOYA- BOYAR MADDELER

Doğadan elde edilen maddeler kullanılarak boya yapımı, tarihin çok eski dönemlerinden beri bilinen bir iştir. Sentetik boyarmaddelerin keşfedildiği zaman olan 19. yüzyıl ortalarına kadar, tarihsel boyama teknikleri bir değişikliğe uğramadan uygulanmıştır (1).

Cisimlerin yüzeylerinin renklendirilmesi için yapılan işlem boyamak kelimesiyle anlatılır. Boyanan yüzeyin dış etkilere korunması ya da güzel bir görünüm sağlanması için yapılan bu işleme boyama, kullanılan malzemeye de boya denir (2).

Bazı cisimlerin, özellikle tekstil ürünlerinin (lif, kumaş v.d.) renkli hale getirilmesinde ise boyarmaddeler kullanılır. Çoğu zaman boya ve boyarmadde birbirinin yerine kullanılmaktadır. Aslında bu iki sözcük eş anlamlı değildir. Boyalar bir bağlayıcı ile karışmış ancak çözünmemiş karışımlardır. Boya bir yüzeyi kapatmak amacıyla kullanılır ve uygulandıkları (örttükları) yüzeyde renklendirme dışında hiçbir değişiklik yapmazlar. Kazımakla boya yüzeyden temizlenebilir. Boyarmaddelerle yapılan renklendirme ise, boyalarla yapılan renklendirme işlemine benzemez (2-4).

Genellikle çözeltiler veya süspansiyon halinde çeşitli boyama teknikleri uygulanarak yapılan renklendirmede kullanılan boyarmaddeler organik bileşiklerdir. Bu tür boyamada boyarmaddeler boyadıkları cisimler ile devamlı ve dayanıklı bir biçimde birleşirler ve cismin yüzeyini yapı bakımından değiştirirler. Bu işlemde boyarmadde, genellikle cismin yüzeyi ile kimyasal ve fizikokimyasal bir ilişkiye girerek birleşir. Boyanan yüzey silme, kazıma, yıkama gibi işlemlerle başlangıçtaki haline döndürülemez (2-4).

### **2.1.1. Boyar Maddelerin Tarihsel Gelişimi**

#### **Boyar Maddelerin Dünyadaki Gelişimi**

Milattan 2000 yıl önce Çinliler'in, İndigo ve Çin yeşili denilen özel boyalarla ipek dokumaları boyadıkları bilinmektedir. M.Ö. 3000'lere ait bir Çin kaynağında, doğal boyalardan söz edilmektedir. Buna dayanarak, boyacılıkla ilgili bilgilerin daha eski tarihlerde, doğuda geliştirilmiş olduğu kabul edilebilir. Mısır'da Orta Krallık döneminde sadece boyalar değil boyaların saptanmasını sağlayan kimyasal maddelerin (mordanların) kullanılışı da biliniyordu. Mısır'da yapılan araştırmalarda ortaya çıkan mumyalara sarılı kumaşların incelenmesi sonucunda Mısırlıların İndigo'yu, Aspir'i ve mordanları kullandıkları, madensel boyaları da tanıdıkları kanıtlanmıştır. Aynı zamanda Asya'dan ayrı olarak Meksika ve Peru'daki yerli halkın, doğal boyama ile uğraştıkları ve Afrika yerlilerinin çeşitli doğal boyalarla günlük yaşamlarını renklendirdikleri bilinmektedir (5).

Boyacılıkta kırmızı elde etmekte kullanılan en önemli bitki kök boyadır. Latince adı 'Rubia tinctorum' olarak bilinen bu bitki Anadolu'da yetişir. Çivitotunu (İsatis tinctoria) uzun bir fermantasyon sonunda, mavinin çeşitli tonlarının elde edildiği bir boya verdiği, eski çağlarda biliniyordu. Çivitotu, ortaçağ boyunca Avrupa'da kullanılan, en önemli boyarmaddelerden biriydi. Doğal boyarmaddeler, 19. yüzyıla kadar önemini koruyarak gelmiştir. 19. yüzyılda, boya üzerine yapılan araştırmaların en önemli sonucu, anilin esaslı boyarmaddelerin, bulunması olmuştur (5).

Modern teknolojik ilerlemeler, 19. yüzyıldan bu yana gerek boyarmadde, gerekse pigment üzerinde köklü dönüşümlere yol açtı. Günümüzde, kullanılan boyaların pek çoğu, kömür katranının ve ham petrolün damıtılmasıyla oluşan, organik kimyasal maddelerden elde edilen sentetik bileşimlerdir (5).

**Boyarmaddelerin Türkiye'deki Gelişimi:** Boyacılık, Türklerin tarihinde çok eski ve köklü bir uygulamadır. Birçok el sanatı ürünleri için gerekli boya, uzun yıllar bitkilerden alınmıştır. Bu ürünlerin değerleri yüksek ve yapay boyalarla boyananlara göre çok kalitelidir. 1882'den itibaren, suni boyalardan önce kullanılan doğal boyalar arasında, bitki boyaları önemli yer tutar. Bitkisel boyalar denilince, bitkilerde görülen çok çeşitli renklerle, onlara bu renkleri veren boyarmaddeler akla gelir. Uzun süre devam eden doğal boyacılıkta, boyarmadde olarak sayıları belli olan bazı; maden, toprak, hayvan çeşitleri ve bitkiler kullanılmıştır (6).

Doğal boyalar 19. yüzyıl sonlarına kadar boyacılığın gelişip yükselmesinde büyük etken olmuşlardır. Anadolu'da doğal boyacılıkta kullanılan pek çok rengin bitkileri olmakla birlikte gerek ziraatının ve gerekse ticaretinin dünya çapında önemli yer tutması bakımından kök boya (*Rubia tinctoria*), cehri (*Rhamus tinctoria*), safran (*Crocus sativus*) birinci sırada sayılması gereken isimlerdir (7, 8).

### 2.1.2. Boyarmaddelerin Sınıflandırılması

Cisimleri renkli hale getirmede uygulanan maddelere boyarmadde denir. Bu boyarmaddeler de doğal ve yapay olmak üzere ikiye ayrılmaktadır (4).

**Doğal Boyarmaddeler:** Doğal boyarmaddeler adından anlaşıldığı üzere doğada doğal olarak bulunan maddelerden elde edilmektedir. Bunlar hayvansal, bitkisel ve madensel boyarmaddelerdir (4).

- **Hayvansal Boyarmaddeler:** Hayvansal boyarmadde olarak kullanılan hayvan türleri kabuklu deniz hayvanları ve böceklerdir.

Boyarmadde olarak kullanılan kabuklu deniz hayvanları *Murex* ve *Purpura*'dır. Boya, bu canlıların salgı bezlerinde bulunur ve doğal halinde soluk sarı renktedir, fakat güneş ışınlarından etkilenen foto-kimyasal bir olay sonucunda sarı-yeşil, yeşil, açık kırmızı ve koyu kırmızıdan geçerek sonunda mora dönüşür (4).

Boyarmadde olarak kullanılan böcek ise *Kokinella* ya da 'cochineal'dır. Bu böcek Guatamala' da ve Meksika'da yetişen *Opuntia cochenillifera* adlı bitkinin üzerinde yaşayıp onunla beslenmektedir. Kokinelladan sağlanan boyada karminik asit rol oynamaktadır. Bu böceğin boya veren kanatsız dişileri bitki yapraklarının üzerinden toplanır, sıcak suya batırılarak öldürülür. Güneşte veya fırında kurutulur ve kırmızı renk elde edilir (4).

- **Bitkisel Boyarmaddeler:** Bitkisel boyarmaddelerin, doğada bulunan bitkilerin bir takım işlemler sonucu renk verme özelliğine sahip oldukları bilinmektedir. Bazı bitkilerin bütün aksamı boyama için kullanılırken bazı bitkilerin belirli organları örneğin çiçeği, yaprağı, tohumları, kabuğu, kökü kullanılır (9).

Çiçekler, en olgun ve büyük duruma geldikleri zaman; tohumlar, olgunlaştıktan sonra; yapraklar, bitki çiçek açmaya başladığı zaman; kabuklar, bitki yapraklarını döktükten sonraki dönemde kullanılır (9).

Bitkisel boyarmaddeler; gerek sayılarının çokluğu gerekse renklerinin çeşitliliği ile doğal boyamacılığın vazgeçilmez bir parçasıdır. Bitkisel doğal boyarmaddelerle yapılacak olan boyama, bitkinin elde edilmesi, toplanması, kurutulması ve boyaya hazırlanması gibi aşamalardan geçtikten sonra boyarmadde işleme hazır hale gelmektedir (3).

- **Madensel Boyarmaddeler:** Doğal boyarmaddelerden madensel boyarmaddelere; toprak boyarmaddeler; mineral boyarmaddeler adı da verilmektedir. Elyaf boyamada kullanılır. Genellikle mineral boyarmadde olarak krom sarısı ve Berlin mavisi kullanılmaktadır (3).

**Yapay Boyarmaddeler:** 19. yüzyılda boya üzerinde yapılan araştırmaların en önemli sonucu anilin içeren boyarmaddelerin bulunması oldu. William Henry Perkin Londra'da, kimya okulunun laboratuvarında rastlantı sonucu ilk anilin boyayı keşfetti. Perkin kininin sentezini yapmak için giriştiği deneyin bozulması sonucunda çıkan koyu renkli çökeltinin ipekli bir kumaş parçasını eflatun renge boyadığını fark etti. Aslında bu madde Potasyum bikarbonatla saf olmayan anilinin karışımıydı. 1856'da eflatun rengi anilin, ticari olarak Londra'da üretilmeye başlandı. Daha sonra, havagazı üretiminin bir yan ürünü olan katrandan türetilen değişik renkler üretilmeye başlandı. Prof. Hoffman 1856'da anilin kırmızısını geliştirdi: Bu siyah, yapışkan, kötü kokulu katrandan, doğal kökenli boyalarla elde edilen bütün renkler yapılabiliyordu (4).

Anilin organik kimyanın en önemli maddelerinden biridir. İlk sentetik boyarmaddeler anilinden elde edildiğinden, bunlara anilin boyalar denilmiştir. İlk keşifleri izleyen yıllarda boyarmaddelerde sırası ile şu gelişmeler olmuştur (4).



1868'de bir Alman kimyacılar grubu, kök boyanın boyama özünü oluşturan Alizarin'in bir Antrakinon türevi olduğunu kanıtladı. Bunların Antrakinon'dan sentetik olarak yaptıkları alizarin, doğal bir boyanın bütünüyle kimyasal yollarla elde edilmesinin ilk örneğini oluşturuyordu (4).

İndigo sentetik olarak ilk defa 1880'de yapılmıştır. Ama ekonomik olarak üretimi 20 yıl sonra gerçekleşebilmiştir. Sentetik boyarmaddenin boya endüstrisi tarafından benimsenmesinden sonra İndigo üretimi de yapılmaz olmuştur (4).

Sentetik boya yapımıcısının boyarmaddelerin ve pigmentlerin sentezi için yararlandığı başlıca maddeler, aromatik karbonhidratlar olarak bilinen kömür katranı bileşikleridir. Boyarmadde yapımıcısı açısından yalnızca birer hammadde olan bu bileşiklerden, önce 'ara maddeler' adı verilen maddeler, onlardan sonra da boyarmadde tüketilir. Aromatik hidro karbonların üretiminde en önemli kaynağı kömür katranının oluşturmaya rağmen bu maddelerin sağlanmasında petrokimya endüstrisi giderek önem kazanmaktadır (4, 10).

## **2.2. BOYA BİTKİLERİ**

Sınai bitkiler kapsamında değerlendirilerek zamanında Ziraat Fakültelerinde ders olarak okutulan Boya Bitkileri'ni kültüre almadan bulmak mümkün olmuşsa da bazı bitkilerin ziraatı yapılarak yetiştiren kişilere gelir getirici imkan yaratmışlardır (9).

1930'lu yıllarda sadece mavi rengin elde edildiği bitki olan Çivit Fidanı (İndigofera tinctoria) bitkisi Hindistan'dan ithal edilirken, kırmızı rengin elde edildiği ve halk arasında kök boya, boya pürcü, boya çili, yapışkan otu denilen latince adı Rubia tinctorum olan bitki ile sarı rengin elde edildiği ve halk arasında akdiken, boyacı diken, Alacehir, Ebicel, Cehri denen latince adı Rhamnus tinctoria olan bitki yurt dışına ihraç ediliyordu (9).

Zamanla bu bitkilerin kullanımının azalması sonucu ziraatine son verilmiştir. İşte eskiden beri daha çok halı ve kilim iplerinin boyanmasında kullanılmış olan, fakat başka kullanım alanları da olan (gıda maddelerinin boyanması gibi) bu bitkiler günümüzde tekrar önem kazanmışlardır (9).

**Bitkilerin Toplanması:** Bitkilerin toplama zamanlarının kalite üzerindeki etkileri çok önemlidir. Çiçek, yaprak, tohum, kabuk ve kökler ayrı ayrı zamanlarda toplanır (9).

Diğer bir faktör bitkilerin bulunduğu yöredir. Bir türün yetişmesi için en uygun iklim şartları nerede varsa bitki oradan toplanmalıdır. Ayrıca toprağın besleme yeteneği, kullanılan gübreler, o yılın yağış miktarı gibi etkenlerde gerek boyarmadde miktarını gerekse elde edilen rengin niteliğini etkiler. Bu nedenle;

Çiçekler : En olgun ve büyük duruma geldikleri zaman,

Tohumlar : Özel kayıtlar yoksa olgunlaştıktan sonra,

Yapraklar : Bitki çiçek açmaya başladığı zaman,

Kabuklar : Bitki yapraklarını döktükten sonra toplanmalıdır. Kabuklar ağaca bir zarar vermeyecek şekilde alınmalıdır. En iyisi kesilmiş ağaçların kabuklarından faydalanmaktır. Boyar madde ağacın gövdesinin dış kabuğunda ya da dallarındaki kabuğun hemen içinde bulunur (9).

Toprak altı sürüngeleleri : Bitkilerin dikkatle toplanması gereken bir parçası da toprak altındaki organlarıdır. Yetiştirilmesi uzun zaman alan bitki organlarını (Rizom, stolon, yumru, soğan, kök, gövde, v.b.) toplarken özen gösterilmesi gerekir. Bu organlar ilkbaharda ve sonbaharda toplanır (9).

**Bitkilerin Kurutulması ve Kullanılması:** Boya bitkileri taze ve kuru halde kullanılır. Eğer mevsiminde toplanması gerekip de hemen kullanılmayacaksa, bu bitkileri bir müddet bozulmadan saklamanın yolu kurutmaktır. Hemen kullanılmayacak boya bitkileri kurutulmuş olarak saklanabilir. Kurutma işlemi, gölgede, havadar bir yerde ve kurutulacak bitkinin büyüklüğüne göre, demetler halinde açarak yada sererek yapılabilir. Kurutma aşamasında küflenmenin önüne geçilmelidir. Çünkü küflenme, çoğu kez bitkideki boyarmaddenin kaybına neden olur. Günümüzde kurutma işlemi çok sıcak olmayan fırınlarda veya etüvlerde de yapılabilir. Ancak bitkilerin kavrulmamasına dikkat edilmelidir. Kurutulduktan sonra bitkideki boyar maddenin değişikliğe uğrayıp uğramayacağı bitkiye bağlı bir özelliktir. Bazıları niteliklerinden hiçbir şey yitirmeden uzun yıllar saklanabilir. Bazı bitkilerin ise bekleme sonucunda renkleri değişebilir. Kurutulmuş boya bitkilerinin uzun süre saklanması sonucu renk kaybı veya renk ton değişimi olup olmadığı bilinmediğinden bitkiyi zamanında kullanmakta yarar vardır. Kurutulmuş bitkiler bez ya da kağıt torbalarda korunmalıdır (5).

### 2.2.1. Boya Bitkilerinin Tanınması ve Önemi

Bitkileri tanımak, onların dünyasına girmek, onların yaşam koşullarını öğrenmek, onlarla ilgilenmek ve onların hayatlarını incelemekle olur. İşte bitkilerin yaşamlarını inceleyen, onları belli bir takım esaslara göre gruplandırarak ve bu gruplara isim veren bir bilim dalı vardır. Bu da Botanik'tir. Botanik kendi içinde incelendiği konulara göre aşağıdaki bölümlere ayrılır.

