



**YANIT YÜZEY METODOLOJİSİ OPTİMİZASYON
STRATEJİSİ KULLANILARAK *Lactobacillus senmaizukei*
BİYOKATALİZÖRÜ İLE ASETOFENON
TÜREVLERİNİN ASİMETRİK İNDİRGENMESİ**

Nida Sezin ÇOLAK

**Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Doç.Dr.Engin ŞAHİN
2020
(Her Hakkı Saklıdır)**

T.C.
BAYBURT ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**YANIT YÜZEY METODOLOJİSİ OPTİMİZASYON STRATEJİSİ
KULLANILARAK *Lactobacillus senmaizukei* BİYOKATALİZÖRÜ İLE
ASETOFENON TÜREVLERİNİN ASİMETRİK İNDİRGENMESİ**
(Response Surface Methodology as Optimization Strategy for Asymmetric Bioreduction
of Acetophenone Using Whole Cell of *Lactobacillus Senmaizukei*)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nida Sezin ÇOLAK

Danışman: Doç. Dr. Engin ŞAHİN

Bayburt
Aralık, 2020

ETİK VE BİLDİRİM SAYFASI

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Yanıt Yüzey Metodolojisi Optimizasyon Stratejisi Kullanılarak *Lactobacillus Senmaizukei* Biyokatalizörü İle Asetofenon Türevlerinin Asimetrik İndirgenmesi” başlıklı çalışmanın tarafımdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını ve yararlandığım eserleri kaynakçada gösterdiğimi beyan ederim.

24/11/2020

Nida Sezin ÇOLAK

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca manevi desteğini esirgemeyen, sabırla tüm sorularıma yanıt veren, değerli bilgi ve fikirleri ile bana her zaman yol gösteren, danışman hocam Sayın Doç.Dr. Engin ŞAHİN'e teşekkür ederim.

Bu tez kapsamında kullanılan bakteri suşunu veren ve RSM analizindeki yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Enes DERTLİ ve Sayın Prof. Dr. Mustafa Tahsin YILMAZ hocalarıma teşekkür ederim. Güler yüzü ve tecrübeleriyle Yüksek Lisans öğrenimim boyunca bana destek veren, değerli bilgileriyle çalışmama ışık olan Sayın Hasan CAN hocama tüm iyi niyet ve emeklerinden ötürü şükranlarımı sunarım.

Desteğini hiç esirgemeyen aileme ve beni sevgiyle, sabırla büyüten rahmetli Şöhret USTA ve Emin USTA'ya sonsuz minnetlerimle.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YANIT YÜZEY METODOLOJİSİ OPTİMİZASYON STRATEJİSİ KULLANILARAK *Lactobacillus senmaizukei* BİYOKATALİZÖRÜ İLE ASETOFENON TÜREVLERİNİN ASİMETRİK İNDİRGENMESİ

Nida Sezin ÇOLAK

Aralık 2020, 90 Sayfa

Ketonların biyokatalizörler ile asimetrik indirgenmesi kiral organik moleküllerin sentezinde temel bir prosestir. Prokiral ketonların asimetrik indirgenmesi ile elde edilen kiral sekonder alkoller zirai kimya, ilaç sanayi, tatlandırıcı sentezi, doğal ürünlerin sentezlenmesi gibi çeşitli alanlarda önemli kiral yapı taşları olarak kullanılmaktadırlar. Tüm hücre biyokatalizör ile yapılan uygulamalar, esas olarak biyokatalizörün kültür parametrelerinden etkilenen enantiyomerik açıdan zengin kiral sekonder alkoller elde etmek için prokiral ketonların biyokatalitik olarak indirgenmesi ile sağlanan yöntemlerden biridir. Bu çalışmada, model substrat asetofenonun asimetrik indirgenmesi için güvenli bir Laktik Asit Bakterisi (LAB) olarak tüm hücre *Lactobacillus senmaizukei* biyokatalizörü kullanılmıştır ve en yüksek dönüşüm ve enantiyomerik aşırılığı elde etmek için sıcaklık, pH, inkübasyon süresi ve çalkalama hızı gibi kültür parametrelerini optimize etmek için Yanıt Yüzey Metodolojisi (RSM) uygulaması kullanılmıştır. Asetofenonun asimetrik indirgenmesi, kültür parametrelerinin doğrusal ve kuadratik etkilerinden önemli ölçüde etkilenmiştir. Bu bulgular, biyo-indirgeme reaksiyonları için kültür parametrelerinin rolünü ve ayrıca bu parametreleri optimize etmek için RSM tekniğinin etkinliğini göstermek açısından önemlidir. RSM ile elde edilen optimize şartlar altında çeşitli prokiral ketonların asimetrik indirgenmesi gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyokatalizör, kiral alkol, asimetrik indirgenme, yanıt yüzey metodolojisi (RSM), asimetrik sentez.

ABSTRACT

MASTER THESIS

ASYMMETRIC REDUCTION OF ACETOPHENONES BY *LACTOBACILLUS SENMAIZUKE* BIOCATALYST USING RESPONSE SURFACE METHODOLOGY OPTIMIZATION STRATEGY

Nida Sezin ÇOLAK

December 2020, 90 Pages

Asymmetric reduction of ketones with biocatalysts is a basic process in the synthesis of chiral organic molecules. Chiral secondary alcohols obtained by asymmetric reduction of prochiral ketones are using as important chiral building blocks in various fields such as agricultural chemistry, pharmaceutical industry, sweetener synthesis, and synthesis of natural products. Applications with perform whole cell biocatalysts are one of the methods that used to reduce the prochiral ketones biocatalytically to obtain enantiomerically rich chiral secondary alcohols, which are mainly affected by the culture parameters of the biocatalyst. In this study, whole cell *Lactobacillus senmaizukei* biocatalyst was used as a safe Lactic Acid Bacteria (LAB) for asymmetric reduction of the model substrate acetophenone, and Response Surface Methodology (RSM) application was used to optimize culture parameters such as temperature, pH, incubation time and agitation rate to achieve the highest conversion and enantiomeric excess. Asymmetric reduction of acetophenone has been significantly affected by the linear and quadratic effects of culture parameters. These findings are important to demonstrate the role of culture parameters for bio-reduction reactions, as well as the effectiveness of the RSM technique to optimize these parameters. As a result of the optimized conditions obtained with RSM, asymmetric reduction of various prochiral ketones was performed.

Keywords: Biocatalyst, chiral alcohol, asymmetric reduction, response surface methodology (RSM), asymmetric synthesis.

İÇİNDEKİLER

ETİK VE BİLDİRİM SAYFASI.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	x
BİRİNCİ BÖLÜM.....	1
Araştırmanın Konusu ve Problemi	1
Araştırmanın Amacı.....	1
Araştırmanın Önemi ve Gerekçesi.....	2
İKİNCİ BÖLÜM	4
Kuramsal Çerçeve	4
Kiralite.....	4
Enantiyomerler ve Optikçe Aktiflik.....	5
Rasemik Yapılar	5
Asimetrik Sentezin Önemi	6
Enantiyomerik Olarak Saf Bileşiklerin Sentez Yöntemleri	8
Stereoseçimli Sentez	8
Rasematların Rezolüsyonu	9
Asimetrik Sentez.....	12
Biyokatalizörlerin Kimyasal Katalizörlere Göre Üstünlükleri	12
Kiral Sekonder Alkollerin Önemi	14
Yanıt Yüzey Yöntemi (Responce Surface Methodology)	16
Kimya, ilaç sanayi ve tıp bilimlerinde.	18
Otomotiv sektörü ve Bilgisayar sektörü alanında.....	18

Gıda Alanında	18
Alan Yazın Derlemesi.....	19
Biyokatalizörler kullanılarak yüksek enantiyosafliğa sahip Alkol eldesi ile ilgili yapılan çalışmalar.....	19
Yanıt Yüzey Yöntemi ile ilgili yapılan çalışmalar	25
ÜÇÜNCÜ BÖLÜM.....	31
Materyal ve Yöntem	31
Genel Asimetrik İndirgenme Prosedürü	31
Deney dizaynı ve istatistiksel analiz	31
DÖRDÜNCÜ BÖLÜM.....	35
Bulgular	35
Kromatografik Ayırmalar.....	35
İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)	35
Kolon Kromatografisi	35
Spektrumlar	35
¹ H-NMR Spektrumları.	35
¹³ C-NMR Spektrumları.	35
HPLC Spektrumu.....	35
Analizler.....	36
BEŞİNCİ BÖLÜM.....	44
Sonuç, Tartışma ve Öneriler.....	44
Sonuç.....	44
Tartışma.....	44
Öneriler.....	52
Kaynakça.....	53
Ekler.....	60
EK 1 HPLC SPEKTRUMLARI	60
EK 2.....	73

NMR SPEKTRUMLARI	73
Özgeçmiş.....	90



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. <i>Enantiyomerik Olarak Saf Bileşiklerin Eldesi</i>	8
Tablo 2. <i>Mikroorganizmalar ve Dönüşüm Oranları</i>	24
Tablo 3. <i>Bağımsız değişkenlerin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri</i>	32
Tablo 4. <i>Ee ve cr yanıtları için RSM deneysel tasarım modeli istatistikleri ve Anova analizleri</i>	46
Tablo 5. <i>Hesaplanan optimum ee ve dönüşüm değerleri</i>	49
Tablo 6. <i>Asetofenon ve türevlerinin asimetrik indirgenmesi</i>	50



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Lactobacillus senmaizukei biyokatalizörü ile asetofenon türevlerinin asimetric indirgenmesi.	2
Şekil 2. Kiral bileşiklerden allenler, spiro moleküller ve antropi izomerlerin yapıları.	4
Şekil 3. Ayna görüntüleri üst üste çakışmayan nesneler.	4
Şekil 4. Laktik asidin R ve S konfigürasyonları.	5
Şekil 5. . Akiral 2- Bütanon ve Hidrojen moleküllerinden kiral yapıdaki 2-bütanolün eldesi ...	6
Şekil 6. S-(+)-Ketamin ve R-(-)-Ketamin enantiyomerlerinin yapıları.	7
Şekil 7. Talidomide ilacının R ve S enantiyomerleri	7
Şekil 8. İbuprofenin (R) ve (S) enantiyomerlerinin yapısı.	8
Şekil 9. Nikel katalizör varlığında ile (R) ve (S)-2-bütanol'ün elde edilmesi.	9
Şekil 10. Rac-binol ile saf enantiyomer eldesi.	10
Şekil 11. Sekonder kiral alkol yapısında çeşitli ilaç bileşiklere örnekler.	16
Şekil 12. Karbonil grubunun stero seçimli indirgenmesi.	19
Şekil 13. Maya katalizörlüğünde α -haloketonların indirgenmesi.	20
Şekil 14. (R) 4-florofeniletan-1-ol'un biyokatalizör ile elde edilmesi.	21
Şekil 15. ADH enzimi ile ketonların asimetric indirgenmesi.	22
Şekil 16. Penicillum expansum fungusu ile 3,5-bis(trifluorometil)-asetofenon'un indirgenmesi.	22
Şekil 17. Derasemizasyon işlemi ile rasemik 1 fenil etanolün enantiyomerik olarak indirgenmesi.	23
Şekil 18. Bitki hücreleri ile asetofenonun indirgenmesi.	25
Şekil 19. Havuç, patates, turp, üzüm bitkilerinin ADH değerleri (U/L).	25
Şekil 20. Bağımsız değişkenlerin seçicilik ve dönüşüm üzerine etkileri.	49