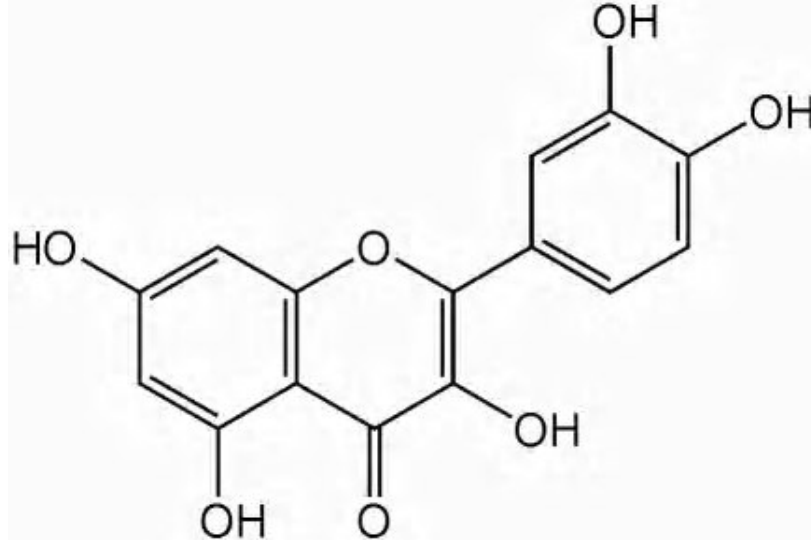
1. Bitki Morfolojisi : Bitkilerin şekil ve gelişmelerini, organizasyonun herhangi bir basamağında onların yapılarını inceler. Morfoloji kendi içinde, Bitki Anatomisi, Hücre Bilimi (Sitoloji), Doku Bilimi (Histoloji), Organ Bilimi (Organografi) gibi kollara ayrılır.
2. Bitki Fizyolojisi : Bitkilerin hayat gösterilerini, fizik ve kimya konularına dayalı olarak inceler.
3. Bitki Sistematiği (Taksonomi) : Bu bilim kolunun görevi ve amacı, bitkileri ayrı ayrı inceleyerek, aralarındaki ayrılık ve benzerlikleri tespit ederek bu özelliklere, menşee ve doğal akrabalık ilişkilerine, filogenetik gelişmelerine göre bitkiler alemi tür, cins, familya, takım ve daha büyük gruplarda doğal bir sistem altında toplamaya çalışmaktır.
4. Farmasötik Botanik (eczacılık Botaniği) : Bu bilim kolu da insan ve hayvan sağlığı yönünden faydalı olan tıbbi bitkileri, bunların çeşitli organlarından elde edilen drogların hazırlanış ve elde edilişleri, kapsadıkları etkin maddelerle kullanıldığı yerleri inceler.
5. Paleobotanik : Eski devirlerde yaşamış ve bugün ortadan kalkarak yalnız kalıntılarına, fosillerine rastlanan bitkileri inceler.
6. Bitki Coğrafyası (Geobotanik) : Bitkilerin yeryüzünde ne yolda dağıldıklarını, bunu etkileyen faktörlerle, çeşitli bitkilerin meydana getirdikleri bitki topluluklarının nerelerde bulduklarını inceler.
7. Bitki Sosyolojisi : Bitkilerin toplumsal hayatlarını inceler.
8. Bitki Ekolojisi : Bitkilerin yaşadıkları çevre ile olan (toprak iklim) karşılıklı ilişkilerini inceler.
9. Genetik (Kalıtım) : Bitkilerde kalıtımla ilgili olan olayları inceler.
10. Evrim (Evolüsyon) : Bitkilerin yeryüzünde meydana geldikleri ilk günden bugüne kadar geçirmiş oldukları değişiklikleri araştırır (11).

**Asma Yaprağı (Folia Vitis vinifera L.):** Rhamnales takımından Vitacea (Asmagiller) familyasının Vitis cinsine mensup olan Vitis vinifera L. nin yapraklarından bitkisel boyacılıkta yararlanılır. Tırmanıcı ve sarılıcı odunsu bir bitki olan asma, sülükleri yardımıyla yakınında bulunan ağaç, ağaççık ya da çalılara sarılır ve tırmanır. Çoğunlukla yapraklarını döker. Kabukları genellikle uzunlamasına şeritler halinde yrtılmış bir yapı arz eder. V. vinifera türü 30m. kadar boylanır. Taze sürgünler çıplak ya da yumuşak tüylüdür. Yapraklar 3-5 dilimli, 7-15 cm. uzunlukta olup, dilimler arasında yuvarlak görünüşlü aralıklar vardır. Üst yüzü parlak tüsüz, alt yüzü az tüylüdür. Nadir olarak da tüsüzdür. Her yaprağın karşısında sülük yada çiçek salkımı bulunmaz (9).

Asmalar cinsinin 60 kadar türü vardır. Tarımsal ve ekonomik yönden değeri olan türlerin yanı sıra süs değeri olan türleri de vardır. Asma yaprağından boyama amacıyla sarı, sarı-yeşil renkler elde edilir. Yapraklar taze yada gölgede kurutulmuş halde kullanılmalıdır. Kimyasal açıdan asma yapraklarında; Quercetin, Quercitrin ve Karoten gibi boyar maddeler vardır (9).

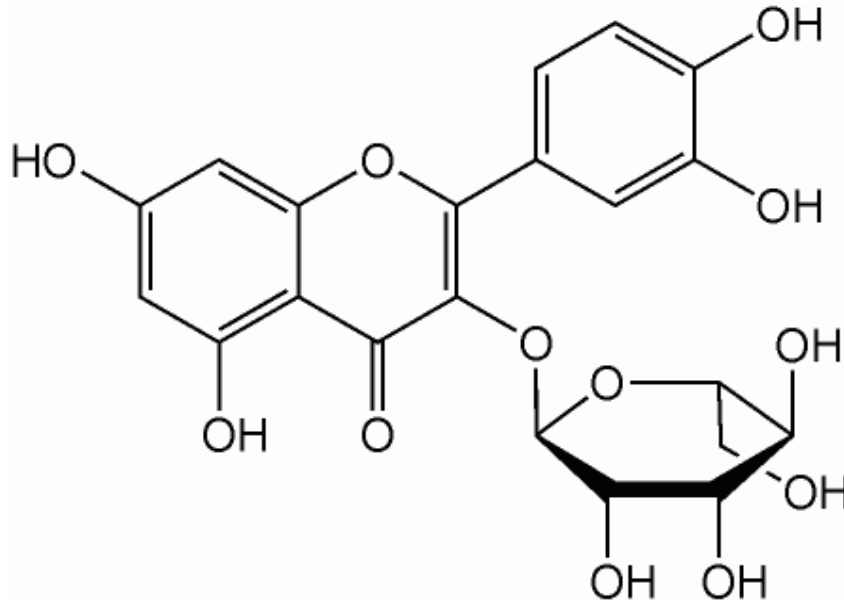
Yayılma alanları: Geniş ölçüde Avrupa'da, Asya'da, Çin ve Japonya'ya kadar uzanan çevrede, Akdeniz bölgesinde, Kuzey Amerika'da Güney Amerika'da Şili ve Arjantin'de, Güney Afrika'da Kap'da, Avustralya'da Yeni Zelanda'da bulunmaktadır. Asmanın ana vatanının Kafkaslar olduğu sanılmaktadır. Eski çağlardan bu yana dünyanın birçok yerine yayılmış ve geniş ölçüde yetiştirilmiştir. Anadolu'da sıcak ve ılıman bölgelerde uygun toprak koşullarında çok rahat yetişmektedir. Kıraç ve yamaçlarda, toprak profilinin kalın olmadığı yerlerde, taşlık arazilerde, rahatlıkla kültürü yapılabilecek bir bitkidir (9).

- **Quercetin:** Quercetin bir flavonoiddir, özellikle de flavonoldür.  $C_{15}H_{10}O_7$  kimyasal formüle sahiptir. Quercetin'in çok aktif bir flavonoid olduğu bulunmuştur. Tedavi amaçlı kullanılan bir çok bitki bu aktivitesini yüksek quercetin içeriğine borçludur. Quercetin inflamasyon ürünlerini direkt inhibe etme özelliğinden dolayı, önemli anti-inflamatuar aktivite göstermektedir. Ayrıca vitamin C etkisi ve güçlü anti oksidan aktivitesi gösterir (12-15).



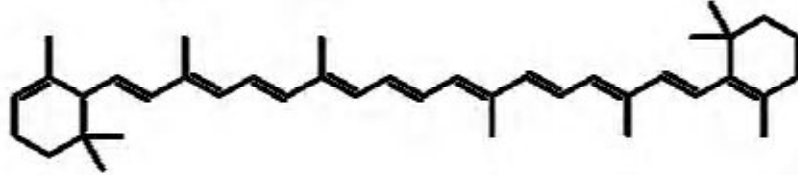
Şekil 2.1. Quercetin'in kimyasal yapısı

**-Quercitrin:** Quercitrin sarı bir boyadır.  $C_{21}H_{20}O_{12}$  kimyasal formüle sahiptir. Quercitrin, sıvı çözeltiler de, quercetin ile birlikte etkili olan bir glikoziddir. Quercetin, parlak limon sarısı renginde güçlü kristallerdir. Soğuk suda kesinlikle çözünmez ve sıcak suda kısmen erir. Fakat alkol de tamamen çözünür. Quercitrin ilk kez 1775'de sarı boya olarak ortaya çıkarıldı ve çoğunlukla flavin olarak kullanıldı (12-15).

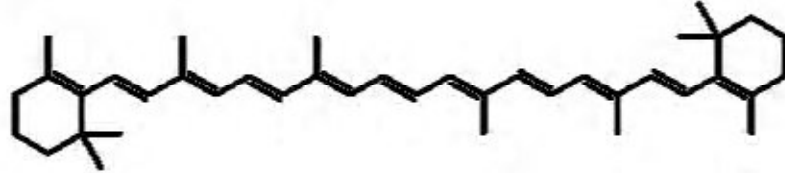


Şekil 2.2. Quercitrin'in kimyasal yapısı

- **Karoten:** Karoten,  $C_{40}H_{56}$  formüllü birbiriyle ilişkili birkaç bileşik için kullanılan bir terimdir. Karoten, fotosentez için önemli bir foto sentetik pigmenttir. Soğurduğu ışığı klorofile aktararak fotosenteze katkıda bulunur. Havuç ve çoğu başka sebze ve meyvelerin turuncu renginden sorumludur. Kimyasal olarak karoten bir terpendir, sekiz izopren birimden biyokimyasal olarak sentezlenir. Başlıca iki türü vardır, bunlar Yunan harfleri ile belirtilir: alfa-karoten ( $\alpha$ -karoten) ve beta-karoten ( $\beta$ -karoten). Gama, delta ve epsilon- ( $\gamma$ ,  $\delta$  ve  $\epsilon$ -) karotenler de vardır. beta-karoten iki retinil gruptan oluşur ve ince bağırsak mukozasında beta-karoten dioksijenaz tarafından yıkıma uğrayıp bir tür A vitamini olan retinole dönüşür. Karoten karaciğerde depolanıp gerekli olduğu zaman A vitaminine dönüşebildiğinden bir provitamin sayılır.



Şekil 2.3.  $\alpha$ -karoten'in kimyasal yapısı



Şekil 2.4.  $\beta$ -karoten kimyasal yapısı

Karotenin başlıca iki izomeri,  $\alpha$ -karoten ve  $\beta$ -karoten arasındaki fark, uçtaki halkalı gruptaki çift bağın konumundadır.  $\beta$ -Karoten daha yaygın olan biçimdir ve sarı, turuncu ve yeşil yapraklı meyve ve sebzelerde bulunur. Bunlar arasında havuç, ıspanak, marul, domates, tatlı patates, brokoli, kavun, portakal ve kabak başta gelir. Genel bir kural olarak bir meyve veya sebzenin rengi ne kadar parlak olursa içindeki  $\beta$ -karoten miktarının da o kadar yüksek olduğu söylenebilir. Bir antioksidan olan  $\beta$ -Karoten, zararlı serbest radikallerin fazlasını bertaraf etmekte yararlı olabilir. Ancak onun bir gıda takviyesi olarak (hap olarak) alınmasının kanseri önleyici etkisi hâlâ tartışmalıdır.  $\beta$ -Karoten yağda çözüdür (16-18).

### 2.2.2. Doğal Boyaların Sınıflandırılması

Doğal boyalar; yapılarına ve uygulama alanlarına olmak üzere iki yolla sınıflandırılırlar.

**Yapılarına Göre Sınıflandırma:** Doğal boyalar yapılarına göre; klorofiller, karotenoidler, flavonoidler, antosiyaninler, kuinonoidler, indigoidler ve betalainler şeklinde sınıflandırılırlar (19, 20).

- **Klorofiller:** Bitkilerde ışık enerjisini yakalamak için kullanılan ana pigmenttir. Bir porfirin kafa ile uzun bir hidrokarbon kuyruktan ibaret bir moleküldür. Kuyruk lipitte çözünür. Klorofilin 4 tipi vardır.

Klorofil a: Tüm yüksek bitkiler, algler ve siyanobakteriler

Klorofil b: Yüksek bitkiler ve yeşil algler

Klorofil c: Diatomlar, flagellatlar ve kahverengi algler

Klorofil d: Kırmızı alglerde bulunur.

Doğal kaynaklardan özütlenme ile elde edilir. Mürekkep, reçine, sabun, bazı yağlar, kozmetik, losyon, parfüm v.b. renklendirilmesinde kullanılır. Natural green 3 olarak bilinir.

Kimyasal olarak saf klorofil hazırlamak çok zordur. Ticari ürün klorofil a ve klorofil b karışımıdır (3:1) ve içinde karotenoidler de vardır. Özütlenme işlemi petrol eteri ve aseton gibi çözücülerin kullanıldığı birçok basamaktan oluşur (20, 21).

- **Karotenoidler:** Sarı ve portakal renkli pigmentler olup çoğunlukla fotosentetik organizmada bulunurlar. 200 den fazla tanımlanmış karotenoid vardır ancak bunlardan çok azı ticari olarak elde edilmektedir. Karotenoidler 40 karbonlu bir temel yapı üzerine kurulmuştur. Yağda çözünürler, suda çözünmezler, temel zincirin bir veya her iki ucuna da bir karbon halkası bağlıdır. Karotenoidler terpenoid olarak diğer bitkisel maddeler olan latex, esansiyel yağlar v.b. ile akrabadırlar. Kromoplastlarda veya kloroplast membranlarında bulunurlar. Kromoplastlarda karotenoid düzeyi çok yüksek düzeyde olabilir. Kristal halde bulunabilirler (22-24).

Karotenoidler içinde iki ana grup vardır;

1. Karotenler (kırmızı-portakal ya da portakal renk) : beta- karoten alglerde ve yüksek bitkilerde en çok bulunan örnektir.
2. Ksantofiller (sarı)

Karotenoidler belirli dalga boylarında ışık absorplayabildiklerinden fotosentezde de rol oynarlar. Bitkilerdeki tanı rolleri kesin değildir. Ancak ışık enerjisini absorplayıp, klorofillere geçiriyor görünmektedirler. Aktif anti – oksidan olan karotenoidler renklendirici özelliklerinden başka, memeli kanserlerinin önlenmesi ya da gelişiminin durdurulmasında değerli rolleri olabilir. Bitkide; karotenoidler klorofilin serbest oksijen radikalleriyle reversibl olarak bağlanıp ksantofillere dönüşmesini önleyerek onu koruyor olabilirler. Bu durum; klorofil ışıkla uyarılıp enerjisini başka bir pigmente geçiremediğinde ortaya çıkar ve klorofil oksijenle reaksiyon vererek serbest radikal veya süper oksit üretir. Bitkilerin ürettiği süperoksitdismataz enzimi süperoksiti inaktifleştirmek içindir. Fakat karotenoidler aşırı enerjiyi radikal oluşumu gerçekleşmeden yok ederler. Karotenoidler mavi ışığı kuvvetle absorplarlar ve aşırı mavi ışığı absorplamakla klorofilin fotooksidasyonunu da engelliyor olabilirler (25-27).

- **Flavonoidler:** Heterosiklik pigmenti içeren aromatik oksijenlerdir. Özellikle bitkilerin epidermal hücrelerinde bulunur. Bunlar sadece bitkilerin renklerine katkılarıyla değil, aynı zamanda fizyolojik aktivitelerindeki etkileriyle doğada en geniş bulunan doğal bileşenlerdir (28, 29).