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ADH : Alkol Dehidrogenaz Enzimi

ee : Enantiyomerik aşırılık

LAB : Laktik Asit Bakterileri

m : Meta

o : Orto

p : Para

RT : Oda sıcaklığı

µl : Mikrolitre

ml : Mililitre

mmol : Milimol

TLC :İnce Tabaka Kromatografisi

µl : Mikrolitre

RSM: Yanıt yüzey metodolojisi

BİRİNCİ BÖLÜM

Giriş

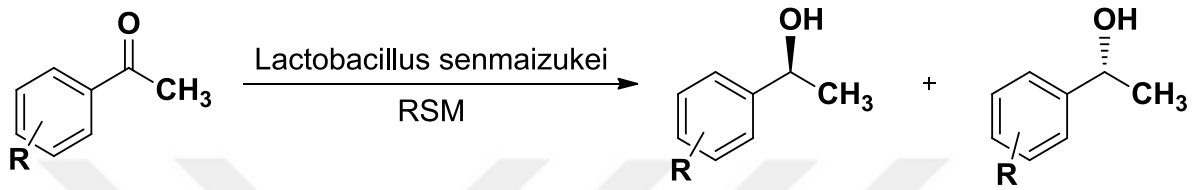
Araştırmanın Konusu ve Problemi

Kiralite, biyolojik makromoleküllerin asimetric özelliklerinden dolayı canlı organizma için vazgeçilmez bir unsurdur. Biyokatalizör ile prokiral ketonların enantiyoseçici indirgenmesi, sentetik organik kimyada çok önemli bir araştırma alanıdır ve biyokatalizörler organik sentez için hayati araçlardan biridir. Birçok ilaç ve biyolojik olarak aktif moleküllerin sentezi, enantiyomerik olarak saf sekonder kiral alkollerden elde edilir. Bu bileşiklerin önemli bir örneği, alkol fonksiyonel grubunun rasemizasyon olmaksızın diğer fonksiyonel gruplara dönüştürme kabiliyetine bağlı olarak kompleks moleküllerin sentezi için önemli başlangıç malzemesi olan 1-fenil etanol ve türevleridir (Şahin, 2017). Farmasötik ürünlerin tek enantiyomerik formdaki küresel satışları her geçen gün artmaktadır. Bundan dolayı bu bileşikler elde etmek için yeni enantiyoseçici yöntemler araştırma çabalarına olan ilgi artmaktadır. Literatürde, karbonil kısmının kiral alkollere asimetric biyoindirgenmesi için tam hücre biyokatalizörü olarak mayalar ve bakterileri kullanan çok sayıda çalışma vardır. Tam hücre uygulamalarında, ortamın pH'sı, sıcaklık, inkübasyon süresi ve çalkalama hızı gibi kültür parametreleri, kiral alkollerin başarılı sentezini sürdürmek için anahtar noktalardır. Bu koşulların optimizasyonu için genellikle her bir parametre bireysel olarak değerlendirilir. Ayrıca kültür parametrelerini optimize etmek için matematiksel model yöntemlerini kullanmak, etkili, düşük zaman alan ve daha ucuz bir yaklaşım olarak reaksiyon koşullarını test etmek için tercih edilen yöntemdir. Bu yaklaşımın başarılı örnekleri biyoindirgenme reaksiyonları için de mevcuttur. Bu nedenle, bu tez kapsamında *Lactobacillus senmaizukei* biyokatalizörü ile model substrat asetofenon kullanılarak kültür parametreleri Response Surface Methodology (RSM) ile optimize edildi ve bu optimize şartlar altında asetofenon türevlerinin asimetric indirgenmesi gerçekleştirildi.

Araştırmanın Amacı

Biyokatalitik indirgenmelerde, en iyi mikrobiyal suşun seçilmesinin, indirgenme ve güvenlik açısından da çok önemli bir adım olduğu ve laktik asit bakterilerinin (LAB) güvenli

olmaları nedeniyle tüm hücre uygulamaları için önemli mikrobiyal gruplardan biri olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada LAB bakterisi olan *Lactobacillus senmaizukei* ilk kez asetofenonun biyoindirgenmesi için tam hücre biyokatalizörü olarak kullanılmış olup pH, sıcaklık, inkübasyon süresi ve karıştırma hızı (bağımsız değişkenler) gibi kültür parametrelerini optimize etmek için RSM yaklaşımı uygulanmıştır ve en yüksek enantiyomerik fazlalık (ee) ve dönüşüm oranı değerlerini elde etmek için optimum koşullar belirlenmiştir. Optimize şartlar altında çeşitli prokiral aromatik ketonların asimetrik indirgenmesi ile farmakolojik ürünlerin eldesinde önemli rol oynayan enantiyosaf kiral sekonder alkollerin üretimi amaçlanmıştır.



Şekil 1. *Lactobacillus senmaizukei* biyokatalizörü ile asetofenon türevlerinin asimetrik indirgenmesi.

Araştırmanın Önemi ve Gerekçesi

Asimetrik biyoindirgeme, yeşil kimya açısından oldukça önemlidir. Biyokatalizörler, bu reaksiyonların önemli bileşenleridir ve prokiral ketonlardan ucuz ve çevre dostu bir şekilde enantiosaf alkollerin üretimi için özel ilgi çekmiştir. Biyokatalizörlerin önemli bir örneği, prokiral ketonlardan enantiyosaf sekonder alkollerin üretimi için etkili olduğu gösterilen ketoreduktazlardır. Bu kiral ikincil alkoller, kimyasal katalizörler kullanılarak sentezlenebilir. Ancak bu stratejinin toksik metaller kullanımı, zayıf enantioselektiflik seviyesi ve düşük dönüşüm, istenmeyen ürünlerin oluşumu ve pahalı olmaları gibi büyük dezavantajları vardır. Önemli bir alternatif metod olarak, kiral sekonder alkollerin elde edilmesinde biyokatalizör kullanılması, etkili reaksiyon koşulları nedeniyle artan bir ilgi kazanmıştır. Endüstriyel ölçekte, biyokatalitik işlemler, rasematın kinetik rezolüsyonu veya prokiral ketonların asimetrik indirgenmesi kullanılarak gerçekleştirilir. Rasemetlerin kinetik rezolüsyonunda %50 istenmeyen ürün meydana gelir ve reaksiyonun teorik verimi %50'yi geçemez. Bundan dolayı bu yöntem tercih edilen bir yöntem değildir. Buna karşın asimetrik indirgenmede her zaman yüksek saflık, dönüşüm ve verim elde edilebilir. Biyokatalitik indirgenmede biyokatalizörler tam hücre veya saf enzim olarak kullanılabilirler. Her iki uygulamanın da birbirine göre avantajları vardır, ancak tam hücre uygulaması, onları gerektiren saflaştırılmış enzimlerin aksine, stoplazmada mevcut olduklarından kofaktörlere ihtiyaç duyulmadığından ucuz ve etkili uygulama süreci nedeniyle daha çok tercih edilmektedir. Asimetrik biyoindirgeme, ucuz

substratlar kullanarak ucuz ve ılıman reaksiyon koşullar altında biyoindirgenme yoluyla yeni bileşikler üretmek için biyoteknolojik yaklaşımlar için iyi bir örnektir. Bu bağlamda biyokatalitik reaksiyonlarda kullanılabilecek katalizörler geliştirmek oldukça önemlidir. Bu biyokatalizör ile enantiyomerik saflıkta ilaç öncüsü maddelerin üretimi de önemlidir. Bu çalışmada *Lactobacillus senmaizukei* bakterisinin biyoindirgeme kapasitesi test edilerek, literatüre asimetrik indirgenmelerde kullanılabilecek yeni bir biyokatalizör kazandırmak hedeflenmiştir.



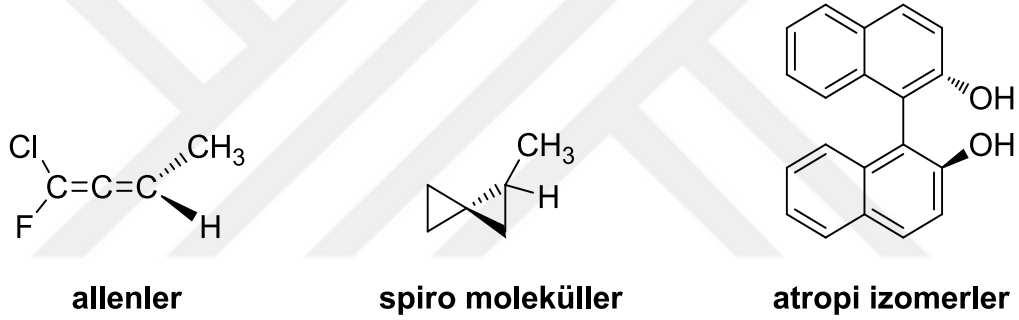
İKİNCİ BÖLÜM

Kuramsal Çerçeve ve Alan Yazın Derleme

Kuramsal Çerçeve

Kiralite.

Bir birleşimin içerisinde bulunan, sp^3 hibritleşmesi yapan C atomuna ya da azot (N), fosfor (P), kükürt (S), silisyum (Si) gibi tetrahedral yapıda olan atomlara bağlı dört grubun her biri birbirinden farklı olan bileşiklere kiral adı verilir. Bazı organik moleküller kiral merkeze sahip olmamalarına rağmen bir kiral eksene veya kiral düzleme göre asimetriklerdir. Bu bağlamda spiro moleküller, atropi izomerler ve allenler de kiral bileşikler sınıflandırılır.



Şekil 2. Kiral bileşiklerden allenler, spiro moleküller ve antropi izomerlerin yapıları.

Yunanca *cheir* kelimesinden gelen kiral terimi, enantiyomerleri tanımlamak için kullanılır. *Cheir* el manasına gelmektedir ve kiralitenin el manasına gelen bir sözcükle ifade edilmesinin sebebi bu moleküllerin sağ elin sol elle olan ilişkisi ile benzetilmesinden ileri gelmektedir. Sol ele aynada bakıldığında sol elin aynadaki görüntüsü sağ eldir. Fakat sol el, sağ elin aynısı değildir ve bu fark da onların çakışır durumda olmadıklarının kanıtıdır (Şekil 3).

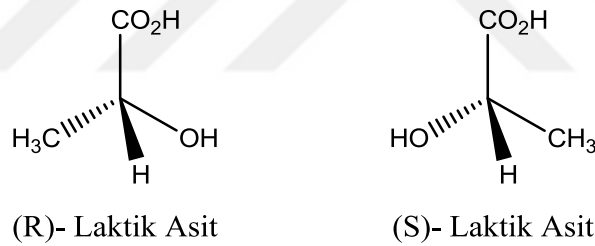


Şekil 3. Ayna görüntüleri üst üste çakışmayan nesneler (Solomons, & Fryhle, 2002).

Enantiyomerler ve optikçe aktiflik.

Kendisi ve ayna görüntüsü birbiriyle üst üste çakışmayan iki konfigürasyon izomer enantiyomerler olarak adlandırılır ve birbirleri ile enantiyomerik oldukları söylenir. Enantiyomerler “R-S sistemi” ya da diğer adı ile “Cahn-Ingold-Prelog sistemi” ile adlandırılırlar. Burada (S) Latince Sinister (sol), (R) Latince Rectus (sağ) sözcüğünün baş harfidir. Kiral bir karbon atomu ya (R) ya da (S) konfigürasyonuna sahip olabilir (Şekil 3). Rasemik karışımlar ise (RS) şeklinde belirtilir.

Optikçe aktiflik, enantiyomerlerin adlandırılmasının temelini oluşturur. Örnek olarak; düzlem polarize ışığın düzlemini saat yönünde çeviren (S) formu ($[\alpha]_D^{20} = +14.6^\circ$ c = 1.5 M HCl) (+)-alanin olarak adlandırılırken, (R) formu aynı şartlar altında tam zıt eşdeğerde çevirir ($[\alpha]_D^{20} = -14.6^\circ$ c = 1.5 M HCl) ve (-)- alanin olarak adlandırılır. Yani polarize ışığı sağa çeviren bileşikler adlandırılırken (+) şeklinde, sola çevirenler ise (-) şeklinde isimlendirilir (Çalışkan, 2015). Enantiyomer moleküllerin birbirleri ile çakışmadıkları temeline dayanarak enantiyomerlerin farklı moleküller olduğu sonucuna varılır. Düzlem polarize ışığı çevirmenin dışında enantiyomerlerin tüm fiziksel ve kimyasal özellikleri aynıdır (Solomons, & Fryhle, 2002).



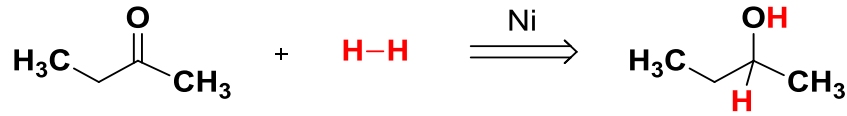
Şekil 4. Laktik asidin R ve S konfigürasyonları.

Rasemik yapılar.

Her bir enantiyomerin mol sayısını eşit olarak bulunduran bir karışım “Rasemik karışım” olarak adlandırılır (Songür, & Mehmedoğlu, 2018). Rasemik karışımlar, katalizör veya herhangi bir çözücünden gelen kiral etkinin olmadığı durumlarda oluşmaktadırlar. Optik izomerleri aynı oranda barındıran, polarize ışığı sağa veya sola çevirmeyen yapılardır. Rasemik karışımlar enantiyomerlerin 50:50 lik bir karışımı olarak elde edilmektedirler.

2- Bütanonun nikel katalizli hidrojenlenmesi ile 2 bütanol’ ün sentezi rasemik karışım eldesine bir örnektir. Gerçekleşen tepkimede hidrojen molekülü çoğu zaman karbon-karbon ikili bağına katıldığı yolla karbon-oksijen ikili bağına katılır. Nikel molekülünün yüzeyinde adsorbe olmuş, tutunmuş halde bulunan hidrojen, 2 bütanolün her iki yüzeyine de eşit olarak

dağılır. Bir yüzde oluşan tepkime bir enantiyomeri, diğer yüzde oluşan tepkime diğer enantiyomeri oluşturur ve her iki tepkimenin hızı aynıdır. Bu yolla 2-bütanol rasemik yapıda elde edilir.



Şekil 5. Akiral 2- Bütanon ve Hidrojen moleküllerinden kiral yapıdaki 2-bütanolün eldesi (Solomons, & Fryhle, 2002).

Asimetrik sentezin önemi.

Asimetrik sentez, kiral olmayan bir molekülden bir katalizör yardımıyla kiral bir molekül elde edilmesi ve bunun sonucunda muhtemel izomerlerin aynı miktarda olmayan oluşumunu sağlayan bir sentez şekli olarak tanımlanabilmektedir. Enantiyo seçimliliğin derecesi genel olarak enantiyomerik aşırılık (e.e) olarak ifade edilmektedir. Enantiyomerlerin oranı yüzde şeklinde belirtilmektedir. Enantiyomerik oran yerine çoğu durumda enantiyomerik aşırılık teriminin kullanılmasının nedeni enantiyomerik aşırılık teriminin doğrudan optikçe saflığı ifade etmesidir. %100 e.e. ye sahip bir madde enantiyomerik olarak saf bir bileşiktir (Ghanem, & Aboul-Enein, 2004).

İlaç endüstrisinde tek enantiyomerin kullanılması gerekliliği, ilaç üretimindeki düzenlemelerin sıkılaştırılması farkındalığını sağlamıştır. Ardından ilaç endüstrisinde yeni gelişmeler kaydedilmiş ve tek enantiyomer sentezi gün geçtikçe önem kazanmıştır (Agustian, Kamuriddin, & Bhaita, 2010). Ancak tek enantiyomer halinde sentezlenen ilaçlara karşı talep artsa bile halen bazı ilaçlar rasemat olarak satılmaktadır (Lund, Jacobsen, & Bøckmann, 2016).

Organik tepkimelerin büyük bir kısmında oluşan ürün genellikle rasemik karışımdır. Saf enantiyomerler, rasemik karışımlar ile kıyaslandığında sentetik açıdan olduğu gibi endüstriyel açıdan da çeşitli üstünlükler sağlamaktadırlar. İlaç olarak kullanılabilen bileşiklerin ve hammaddelerinin büyük bir kısmı saf enantiyomerlerdir.

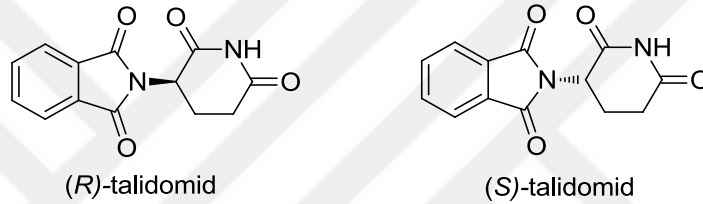
Örneğin; Ketamin, anestezik ve analjezik olarak kullanılan bir ilaçtır. Rasemat şeklinde uygulanmasından ötürü anestezi sonrasında hastalarda halusinasyon ve zihinsel sorunlar gözlenmiştir. Ketaminin enantiyomerleri araştırıldığında S-(+)-ketaminin anestezik olduğu, istenmeyen yan etkilerin büyük çoğunlukla R-(-)-ketamin ile ilişkili olduğu görülmüştür (Kujovic, 2016). Bu farklı istenmeyen etkilerinden dolayı kullanılması önemli ölçüde kısıtlanmıştır (Hutt, & Tan, 1996). Enantiyomerlerin biyolojik olarak özellikleri incelendiğinde (S)-(+)-ketamin'in R-(-)- enantiyomerine karşı etkisi üç kat daha fazla olduğu belirlenmiştir.

Almanya ve diğer birkaç ülkede ketamin'in yalnızca istenilen aktiviteyi sağlayan (S)-(+)-enantiyomerini bulunduran türleri kullanılmaktadır.



Şekil 6. S-(+)-Ketamin ve R-(-)-Ketamin enantiyomerlerinin yapıları.

Tek bir enantiyomer formda sentezlenmenin önemini vurgulayan en önemli örneklerden biri 'Talidomid' isimli ilaçtır. Hamilelikte sabah bulantısı tanısını engellemek maksadıyla 1957 yılında üretilmiştir. Ayrıca Avrupa'da bu ilacın rasemat halinde kullanımı ile 1961 yılında 10.000'i aşkın kusurlu doğum gerçekleşmiştir (Maruotti, Cantatore, & Ribatti, 2001).

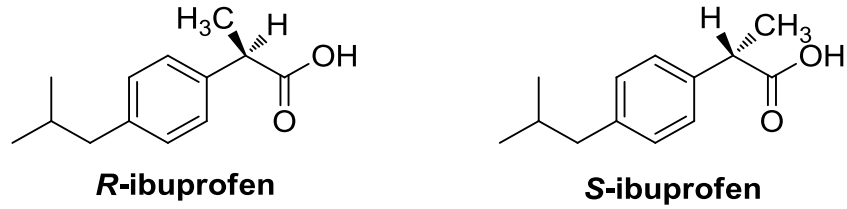


Şekil 7. Talidomide ilacının R ve S enantiyomerleri (Eriksson, Bjoerkman, & Höglund, 2001).

Tarihe Talidomid kullanımı "Talidomid Faciası" olarak geçmiştir. Sonrasında yapılan analizler ışığında rasemik olarak kullanılan bu ilacın (S) enantiyomerinin anne karnındaki bebeklerde kemik gelişimi hastalıklarına sebep olduğu ve bu nedenle bebeklerin kusurlu doğduğu anlaşılmıştır. Yapılan araştırmalar sonucu, 1961 yılının Aralık ayında Talidomide piyasadan kaldırılmıştır (Çalışkan, 2015).

İbuprofen.

Bazı ilaçların sadece bir enantiyomerinin istenen aktiviteyi sağladığı bilinmesine rağmen, rasemat halde kullanılması yıllardır devam etmektedir. Örneğin; etkisini iltihap giderici olarak gösteren İbuprofen'in sadece (S) izomeri istenen etkiyi gösterir. (R) izomeri vücutta giderek (S) izomerine dönüşmesine karşın iltihap giderici bir etkiye sahip değildir. Yalnızca (S) izomerlerinden oluşmuş bir ilaç, rasemattan oluşmuş bir ilaca göre çok daha hızlı etki göstermektedir (Şekil 8).

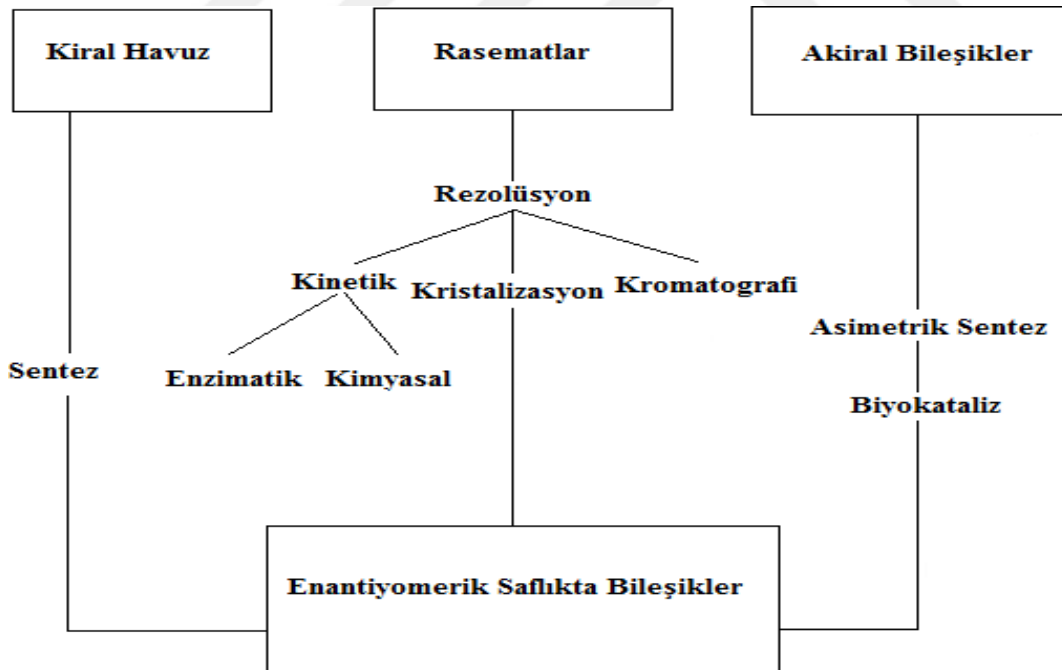


Şekil 8. İbuprofenin (R) ve (S) enantiyomerlerinin yapısı.

Enantiyomerik olarak saf bileşiklerin sentez yöntemleri.

Doğal ürünlerin birçoğu ve klinikte tedavi amaçlı kullanılan ilaçların önemli bir kısmı enantiyomerik olarak saf bir halde bulunmaktadır. Bu durum; yeni kiral bileşiklerin, kiral organo bileşiklerin ve kiral katalizörlerin hızlı şekilde büyümesine yol açtı. Optikçe saf bileşikler elde etmek için temel olarak üç yöntem geliştirilmiştir. Bu bileşikler; ilk olarak kiral bir substrat'dan çıkarak kiral havuz yöntemiyle yeni kiral bileşikler elde edilebilir. İkinci olarak, prokiral substrat'ın kiral çevre oluşturarak gerçekleştirilen tepkimeleri ile kiral bileşik elde edilebilir. Son olarak, rasemik karışımın enzimatik veya kimyasal olarak kinetik rezolüsyonuyla, diastereomerik tuzlarına dönüştürerek, kiral dolgu materyali içeren kromatografi ve kristallendirme ile elde edilebilir (Ghanem, & Aboul-Enein, 2004).

Tablo 1. *Enantiyomerik Olarak Saf Bileşiklerin Eldesi*

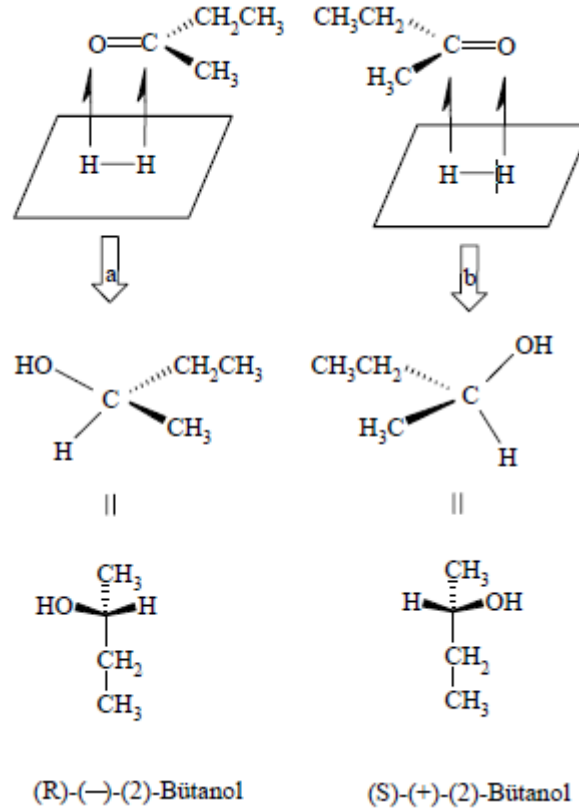


Stereoseçimli Sentez.

Stereoseçimli sentez yapmak için sistemdeki moleküllerden en az biri kiral olmalıdır. Kiral havuz yöntemi ile enantiyosaf başlangıç substratından yola çıkarak hedef ürün

enantiyosaf bir şekilde elde edilir. Kimyasal kiral yardımcılar, kiral reaktifler ve kiral katalizörler ile kiral çevre oluşturarak prokiral bileşiklerden stereoseçimli reaksiyonlar gerçekleştirilir. Biyoteknolojik yöntemler stereoseçimli reaksiyonları gerçekleştirilebilmek için en önemli yöntemlerden biridir (Babaarslan, 2008).