Flavonoidlerin üç ana grubu :

- 1- Flavonlar
- 2- Flavonoller
- 3- Antosiyanidinler'dir

Flavonoidler UV-A ışığı çok kuvvetli absorpladıklarından, yaprak dokularının UV etkisiyle zararlaşmasını önüyor olabilirler. Ayrıca UV yansıtıcı rolleri ile çiçek yapraklarını böcek v.b. için çekici hale getirip tozlaşmaya yardım ederler. Flavonoidler bitkiler tarafından savunma ve sinyal maddeleri olarak da kullanılır. Dolayısıyla üreme, patojenez ve simbiyoz da rolleri vardır. Bitkilerde nispeten büyük miktarlarda üretilirler ve bitkiden ayrıldıklarında rizosfer ve toprak kompozisyonuna da anlamlı etki yaparlar. Allelopatide (bitki-bitki etkileşiminde) rol oynayabilirler. Bazılarının bitki büyümesinde regülatör rolleri olduğuna işaret eden çalışmalar varsa da fizyolojik rolleri kesin delillerle ortaya konmuş değildir. Flavonoller kuvvetli ışıkta solma eğilimindedirler. Flavonlar ise daha kalıcı fakat soluk renk oluştururlar (30-32).



- **Antosiyaninler:** Antosiyaninler suda çözünür ve hafif asidik çözeltide kolayca özütlenirler. Bu kolay özütlenme onların boya ve renklendirici olarak eski ve yaygın kullanımını açıklar. Fakat antosiyaninler pH değişikliklerine oldukça duyarlı olduklarından belirli durumlarda (örneğin besin boyamada) kullanımları sınırlıdır (33).

- **Kuinonoidler:** Kuinonoidler benzenoid halka sistemleridir. Bunlar; Alizarin, Mungistin, Purpurin, Emadin, Hyperin gibi kök boya ailelerinden birçok pigmentleri içerir (34, 35).

- **İndigoidler:** Bu boya 400 yıldır dünyada bilinen en eski boyadır. Mezarlara gömülen Mısır mumyaları indigoyle boyanmış kumaşlarla mumyalanmıştır. İndigoların mavi boya özellikleri bulunmadan önce sadece siyah boya olarak kullanılmıştır.

İki önemli indigo boya vardır:

1- İndigo – Bitkisel kaynaklı, mavi renk

2- Tyrian purple – Hayvansal kaynaklı, (molluska türlerinden) (36)

- **Betalainler:** Bu kırmızı boyalar ve akraba grup olan betaksantinler (sarı) flavonoid olarak düşünülmüştür. Ancak azot içermeleri ve pH değişikliklerine doğrudan cevap vermeyişleriyle flavonoidlerden ayrılırlar. Antosiyaninler gibi glikolize olurlar. Betalainler doğal yiyecek boyayıcısı olarak önemli bir yere sahiptir. Suda çözünen pigment özelliğine sahiptir. Betalain üreten bitkiler antosiyanin üretmezlerken, antosiyanin üreten bitkilerde betalain üretmezler (37-41).

Bitkilerin yapısında bulunan doğal boyarmaddeler, bitkilerin kök, gövde, kabuk, yaprak, çiçek ve meyvelerinin bir sıvı içerisinde (genellikle su) kaynatılarak, yapılarındaki boyarmaddelerin çıkartılması esasına dayanır. Bitkinin yapısında glikozitleri şeklinde bulunan boyarmaddeler, su veya başka bir eriyik içinde çözünüp anyon ve katyon gruplarına ayrılarak, aynı çözelti içinde bulunan anyon ve katyonlarla, yada boyama ortamında bulunan metal tuzlarının metal iyonları ve tuzları ile birleşebilecek hale gelirler (42).

**Uygulama Alanlarına Göre Sınıflandırılması:** Doğal boyalar; uygulama alanlarına göre direkt boyalar ve mordan boyalar olmak üzere ikiye ayrılırlar.

- **Direkt Boyalar:** Bu boyalar kimyasal işleme maruz kalmamış selüloz lifleri tarafından direkt olarak emilirler. Direkt boyalar da kendi içinde asidik boyalar ve bazik boyalar olarak ikiye ayrılırlar. Asidik boyalar boyama işlemini asidik ortamda yaparken, bazik boyalar bu işlemi doğal ortamlarda veya yarı asidik ortamda yaparlar (43).

- **Mordan Boyalar:** Doğal boyarmaddelerin büyük bir bölümü mordan boyarmaddelerden oluşur. Bu tür doğal boyarmaddeler boyanacak madde ile doğrudan ve kendiliklerinden bağlanmazlar ya da bağlansalar da iyi sonuç vermezler. Bu tür boyarmaddelerin bağlanmasını sağlamak veya boya etkisini güçlendirmek için aracı olarak kullanılan maddelere mordan adı verilmektedir (5).

Anadolu'da yapılmış bazı denemelerde köylülerin tuz, limon tuzu, sirke, koruk, turunc suyu, çamaşır sodası, kül, kireç, kil gibi maddelerle yünü mordanladıkları belirtilmiştir. Bunların her biri bitkisel boyadan elde edilen rengi ya da yünün bazı niteliklerini etkilemek için kullanılabilen fakat mordanlık niteliği bulunmayan maddelerdir (44, 45).

Mordanlar, boyanacak madde ile boyarmadde arasında bir bağlama görevi üstlenmektedir. Bu nedenle asit özellikteki boyarmaddeler için bazik esaslı mordanlama, bazik özellikteki boyarmaddeler için de asidik esaslı mordanlama gerekir. Doğal boyarmaddelerin büyük çoğunluğu organik asitlerden oluştuğu için metal tuzları uygun mordan olarak kullanılır. Türkiye'de mordan olarak daha çok şap, dikromatlar, saçıkıbrıs, göztaş, krem tartar gibi maddeler kullanılmaktadır (46-49).

### **Mordan Maddeleri**

- **Şap : ( $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ ) :** En yaygın olarak kullanılan mordandır. Hemen her yerde kolayca bulunabilir. Yabancı madde içermeyen şap, sodaya benzeyen, renksiz kristaller halinde satılır.

- **Dikromatlar: ( $K_2Cr_2O_7$ - $Na_2Cr_2O_7$ ) :** Kimyasal adı potasyum ve sodyum bikromat olan kromatlar yazmacılar tarafından ve yünlü kumaşların mordanlanmasında çok kullanılır.

- **Göztaş : ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ) :** Kimyasal adı bakır iki sülfat olan göztaş, tarımda bitkilerin ilaçlanmasında kullanıldığından her yerde kolayca bulunur.

- **Saçıkıbrıs : ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ) :** Saçıkıbrısın kimyasal adı demir iki sülfattır. Bütün boyar maddelerden en koyu renklerin ve siyahların elde edilmesinde kullanılır.

- **Kullanılan diğer yardımcı maddeler :** Krem Tartar ( $\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ ); Sodyum Sülfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ); Okzalik Asit ( $\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ); Tartarik Asit ( $\text{C}_2\text{H}_2(\text{OH})_2 (\text{COOH})_2$ ); Asetik Asit ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) (46-49).

**Mordanlama:** Mordanlama, belli miktarda mordan maddesi ile boyanacak maddenin bir arada su ile kaynatılması işlemine denir.

- Boyama işleminden önce
- Boyama esnasında
- Boyama işleminden sonra

olmak üzere üç şekilde uygulanabilir. En çok kullanılan metot birlikte mordanlama (boyama esnasında) şeklindedir. Birlikte mordanlama ile boyama işlemi tek basamakta gerçekleştiği için, işlem sırası yoktur. Mordan – boyanacak madde – boyar madde aynı zamanda işleme sokulur (46-49).

### 2.3. RENK

Renk subjektif bir kavramdır. Bir ışık kaynağından gelen ışık, bir cismin üzerine düşürülürse, cismin özelliğine göre belirli oranda yansıtılabilir. Herhangi bir cisim üzerine beyaz ışık düştüğünde görünen renk, mum ışığında farklı görünecektir. Dolayısıyla cismin rengini belirleyen etken, ışığın türüdür. Üç ayrı renk tanımı vardır. Bunlar ;

- Psikolojik renk
- Fizyolojik renk
- Fiziksel renk

**Psikolojik Renk:** İnsan beyninde uyandırılan duygudur. Normal iki insan bir cismin rengini aynı sözcük ile ifade edebilirler ancak tanımladıkları duygu aynı olmayabilir. Örnek olarak, yeşil renk verilebilir. Yeşil insanların en sevdiği renklerden biridir. Yaprak yeşili, çimen yeşili, insana tatili hatırlattığı gibi, sarı renk, ilkbaharda açan çiçekleri yada sarı papatyaları hatırlatabilir (50).

**Fizyolojik Renk:** Güneş ışığı yada elektrik lambası gibi farklı ışık türlerinin gözümüzün retina tabakasında ve görme sinirlerinde meydana getirdiği fizyolojik olaylar topluluğudur. Rengi algılama bakımından insan gözü mükemmel bir optik cihazdır. Ancak görünür dalga spektrumunun (400 nm – 750 nm) her bölgesinde aynı

derecede duyarlı değildir. Hassasiyet sarımsı yeşile karşılık gelen 556 nm’de maksimum iken, mor ötesi ve kırmızı ötesi için sıfırdır. Görünüş bizi bazen yanıltabilir (50).

**Fiziksel Renk:** Belirli bir ışığın fiziksel parametrelerinin ölçü ve rakamlarla kesin olarak tanımlanmasına fiziksel renk denir. Bu işlem spektroskopik yöntemlerle gerçekleştirilir. Hangi renk tanımından gidilirse gidilsin, bir cismin rengi, ortamdaki ışığın bir sonucu olarak ortaya çıkar. Karanlıkta her cisim siyahtır. Kırmızı bir elma mavi ışık altında hemen hemen siyah; gün ışığında yeşil olan yaprak, kırmızı veya turuncu ışık altında siyaha yakın renkte görünür. Yani renk; cismin kendisini aydınlatan ışığa bağlı olan bir özelliktir ve ışığın fonksiyonudur (50).

Cisimlerin üzerine düşen beyaz ışığın (gün ışığı) belli bir kısmını absorplayıp, diğer kısmını yansıtması ile renklilik ortaya çıkar. Yansıyan dalga boyu cismin rengini belirler. Eğer bir cisim, üzerine düşen ışığın tamamını yansıtıyorsa gözümüze beyaz; üzerine düşen ışığın tamamını absorbe ediyorsa (tutuyorsa) siyah görünür. Siyah ve beyaz renk değildir. Spektrumda belli dalga boyuna sahip öyle renkler vardır ki bu dalga boyundaki ışıkları karıştırdığımızda beyaz ışık elde edilir. Bu renklere tamamlayıcı (=komplementer) renk adı verilir. Buna göre mavi ve sarı ışık birbirinin komplementeridir. Yani beyaz ışıktan mavi absorplanırsa sarı renk elde edilir. Cismin beyaz ışıktan absorpladığı ışığın dalga boyu ile cismin görünen rengi Tablo 2.1.’de verilmiştir (50, 51).

**Tablo 2.1.** Beyaz ışıktan absorplanan renk- cismin rengi

Absorpladığı ışığın dalga boyu (nm)	Absorplanan renk	Yansıyan renk (Cismin rengi)
400 – 435	Mor	Yeşilimsi sarı
435 – 480	Mavi	Sarı
480 - 490	Yeşilimsi mavi	Turuncu
490 – 500	Mavimsi yeşil	Kırmızı
500 – 560	Yeşil	Magenta
560 – 580	Sarımsı yeşil	Mor
580 – 595	Sarı	Mavi
595 – 605	Turuncu	Yeşilimsi Mavi
605 - 750	Kırmızı	Mavimsi yeşil ve yeşil

### 2.3.1. Renk ve Molekül Yapısı Arasındaki İlişki

Her renkli madde boyarmadde değildir. Renkli maddelerin boyarmadde olabilmesi için oksokrom (bağlayıcı) gruplar bulundurması gerekir. 1858 yılında Raebe ve Liebermann renkliliğin bileşiklerdeki doymamışlık sonucu ortaya çıktığını savundular. Bunu organik bileşiklere hidrojen katıldığında rengin kaybolması deneyine dayandırdılar. 1876'da Witt kromofor grup teorisini ileri sürdü. Yapılarında NO (nitroso), NO<sub>2</sub> (nitro), C=O (karbonil), N=N- (azo), -NH<sub>2</sub> (amino), OH (hidroksil) gibi gruplar varsa (kromofor gruplar) böyle bileşikler renkli olmaktadır (50).

Doymamış gruplara renk verici anlamına gelen 'kromofor'(chroma=renk, phoron=taşıyıcı, verici); diğerine de renk arttırıcı ve bağlayıcı anlamına gelen 'oksokrom'(auxesis=arttırıcı), bu grupları bulunduran bileşiklere de 'kromojen'adı verilir. Tablo 2.2.'de bazı kromofor ve oksokrom gruplar yer almaktadır (50).

**Tablo 2.2.** Bazı kromofor ve oksokrom gruplar

Kromofor Grup Adı	Oksokrom Grup Adı
- N=N - Azo	-NH <sub>2</sub> Amino
C=O Karbonil	-NHR Substitue Amino
- NO <sub>2</sub> Nitro	-NR <sub>2</sub> Substitue Amino
C=C Etilen	-OH Hidroksil
C=NH Karbamino	-SH Tiyoalkol
C=S Tiyokarbonil	-OCH <sub>3</sub> Metoksi
- N=O Nitroso	-SO <sub>3</sub> H Sülfonik asit
	-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> -O Fenoksi

### 2.3.2. Renklendiricilerin Tanımı ve Sınıflandırılması

Renklendiriciler, elektromanyetik spektrumun görünür bölgesindeki (400-700 nm) ışığı kısmen ya da tamamen soğurma yeteneği olan maddelerdir. Renklendiriciler boyarmaddeler ve pigmentler olarak sınıflandırılırlar. Bu terimler arasındaki fark çok kesin olmayıp, pigmentler bazen boyarmaddelerin bir grubu olarak da kabul edilmektedir (52).

**Pigmentler:** Pigmentler ışığın belirli dalga boylarını absorplayıp yansıtan moleküllerdir. Bu onları renkli yapar. Çiçeklere, hayvan derilerine renk veren pigmentlerdir (53).

Absorplama işlemi şöyle gerçekleşir: Molekülün içindeki elektronlar belirli enerji seviyesinde olabilir. Normalde elektronlar olabilecek en düşük enerji seviyesinde olurlar. Bununla beraber, eğer bir sonraki seviye için yeterli enerji sağlanırsa elektronlar daha yüksek seviyedeki bir enerjiyi absorplayabilirler. Bu pigmentlerin yaptığı işlemidir. Emdikleri enerji onları bir üst seviyeye geçirmesi için gerekli olan miktardadır. Yeterinden fazla veya yeterinden az miktarda enerji içeren ışıklar emilemez ve yansıtılamaz. Yüksek enerji seviyesindeki elektronlar sabit kalamazlar, olması gereken enerji seviyesine dönmek isterler. Bunun için de üst seviyeye geçerken kullandıkları enerjiyi boşaltmaları gerekir. Bu birçok yolla gerçekleşebilir (53).

1. Fazla enerji ısı olarak atılır.
2. Fazla enerjinin bir kısmı ısı enerjisi olarak atılırken kalan kısmı ışık olarak atılabilir. Bu ışık floresan olarak adlandırılır.
3. Enerji değil de elektronlar başka bir moleküle dönüştürülebilir.
4. Enerji ve elektronlar başka bir moleküle transfer edilebilir (53).

Kloroplastlar için, bütün ışığı emen ve siyah görünümde olan pigment topluluğu mantıklı bir seçimdir. Fakat biliyoruz ki bu doğru değildir. Çünkü eğer bitkiler UV ve X-Ray absorplayan pigmentlere sahipse bu emebileceğinden çok daha fazla enerjinin alınabileceği dolayısıyla elektronların orbitallerinin ve moleküllerin zarar görebileceği anlamına gelir. Eğer bitkiler IR ve radyo dalgaları absorpluyorsa, bu da elektron transferi için yeterli enerji olmaz, sadece molekülü ısıdırıp hazırlayacak kadar olur. Görünür bölgede emiş yapan pigmentler elektronu bir üst seviyeye çıkaracak enerji sahibi olurlar. Fakat bu bölgedeki görünen bütün dalga boyları emilmez (53).

Bitkilerde üç temel pigment bulunmaktadır.

- Klorofiller
- Karotenoidler
- Fikobilinler

- **Klorofiller:** Klorofiller yeşil renktedirler. Bitkilerde ışık enerjisini yakalamak için kullanılan ana pigmenttir. Genellikle bitkilerin yapraklarında ve kök hücrelerinde bulunurlar. Yeşil rengi absorplamadıkları için klorofil bitki yapraklarına yeşil görünüm verir. Bu pigmentler bitkinin kloroplastında bulunur. Fotosentez sırasında klorofil pigmentleri besin üretmek için güneş ışığı enerjisini tutar (54-56).