Bir enantiyomerin onun ayna görüntüsünden daha fazla enantiyomer oluşumuna sebep olması durumda meydana gelirler. Çoğu tepkimenin enantiyoseçimli olduğu doğada kiral etki protein yapıdaki enzimlerden ileri gelmektedir. Enzimler, tepkimeleri hızlı gerçekleştirmelerinin yanı sıra tepkimeye kiral bir etki de kazandırmaktadırlar. Enzimler içerdikleri aktif bölge ve kiral olma özellikleri ile bunu yaparlar. Katalizör olarak Nikel kullanıldığında 2- bütanonun hidrojenle tepkimesi (a), yoluyla olan tepkimenin hızı ile (b) yolunda ilerleyen tepkimenin hızı eşittir. İki ürün de eşit miktarda rasemik karışım oluşturmaktadırlar (Solomons, & Fryhle, 2002).



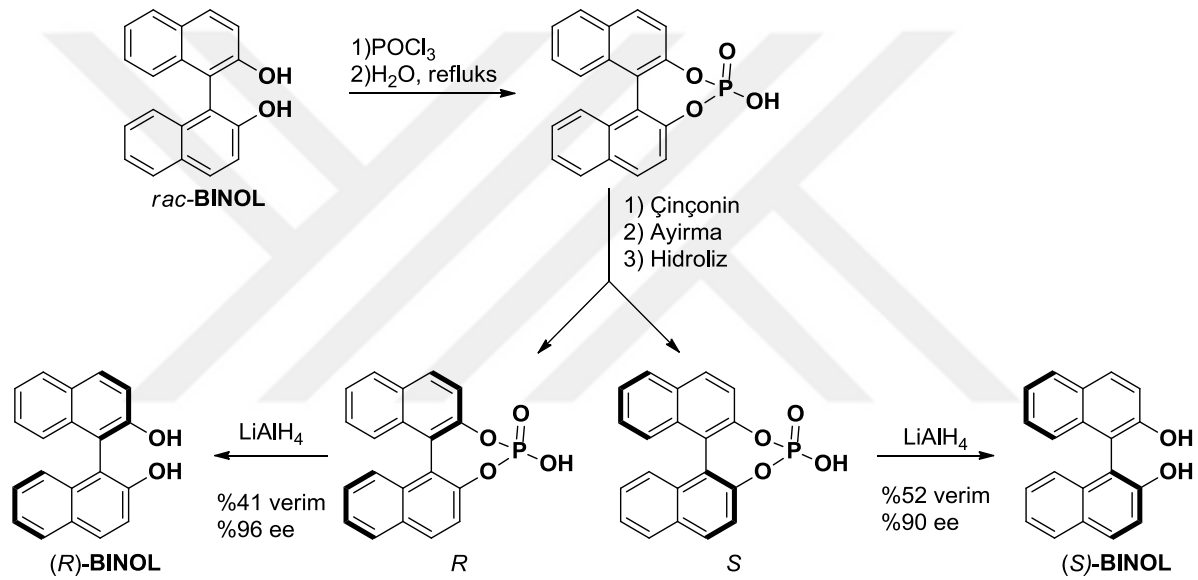
Şekil 9. Nikel katalizör varlığında ile (R) ve (S)-2-bütanol'ün elde edilmesi.

Rasematların rezolüsyonu.

Rezolüsyon, enantiyomerlerin birbirlerinden ayrılma işlemidir. Etkin olan enantiyomerin elde edilebilmesi için kullanılan rasemik rezolüsyon yöntemleri diastomerik

tuzların kristalizasyonu, kinetik rezolüsyon, kromatografi ve tercihli kristalizasyon olmak üzere dört genel başlık altında toplanabilmektedir.

Rasemik Rezolüsyona örnek olarak Şekil 9’da görüldüğü gibi rasemik Binol molekülü önce POCl_3 ile fosforik aside ve daha sonra kiral bazik özellik gösteren çinçonin ile diastomerik tuza dönüştürülmüştür (Karaca, 2018). Devamında oluşan diastomerik tuz uygun bir çözeltide çözündürülmüş ve enantiyomerlerin biri çözeltide kalırken diğeri kristallenmiştir. Kristallendirme yolu ile birbirlerinden ayrılan enantiyomerler hidroliz edilip fosforik asit yeniden elde edilmiş ve fosforik asit LiAlH_4 ile muamele edildikten sonra saf enantiyomerler elde edilmiştir.



Şekil 10. Rac-binol ile saf enantiyomer eldesi.

Tercihli kristalizasyon.

Sadece konglomerat olarak kristallenen enantiyomer karışımlarına uygulanabilen etkili ve ucuz bir yöntemdir. Ancak konglomerat şeklinde bulunan rasematlar tüm rasematlara göre oldukça az bir bölümü oluştururlar. Konglomeratlar her iki enantiyomeri de eşit içerir ve bu enantiyomerlerin mekanik karışımlarından meydana gelirler. Kiral bileşiklerin az bir kısmı konglomerat özellik gösterir. Rasemik karışımların bu şekilde tercihli kristallendirme ile enantiyomerlerine ayrılmasındaki zorluklardan dolayı bu yöntemin kullanılabilirliği sınırlıdır.

Diastereomer kristalizasyon.

Rasemik karışım uygun optikçe saf bir bileşikle kimyasal tepkimesi sonucu diastereomerlerine dönüştürülür S konfigürasyonuna sahip optikçe saf bir bileşik kullanılmışsa S,S ve R,S konfigürasyonuna sahip iki diastereomerik tuz içeren bir karışım elde edilir. Diastereomerik tuzlar birbirlerinden farklı özelliklere sahip olduğundan kolon kromatografisiyle veya çözünürlük farklarından yararlanarak kristallendirmeye birbirinden ayrılır. Örneğin, rasemik amin bileşiği enantiyomerik saf tartarik asit ile tepkimeye girdiğinde diastereomerik tuzları oluşur ve uygun çözücü sisteminde kristallendirmeye iki diastereomer tuzu birbirinden ayrılır. Daha sonra hidroliz edilerek enantiyomerler optikçe saf bir şekilde elde edilir (Çalışkan, 2015).

Kinetik rezolüsyon.

Optikçe saf organik bileşikleri hazırlamak için kullanılan önemli yöntemlerden biridir. Rasemik karışım enzimatik ve kimyasal metotlarla kinetik ayrımıdır. Her bir enantiyomerin kullanılan kiral katalizör veya kiral reaktif ile farklı hızlarda etkileşmesi gerekir. Bu bilgiye dayanarak enantiyomerik aşırılığın yüksek olması için reaksiyon dönüşümü %50'de kesilir ve bu durum yöntemin ilgi çekiciliğini azaltmaktadır (Çalışkan, 2015).

Kiral girdi olarak, kemokatalizörler (kiral asit veya baz, kiral metal kompleksi) ya da biyokatalizörler (enzim ya da mikroorganizma) kullanılabilir. Rasematların kinetik rezolüsyonunda en çok tercih edilen yöntem lipazların katalizlediği dönüşüm tepkimeleridir. İki enantiyomerin birbirinden ayrılması amacıyla lipaz enzimi kullanılmakta ve bu yolla bir enantiyomerin diğerine göre daha hızlı ürüne dönüşebilme özelliğine göre ayırım sağlanabilmektedir (Ghanem, & Aboul-Enein, 2004).

Sıklıkla uygulanan bir yöntem olmasına karşın pratikte ve endüstride bazı dezavantajları vardır (Malyemez, Bayraktar, & Mehmedoğlu, 2017).

Bu dezavantajlar;

- Enantiyomerlerin teorik verimi %50'yi geçememektedir.
- Kalan substratın üründen ayrılması zor olabilmektedir. Substrat, ekstraksiyon ve destilasyonla ayrılamamakta, kromatografik yöntemler ile ayırım sağlanabilmektedir.
- %50 dönüşüm sağlandığında tepkimenin sonlandırılması gerekmektedir.

Kromatografi.

Kolon kromatografisi ile uygulanan bu yöntemde rasemik bileşiğe ait çözeltinin enantiyomerlerinin tutunma kuvvetlerine bağlı olarak ayırım sağlanabilmektedir. Kolon dolgu maddesi olarak optikçe aktif ve glikoz, sakkaroz, laktoz gibi katı maddeler seçilmektedir. Eğer kolon yeterli uzunluktaysa toplanan çözeltide enantiyomerlerin yalnızca biri saf halde bulunur. Diğer enantiyomer ise kolona tutunmuştur ve istenildiğinde başka bir çözücü yardımıyla kolondan alınabilmektedir (Blaschke, 1980).

Asimetrik sentez.

Organik kimyacılar kiral bir bileşiği sentezlerken stereoizomerlerin karışımlarının yerine tek bir enantiyomer veya diastomer olarak sentezlemek isterler. Optikçe aktif moleküller başlangıç maddeleri kiral olmadığında ya da kiral çevre olmayan ortamlarda sentezlenemezler. Ya kiral merkezi etkilemeyen ama stereomerkeze sahip bir molekülden başlayarak bir reaksiyonla ya da kiral katalizör, kiral reaktif veya kiral bir çözücü ilave edilerek kiral moleküller oluşturulurlar. Bu yöntem asimetrik sentez ya da stereoseçici sentez olarak adlandırılır.

Biyokatalizörlerin kimyasal katalizörlere göre üstünlükleri.

Enzimler, biyolojik sistemlerde gerçekleşen reaksiyonların canlılığa herhangi bir olumsuz etki oluşturmayacak şekilde ılımlı ve spesifik şartlarda gerçekleşmesine olanak sağlayan ve katalitik RNA moleküllerinin (ribozimler) küçük bir grubu haricinde protein yapıda olan biyolojik katalizörlerdir. Katalitik etkinlikleri sentetik veya inorganik katalizörlere kıyaslandığında çok daha fazladır ve bu etkinlik metabolizmanın durumuna göre düzenlenebilmektedir (Acar, 2013).

“Yeşil kimya” olarak isimlendirilen biyokatalizörlerin çeşitli endüstriyel alanlarda kullanılmasının avantajları yakın zamanlarda fark edilmiştir. Bitkisel, hayvansal ve bakteriyel kaynaklardan izole edilen enzimlerin kullanımı kimyasal katalizörlere göre çeşitli avantajlar sağlamaktadır. Kiral merkezli moleküllerin eldesi kimyasal yöntemlerle gerçekleştirildiğinde sonuçta rasemik karışımlar meydana gelir.

Enzimler ise rasemik karışımlar yerine enantiyomerik olarak saf ürün eldesine olanak sağlamaktadırlar. Bu da kiral bileşiklerin üretiminde biyokatalizörlerin kullanımının uygunluğunu desteklemektedir. Ayrıca enzimlerin biyobozunur olmaları, reaksiyonlarda bölgesel-seçici, kimyasal-seçici, stereo-seçici davranışları, düşük sıcaklık, pH ve basınçta aktif olabilmeleri ve çevre dostu olmaları biyokatalizör kullanımının avantajları arasında

sayılabilmektedir. Kimyasal katalizörlere karşı sağladıkları avantajlar sebebiyle biyokatalizörlere gıda, kimya, tıp ve tarım endüstrisinde ilgi gün geçtikçe artmaktadır (Binay, 2012).

Enantiyomerik olarak saf bileşiklerin elde edilmesi için bir yöntem olarak enzimler ve mikroorganizmalar tarafından katalize edilen reaksiyonların literatürdeki araştırma sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Böylece biyokatalizörlerin organik kimyadaki yararlılığı belgelenmiştir ve son on yılda böyle biyokatalitik tepkimeler büyük ölçüde artmıştır (Duran, Conti, & Rodrigues, 2000).

Biyotransformasyon, belirli bir bileşiğin yapısal benzerliğe sahip ayrı bir ürüne spesifik modifikasyonu olarak, mantarlar gibi mikroorganizmalar dahil olmak üzere biyolojik katalizörlerin kullanımıyla açıklanabilmektedir. Biyotransformasyon ve biyo-dönüşüm arasında sadece küçük bir fark vardır. Bir biyo-dönüştürme, canlı organizmaların katalitik aktivitesini kullanır ve dolayısıyla çeşitli kimyasal reaksiyon aşamalarını içerebilir. Canlı bir mikroorganizma sürekli olarak enzim üretir ve böylece biyo-dönüşümler sıklıkla kullanılan substratlar için oldukça kararsız olan enzimleri içerir. Biyotransformasyonların ve biyokonversiyonların özellikleri çok benzerdir ve çoğu durumda terimler değiştirilebilir olarak belirtilir (Hegazy vd., 2015).