- **Karotenoidler:** Sarı ve portakal rengi pigmentler olup çoğunlukla fotosentetik organizmada bulunurlar. Yağda çözünürler, suda çözünmezler. Kromoplastlarda veya kloroplast membranlarında bulunurlar. Kromoplastlarda karotenoid düzeyi çok yüksek olabilir. Kristal halde de bulunabilen karotenoidler belirli dalga boylarında ışık absorplayabildiklerinden fotosentezde de rol oynarlar. Bitkilerdeki tam rolleri kesin değildir. Ancak ışık enerjisini absorplayıp, klorofillere geçiriyor görünmektedirler (57).

- **Fikobilinler:** Bunlar yedek pigmentler olup ışık enerjisinin kırmızı algler ve siyanobakteriler tarafından yakalanmasını sağlarlar. Fotosentezde 4 fikobilinden 3'ü rol oynar:

1. Fikoeritrobin (Fikoeritrin)
2. Fikosiyanobilin (Fikosiyanin)
3. Allofikosiyanobilin (allofikosiyanin)
4. Fitokrom

Yapı olarak klorofillere benzerler ancak bir proteine bağlıdırlar. Fikobilino proteinler kırmızı veya mavi renklidir. Besin ve kozmetik boyası olarak araştırılmaktadırlar. Dördüncü fikobilino protein olan fitokrom ise yüksek bitkilerde ışık reseptörü olarak, özellikle bitki gelişiminde çok önemli rol oynarlar (57).

Fikobilinler suda çözünürler. Fikobilinlerin üzerine güçlü ışık düştüğünde, bu ışığı emerler ve bu enerjiyi daha kısa dalga boylarında yayarak floresan etki oluştururlar. Bu özelliklerinden dolayı bu pigmentler araştırma aracı olarak kullanılmıştır (54-56).

#### **2.4. FONKSİYONEL HÜCRE GÖRÜNTÜLEME TEKNİKLERİ**

Temel tıp bilimleri ve biyolojide sistem, organ ve doku fonksiyonu hakkında bugün eriştiğimiz bilgi düzeyinin temeli, fonksiyonel birim olan hücre ve yapıları hakkındaki bilgilerimiz nedeniyledir. Bu nedenle bilim insanları tarih boyunca, gözle göremedikleri bu mikro evrendeki yapıları görünür hale getirip, deneysel bilgiler toplayabilmek için farklı büyütme araçları, mikroskoplar üretme çabasında olmuşlardır (58-60).

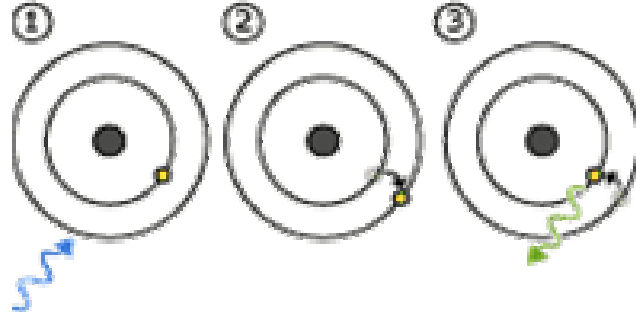
Beyaz ışık, elektromanyetik dalga spektrumun gözümüzün görebildiği 400-800 nm arasındaki kısmına karşılık gelmektedir. Görünebilir spektrumdan daha küçük dalga boyundaki ışık ışını ultraviyole, daha büyük dalga boyundaki ise infrared spektrumunda yer alır. Farklı maksatlarla tüm bu dalga spektrumlarının seçilmiş bir bandı veya tek dalga boyuna sahip ışık ışınları kullanılmaktadır (61, 62).

Büyütmenin en bilinen aracı büyüteçtir. Burada objeden yansıyan paralel ışık ışınları lensten geçerek odak noktasına kırılır ve retinada görüntü oluşur. Görüntünün boyu lensin arkasında oluşan büyütülmüş sanal görüntüye ait olduğundan büyütme gerçekleşmiş olur. Mikroskoptaki fizik prensipler özünde büyüteçtekine benzemekle birlikte bazı farklar arz eder. Klasik ışık mikroskobu ile şiddet kontrastı, faz kontrastı, modülasyon kontrastı, interferans kontrastı yöntemleri ile örneğin farklı özelliklerini ön plana çıkartan görüntüler elde etmek mümkündür. Bilinen parlak alan mikroskopisi ile, numunenin görme alanına giren kısmının ışığı geçirme özelliklerinden yararlanır. Bu yöntemle örneğin bir kısmına ait spesifik görüntüleme elde etmek mümkün değildir (58-62).

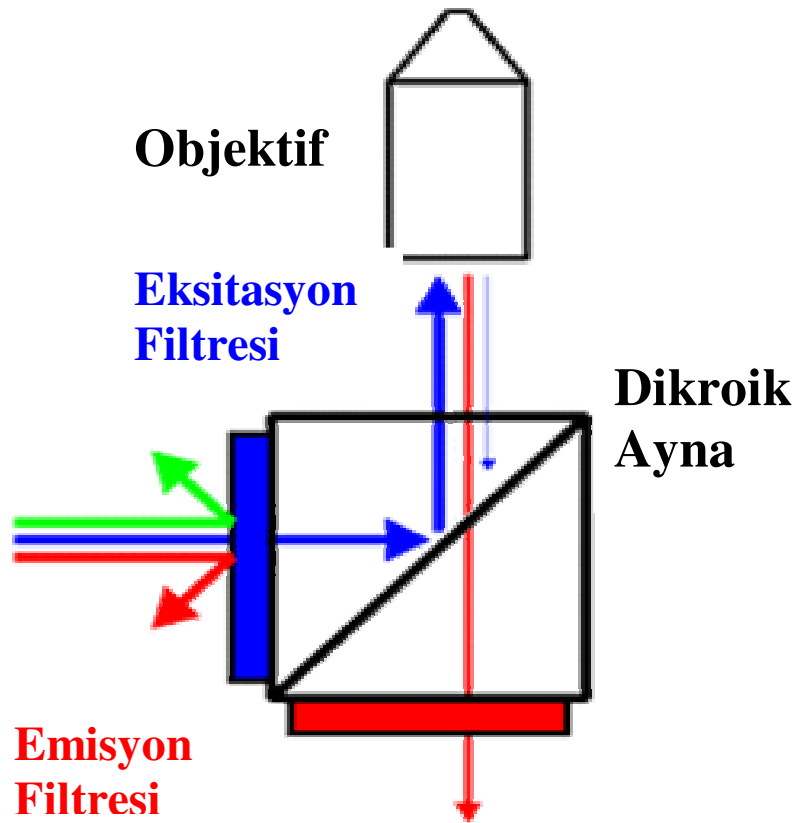
Örnekten spesifik görüntü veya sinyal almak için floresan mikroskop yöntemi geliştirilmiştir. Floresan prensip temel seviyedeki bir elektronun eksternal enerji ile uyarılarak bir üst düzeye yükseltilmesi ve bu üst seviyeden elektronun tekrar temel seviyeye dönerken spesifik bir dalga boyunda ışımaya yapması şeklinde özetlenebilir (Şekil 2.5.) (63). Eğer uyarı enerjisi bir ışık kaynağıysa buna uyarı ışığı, geri dönüşte yayılan ışığa da emisyon denir. Bazı moleküllerin floresan özellikleri daha etkindir, belli bir dalga boyunda uyarıldığında stabil olarak başka bir dalga boyunda orantılı bir ışımaya yaparlar, bunlara da floresan madde ya da florofor denir. Floresan mikroskopisinde, ışık kaynağından optik filtreler yardımıyla uyarı ışığı süzülerek örneğe yönlendirilir, örnekten çıkan emisyon bariyer filtreden geçirilerek uyarı ışığından arındırılır ve göze (veya fotoğraf makinesine) düşürülerek görüntülenir (Şekil 2.6.) (64). Bu sayede örneğin kendi yaydığı spesifik floresan emisyon görüntülenmektedir. Eğer numunenin belli bir kısmının floresan olarak işaretlendiğini düşünürsek sadece bu kısımlar spesifik olarak işaretlenecektir. Yani floresan mikroskopi en temel olarak spesifik yapıların morfolojisinin araştırılmasında kullanılmaktadır. Ancak bazı floresan boyaların yaydığı emisyon, ortamdaki değişikliklerden etkilenmektedir. Kalsiyum, sodyum, potasyum ve pH değişiklikleri



spesifik floroforun yaydığı emisyonu etkiler. Ancak fotoğraflama işlemi ile bu sinyalleri takip etmek mümkün değildir. Bu sıkıntıya çözüm bulmak için CCD kameralar kullanılarak imaging tekniği geliştirilmiştir (58-62).



Şekil 2.5. Floresans'ın Prensipleri



Şekil 2.6. Floresans Mikroskopisi

### 2.4.1. Lüminesans Spektroskopisi

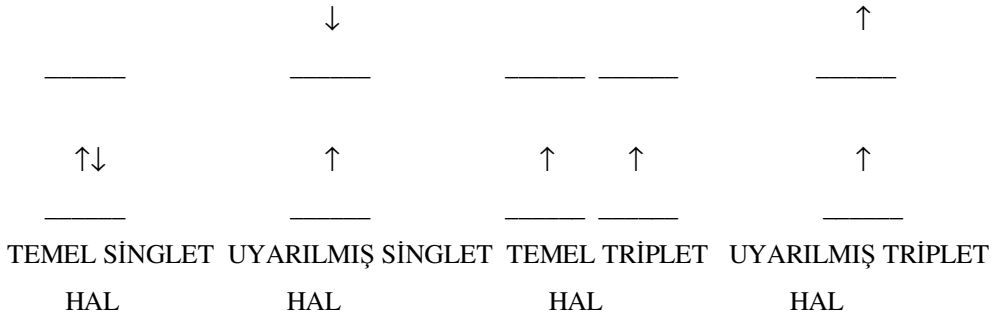
Bir atom veya molekülün en kararlı elektron konfigürasyonu elektronların en düşük enerjili orbitallere Hund kuralına göre yerleşimi ile ortaya çıkar ve bu durum atomun veya molekülün temel enerji düzeyini veya temel halini oluşturur. Elektronların daha üst enerji düzeylerine yerleşmesi ile atom veya molekülün uyarılmış hali oluşur (Şekil 2.7.)



Şekil 2.7. Atom veya molekülleri temel ve uyarılmış halleri

Uyarılmış bir atom veya molekül kararsızdır ve fazla enerjisini atarak temel hale dönmek ister. Atom veya molekül temel enerji düzeyine dönerken fazla enerjisinin tümünü veya bir kısmını ışık şeklinde atabilir ve böylece sistemden bir ışık yayılması (emisyonu) gözlenir. Bu ışık yayılması olayına genel olarak lüminesans denir. Fazla enerjinin tümü ışık şeklinde atılıyorsa, yayılan ışığın enerjisi uyarılmış ve temel enerji düzeyleri arasındaki enerji farkına eşittir. Atom veya molekül, gerekli uyarılma enerjisini çeşitli yollarla sağlayabilir. Uyarılma enerjisi bir kimyasal tepkimeden sağlanıyorsa, bunun sonucu gözlenen lüminesans olayına kemilüminesans adı verilir. Uyarılma için gerekli enerji bir elektrot tepkimesinden sağlanıyorsa bu olaya elektrolüminesans veya elektrokemilüminesans denir. Biyolojik sistemlerde gözlenen lüminesans ise biyolüminesans olarak olarak adlandırılır. Sistem ısıtılarak lüminesans gözleniyorsa bu olay termolüminesans adını alır. Uyarılma olayı, atom veya molekülün fotonları absorplaması sonucu gerçekleşiyorsa, gözlenen ışık emisyonuna fotolüminesans denir (65).

Atom veya molekülün elektronları, orbitallere spinleri ters olarak yerleşmiş ise bu hale singlet hal, orbitallerin birinde tek bir elektron varsa dublet hal, iki ayrı orbitalde spinleri birbirine paralel birer elektron varsa triplet hal ortaya çıkar. Singlet, dublet veya triplet haldeki bir sistem temel enerji düzeyinde bulunabileceği gibi, uyarılmış enerji düzeyinde de bulunabilir (Şekil 2.8.)



Şekil 2.8. Singlet ve triplet hallerin temel ve uyarılmış halleri

#### 2.4.2. Floresans

Uyarılmış bir singlet sistemden temel haldeki singlet bir sisteme geçiş sırasında yayılan ışığa floresans denir. Floresans olayında yayılan ışığın frekansı ile sistemi uyaran ışığın frekansı birbirine eşit ise buna rezonans floresans denir. Rezonans floresans olayı atomlarda ve katı haldeki moleküllerde gözlenir. Çözültide oluşan uyarılmış moleküller ise, fazla enerjilerinin bir kısmından ışımasız yoldan kurtuldukları için bunlarda gözlenen floresansın dalga boyu, molekülü uyaran fotonların dalga boylarından daha uzundur (65-70).

Lüminesansın analizde kullanılabilmesi için analizi yapılacak maddenin lüminesans özelliğine sahip olması gerekir. İlaç analizi, birçok organik aktif ilaç maddesinin floresansı yardımı ile yapılır. Floresans yöntemi çok duyarlı bir yöntem olduğundan, hava kirliliğine neden olan bazı bileşiklerin tayininde de kullanılır. Uyarılmış bir molekül ışımasız yollardan da fazla enerjisinden kurtulabileceği için her absorplanan foton ışık şeklinde yayılamaz. Uyarılmış bir molekül temel haline birkaç mekanik basamağın bir birleşimi yoluyla dönebilir. Fotolüminesans, yapısal ve çevresel özelliklerle ilişkili olan bağıl olarak az sayıdaki sistemle sınırlıdır. Bu yapısal ve çevresel özellikler, ışımasız durulma veya sönmüş işlemlerinin hızını, emisyon

reaksiyonunun kinetik olarak tamamlanabildiği noktaya kadar yavaşlatmaya sebep olur. Diğer sönüm olayları henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Bu olay için, hızlar ve mekanizmalar hakkında sadece kalitatif ifadeler veya spekülasyonlar ileri sürülebilir. Yine de fotoluminesansın açıklanması için bu diğer yolların da göz önüne alınması gerekir (70).

### 2.4.3. Floresans Sönüm İşlemleri

- **Titreşimsel Durulma:** Elektronik uyarılma sırasında bir molekül birçok titreşim seviyesinden herhangi birine uyarılabilir. Bununla beraber çözültide, aşırı titreşim enerjisi, uyarılmış türlerin molekülleri ile çözücü molekülleri arasındaki çarpışmalar sonucu hemen kaybedilir; sonuç, bir enerji aktarımı ve çözücü sıcaklığındaki çok az bir artıştır. Sonuç olarak, çözültiden floresans olduğu zaman, bu floresans daima uyarılmış bir elektronik halin en düşük titreşim seviyesinden bir geçiş ile ilgilidir. Bununla beraber, elektron, temel halin titreşim seviyelerinden herhangi birine dönebileceği için, birbirine yakın birçok pik oluşur. Daha sonra, daha fazla titreşimsel durulma ile elektron, hızla temel elektronik halin en düşük titreşim seviyesine dönecektir (70).

- **İç Dönüşüm:** İç dönüşüm terimi, bir molekülün, ışın yaymadan daha düşük bir elektronik enerji seviyesine geçmesi ile ilgili molekül içi olayları ifade eder. Bu olaylar ne tam olarak tanımlanmış ne de tam olarak anlaşılmıştır. Fakat bağıl olarak çok az bileşiğin floresans göstermesi bunların genellikle çok etkili olduklarının açık göstergesidir. İki elektronik enerji seviyesi, titreşim enerji seviyelerinde bir örtüşme görülecek kadar birbirlerine yakınsa, iç dönüşüm özellikle etkilidir (70).

- **Dış Dönüşüm:** Uyarılmış bir elektronik halin sönümlenmesi, uyarılmış molekül ve çözücü veya diğer çözünenler arasındaki etkileşimi ve enerji aktarılmasını içerebilir. Bu olaya topluca dış dönüşüm veya çarpışma ile sönüm denir. Dış dönüşüm olaylarının ayrıntıları henüz çok iyi anlaşılamamıştır. En düşük uyarılmış singlet ve triplet halden temel hale ışımsız geçiş, iç dönüşümle olduğu kadar dış dönüşümle de ilgili olabilir (70).

- **Sistemler Arası Geçiş:** Sistemler arası geçiş, uyarılmış bir elektronun spininin ters döndüğü bir olaydır ve molekülün multiplisitesinde bir değişme olur. Sistemler arası geçiş, iyot veya brom gibi ağır atomları içeren moleküllerde çok etkindir (ağır atom etkisi). Böyle atomların varlığında, spin-orbital etkileşmesi artar ve böylece spinde bir

değişme daha tercih edilir. Çözeltilerde moleküler oksijen gibi paramanyetik türlerin varlığı da sistemler arası geçişi artırır ve floresansta bir azalma meydana gelir (70).