Çok sayıda farklı maddenin özellikle optikçe aktif ana farmasötik bileşenler olmak üzere arzu edilen ürünlere biyo-dönüştürülmesinde seçici biyotransformasyon potansiyelinden yararlanmak için gereken birçok mikroorganizma türü ve enzim vardır. Biyotransformasyonun yeşil kimya stratejisine uygun olduğu da bilinmektedir. Yeşil kimya, minimum atık üretimi ve enerji tüketimine ulaşmak için sürdürülebilir kimyasal endüstriyel üretim süreçleri için kullanılan bir terimdir (Tang, Zhao, & Tang, A, 2005).

Mikrobiyal dönüşüm çalışmaları ile birçok açıdan üstünlük sağlanılabildiği bilinmektedir. Mikrobiyal transformasyonda gerekli olan işlem büyük olasılıkla nötr pH, çevre sıcaklıkları ve atmosferik basınçlarda çalışma yeteneğidir. Tersine, kimya genellikle çevre dostu olmayan ve endüstriyel olarak istenmeyen bu koşulların aşırılıklarını gerektirir. Ayrıca, aşırı pH, sıcaklık ve basınç, sert prosedürleri uygulayan personele yönelik zararlı etkilere sebep olabilir ve ayrıca bölgeleri çevreleyen toplumu da etkileyebilir. Daha önemlisi, biyokatalizörler, yüksek tepkimeye özgü enantiyomer-spesifik ve regio-spesifiktir (Collins, & Kennedy, 1999).

Çok yönlü mikroorganizmalar düşük maliyetle son derece spesifik dönüşümler sağlamaktadır (Rozenbaum, Patitucci, Antunes, & Pereira, 2006). Aynı zamanda biyokatalizörler ilgili tepkimelerin çok daha hızlı gerçekleşmesine neden olmaktadır. Bitki

hayvan veya mikroorganizmalardan elde edilen enzimler tekrar tekrar elde edilebildikleri gibi kullanıldıktan sonra doğada kolayca ayrışabilmektedirler (Nakamura, Yamanaka, Matsuda, & Hamada, 2003).

Mikroorganizmalar, kısa sürede çok çeşitli enzimler üretebilmektedirler. Düşük yahut yüksek sıcaklıklar ve / veya asidik veya alkali koşullar gibi aşırı ortamlarda yaşayabilen mikroorganizmaların elde edilmesi ve yetiştirilmesi mümkündür. Mikrobiyal transformasyon, geleneksel sentetik prosedürlerle gerçekleştirilemeyecek olası reaksiyonlar yapabilir (Hegazy vd., 2015).

Bunun yanı sıra, biyoindirgenmede kullanılan substrat toksik ise, meydana gelmesi için herhangi bir biyotransformasyonu engelleyen mikroorganizmayı öldürebilir. Diğer taraftan, eğer mikroorganizma substratı bir enerji kaynağı olarak kullanıyorsa, istenen ürünün hiç biri geri kazanılmaz (Leresche, & Meyer, 2006).

Saccharomyces cerevisiae ve diğer bazı maya türleri biyoteknoloji açısından oldukça önem taşımaktadırlar. *S. cerevisiae* ve yakından ilişkili *ascomycetous* mayaları, dünya çapında biyoteknoloji ürünlerinin ana üreticisi olup, diğer endüstriyel mikroorganizma gruplarını üretkenlik ve ekonomik gelirlerinde aşmaktadırlar.

S. cerevisiae grubunun geleneksel endüstriyel özellikleri arasında bira, elma şarabı, şaraplar, sake, damıtılmış alkollü içecekler, unlu mamuller, peynir, sosis ve diğer fermente gıdalar gibi gıda fermentasyonlarında kullanımı yer almaktadır. *Saccharomyces* olmayan mayalar, proteinlerin, biyokatalizörlerin ve ince enzimlerin sentezlenmesi için enzim yollarının ve küçük moleküler ağırlıklı tıbbi ve besinsel önem taşıyan bileşiklerin ifadesi için gittikçe artan bir şekilde kullanılmaktadırlar. *Saccharomyces* olmayan mayalar da tarımda biyo-kontrol, biyoremediasyon ve çevre kalitesinin göstergeleri olarak önemli rol oynarlar (Johnson, 2013).

Kimyasal katalizörlerin biyokatalizörlere göre dezavantajları toksik metal kullanımı, düşük dönüşüm oranı, düşük seçicilik, ağır reaksiyon koşulları, yan ürünlerin fazla olması ve pahalı olmalarıdır (Hage vd., 2001).

Kiral sekonder alkollerin önemi.

Kiral maddeler (*R*) ve (*S*) olmak üzere iki enantiyomere sahiptir. Fiziksel ve kimyasal özellikleri aynı, düzlem polarize ışığı çevirme açıları ve biyolojik özellikleri farklı olan enantiyomerlerden yalnız bir tanesi istenen aktiviteyi sağlar ve farmakolojik açıdan ilgi görmektedir (Williams vd., 1998).

Kiral sekonder alkoller; eczacılık ürünleri, parfümler, herbisitler gibi birçok alanda yaygın bir uygulama alanı bulmuşlardır. Çünkü kiral sekonder alkoller biyolojik aktivitesi olan birçok yapıya sahiptirler. Bu nedenle, bu bileşiklerin enantiyoseçici sentezine izin veren reaksiyonlar, organik kimyada önemli araştırma konularından biri olmuştur (Serra, Murtinho, & Paz, 2017).

Asetofenon ve asetofenon türevlerinin biyokatalitik indirgenmesi ile elde edilen kiral alkoller, ilaç sanayi için değerli girdi maddeleridir. Örnek olarak, 2-brom-4-flor fenil alkolden anti alzheimer tedavisi için kullanılan ilaçlarda girdi olarak yararlanılmaktadır (Daviglius vd., 2010).

Optikçe aktif ürünlere ilginin başlıca nedeni enantiyomerlerin farklı biyolojik aktiviteler göstermesidir (Ong vd., 2006).

Son yıllarda yapılan bir tespite göre dünyada pazarlanan reçeteli ve kayıtlı ilaçların sayısı yaklaşık 2000 civarındadır. Bunların yaklaşık üçte biri ya doğal üründür ya da doğal ürünlerin kimyasal modifikasyonu şeklinde elde edilmişlerdir. Doğal ürünlerden elde edilen ilaçların çoğu kiral olup çoğu zaman rasem karışım şeklinde değil, tek enantiyomer olarak elde edilirler. Son zamanlara kadar böyle maddeler, birkaç istisna dışında uygun terapi aktivitesinin enantiyomerlerin yalnız birinde mevcut olmasına rağmen, rasem karışımlar halinde elde edilir, uygulanır ve kullanılırdı. Bu yöntem, güvenlik ve yararlılıktan, sentetik metodoloji ve ekonomiye kadar birtakım faktörlerin etkisi ile kiral sentetik ilaçların enantiyomerik olarak saf halde daha fazla elde edilmesi şeklinde hızlı bir değişikliğe uğramıştır (Chua, & Sarmidi, 2004).

Dünyada sıklıkla rastlanan kalp damar hastalıklarının tedavisinde kullanılan çoğu ilaç kiraldır. Hipertansiyon, iskemik kalp hastalıkları, kalp ritim bozuklukları; kalp yetmezliği, akut koroner sendrom hastalıklarının tedavisinde bununla birlikte migren ağrıları, glokom böbreküstü bezi vasküler tümörü, tiroid bezinin fazla faaliyetinden doğan sorunlar ile sempatik sinir sistemi ile ilgili diğer hastalıkların tedavisinde kiral ilaçlar kullanılmaktadır (Collins, & Kennedy, 1999).

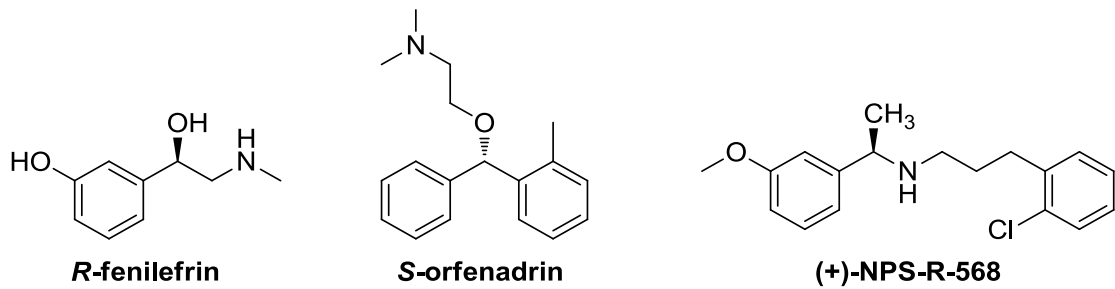
Japonya'da kiral ilaç gelişiminin mevcut durumu araştırılmış ve ilaç üretimindeki eğilimin giderek rasematlardan ziyade tekli izomerlerin gelişimine doğru ilerlediği anlaşılmıştır. Tek enantiyomer ilaçların geliştirilmesi, mevcut asimetrik sentez teknolojileri ve kiral ayırma ile mümkün hale getirilmiş ve tüm dünyada kiral ilaçların geliştirilmesi ilgili rehberler tarafından teşvik edilmiştir. Japonya, kiral ilaçların geliştirilmesi konusunda spesifik kılavuzlar yayınlamamıştır. Ancak Japonya'da kiral ilaç gelişimi yaklaşımları, ABD ve AB yönergelerinin önerdiği yaklaşımlarla büyük ölçüde uyumlu bulunmuştur (Stinson, 1998).

Genellikle enantiyomerlerden sadece biri biyolojik olarak aktiftir veya farmakolojik yönden istenen özelliği sağlar. Etkisi istenmeyen enantiyomer safsızlık olarak adlandırılır. Safsızlık, yan etki ve toksik etkiye sebep olabilir, ya da diğer enantiyomerin etkisini azaltacak şekilde etki gösterebilir.

İlacın etken kısmından istenmeyen enantiyomerin %0,1 oranına düşürülmesi istenir. Bu sebeple enantiyomerlerin ayrılması ilaç sanayisi için oldukça önem arz etmektedir. Rasemik karışımlardaki izomerlerin sadece birinin aktif olması optikçe aktif bileşiklerin biyokimya, ilaç endustrisi gıda ve parfüm endüstrisinde kullanımı açısından önem taşımaktadır. Üreticilerin büyük bir kısmı iki enantiyomeri de bulunduran rasemik karışımları değil, optikçe aktifliğe sahip tek enantiyomeri tercih etmektedirler. Bu bağlamda herhangi toksik etki oluşturmayacak aktif bileşeni yani tek enantiyomeri sentezlemek hastada oluşabilecek yan etkileri önlemek açısından oldukça önemlidir.

Örnek olarak, farmasötik açıdan önem taşıyan, özellikle kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan β -blokerlar, kiral maddelerdir. β -blokerların enantiyomerleri çoğunlukla farklı farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklere sahiptir. Bu nedenle β -bloker enantiyomerlerinin ayrı ayrı kullanılması önem kazanmıştır.

Optikçe saf sekonder alkollerden elde edilen farmakolojik olarak aktif bileşiklere örnek olarak (*R*)-fenilefrin, (*S*)-orfenadrin ve (+)-NPS-R-568 verilebilmektedir. Bu bileşiklerin yapıları Şekil 11'de gösterilmiştir (Şahin, 2017).



Şekil 11. Sekonder kiral alkol yapısında çeşitli ilaç bileşiklere örnekler.

Yanıt yüzey yöntemi (Response surface methodology).

Geleneksel optimizasyon metodlarının prensibi sadece bir parametrenin zamana bağlı olarak değişmesi, diğer parametrelerin sabit kalması esasına dayanmaktadır. Ancak bu durum maliyet ve zaman gibi konularda araştırmacıya önemli dezavantajlar sağlamaktadır. Bunun yanı sıra bu metodla kullanılan parametreler arasındaki ilişkilerin anlaşılması, prosesin tam manasıyla kavranabilmesi için verilerin elde edilmesi oldukça zordur (Eren, 2004).

Yanıt yüzey yöntemi, sistemlerin optimize edilmesinde yararlanılan bir grup istatistiksel ve matematiksel tekniklerden meydana gelmektedir. Bu teknik yardımıyla bağımsız değişkenlerin tek ya da etkileşim halinde, proses üzerindeki etkilerini açıklayabilmek mümkündür (Box, & Draper, 1987).

Myers, Khuri ve Carter'a (1989) göre Yanıt yüzey metodolojisi (RSM) 1950li yıllarda kimya endüstrisindeki uygulamalarda optimum çalışma koşullarını belirlemek amacıyla geliştirilen bir araç koleksiyonudur.

Optimizasyon, prosesin istenilen hedefler (yanıtlar) ışığında, bağımsız değişkenlerin birbirleri ile etkileşimleri ve bu bağımsız değişkenlerin hedefe (yanıta) olan etkilerinin incelenilerek bu etkilerin karşılaştırılması ve uygulanması olayıdır. Optimizasyon uygulaması, genellikle hedef fonksiyonu önceden tanımlanmış kar veya ürünün kalitesi gibi kriterleri-maksimum veya minimum düzeyde elde edebilmek için karar (bağımsız) değişkenler olarak belirlenen koşulların düzenlenmesini içermektedir (Banga, Balsa-Canto, Moles & Alonso, 2003).

Mühendislik alanında çeşitli birçok olay için diferansiyel yapıda eşitlikler düzenlenmesine rağmen diğer alanlarda olduğu gibi Tarımsal Mekanizasyon alanında da yaşanan sorunlar çok karmaşık düzeyde olmakta ve yapılan çalışma değişkenlerden veya bu değişkenler arasındaki etkileşimlerden çabucak etkilenebilmektedir. Bu sebepten bu alandaki sorunlara yaklaşım, deneysel kaynakların toplanması ve toplanan bu kaynaklardan deneysel modellerinin geliştirilmesi şeklindedir. Deneysel çalışmalarda değişkenler tüm faktöriyelleri ile ele alınmaktadır. Bu geniş tarama ise zaman emek ve ekonomik güç gerektirmektedir. Fakat Yanıt Yüzeyleri Metodolojisi (Response Surface Methodology) ile zaman, emek ve ekonomik kaybı minimuma düşürmek, değişkenlerin en iyi çalışma düzeylerini belirleyip optimize edebilmek ve karşılaşılan problemlere karşı matematiksel bir formülasyon geliştirmek mümkündür (Değirmencioğlu, & Yazgı, 2006).

Yanıt yüzey metodolojisi, bilinmeyen işlevi tanımlayan bir işlemin parametrelerini optimize etmek için kullanılır. Prosedür, verilen verilere bir fonksiyonun yerleştirilmesini ve en uygun parametreleri elde etmek için optimizasyon tekniklerinin kullanılmasını içerir.

Anjum ve arkadaşları tarafından, koşulları bilinmeyen bir modele sahip olan bir süreç için en iyi parametreleri elde etmek amacıyla iki aşamalı bir prosedür geliştirilmiştir. Prosedür, sinir ağları yoluyla yanıt yüzey metodolojisinin uygulanmasına dayanmaktadır. İki sinir ağları eğitilmiştir: biri bilinmeyen işlev için, diğeri ise ilk sinir ağı kullanılarak hesaplanan bu fonksiyonun türevleri içindir. Bu sinir ağları daha sonra, fonksiyonu optimize etmek için en

sonunda kullanılan bir denklemin parametrelerini hesaplamak için kullanılmıştır. (Anjum , Tasadduq & Al-Sultan, 1997). Yanıt yüzey yöntemi 1990'lı yıllardan sonra değişik alanlarda kullanılmıştır.

Kimya, ilaç sanayi ve tıp bilimlerinde.

Birden fazla ilacın aynı anda uygulanması durumunda, araştırmacılar genellikle ilaç kombinasyonlarının sinerjik katılık veya antagonistik olup olmadığını değerlendirmekle ilgilenirler. Bununla birlikte, sabit nispi potansiyel varsayımı çok kısıtlayıcıdır ve ilaç etkileşimlerini anlamak için tek bir parametre kullanan bu modeller, sinerji, katılık ve antagonizmanın, ilaç kombinasyonlarının farklı bölgelerinde serpiştirildiği zaman oluşan etkiyi açıklamak için yetersiz kalmaktadır. Eklemeden ayrılmayı tanımlamak ve ölçmek için tek bir parametre yerine dozların bir fonksiyonu ile genelleştirilmiş bir cevap yüzeyi modeli önerilmektedir. Önerilen model, aynı zamanda, çeşitli ilaçlar arasında değişen bağıl güçleri de içerebilir. Çalışmada önerilen modelin farklı ilaç etkileşimi modellerini yakalamada etkili olduğunu göstermek için örnekler ve simülasyonlar belirtilmiştir (Yin, & Carter, 1996).

Otomotiv sektörü ve bilgisayar sektörü alanında.

Otomobillerin performansını sayısal olarak tahmin etmek ve fiziksel prototip oluşturmadan daha yüksek performansa yol açan alternatif fikirler oluşturmak maksadıyla temel alanlara dayalı bir boyutlandırma optimizasyonu yöntemi olarak yanıt yüzeyi yöntemi önerilmiştir. Bu yöntem, yapısal sertlik ve bir yapının ağırlığı gibi herhangi bir objektif işlevle karşılaştırılabilir bir durumdadır. Bu yöntemden sayısal analiz yapılırken yararlanılmaktadır (Roller, & Ane, 2009).

Gıda alanında.

Geleneksel yarı sert keçi peynirinin üretim süreci, proses koşullarını optimize etmek için teknolojik olarak değiştirilmiştir. Starter inokülüm miktarı, tuz konsantrasyonu, bir protein hidrolizat ilavesi ve olgunlaşma süresi peynirin mikrobiyolojik, biyokimyasal ve duyuşal özelliklerini iyileştirmek için çeşitli koşullarda denenmiştir. Laktik asit ve asetik asit konsantrasyonları peynir üretimi boyunca artmıştır. Olgunlaşma sırasında probiyotik suşların yaşayabilirliği, bir probiyotik etki için kabul edilen eşiğin (106 cfu / g) üzerinde olan sayıların üretilmesi için yeterli olmuştur. Yanıt yüzey metodolojisi kullanılarak yapılan istatistiksel analizler, keçi peyniri üretiminin % 0.30 (hacim / hacim) süt hidrolizatı, 3: 107 canlı Blakis ve

7×10^6 canlı *L. acidophilus* hücresi / ml ilavesiyle optimize edilebileceğini göstermiştir (Gomes, & Malcata, 1998).

Yanıt yüzey yöntemleri (RSM), son birkaç yıldır sağladıkları avantajlardan dolayı çeşitli mühendislik dallarında başarılı bir biçimde uygulanmaktadır.

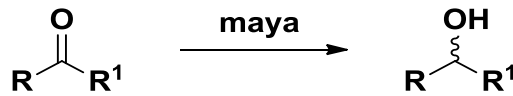
Kolay optimizasyon imkânı, az sayıda deneysel veri ile çok sayıda bilgiye ulaşılması, parametrelerin birbirleri ile interaksiyonlarının belirlenebilmesi, parametreleri eş zamanlı olarak düzenleyebilme imkânı, gereksiz parametrelerin çıkarılabilmesi olarak sıralanabilir (Turan, & Altundoğan, 2011).

Alan Yazın Derlemesi

Biyokatalizörler kullanılarak yüksek enantiyosafliğa sahip alkol eldesi ile ilgili yapılan çalışmalar.

Nakamura ve Matsuda (1998) yaptıkları bir çalışmada, toz halde *Geotrichum candidum* kullanarak β -keto esterler, basit alifatik ketonlar, aromatik ketonları ilgili (S)-alkollere mükemmel seçicilikle indirgemıştır. Bu yöntem tüm hücre ile yapılan yöntemlere göre seçici olması ve reaktiflik açısından artı sağlamaktadır. İndirgeme prosesi için biyokatalizörün saklama süresi, kararlılığı, reaksiyon sıcaklığı substrata göre biyokataliz oranı, koenzim türü, koenzim rejenerasyonu için alkol, pH, tampon, gibi proses koşulları incelenmiştir.

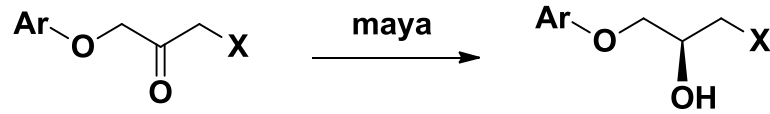
Molinari, Gandolfi, Villa ve Ochiato (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, dondurma işlemine tabi tutulan mayalar biyokatalizör olarak, asetofenon ve asetoasetat ise substrat olarak kullanılmış ve karbonil gruplarının indirgenme özellikleri çalışılmıştır. Dondurarak kurutulan taze yedi adet mayanın indirgenme düzeyleri araştırılmış, sonucunda dönüşüm git gide yükselirken enantiyomerik saflık derecesinin genel olarak arttığı sonucuna varılmıştır. Asetofenon substratında *Pichiae etchellsii* ile en fazla dönüşüm %80 ve en yüksek e.e %97 olarak R alkol için elde edilmiştir.



Şekil 12. Karbonil grubunun stereoseçimli indirgenmesi.

Snell ve Colby (1999) yaptıkları bir çalışmada rasemik yapıdaki ibuprofen amid'in *Rhodococcus AJ270* kullanılarak S (+) ibuprofen'e enantioseçimli hidrolizi araştırılmıştır. Ateş düşürücü olarak kullanılan İbuprofenin aktif olan formu S formudur. *Rhodococcus AJ270* kullanılarak % 94 ee ile hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiş ve sonuçta %90 e.e ve %48 dönüşüm ile S ibuprofen eldesi sağlanmıştır.

Rachidi, Martinez, Barre ve Blondin (2000). *Saccharomyces cerevisiae* PAU genes are induced by anaerobiosis tarafından yapılan bir çalışmada α - haloketonların *S. cerevisiae* katalizörlüğünde indirgenmesi ile β -blokerların sentezlenmesi araştırılmıştır. Farklı proses koşullarının enantiyomerik saflık ve verim üzerine etkisi incelenmiştir. *S.cerevisia* biyokatalizörü kullanıldığında S enantiyoseçimlilik sağlanırken enzim inhibisyonunu sağlamak amacıyla metil vinil keton kullanıldığında enantiyoseçimliliğin R yönüne ilerlediği gözlemlenmiştir. *Pichiae mexicana* mayasının 11105 ıslak hücreleri ile %85 verim ve %95 ee ile R-formu elde edilirken *Yarrowia lipolytica* mayasının 1240 ıslak hücreleri ile 1- kloro-3 (1-naftiloksi) propan-2-ol'ün (haloketon 1) % 87 verim ve % 99 ee ile S-formu elde edilmiştir.

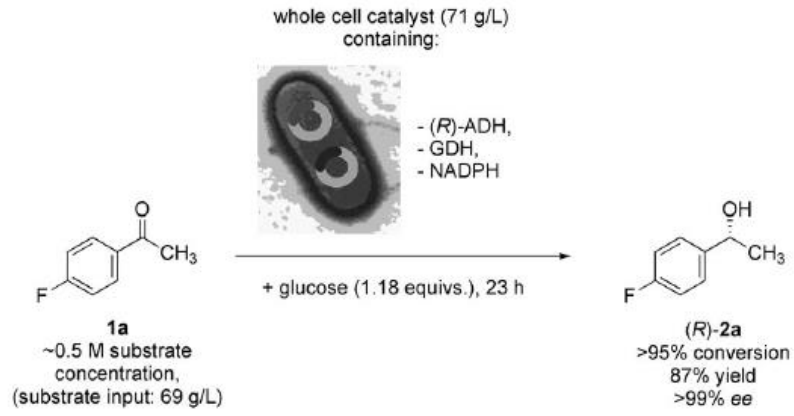


Şekil 13. Maya katalizörlüğünde α -haloketonların indirgenmesi.

Mandwal vd. (2004) de ıslak, tutuklanmış, çoğalabilen *Zygosaccharomyces roixii* ve *Saccharomyces cerevisiae* mikroorganizmaları ile fenil asetil karbinol (PAC) eldesini çalışmışlardır. L-efedrin ve L-psödoefedrin'in kimyasal eldesinde ara ürün olan 1-hidroksi-1-fenil-2-propanon olarak da anılan L-fenilasetil karbinol (L-PAC), maya kültürleri ile benzaldehitin biyotransformasyonu yoluyla endüstriyel olarak üretilir. Farklı mayalarla karşılaştırıldığında *Candida* ve *Saccharomyces* türlerinin L-PAC üretiminde en etkili biyokatalizörler olduğunu belirtmişlerdir.