#### 2.4.4. Floresansı Etkileyen Değişkenler

Bir maddenin lüminesans yapıp yapmayacağına, hem moleküler yapı hem de kimyasal çevre etki eder. Lüminesans olurken, bu faktörler emisyon şiddetini de belirler. Bu değişkenler:

- **Floresansta Geçiş Tipleri:** 250 nm'den daha küçük dalga boylarındaki ultraviyole ışınların absorpsiyonunun sonucu floresansın nadiren olduğunu bilmek önemlidir. Çünkü, bu tür ışınlar, ön ayrışma ve ayrışma ile uyarılmış halin sönümüne sebep olmaya yetecek kadar enerjilidir. Elektronik olarak uyarılmış bir molekül en düşük uyarılmış hale, normal olarak emisyon ışınması oluşturmayan bir seri hızlı titreşim durulması ve iç dönüşümlerle geri döner (70).

- **Floresans ve Yapı:** En şiddetli ve en faydalı floresans, aromatik fonksiyonel grupları içeren bileşiklerde görülür. Alifatik ve alisiklik karbonil gruplarını veya fazla sayıda konjüge çift bağlı yapılar içeren bileşikler de floresans gösterebilir. Ancak bunların sayısı aromatik sistemlerin sayısı ile karşılaştırıldığında daha azdır. Halka sayısı arttıkça floresansın kuvantum verimi de artar. Piridin, furan, tiyofen ve pirol gibi basit heterosiklik maddeler floresans göstermezler. Diğer yandan halkalı bileşikler normal olarak floresans gösterir (70).

- **Sıcaklık ve Çözücü Etkileri:** Birçok molekülde floresansın kuvantum verimi sıcaklık arttıkça azalır. Çünkü yüksek sıcaklıklarda çarpışma frekansının artması dış dönüşüm ile sönüm olasılığını artırır ve aynı sonuca götürür.

Bir molekülün floresansı, ağır atomları veya yapılarında bu atomların olduğu diğer çözünenleri içeren çözücüler varlığında azalır; karbon tetra bromür ve etil iyodür buna örnektir. Bu etki, ağır atomların floresans yapan bileşiklerde süstitüent olarak bulunduğu durumdakine benzer. Orbital spin etkileşimleri triplet oluşum hızında bir artışa dolayısıyla floresansta bir azalışa sebep olur (70).

- **pH'nın Etkisi:** Asidik veya bazik sübstitüentleri içeren bir aromatik bileşiğin floresansı genellikle pH'ya bağlıdır. Bileşiğin iyonlaşmış ve iyonlaşmamış halleri için, dalga boyu ve emisyon şiddetinin her ikisi de farklıdır. Emisyon şiddetindeki değişimler, moleküllerin asidik ve bazik formları ile ilgili rezonans türlerinin sayısının farklılığından kaynaklanır (70).

- **Çözünmüş Oksijenin Etkisi:** Bir çözeltilde, çözünmüş oksijenin varlığı, genellikle floresans şiddetini azaltır. Bu etki, floresans yapan türlerin fotokimyasal olarak yükseltgenmesinin bir sonucu olabilir. Bununla beraber, daha yaygın olarak moleküler oksijenin paramanyetik özelliklerinin sonucu olarak sönmey meydana gelir. Sistemler arası geçiş ve uyarılmış moleküllerin triplet hale geçişi artar (70).

- **Derişimin Etkisi:** Yüksek derişimler de, doğrusallıktan negatif sapmadan sorumlu olan iki faktör; kendi kendine sönmey ve kendi kendine absorpsiyon görülür. Kendi kendine sönmey, uyarılmış moleküller arasındaki çarpışmaların sonucudur. Belki, bir dış dönüşümde meydana gelen çözücü moleküllerine enerji aktarımına benzer şekilde ışımasız enerji aktarımı da olur. Daha büyük çarpışma olasılığından dolayı, kendi kendine sönmeyin derişim ile artması beklenebilir (70).

## 2.5. BOYAMA

Boyanmamış preparatlarda çoğu doku elemanları renksizdirler. Değişik kırma indeksine sahip olmaları nedeniyle ışık mikroskobu ile hücresel detayı görmek güçtür. Farklı morfolojik kısımların, farklı boya ile boyanması gereklidir. Bu durumda çekirdek sitoplazmadan, kas bağ dokusundan farklı boyanarak, morfolojik inceleme kolaylaşır. Boyalar histokimyasal işlemlerle, dokuların kimyasal reaksiyonlarını ortaya koyar (71).

### 2.5.1. Histolojik Boyama Yöntemlerinin Hedefi

Doku bileşenlerinin ayırt edilmesi için kullanılan başarılı histolojik teknikler, dokularda genel olarak iki değişikliğe yol açar. Bunlar:

- a) Ya kontrastta değişiklik
- b) Ya da renkte bir değişikliktir.

Doku kontrastındaki değişiklikler faz – kontrast veya polarize ışık kullanımı gibi mikroskopik yöntemlerle de oluşturulabilir doku parçaları gri veya siyah olur.

Histolojik boyama yöntemleri sıklıkla boya – boyanması ile dokularda renk oluşturmaya dayanmaktadır. Bu, boyanmış doku içinden geçen ışığın dalga boyunu değiştirir. Boya solüsyonlarında kullanılan boylarla dokuların renklendirilmesi, boya yolu ile ışığın absorpsiyonudur. Başarılı boya yöntemleri hem spesifik hem de hassastır. Spesifiklik veya seçicilik, tek tek doku komponentleri arasındaki farkı ayırt etmeyi ve bu yapılardan birini veya birkaçını renklendirerek, boyanmamış diğer yapılardan ayırt etmeyi sağlar. Eğer kişi sadece özel bir yapıyı göstermek isterse, boya sadece bu yapıyı seçmeli, diğerlerine yerleşmemelidir. Hassasiyet ise boyanın düşük konsantrasyonda bir doku elemanını gösterebilme kapasitesidir. Tüm boyama yöntemlerinde bileşenlerin bu değerin altında gösterebilmesinin mümkün olmadığı bir eşik değerine sahiptir. Eğer bir boyama tekniğinin eşik değeri yüksekse, bu hassasiyetin düşük olduğunu ve doku komponentlerinin bir bölümünün var olmalarına karşın bu teknikle gösterilemeyeceğini ortaya koymaktadır. Tatmin edici bir boyama yöntemi yüksek hassasiyeti, yüksek seçicilikle bir araya getiren bir yöntemdir (71).

### **2.5.2. Boya ile Boyanmanın Hareket Tarzı**

Kimyasal ve fiziksel reaksiyonlar dokuların boyanmasını sağlarlar. Her iki olayda çoğunlukla aynı zamanda ortaya çıkar.

**Boyamadaki Kimyasal Reaksiyonlar:** Bir boya renkli bileşikler oluşturmak üzere proteinlerle ve diğer doku elemanları ile birleşme yeteneğinde olan renkli katyonlar ve anyonlar oluşturmak üzere solüsyonlarda iyonize olmalıdır. Tipik bir bazik boya histolojide kullanılan pH oranlarında pozitif yüklüdür (katyonik), asidik boya ise negatif yüklüdür (anyonik). Amfoterik bir boya ise pH yelpazesinde yüksüz noktaya (izoelektrik nokta) sahiptir ve bu pH'nın altında bazik, üstünde ise asidiktir (71).

Aynı şekilde elektrik yüklü gruplar proteinlerde ve dokuların diğer komponentlerinde bulunur. Boyalara benzer olarak asidik, bazik veya amfoteriktir. DNA, RNA ve fosfolipid, fosforil gruplarından dolayı asidik; mast hücreleri, kıkırdak ve bezlerin bazı mukoz salgıları ise asidik sülfürlü ve karboksil grupları içerirler. Kollajen, eritrositler ve eozinofillerin granülleri amino gruplarının baskın olmasından dolayı baziktirler. Sitoplazma ve kaslar ise amfoteriktir. pH'daki küçük değişiklikler dokulardaki

amfoterik maddeleri asidik veya bazik yapar, daha büyük değişiklikler ise bazik veya asidik doku komponentlerinin elektrik yüklerini değiştirir (71).

**Boyamadaki Fiziksel Reaksiyonlar:** Boyalar dokularla, katı maddelerin bir özelliği olan absorpsiyon ile birleşebilir ve özellikle ince kesi durumlarında onları çekerek serbest yüzeylerinde diğer maddeleri tutarlar. Böyle boyalar suda ve alkolde differansiye olurlar. Önemli olan fiziksel faktörler dokuların densitesi ve permeabilitesidir. Çok geçirgen dokular hızlı boyanacak ve hızlı differansiye olacaktır. Daha az geçirgen maddeler ise boyayı almak için daha uzun süreye gereksinim duyacaktır. Ayrıca differansiasyona da daha dirençli olacaktır. Boya boyanması bazen çözünebilirlik nedeniyledir. Boyamada genellikle boya ve doku yapıları arasındaki fiziksel ve kimyasal affinitelerinin bir karışımı sağlanır (71).

### **2.5.3. Boyama Yöntemlerinin Bilimsel Kontrolü**

Histolojik boyamanın kesin kimyasal reaksiyonlarla başarılabildeği gösterilmiştir. Fakat daha az kesinlik kazanmış kimyasal ve fiziksel proseslerle başarılmaktadır. Bu, boyama yöntemlerinin çok sayıdaki farklı yöntemlere göre oldukça değişeceği anlamına gelmektedir. Bu aynı zamanda geliştirilen boyama tekniklerinin çokluğunun nedenini ortaya koymaktadır. Bunun nedenleri şunlar olabilir:

1. Dokuların reaktif olmaması
2. Uygun olmayan fiksasyon,
3. Boyaların kompozisyonundaki ve çözünebilirliğindeki farklılıklar,
4. Yetersiz olgunlaşma veya bozulma (boya solüsyonunun),
5. Boyanın ve çeşme suyunun pH'sındaki veya ısısındaki değişmeler,
6. Birçok diğer faktör olabilir (71).



## **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

### **3.1. GEREÇLER**

#### **Demirbaş Malzemeler**

1. pH Metre (Labart)
2. Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı (Labart)
3. Floresan Mikroskop (Nikon Eclipse E 1000 Model)
4. UV Işık Kabini (Veri Vide CAC 60)
5. Santrifüj (ALC PK 110 ve Nüve NF 815)
6. Hassas Terazî (Kern S 2000)
7. Etüv (Heto / Cell House 200)
8. Buzdolabı
9. Otomatik Pipet

#### **Sarf Malzemeler**

1. Metil Alkol (Merck)
2. Etil Alkol %96 (Merck)
3. Asetik Asit (Merck)
4. Sodyum Hidroksit

5. Distile Su
6. Iron-II-Sülfat.7H<sub>2</sub>O (Merck)
7. Alüminyum Potasyum Sülfat (Merck)
8. L-Cysteine Hydrochloride (Merck)
9. Glycine (Merck)
10. Potasyum bikromat
11. Lam (Isolab)
12. Lamel (Isolab, 24\*32)
13. Beher (Isotherm)
14. Santrifüj Tüpü (LP, 15 ml.)
15. Penset (Atelsan)
16. Pastör Pipeti
17. Tüplük
18. Çeşitli Cam Malzemeler

### **3.2. YÖNTEM**

#### **Çalışma Grubu**

Doğal boya kaynağı olarak Asma Yapağı (Vitis vinifera) özütü kullanılmıştır. Sıvı fazı, pH değeri, mordan maddesi, boyama süresi, boya miktarı, güneşe tutma süresi, ışık kaynağı v.b. parametreler denenerek bitkiden izole edilecek boyalarla hazırlanacak boya banyolarında SKH ve rutin kromozom analizlerinden artan materyal kullanılarak hazırlanan KYP boyanarak floresan mikroskopta incelenmiştir.

#### **Boyarmadde Elde Etmek İçin Kullanılan Yöntem**

İlk adım olarak Kayseri ve civarından, 2006 Haziran ve Temmuz ayları arasında asma yaprakları toplandı. Toplanan asma yapağı bitkileri ayrı ayrı öğütüldükten sonra, su ile ekstraksiyon işlemine tabi tutularak boyarmadde içeren renkli çözeltileri elde edildi. Her bir çözelti döner buharlaştırıcıda, suyun kaynama sıcaklığında kaynatılarak suyu buharlaştırıldı ve ıslak boyarmadde elde edildi. Islak boyarmadde de etüvde kurutularak toz haline getirildi.

### **Soğan Köklerini Elde Etmek İçin Kullanılan Yöntem**

Soğan kökleri (SK), ısıtma, kaynatma, asitle etkileştirme ve benzeri yıpratıcı etkilere karşı oldukça dayanıklı bir materyal olup, kuru soğanın çillendirilip köklerinin etil alkol içerisinde biriktirilmesiyle kolay ve bol miktarda elde edildiğinden boyama çalışmalarında kullanılması oldukça uygun bir materyaldir. Bunun için plastik bardaklara su doldurulup içine kuru soğanlar yerleştirildi ve çillenmeye bırakıldı. Kökleri 0,5 – 1 cm. uzadıkça kesilerek, içinde etil alkol bulunan ağzı kapalı karanlık şişelere konularak buzdolabında saklandı.

### **Lenfosit Preparatlarını Elde Etmek İçin Kullanılan Yöntem**

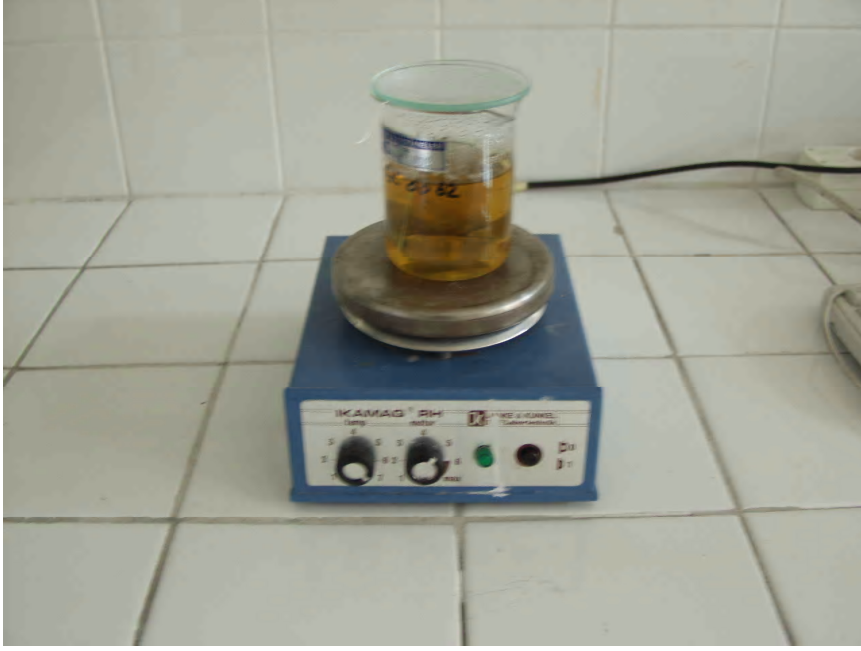
Lenfosit preparatları hem interfazdaki hem de bölünme anındaki hücre yapısını gözlemleyebileceğimiz objeler sağlar. Ancak bu preparatlar en az bir haftalık eskitme işlemine tutulduktan sonra kullanılabilir. Eskitmeden sonra bile boyama işlemlerine dayanıklılığı SK'den daha azdır. Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nın rutin kromozom analizlerinden artan materyaller kullanılarak, KYP hazırlandı. Bunun için lamalar temizlenerek içinde %70'lik metanol bulunan şaleye yerleştirilip soğuyuncaya kadar buzdolabı buzlukunda bekletildi. Daha sonra şaleden çıkarılan lamalar iyice kurulandı. Hücre süspansiyonundan pastör pipeti yardımıyla lamlara yakın mesafeden (1-2 cm. yukarıdan) 5-6 damla damlatıldı. Hücrelerin lam üzerine iyice yayılması sağlandı ve kurumaya bırakıldı. Hazırlanan lenfosit preparatları etüvde 65°C'de 1,5 saat eskitmeye bırakıldı.

### **Boyama İşlemi**

AYÖ ile SK ve KYP boyanarak hücre boyaması gerçekleştirildi. Mordan olarak demir-II-sülfat, şap, L- sistein, glisin ve potasyum bikromat kullanıldı. Sıvı fazı olarak da, DS + metil alkol, DS + etil alkol, DS + asetik asit, DS + sodyum hidroksit gibi çözücüler kullanıldı. Bütün boya-mordan-çözücü kombinasyonları, pH değeri, boyama süresi, boya miktarı ve güneşe tutma süresi gibi parametreler çalışılarak hücre boyaması yapıldı ve floresan mikroskopda incelendi.

Bir beher içerisine, 50'şer ml., DS+metil alkol (1:1 v/v ), DS+etil alkol (1:1 v/v ), DS+asetik asit (1:1 v/v ) ayrı ayrı beherlere alınarak, içerisine mordan maddesi (0.4 g), AYÖ (1.6 g), 5-6 adet SK ve KYP koyup ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda, ağzını saat camıyla kapatarak, 2 saat kaynattık (Resim 3.1.). SK'ni dikkatle pens kullanarak temiz

bir lam üzerine aldık. Üzerine birkaç damla kaynamış mordanlı boyanın sıvı kısmından damlatarak, bisturi veya jiletle küçük küçük doğrayıp, lamel ile kapatarak ezme tekniğini uygulayarak preparatlarımızı hazırladık. Her bir materyal için preparatlarımızdan ikişer tane hazırlayıp birini UV ışığında diğerini güneş ışığı (GI)'nda yarımşar saat bekletip, floresan mikroskopta inceledik. Hem şap hem de FeSO<sub>4</sub> için bu işlemleri tekrar ettik.



**Resim 3.1.** Deney Düzenegi

Boya-mordan bileşiminden oluşan partiküller (chelate), soğan köklerinden preparat hazırlarken ezme aşamasında, kromozom preparatlarında da inceleme aşamasında engelleyici rol oynamaktadır. Bu problemi çözmek için, 1.6 g AYÖ ve 0.4 g şap içeren çay poşetleri hazırladık ve her 50 ml'lik çözücü için bir poşet kullanarak çözdük. Her bir boyama deneyi için 150 ml. çözücü fazına 3 poşet boya-mordan kullandık, 10-15 SK parçası veya 3 kromozom preparatı boyandı (Resim 3.2.)



**Resim 3.2.** Hazırlanan boya - mordan karışımı poşetler

pH' nın boyanmayı nasıl etkilediğini incelemek için; beherlerin içerisine 50 ml. DS koyup asetik asit ve sodyum hidroksit ile pH değerlerini sırasıyla 1, 2, 3, 4, 5, 8 ve 11'e ayarladık. İçine birer poşet boya, 3-4 adet SK ve KYP koyup aynı şekilde boyayarak güneş ışığına tuttuktan sonra floresan mikroskopta inceledik.

1.5; 2.0; 2.5 saatlik kaynama süresi, 15; 30; 45; 60'ar dk güneşte bekletme sürelerini denedik. Boya banyosundaki boya miktarını iki katına çıkararak, yani 50 ml çözücü için bir yerine iki poşet boya kullanarak denemeyi tekrarladık.

Çift mordan kullanıldığındaki etkileri denemek için; boya ile birlikte mordan olarak Şap+FeSO<sub>4</sub>, Şap+Glisin, Şap+L-Sistein ve Şap+K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> kullanarak yeniden boyama yaptık.

Mikroskopta gözlenen floresan emisyonun boyadan mı yoksa başka nedenlerden mi kaynaklandığını belirlemek için SK ve KYP'ını sadece AYÖ, sadece çözücü (hem DS'da hem de DS+asetik asitte) ve sadece mordan (şap) ile kaynatıp inceledik.

Her bir boyama işleminden sonra ışığa tuttuğumuz preparatlarımızı Nikon marka Eclipse E 1000 model floresan mikroskopunda, 1-MacProbe v 4.2.3. programında analiz ettik. Tritc (kırmızı), Fitc (yeşil), Dapi (mavi) ve her üç filtrenin birleşimi olan Triple (beyaz) filtrede inceleyip fotoğraflarını çektik. Floresan mikroskopundaki emisyon filtreleri, eksitasyon ışığının geçmesini engelleyerek, sadece örnekten gelen, Tritc'de ; 545-565 nm, Fitc'de ; 475-490 nm ve Dapi'de ; 385-400 nm dalga boylarında emisyon ışığının geçmesine izin vermektedir.

## 4. BULGULAR

Asma Yaprığı (*Vitis vinifera*) özütü ile soğan kök hücreleri ve insan T-lenfosit kromozomları materyal metotta belirtilen yöntemlere göre boyanmıştır. Her bir preparat ayrı ayrı floresan mikroskopta incelenerek floresan ışık yayıp yaymadığına bakılmıştır.

Sıvı fazı, pH değeri, mordan maddesi v.b. değişkenler göz önüne alınarak yapılan boyama denemeleri sonunda elde edilen sonuçlar Tablo 4.1.'de verilmiştir. Boya banyosunda, sıvı fazı olarak DS+asetik asit, mordan maddesi olarak şap ve ışık kaynağı olarak da güneş ışığının kullanıldığı preparatlarda (Tablo 4.1., Deney no:9) boyanma gerçekleşmiştir.

Yalnız deney 9'da uygulanan yöntemle (Tablo 4.1.) pozitif sonuç elde edilmiştir. Bu nedenle, pH, boyama süresi, güneş ışığına tutma süresi ve boya miktarının boyamaya etkisi deney 9'daki yönteme göre yapılmıştır. Bu denemelerin sonuçları da Tablo 4.2.'de verilmiştir.

Tablo 4.2.'den de anlaşılacağı üzere en iyi boyanma deney 4'e göre yapıldığında, yani pH=4'de elde edilmiştir. pH= 4'den daha asidik boyama koşullarda görüntü kaybolurken, ortama eklenen NaOH miktarı ne olursa olsun AYÖ'nün floresan özelliğini kaybettirmektedir. Yine deney 4'deki yöntemden farklı olarak yapılan; boya miktarının artırılması, boyama süresinin artırılması, güneşe tutma süresinin artırılması boyanmanın etkisini değiştirmemektedir.

**Tablo 4.1.** Doğal boya kaynağı, mordanlar ve diğer değişken parametrelere göre boyamadan elde edilen sonuçlar

Deney No.	Doğal Boya Kaynağı	g	Çözücü	Mordan	g	Boya Banyosu Hacmi	Işık Kaynağı	Boyanan Materyal	Sonuç
1	AYÖ	1.6	DS+M.Alc	FeSO <sub>4</sub>	0.4	50 ml	GI	SK+KYP	n
2	AYÖ	1.6	DS+E.Alc	FeSO <sub>4</sub>	0.4	50 ml	GI	SK+KYP	n
3	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	FeSO <sub>4</sub>	0.4	50 ml	GI	SK+KYP	n
4	AYÖ	1.6	DS+M.Alc	FeSO <sub>4</sub>	0.4	50 ml	UV	SK+KYP	n
5	AYÖ	1.6	DS+E.Alc	FeSO <sub>4</sub>	0.4	50 ml	UV	SK+KYP	n
6	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	FeSO <sub>4</sub>	0.4	50 ml	UV	SK+KYP	n
7	AYÖ	1.6	DS+M.Alc	Şap	0.4	50 ml	GI	SK+KYP	n
8	AYÖ	1.6	DS+E.Alc	Şap	0.4	50 ml	GI	SK+KYP	n
9	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	Şap	0.4	50 ml	GI	SK+KYP	p
10	AYÖ	1.6	DS+M.Alc	Şap	0.4	50 ml	UV	SK+KYP	n
11	AYÖ	1.6	DS+E.Alc	Şap	0.4	50 ml	UV	SK+KYP	n
12	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	Şap	0.4	50 ml	UV	SK+KYP	n
13	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	Şap+FeSO <sub>4</sub>	0.8	50 ml	GI	SK+KYP	n
14	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	Şap+Glisin	0.8	50 ml	GI	SK+KYP	n
15	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	Şap+L-Sis.	0.8	50 ml	GI	SK+KYP	n
16	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	Şap+K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	0.8	50 ml	GI	SK+KYP	n
17	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	Şap+FeSO <sub>4</sub>	0.8	50 ml	UV	SK+KYP	n
18	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	Şap+Glisin	0.8	50 ml	UV	SK+KYP	n
19	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	Şap+L-Sis.	0.8	50 ml	UV	SK+KYP	n
20	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	Şap+K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	0.8	50 ml	UV	SK+KYP	n

AYÖ, asma yaprağı özütü; DS, distile su; M.Alc, methanol; E.Alc, ethanol; A.Asit, asetik asit; L-Sis, L- sistein; GI, güneş ışığı; UV, ultraviyole ışık; SK, soğan kökü; KYP, T-lenfosit kromozom yayma preparatları; n, negatif; p, pozitif.



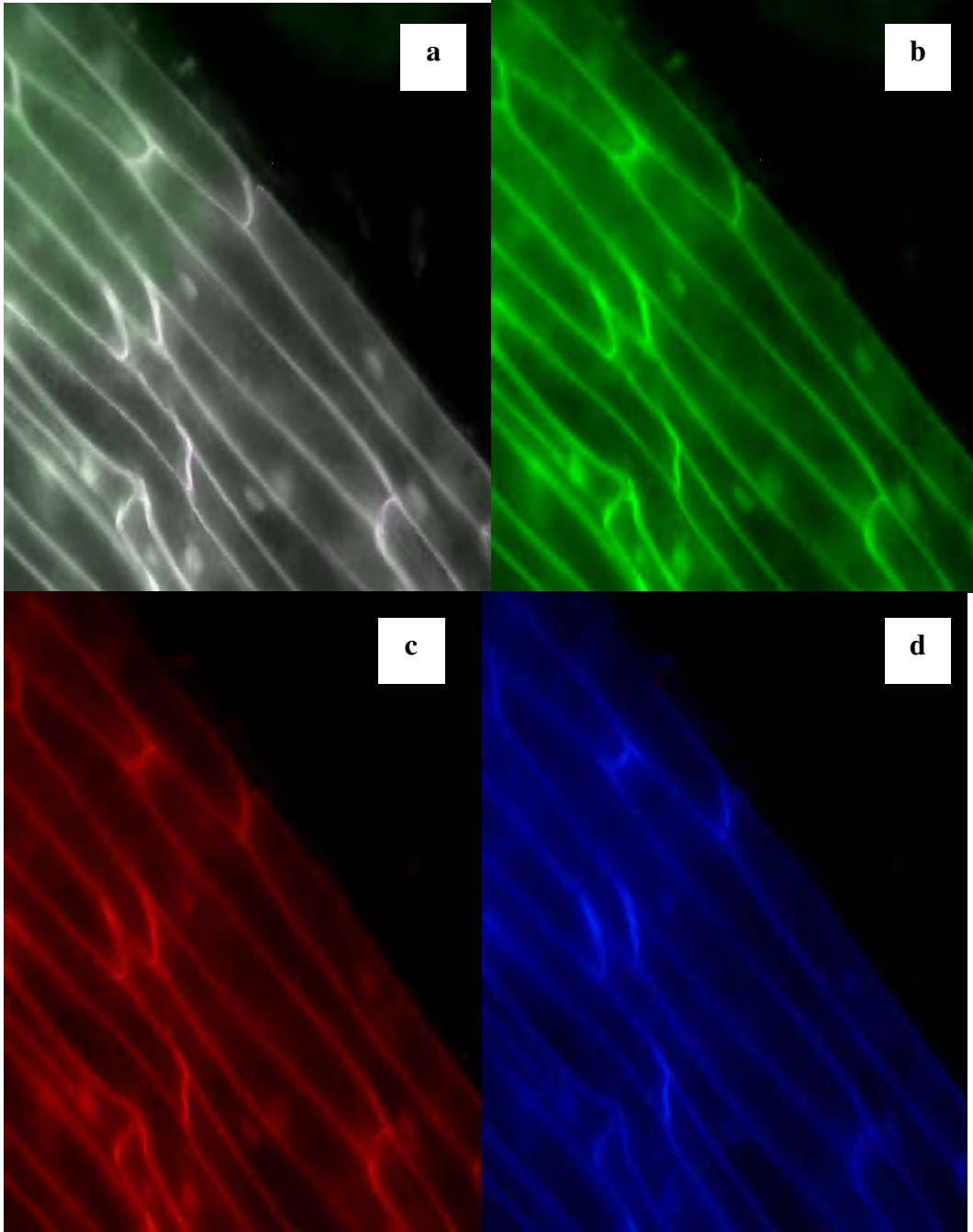
**Tablo 4.2.** pH, boyama süresi, boya miktarı ve güneşe tutma süresinin boyamaya etkisi

Deney No	Boya Kaynağı + Mordan	Boya Miktarı (g)	Çözücü	Boya Banyosu Hacmi	pH	Boyama Süresi (saat)	Güneşe Tutma Süresi	Materyal	Sonuç
1	AYÖ+Şap	2.0	DS+A.Asit	50 ml	1	2.0	30 dk	SK+KYP	n
2	AYÖ+Şap	2.0	DS+A.Asit	50 ml	2	2.0	30 dk	SK+KYP	n
3	AYÖ+Şap	2.0	DS+A.Asit	50 ml	3	2.0	30 dk	SK+KYP	p*
4	AYÖ+Şap	2.0	DS+A.Asit	50 ml	4	2.0	30 dk	SK+KYP	p
5	AYÖ+Şap	2.0	DS+NaOH	50 ml	5	2.0	30 dk	SK+KYP	n
6	AYÖ+Şap	2.0	DS+NaOH	50 ml	8	2.0	30 dk	SK+KYP	n
7	AYÖ+Şap	2.0	DS+NaOH	50 ml	11	2.0	30 dk	SK+KYP	n
8	AYÖ+Şap	4.0	DS+A.Asit	50 ml	4	2.0	30 dk	SK+KYP	p
9	AYÖ+Şap	2.0	DS+A.Asit	50 ml	4	1.5	30 dk	SK+KYP	p*
10	AYÖ+Şap	2.0	DS+A.Asit	50 ml	4	2.0	30 dk	SK+KYP	p
11	AYÖ+Şap	2.0	DS+A.Asit	50 ml	4	2.5	30 dk	SK+KYP	p
12	AYÖ+Şap	2.0	DS+A.Asit	50 ml	4	2.0	15 dk	SK+KYP	n
13	AYÖ+Şap	2.0	DS+A.Asit	50 ml	4	2.0	30 dk	SK+KYP	p
14	AYÖ+Şap	2.0	DS+A.Asit	50 ml	4	2.0	45 dk	SK+KYP	p
15	AYÖ+Şap	2.0	DS+A.Asit	50 ml	4	2.0	60 dk	SK+KYP	p
16	-	-	DS	50 ml	4	2.0	30 dk	SK+KYP	n
17	-	-	DS+A.Asit	50 ml	4	2.0	30 dk	SK+KYP	n
18	Şap	0.4	DS+A.Asit	50 ml	4	2.0	30 dk	SK+KYP	n
19	AYÖ	1.6	DS+A.Asit	50 ml	4	2.0	30 dk	SK+KYP	n

AYÖ, asma yaprağı özütü; DS, distile su; A.Asit, asetik asit; SK, soğan kökü; KYP, T-lenfosit kromozom yayma preparatları; n, negatif; p, pozitif; p\*, görüntü soluk