Jaafar, León ve Zueco (2003). tarafından, Haloketonların *Sacchoromyces bayanus*, *Yarrowia lipolytica*, *Pichia mexicana* mayaları ile yüksek enantiyoseçimlilikle indirgenmesi incelenmiştir. Ekmek mayası ile haloketonların indirgenmesinde düşük dönüşüm ve e.e gözlemlendiğinden bu üç yeni maya türü tercih edilmiştir. *P. Mexicana* ve *Sacchoromyces bayanus*, mayasının indirgenmesi ile R- ya da S- halohidrinler sırasıyla % 90 ee ve % 85 verimle elde edilmiştir.

Gröger vd. (2007) de özel olarak hazırlanmış bir rekombinant tam hücrenin varlığında karşılık gelen 4-floroasetofenonun indirgenmesine dayanan, bir alkol dehidrojenaz ve bir glikoz dehidrojenaz biyokatalizör varlığında pratik ve oldukça etkin bir şekilde aktif (R) -4-florofeniletan-1-ol'un biyokatalitik sentezi geliştirilmiştir. Reaksiyon sonucunda (R)-2a yüksek dönüşümle(>%95) iyi verimle (% 87) ve mükemmel bir enantiyoselektivite >% 99 ee ile elde edilmiştir.

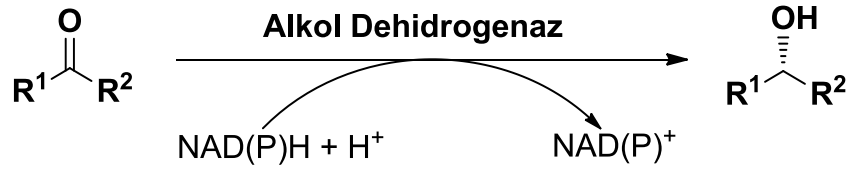


Şekil 14. (R) 4-florofeniletan-1-ol'un biyokatalizör ile elde edilmesi.

Erdélyi vd. (2006) da bazı ilaçların elde edilmesinde ara ürün olarak yararlanılabilen çeşitli prokiral aril- ve arilalkil- ketonların alkollere biyoindirgenmesini çalışmışlardır. Çeşitli mayalar içerisinde en fazla enantiyosafılığı ve enzim aktivitesini ihtiva eden *Z. Rouxii* ve *D. Hanseii* biyokatalizör olarak seçilmiştir. *Z. Rouxii* ATCC 14462, S-alkoller 1-fenilpropan-2-ol, 1-(4-metoksifenil)propan-2-ol, 1-(4-klorofenil)propan-2-ol'ü yüksek enantiyosafılık ve verim ile meydan getirmiştir.

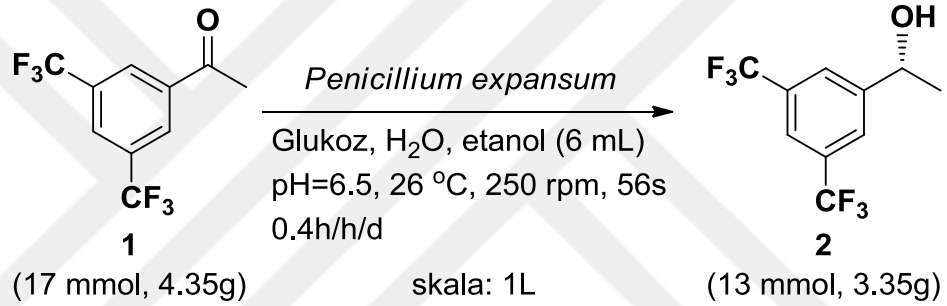
Kurbanoğlu, Zilbeyaz, Kurbanoğlu ve Kılıç (2007) de toprak örneklerinden izole edilen *A. niger*'in on dört farklı izolatu asetofenonu indirgemesi açısından incelenmiştir. Araştırmalar sonucu *A. niger*'in asetofenonun indirgenmesinde uygun ve etkili bir biyokatalizör olarak kullanılabileceği belirlenmiştir ve %99 ee ile optikçe aktif alkoller elde edilmiştir.

Genç ve Çelik (2010) çalışmalarında *S. saprophyticus*'dan elde edilen alkol dehidrogenaz enzimi ile kiral alkol eldesi biyokatalitik çalışmaları için kullanılmıştır. Alkol dehidrogenaz (ADH) enzimi, karbonil grubu barındıran alkollerin okside olmasını ve aldehit ve keton gibi bileşiklerin indirgenmesini katalizleyen bir enzimdir ve bu tepkelerde çevre için zararlı yan ürünlerin oluşumu söz konusu değildir. Biyokataliz sistemlerinde, yüksek verim ve enantiyomerik saflık elde edilir.



Şekil 15. ADH enzimi ile ketonların asimetrik indirgenmesi.

Kurbanoğlu, Zilbeyaz, Taskin ve İzzet (2010) yaptıkları bir çalışmada farklı numunelerden sağlanan 82 fungal izolattan saf mikroorganizma elde etmiş, daha sonra bu izolatlar içerisinde 3,5-bis(trifluorometil) asetofenon ketonunun indirgenmesinde kullanılacak olan en başarılı izolatın *Penicillium expansum* olduğunu belirlemişlerdir. Bu izolatın ırkları arasında yapılan taramada keton için en yüksek dönüşümü sağlayan ve asimetrik indirgeyenin *P. expansum* EBK-9 olduğu saptanmıştır. Optimum şartlar sağlandıktan sonra 100% dönüşüm, >%99 seçicilik ve %76 verim ile alkol elde edilmiştir.

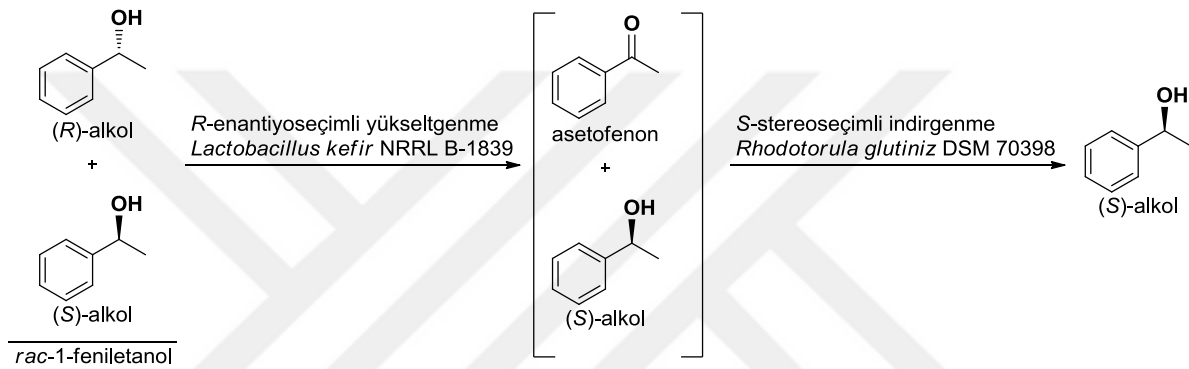


Şekil 16. *Penicillium expansum* fungusu ile 3,5-bis(trifluorometil)-asetofenon'un indirgenmesi.

Kurbanoğlu, Zilbeyaz ve Kurbanoğlu N., (2011) yaptıkları bir çalışmada, kiral feniletanolün, farmasötikler, zirai kimyasallar ve doğal ürünlerin üretimi için çok kullanışlı kiral yapı taşları olduğunu bildirmişlerdir. Son birkaç yıl içinde, rasemik olmayan formda feniletanollerin sentezi için hem biyolojik hem de kimyasal yöntemler uygulandığını belirtmişlerdir. Biyokataliz son zamanlarda yüksek enantiyosaflik, hafif reaksiyon koşulları ve çevresel uyumluluk nedeniyle enantiyosaf bileşiklerin hazırlanması için artan önem kazandığını vurgulamışlardır. Çalışmada en iyi mikroorganizma arayışında elde ettikleri maya izolatları arasında immobilizasyon sistemi için en iyi aktif 4 izolat *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula capsulata*, ve *Cryptococcus laurentii* olarak belirlenmiştir. Yeni bir biyokatalizör olarak *Cryptococcus laurentii* seçilmiştir. Literatürde, süstitüe edilmiş asetofenonların enantiyoselektif biyotransformasyonunun birçok örneği tarif edilmiştir. Bu çalışmada, *C. laurentii*, ilk defa mükemmel ee ye sahip bir dizi (S) feniletanol türevlerinin asimetrik sentezi için yeni bir biyokatalizör olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Ketonların çoğu

%99 enantiyosaflıkla *S* izomere dönüşürken, yüksek verimlerde ilgili alkollerin elde edildiği rapor edilmiştir.

Songür (2019) yaptığı çalışmada, ilaç hammaddesi olarak geniş kullanım alanına sahip (*S*)-1-feniletanol'ün biyokatalitik derasemizasyon işlemi kullanılarak enantiyomerik saflıkta %100 verimle üretimini gerçekleştirebilmeyi amaçlamıştır. Çalışmada öncelikle tepkimelerde enzim kaynağı olarak kullanılacak *L. kefir* ve *R. glutinis* mikroorganizmaları üretilmiştir. (*RS*)-1-feniletanol bileşiği, *L. kefir* mikroorganizması kullanılarak *R* formu asetofenona yükselgenirken, (*S*)-1-feniletanol %97 seçicilik ve %48 dönüşüm ile elde edilmiştir. Ayrıca reaksiyon ortamında bulunan asetofenon bileşiği *R. glutinis* mikroorganizması kullanılarak %100 ee ve %98 dönüşüm ile (*S*)-1-feniletanol elde edilmiştir.



Şekil 17. Derasemizasyon işlemi ile rasemik 1 fenil etanolün enantiyomerik olarak indirgenmesi.

Janeczko, Suslow (2014) yaptıkları bir çalışmada, 3-kloropropiofenon'dan oluşan propiofenon'un enantiyoseçici indirgenmesi ve seçilmiş maya kültürlerinde elde edilen alkollerin stereoinversiyonunu araştırmışlardır. Maya suşlarının seçilmiş kültürlerinde 3-kloro-1-fenilpropan'ın biyotransformasyonu gerçekleştirilmiştir. *Candida viswanathii* KCh 120, kültüründe 9 saatlik biyodönüşümden sonra % 91ee ile (*S*)-3-kloro-1-fenilpropan-1-ol elde edilmiştir. *Aphanocladium album* KCh 417 kültüründe ise % 28ee ile (*R*)-3-kloro-1-fenilpropan-1-ol elde edilmiştir. *Rhodotorula* suşlarının kültürlerinde propiofenon'un biyotransformasyonu (*S*)-1-fenilpropan-1-ol'ü çok yüksek bir ee (% 95-99) ve dönüşüm (% 85-99) ile verirken, bu substratın biyoindirgenmesinde *Candida viswanathii* KCh 120 ve *Candida parapsilosis* KCh 909'un kültürleri (*R*)-1-fenilpropan-1-ol'ü sırasıyla % 98ee ve % 97 dönüşüm ile oluşturmuşlardır. *Candida viswanathii* KCh 120 suşlarının kültüründe, reaksiyon karışımının% 47'sinde (*S*)-3-kloro-1-fenilpropan-1-ol % 87ee olarak gözlemlenmiştir. *Yarrowia lipolytica* KCh 72 miktarı ve enantiyomerik fazlalığı biyotransformasyon süresi ile azalmıştır. Ayrıca reaksiyon karışımında% 41'lik bir miktarda (*S*)-1-fenilpropan-1-ol 4 ve 3 saat sonra >% 99 a ulaşmıştır. Bununla birlikte, 4 (*S*)-enantiyomeri miktarı, zamanla önemli ölçüde azalmıştır.

(9 saat sonra %9 ve 3 gün sonra % 2), (R)-1-fenilpropan-1-ol'ün miktarı artmış, 6 gün sonra % 28 ve sonra % 99'a ulaşmıştır.