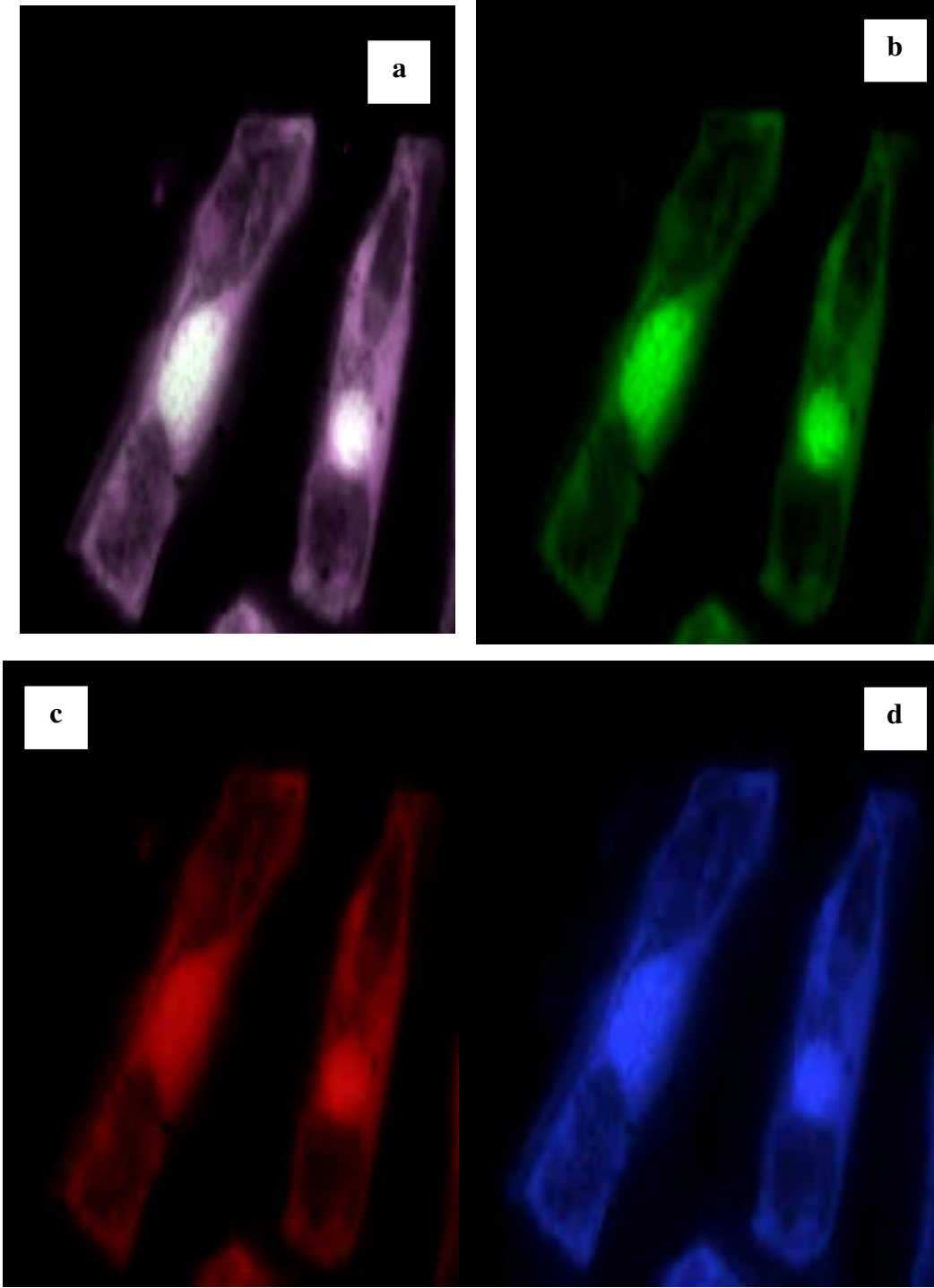
Floresan özelliğın çözücüye (DS+asetik asit), şap moleküllerine ya da hücresel yapılara ait olup olmadığını açığa çıkarmak için yapılan deneylerle hücrelerde herhangi bir emisyon belirlenemedi (Tablo 4.2. ; deney 16, 17, 18, 19).

Tablo 4.2.'den deney 4'e göre boyanan SKH'nin görüntüsü Resim 4.1 ve 4.2.'de, kromozomların görüntüsü de Resim 4.3. ve 4.4.'de verilmektedir.

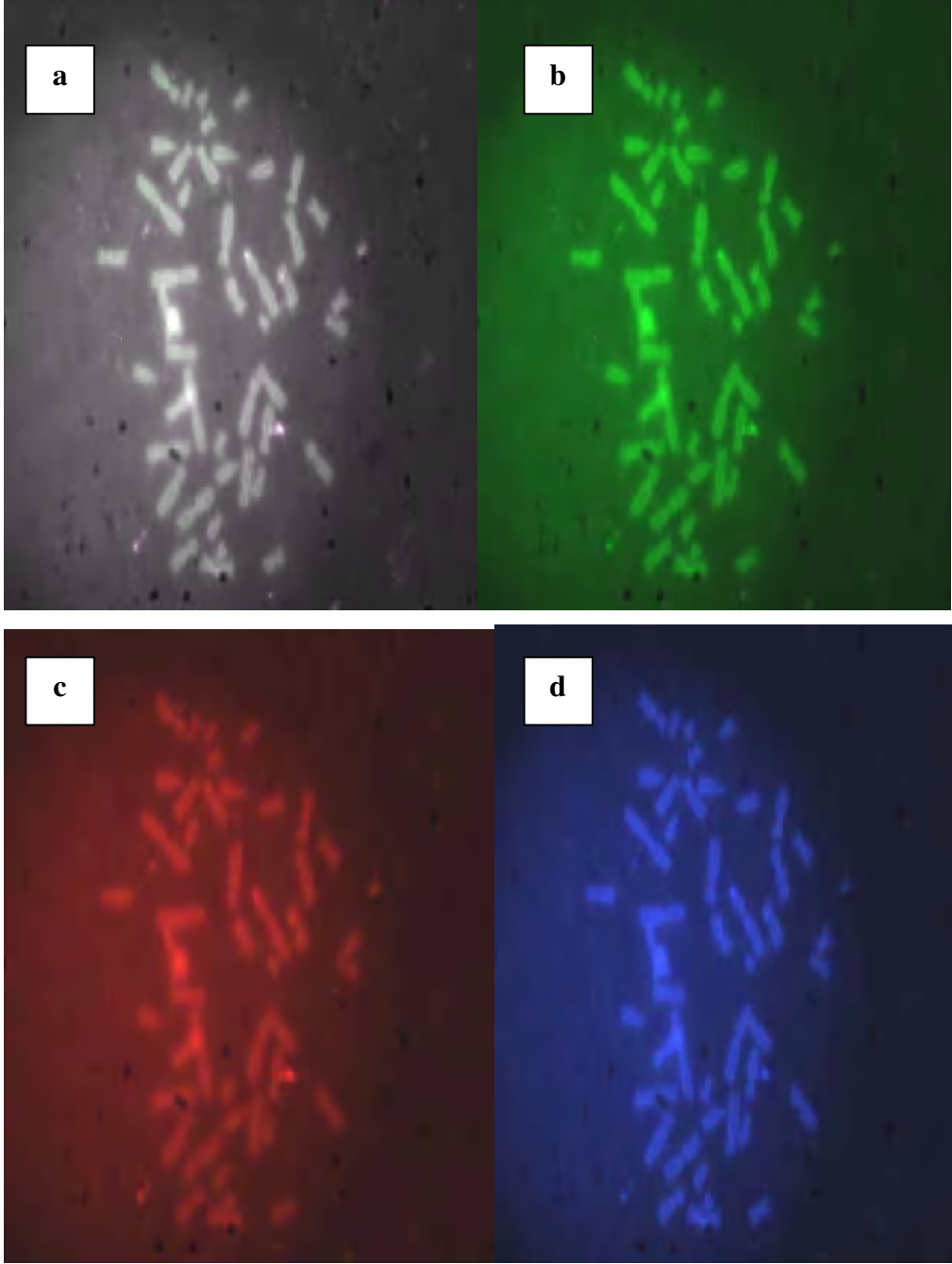


**Resim 4.1.** Deney 4'e göre boyanan soğan kök hücrelerinin floresan mikroskopta

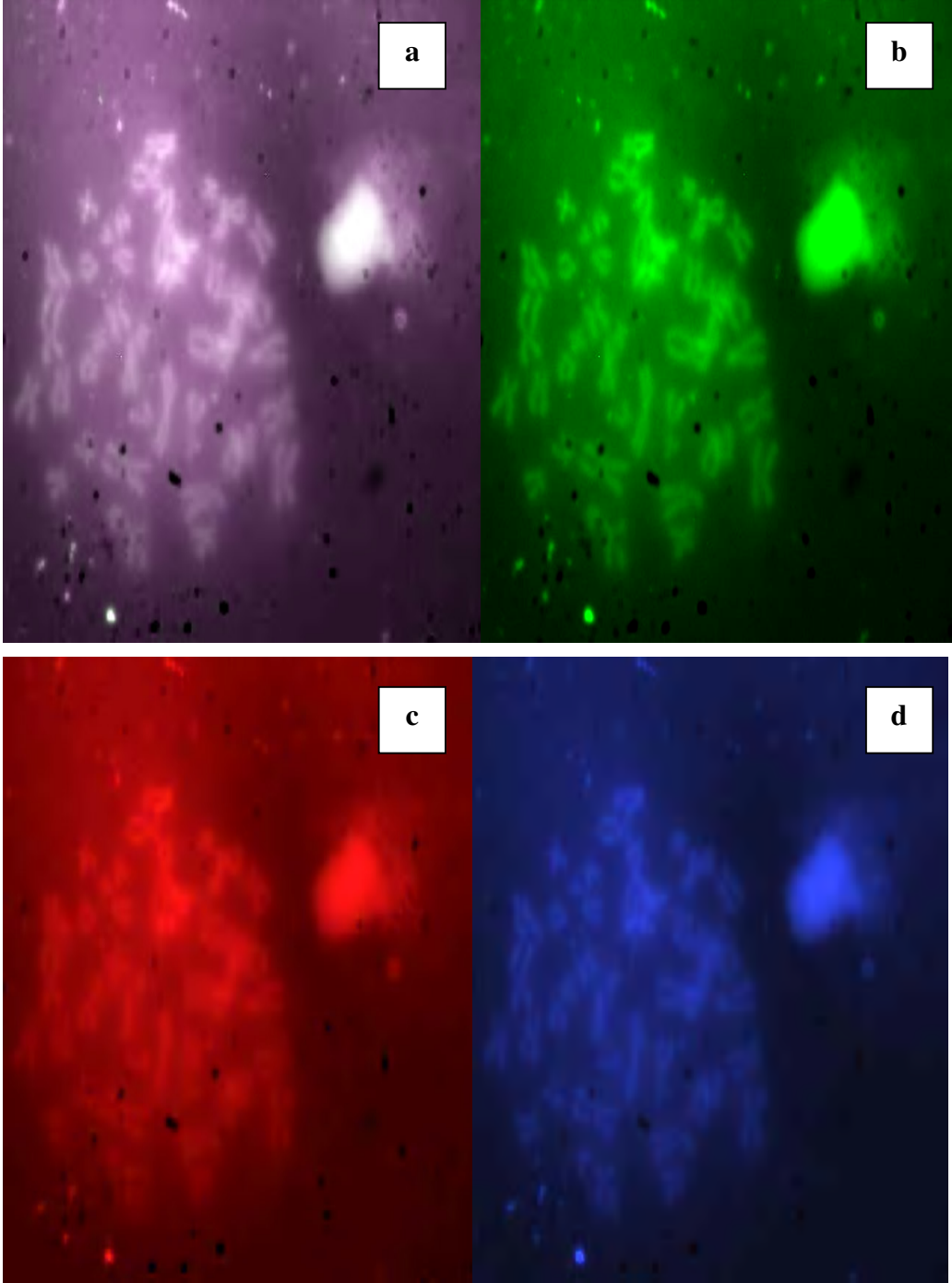
a) Beyaz      b) Yeşil      c) Kırmızı      d) Mavi filtrelerdeki görüntüler



**Resim 4.2.** Deneý 4'e göre boyanan soğan kök hücrelerinin floresan mikroskopta  
a) Beyaz      b) Yeşil,      c) Kırmızı      d) Mavi filtrelerdeki görüntüleri



**Resim 4.3.** Deney 4'e göre boyanan T-lenfosit kromozomlarının floresan mikroskopta  
a) Beyaz      b) Yeşil      c) Kırmızı      d) Mavi filtrelerdeki görüntüleri



**Resim 4.4.** Deney 4'e göre boyanan T-lenfosit kromozomlarının floresan mikroskopta

a) Beyaz

b) Yeşil

c) Kırmızı

d) Mavi filtrelerdeki görüntüleri

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Türkiye florası boya bitkileri çeşitliliği bakımından oldukça zengindir. Asma yaprağı en fazla bilinen boya kaynaklarından biridir ve bitkisel boyacılıkta yararlanılmaktadır. Kimyasal açıdan asma yapraklarında; Quercetin, Quercitrin ve Karoten gibi boyar maddeler vardır. Birçok bitkisel kaynaktan olduğu gibi, asma yaprağının da flavonoid grubu boyar maddelerce zengin oldukları bilinmektedir (9).

Modern çalışmalarda floresan maddelerin kullanımını artarak birçok alana yayılmaktadır. Bitkisel boyar maddelerden bir kısmı (flavonoidler, antosiyaninler v.d.) floresans özelliğe sahip olduklarından, daha sonraki araştırmalarda bu özelliklerden yararlanma çabalarının yolu açılacaktır. Asma yaprağının flavonoid grubu boyar maddelerce zengin olması, AY ile çalışılmasına tercih nedeni olmuştur.

Bu çalışmada, sıvı fazı, pH değeri, mordan maddesi, ısı, boyama süresi v.b. parametreler denenmek üzere asma yaprağından izole edilen boyalarla hazırlanacak boya banyolarında SKH ve KYP boyanmıştır. Bu değişkenlerle, SKH ve KYP üzerinde AYÖ'nün kullanılabilirliği denenerek, boyanma için uygun metot oluşturulmaya çalışılmıştır.

Floresan boya yöntemleri doku bileşenlerinin, bakterilerin, fungusların, ağır metallerin gösteriminde, eksfoliyatif sitolojide malign hücrelerin tanınmasında rutin olarak kullanılmaktadır (71). Floresan boyama yöntemlerinde, floresan boya olarak genellikle yapay boyalar (Hoechst boyası, propidium iyodür, rhodamin, auramin v.d.) kullanılmaktadır (73,74). Floresan boyalar DNA'ya bağlanabildiklerinden hücrenin kromatini dolayısıyla çekirdeği görünür hale gelebilir. Yapay floresan boya olan Hoecht boyası ve propidium iyodür ile hücre zarı boyanarak görünür hale getirilmektedir (73). Bizim çalışmamızda da benzer olarak boya kaynağı olarak AYÖ kullanılarak SKH zarı ve çekirdeği ile stimule edilmiş insan t-lenfosit çekirdek ve kromozomları boyanarak görünür hale getirilmiştir.

Literatür araştırmasına göre doğal bitkisel boya ile hücre boyaması yapılıp floresan özelliğine bakılmasıyla ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Son yüzyılın ikinci yarısında iki botanikçi ilk kez Carmin boyama metodunu tanıtmışlardır ancak bu yöntemle sadece dokuların hafifçe renklenmesini sağlayabilmişlerdir. Seçici çekirdek boyamasının ilk kullanımının, sinir hücrelerini boyamaya çalışan Gerlach (1858) tarafından yapıldığı kabul edilmektedir. Carmin, histolojide az kullanılmakla beraber, günümüzde bütün haldeki cestodlar, medusalar v.b. hayvanların boyanmasında kullanılmaktadır (71). Bizim çalışmamıza benzer bir çalışma olarak Cücer ve arkadaşları tarafından 2004 yılında, kök boyası ve FeSO<sub>4</sub> ile beraber insan lenfosit hücreleri ve soğan kök hücreleri boyanmıştır. Hücredeki moleküllerin (DNA, histonlar ve non-histon proteinler), kök boyadaki farklı hidroksi antrokinonlar tarafından etkilendiğini ve hücrenin farklı bölümlerinin farklı renklerle boyanabileceğini ortaya çıkarmışlardır (72). Ancak floresan özelliğe bakılmamıştır. Bizim çalışmamızda da hücredeki moleküller (proteinler, DNA, histon ve non-histon proteinler), AY' daki flavonoid grubu boyarmaddelerle bağlanarak, SKH zarı ve çekirdeği ile stimule edilmiş insan t-lenfosit çekirdek ve kromozomları görünür hale getirilmiştir.

Hematoksilen; Haematoxylen campechianum türü küçük bir ağacın tahtalarından elde edilen ve histolojide en çok kullanılan boyalardandır. Hematoksilenin doğal formunun boyama yeteneği çok azdır veya yoktur. Bu nedenle ya hava ile temas ederek doğal yoldan yada sodyum iodat veya mercuric oksit gibi oksitleyici ajan kullanarak hemateine okside olması gerekmektedir (71). Benzer olarak asma yaprağının da doğal formunun boyama özelliği yoktur (Tablo 4.2.). DS + asetik asitli ortamda şap ile

beraber iki saat kaynatıldıktan sonra, 30 dk güneş ışığına tutulduğunda boyanma gerçekleşmektedir.

Asidik veya bazik bileşenleri içeren bir aromatik bileşiğin floresansı genellikle pH değerine bağlıdır. Bileşiğin iyonlaşmış ve iyonlaşmamış halleri için, dalga boyu ve emisyon şiddetinin her ikisi de farklıdır. Emisyon şiddetindeki değişimler, moleküllerin asidik ve bazik formları ile ilgili rezonans türlerinin sayısının farklılığından kaynaklanmaktadır (70). Bu çalışmada da pH=4'den asidik ve bazik yöne doğru kayıldıkça görüntü kaybolmaktadır. Yani ortama fazladan eklenen asetik asit ve sodyum hidroksit boyanmayı engellemektedir (Tablo 4.2.).

Ultraviyole ışınların absorpsiyonunun sonucu floresansın nadiren olduğu bilinmektedir. Çünkü, bu tür ışınlar, ön ayrışma ve ayrışma ile uyarılmış halin sönümüne sebep olmaya yetecek kadar enerjilidir. Elektronik olarak uyarılmış bir molekül en düşük uyarılmış hale, normal olarak emisyon ışınını oluşturmayan bir seri hızlı titreşim durulması ve iç dönüşümlerle geri dönmektedir (70). U.V.A 320-400 nm ve U.V.B 280-320 nm dalga boyları arasındadır. U.V.B yoğun etkisinde bitki davranışı, büyümenin durdurulması (ıspanak, salatalık, bezelye), büyümenin tetiklenmesi (domates v.b.), hiç etkilenmeme (pamuk v.b.) şeklinde olmaktadır. U.V.A ise kimi bitkilerde yaprak büyümesini, kök uzamasını büyük ölçüde engellemektedir. Bu çalışmada 280 nm dalga boyunda UV ışık kullanılmıştır. Tablolardan anlaşılacağı üzere UV ışığın kullanıldığı preparatlardan herhangi bir görüntü elde edilmemiştir.

Floresan özelliğin AYÖ'ne, çözücüye (DS+asetik asit), şap moleküllerine ya da hücrel yapılar ait olup olmadığını açığa çıkarmak için yapılan deneylerle hücrelerde herhangi bir floresan emisyon gözlenmemesi (Tablo 4.2. ; deney 16, 17, 18, 19), floresan emisyon yapma özelliğinin hücrelere 4 nolu boyama denemesi (Tablo 4.2.) sonucunda kazandırıldığına karar verilmiştir.

Asma yaprağı özütündeki boyarmaddeler (AÖBM) hücrenin değişik proteinleri ile şap molekülleri yardımıyla fiziksel ve kimyasal yöntemlerle bağlanarak, SKH zarı ve çekirdeği ile stimule edilmiş insan t-lenfosit çekirdek ve kromozomlarının boyanması başarılmıştır. Boyama işleminden sonra güneş ışığına tutulan preparatlar, görünür bölgedeki (400-700 nm) ışığı absorblayarak eksite olmaktadır. Örneğimizin, floresan mikroskopunda her üç filtrede (Tritc, Fitc ve Dapi) ve Triple' de görüntü vermesi, görünür bölgede birden fazla dalga boyundaki ışığı absorblayarak eksite olmasından



kaynaklanmaktadır. AY' nın önemli bir özelliği olarak, diğer floresan boyalarda olduğu gibi boyama işleminin karanlıkta yapılmasına gerek olmadığı gibi, boyamadan sonra örneğin uyarılması için güneş ışığına tutulması gerekmektedir. Ayrıca yapay boyalarda örneğin uyarılması için floresan mikroskobundan gönderilen eksitasyon ışıkları kullanılırken, bizim örneğimiz güneş ışığıyla eksite olmaktadır. Yine diğer floresan boyalarda solma işlemi saniyeler kadar kısa bir sürede olurken, bizim çalışmamızda preparatlar karanlıkta saklandığında solma olayı iki gün sonra gerçekleşmektedir. Bu AÖBM' in hücrede bulunan çok sayıdaki proteinle bağlanarak, daha fazla bir alanda boyanma işleminin gerçekleşmesinden kaynaklanmaktadır.

Boyama karışık bir olgudur ve boya – biyomolekül etkileşiminin kesin özelliği hala bir tartışma konusudur. Boya molekülleri, boyanan materyalin molekülleri ve mordan maddesi içerisindeki metal iyonlar arasında çok çeşitli kimyasal ve fiziksel etkileşimler görülebilir, bu nedenle hücreler içerisinde çok sayıda farklı sonuçlar elde edilebilir. Bu çalışmada boyama işleminin moleküler mekanizması halen belirsizliğini korusa da, SKH ve kromozomların AYÖ ve şap ile floresan boyanması teknik olarak başarılmıştır.

Mordan maddesi olarak şap kullanıldığında AYÖ içerisinde bulunan boyarmaddelerin, SKH zarı ve çekirdeği ile insan lenfosit çekirdek ve kromozomlarını floresan olarak boyayabilir bulunmuştur. Sonuç olarak AYÖ'deki boyarmaddelerin saflaştırılması, bunların floresan özelliklerinin incelenmesi, bu boyalarla, teknik modifikasyonlarla özel, ayırt edici ve duyarlı boyama yöntemleri geliştirilmesi üzerine ileri çalışmaların yararlı olabileceğine karar verilmiştir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Güvemli Z. Sanat Tarihi. 3.Baskı, İstanbul, 1982: 7-26.
2. Başer İ, İnanıcı Y. Boyarmadde Kimyası, İstanbul, 1990: 18-30.
3. Sinemoğlu N. Sanat Tarihi (Tarih Öncesinden Bizansa), İstanbul, 1984: 20-22.
4. Eyüboğlu Ü, Okaygün I, Yaroş F. Doğal Boyalarla Yün Boyama, İstanbul, 1983: 12-20.
5. Enez N. Doğal Boyamacılık (Anadolu'da Yün Boyamacılığında kullanılmış Olan Bitkiler ve Doğal Boyalarla Yün Boyacılığı), İstanbul, Fatih Yayınevi, 1987: 80-115.
6. Öztürk İ. Bitki Boyaları Üzerine Birkaç Not ve Yenikent Köyünden Boyama Örnekleri, Türk Etnografya Dergisi, 17. sayı, 1982: 49-58.
7. Korur R. Türkiye'de Nebati Boyalar, Ankara, Yüksek Ziraat Enstitüsü Basımevi, 1937: 83-93.
8. Armağan V. Demirci Halıcılığı, Gediz Dergisi, 4. sayı, 1947: 97-98.

9. T.C. Sanayi ve Ticaret Bakanlığı, Bitkilerden Elde Edilen Boyalarla Yün Liflerinin Boyanması, Ankara, 1991: 13-167.
10. [www.istanbul.edu.tr/yuksekokullar/teknikbilimler/yed/personal/programlar/kimya.doc](http://www.istanbul.edu.tr/yuksekokullar/teknikbilimler/yed/personal/programlar/kimya.doc).
11. Karamanoğlu K. Genel Botanik. 3.Baskı, İstanbul, Çağlayan Kitabevi, 1983:17-36
12. Paliwal S, Sundaram J, Mitragotri S. Induction of cancer-specific cytotoxicity towards human prostate and skin cells using quercetin and ultrasound. Br J Cancer, 2005; 92(3): 499-502.
13. Smith C, Kevin A, Ellen B, et al. Genetic Analysis of quercetin in onion (*Allium cepa* L.) lady raider. Tex J Agr Nat Resour, 2003; 16: 24-28.
14. Sari H, et al. Content of the flavonols quercetin, myricetin and kaempferol in 25 edible berries. J Agr Food Chem, 1999;47(6):2274-2279.
15. Shoskes DA, et al. Quercetin in men with category III chronic prostatitis: a preliminary prospective, double-blind, placebo-controlled trial. Urology 1999; 54(6): 107-115.
16. The Alpha-Tocopherol, beta carotene cancer prevention study group. The effect of vitamin E and beta carotene on the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers. N Engl J Med 1994; 330: 1029-1035.
17. Omenn et al. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in caret, the beta-carotene and retinal efficacy trial journal of the national cancer institute. Pain 1996; 88(21): 1550-1559.
18. Bjelakovic et al. Mortality in randomized trials of antioksidant supplements for primary and secondary prevention: Systematic review and meta-analysis. Jama 2007; 297: 842-843.
19. Kumary JK, Sinha AK. Natural Plant Products Division, Institute of Himalayan Bioresource Technology, Palampur (HP), India, 2004: 59-84.
20. Hancock M, Adas Boxworth Boxworth, Cambridge CB2 8NN, Potential for colourants from plant sources in England & Wales, ST0106 arable crops & Horticulture Division 1997: 256-263.

21. Dedhia EM, Fernandez S. Dyeing of jute, (jutes viskose) / cotoon, jute/cotton with gold mohur leaf pigments (chlorophyll). Symposium on convention on naturel dyes, Department of textile technology, II T Delhi, India, 1999: 180-185.
22. Wackenroder H. Mag. Pharm, 1831; 33: 144-145.
23. Piccoglia R, Marotti M, Grandi S. Industrial crops and products, 1998; 8(1): 45-51.
24. Zollinger H. Color chemistry: Syntetic, properties and applications of organic dyes and pigments, Weinheim, Germany, 1991; p.52.
25. Isler O. Carotenoids, Birkhauserverlag, Basel, Switzerland, 1971; 19-21.
26. Krinsky NI, Roth MM, Taylor RF, (Eds). Carotenoids: Chemistry and biology, Plenum press, Newyork, 1990: 279-291.
27. Bauernfeind JC. Carotenoids as Colorants and vitamin-A precursors technological and nutritional applications, Academic press, Newyork, 1981: 126-138.
28. Kandil FE, Sayed NH, Michael HN, et al. Gallotannins and flavonoids from haematoxylon campechianum. Phytochemistry, 1996; 42(4): 1243-1245.
29. Sun F, Benn M. Norditerpenoid alkaloids from seeds of delphinium zalil. Phytochemistry, 1992; 31(9): 3247-3250.
30. Angelini LG, Bertoli A, Rolandelli S, et al. Agronomic potential of reseda luteola L. as new crop for natural dyes in textiles production. Industrial crops and products. Turk J Agric For, 2003; 30: 287-293.
31. Dweck AC. Natural ingredients for colourin and styling . Int J Cosmet Sci, 2002; 24(5): 287-302.
32. Harborne JB (Ed.). The flavonoids: Advances in research since 1980. Chapmann and Hall, London, Newyork, 1988: 329-388.
33. Fossen T, Slimestad R, Olav DQ, et al. Covalent antocyanin flavonol complexes from flowers of chive, allium schoenoprasum, Phytochemistry, 2000; 54(3): 317-323.
34. Norton SA. Useful plants oh dermatology. IV. Alizarin red and madder. J Am Acad Dermatol, 1998; 39(3): 484-485.

35. Maiya BG. Photodynamic therapy (PDT). *Resonance*, 2000; 5(4): 6-18.
36. Kokubun T, Edmonds J, John P. Indoxyl derivatives in woad in relation to medieval indigo production. *Phytochemistry*, 1998; 49(1): 79-87.
37. Fomi E, Polesello A. Research on the utilization of the pigment from *Phytolacca decandra* L. as a food toxic substances. *Food chemistry*, 1983; 10(1): 35-46.
38. Lehmann JW. Pigments of grain and feral. *Amaranthus Legacy*, 1990; 3: 3-4.
39. Kobayashi N, Schmidt J, Nimtz M, et al. Betalains from christmas cactus. *Phytochemistry*, 2000; 54(4): 419-426.
40. Reynoso CR, Gonzalez E. Stability of garambullo ( *Myrtillocactus geometrizans*) fruit pigment during storage. Harvest and post harvest technologies for fresh fruits and vegetables. *J Agr Food Chem*, 1995: 609-616.
41. Stafford HA. Anyhocyanins and betalains-evolution of the mutually exclusive pathways. *Plant Sci*, 1994; 101: 91-98.
42. Korur RN. Nebati boyalarla yün ipliklerinin boyanması, Ankara, Yüksek Ziraat Enstitüsü Basımevi, 1937: 49-56.
43. Gulrajani ML, Gupta D, Maulik SR. Studies on dyeing with natural dyes: Part dyeing of berberine. *Ind. J Fib & Tex Res*, 1999; 24(9): 223-225.
44. Gulrajani ML, Gupta DB, Agarwall V, et al. Dye plants and dyeing. *J Ind Tex* , 1993; 103: 90-91.
45. John, Cannon M. Dye plants and dyeing. The Herbert Press, London, 1994: 13-16.
46. Adrosko, Rita J. Natural dyes and home dyeing. New York: Dover publications, Inc., 1971: p.245.
47. Weigle, Palmy. Ancient dyes for modern weavers. New York: Watson-Guptill publications, 1974: p.126.
48. Baker JR. Experiments on the action of mordants. *Q J Microsc Sci*, Vol. 101, part 3, 1960: 255-272.
49. Castino, Kuth. Spinning and dyeing the natural way, Van Nostrand Reinhold Co.: New York, 1991: p.217.

50. Önal A. Doğal boyar maddeler (Ekstraksiyon-boyama), Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fak. Yay. No: 07, Araştırma serisi no: 01, Tokat, 2000: 1-21.
51. Önal A, Kepez M. Cehri (*Rhamnus tinctoria*)' den boyarmadde ekstraksiyonu ve yün liflerinin boyanması, Doğa, Turk J Chem, C13 S3, 1990: 299-302.
52. <http://papyrus.ankara.edu.tr/yuksekokullar/teknikbilimler/yed/personal/programlar/kimya.doc>.
53. <http://www2.medainel.edu/biology/botf99/photo/p3pigments.html>.
54. Hall, Carlton R. ; Bostater, Charles R., Jr.; Wirnstein, Robert. Remote sensing of the ocean and sea ice 2004. Edited by Bostater, Charles R., Jr.; Santoleri, Rosalia. Proceedings of the SPIE, Vol. 5569, 2004: 183-193.
55. <http://www.ucmp.berkeley.edu/glossary/gloss3/pigments.html>
56. Özyurt S. Bitki anatomisi I. Erciyes Üniv. Yay. No: 48, Kayseri, 1992: 11-24.
57. Hancock M, Boxworth AB. Potential for colourants from plant sources in England & Wales, ST0106 Arable crops & Horticulture division, Cambridge CB2 8NN, 1997: 18-21.
58. Puralı N. Fonksiyonel hücre görüntüleme teknikleri, Ankara, Hacettepe Tıp Dergisi, 2004; 35: 107-113.
59. Herman B. Fluorecence microscopy. New York, Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 1998: 103-107.
60. Paddock S. Confocal microscopy (methods in molecular biology, Volume 122). Humana Press, 1998: 141-151.
61. Murphy DB. Fundamentals of light microscopy and electronic imaging. John Wiley and Sons, Inc., 2001: 177-204.
62. <http://micro.magnet.fsu.edu/primer/techniques/fluorescence/fluorhome.html>
63. <http://nobelprize.org/educational/games/physics/microscopes/fluorescence/index.html>
64. <http://www.fluorescence.com/tutorial/fm-optic.html>

65. Yıldız A, Genç Ö. Enstrümental Analiz. Hacettepe Üniversitesi yayınları A-64, 1993: 71-85.
66. Schulman S. Molecular Luminescence Spectroscopy. New York: Wiley, Part 1, 1985: 20-52.
67. Rossiter BW, Baetzold RC, Eds. In physical methods of chemistry, 2nd ed., Volume VIII, chapter 3, New York: Wiley, 1993: 59-62.
68. Lakowicz JR. Principles of fluorescence spectroscopy. New York: Plenum Press, 1983: 509-527.
69. Guilbault GG. Practical Fluorescence, 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1990: 67-69.
70. Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Principles of instrumental Analysis, fifth edition. Saunders College Publishing, Philadelphia, 1998: 355-372.
71. [http://histemb.medicine.ankara.edu.tr/Histopatolojinin\\_Gelişimi.pdf](http://histemb.medicine.ankara.edu.tr/Histopatolojinin_Gelişimi.pdf)
72. Cücer N, Güler N, Demirtaş H. Staining human lymphocytes and onion root cell nuclei with madder root. Taylor & Francis Group, Biotechnic & Histochemistry 2005; 80(1): 15-20.
73. [http://www20.uludag.edu.tr/~biokimya/apoptozis\\_metin.htm](http://www20.uludag.edu.tr/~biokimya/apoptozis_metin.htm)
74. Nolte FS, Metchbock B. Mycobacterium. In Murray PR, Baron E Jo, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (ed). Manual of clinical microbiology. Sixth edition. ASM Press, Washington DC. 1995; 400-437.

## ÖZGEÇMİŞ

1980 yılında Kayseri’de doğdu. İlkokulu Alpaslan İlkokulu’nda, Ortaokulu Sümer Ortaokulu’nda, Lise tahsilini Sümer Lisesi’nde tamamladı. 1998 yılında Erciyes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü kazandı. 2002 yılında bu bölümden mezun oldu. 2002 yılının güz döneminde Tıbbi Biyoloji bölümünün açmış olduğu Yüksek Lisans sınavını kazanarak aynı bölümde Yüksek Lisans eğitime başladı. Ders döneminden sonra “Bitkilerden Boya Elde Edilmesi ve Mikroskobik preparatlarda Kullanılma Yöntemlerinin Araştırılması” isimli yüksek lisans tezini hazırladı.