Tablo 2. *Mikroorganizmalar ve Dönüşüm Oranları*

Mikroorganizmalar propiofenon ee % değerleri 1-fenilpropan-1-ol
%ee değerleri

Yarrowia lipolytica 1-101-1,31-K1 94 66 (R) 75 24 (R)

Yarrowia lipolytica KCh 71 94 76 (R) 97 65 (R)

Yarrowia lipolytica KCh 72 60 50 (R) 98 1 (R)

Yarrowia lipolytica ATCC 32-338 A 94 35 (R) 94 35 (R)

Candida parapsilosis KCh 909 70 97 (R) 85 >99 (R)

Candida viswanathii KCh 120 77 98 (R) 87 >99 (R)

Rhodotorula rubra KCh 4 98 68 (S) 93 97 (R)

Rhodotorula rubra KCh 82 83 94 (S) 97 70 (R)

Rhodotorula glutinis KCh 242a 85 95 (S) 92 96 (S)

Rhodotorula marina KCh 77 76 76 (S) 94 8 (R)

Zygosaccharomyces bailii KCh 907 70 97 (R) 98 0 –

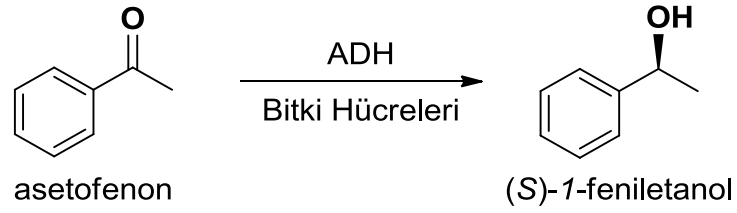
Saccharomyces pastorianus KCh 906 65 46 (S) 93 8 (R)

Saccharomyces cerevisiae KCh 464 58 81 (S) 82 31 (R)

Saccharomyces brasiliensis KCh 905 50 8 (R) 97 2 (R)

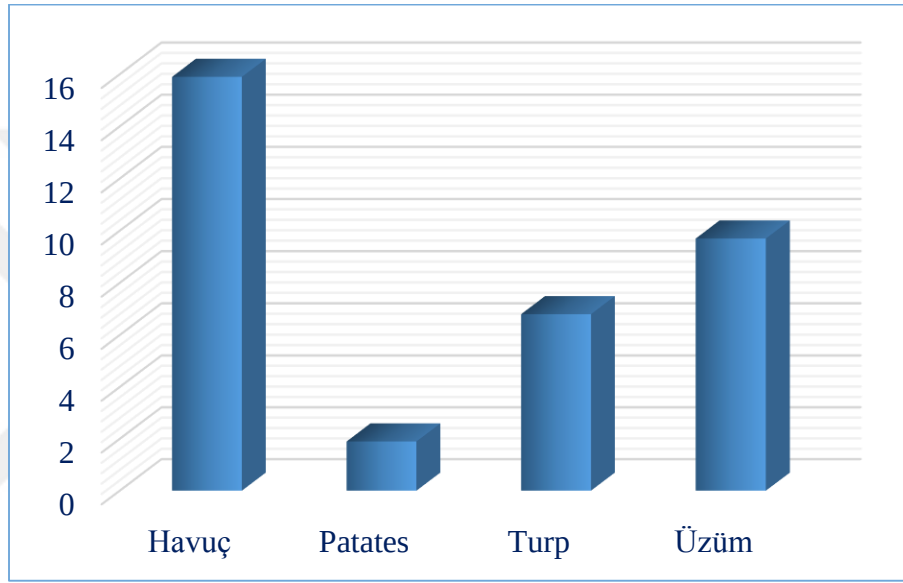
Aphanocladium album KCh 417 82 84 (R) 97 27 (R)

Kazıcı ve Mehmedoğlu (2015) yaptıkları bir çalışmada, asetofenonun biyoindirgenmesiyle, çoğu farmakolojik ürünün öncü maddesi olan enantiyomerik olarak saf Alzheimer önleyici ilaç etken maddesi olarak kullanılabilecek (S)-1-fenil etanol meydana getirmişlerdir. İlk olarak Alkol dehidrogenaz enziminin kaynağı olarak farklı meyve ve sebzeler kullanılmıştır. ADH karbonil grubunun indirgenmesine yardımcı olmaktadır.



Şekil 18. Bitki hücreleri ile asetofenonun indirgenmesi.

Seçili meyve ve sebzelerden en yüksek ADH aktivitesine sahip olanların belirlenmesi için patates üzüm turp havuç gibi bitkilere çeşitli tayinler yapılmıştır (Şekil 19).



Şekil 19. Havuç, patates, turp, üzüm bitkilerinin ADH değerleri (U/L).

En yüksek ADH aktivitesine sahip olan biyokatalizörün havuç olduğu tespit edilmiştir. Daha sonra (S)-1-fenil etanol eldesi için seçili biyokatalizörün boyutu, tepkime süresi, pH, hücre derişimi, enzim kaynağı, substrat derişimi, sıcaklığın tepkime üzerine etkileri gibi değişkenler araştırılmıştır. Seçilen taze havuç içerisindeki ADH aktivitesi 2 mM substrat derişimi, 200 g/L biyokatalizör derişimi, 1.52 mm biyokatalizör boyutu, 33 °C tepkime sıcaklığı, pH 7 ve 150 rpm karıştırma hızı koşullarında, yüksek enantiyoseçimlilikte >%99 ee ve %92 gibi yüksek bir dönüşümde katalizlemiştir.

Yanıt yüzey yöntemi ile ilgili yapılan çalışmalar.

Son zamanlarda sayısal analiz alanında bir optimizasyon tekniği olarak dikkat çeken tepki yüzey metodolojisi, 1951 yılında Box & Wilson tarafından savunulmuştur (Box, & Wilson, 1951). Daha sonra Taguchi metodunun araştırması nedeniyle yapılan çeşitli deneyler ve diğerleri, bugün bildiğimiz yanıt yüzey metodolojisine geliştirmiştir (Myers vd., 1989). Bu

teknik, özellikle ABD'de ürün süreci optimizasyonu ve varyasyon azaltma gibi amaçlar için kalite mühendisliği alanında pratik kullanıma getirilmiştir. 1995 yılında, sayısal analiz alanına ilk olarak yanıt yüzey metodolojisi uygulanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde, ultra yüksek kapasiteli uçaklarda kullanılmak üzere kompozit kanatların optimize edilmesi için kullanılmıştır.

Kazıcı ve Mehmedoğlu (2015) yaptıkları çalışmada dondurularak kurutulan havucu alkol dehidrojenaz kaynağı olarak kullanmış ve asetofenon'un bu sayede enantiyomerik olarak saf olan (S)-1-fenil-etanol'e yanıt yüzey metodolojisi (RSM) kullanılarak dönüşümünü araştırmışlardır. Enantiyomerik aşırılıklar (ee) ve dönüşüm (c) için en iyi sonuçlar, reaksiyon süresi 48 saat, 1 mm substrat konsantrasyonu, 33 °C reaksiyon sıcaklığı ve pH 7 için sırasıyla >% 99 ve % 58 ile elde edilmiştir. RSM için başlangıç substrat konsantrasyonu, bitki hücresi konsantrasyonu, reaksiyon süresi ve karıştırma hızı bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. Seçicilik (>% 99ee) ve dönüşüm (% 57.8) gibi daha yüksek optimum şartların elde edilmesi için öngörülen optimum koşullar başlangıç substrat konsantrasyonu; 25 g/L bitki hücresi konsantrasyonu, 52 saat reaksiyon süresi ve 200 rpm karıştırma hızı olarak seçilmiştir.

Kılıç, Bayraktar, Ateş ve Mehmedoğlu (2002) çalışmalarında yanıt-yüzey metodolojisi kullanılarak ekstraktif sitrik asit fermantasyonunu araştırmışlardır. *Aspergillus niger* mikroorganizması ile oleil alkolde mısır yağı ve Hostarex A327 varlığında ekstraktif sitrik asit fermantasyonu üzerine çalışmışlardır. Yanıt Yüzey Metodolojisi (RSM) uygulanmadan önce potasyum ferrosiyanit (K₄Fe (CN) 6) konsantrasyonunun sitrik asit üretimi ve mısır yağı kullanılarak çözücü toksisitesinin önlenmesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sitrik asit konsantrasyonu, artan K₄Fe (CN) 6 konsantrasyonu ile artmış, çözücü toksisitesi özütleyici sitrik fermantasyonda mısır yağı kullanılarak azaltılmıştır. Optimum sitrik asit konsantrasyonu RSM ile K₄Fe (CN)% 0.06 (ağ / hac) 6, Vor / Vaq 1.25, mısır yağı konsantrasyonu % 13.7 (hacimce) ve % 33 oleil alkol içinde Hostarex A327 içeriği (hacimce) olarak öngörülen optimum ekstraksiyon koşulları kullanılarak 5.70 g/L olarak elde edilmiştir.

Corzo ve Gomez (2004) tarafından yapılan bir çalışmada silindir biçiminde kesilen kavunların şeker konsantrasyonları, işlem süreleri, sıcaklıkları *Central Composite Rotatable* dizaynı ile tanımlanmıştır. Yanıt yüzey yöntemi ile *Desirability* fonksiyonundan yararlanılarak kavunların optimum ağırlık kaybı, osmoz şartları ve çözeltinin suda çözünen kuru madde miktarının minimum, su kaybının maksimum olması şartlara göre belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucu optimize şartlar sıcaklık için 37.95 °C, çözelti konsantrasyonu için 41.6, suda çözünen kuru madde ve işlem süresi için 132.3 dk olarak bulunmuştur.

Tunç, Çalışkan, Özkan ve Karacabey (2013) yaptıkları bir çalışmada, fındıktan rafine edilmemiş halde tüketilebilecek kalitede fındık yağı eldesini araştırmışlardır. Araştırmada Soxhlet yeşil ekstraksiyon metodu ile fındık yağı elde edilmiştir. Peroksit değerleri, verim ve asitlik cevaplarının belirlenmesi yanıt yüzey yöntemi ile sağlanmıştır. Asitlik, peroksit değeri ve verim bağımlı değişkenler, sıcaklık ve süre ise bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. Bağımsız değişkenlere karşılık gelen bağımlı değişkenler çeşitli istatistiksel yöntemler ile belirlenmiştir. Yanıt yüzey yöntemine kullanılarak elde edilen sonuca göre sıcaklık ve süre arasındaki çapraz etkileşimler önemsiz bulunmuştur. Verim belli bir dereceye (50-55 derece) kadar sıcaklık artışıyla doğru orantılı bir şekilde artmıştır. Reaksiyon süresi ekstraksiyon için önemsiz olarak bulunmuştur. Peroksit değeri sıcaklığa bağlı olarak önce artmış daha sonra azalmıştır. 50 dereceye yükseldikçe serbest asitliğin azaldığı, daha yüksek sıcaklıklara çıkarıldığında serbest asitliğin azaldığı görülmüştür. Verim mikrodalga enerjisinin Soxhlet e göre yağ verimi açısından daha kısa sürede ve daha düşük sıcaklıkta çalıştığını göstermiştir.

Dündar (2011) yaptığı bir çalışmada farklı süre ve sıcaklıkta pişirilen köftelerde heterosiklik aromatik aminlerin oluşumunun sınırlandırılmasında farklı seviyelerde ilave edilen tuz, yağ ve askorbik asidin kullanımının yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonunu çalışmıştır. Uygulanan sıcaklık ve ısıtma işlem süresinin % ham yağ eldesi üzerinde istatistiksel olarak önemli bir değeri olmadığı bulunmuştur. Tuz, yağ ve askorbik asidin sıcaklık ve süre ile uygulanmasının % ham yağ değerine kuadratik etkilerinin önemli bulunmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$). Ancak askorbik asit ile köfte üzerine uygulanan sıcaklığın etkileşimi ve ilave edilen tuz ve yağın etin pH değeri üzerindeki etkisi ise önemli ($P < 0,01$) bulunmuştur.

Nakamura ve Dokai (1989) çalışmalarında kedi balıklarının osmatik dehidrasyonunda NaCl nin %20 ve %26 lık konsantrasyonlarına, uygulanan işlemin süresine (4 – 14 h) , balıkların osmotik dehidrasyonundaki 21 ile 57 °C arasındaki sıcaklık değerlerine göre yanıt yüzey yöntemi kullanılarak minimum katı kazancı ve maksimum su kaybı değerlerinin sağlanabileceği koşulları bulmayı amaçlamışlardır. Analizler sonucunda optimum şartlar için: 50-57 °C sıcaklık , % 21-26 NaCl konsantrasyonu, 6-14 h işlem süresi olarak belirlenmiştir.

Şimşek (2018) yaptığı bir çalışmada, Ham *Brassica napus* bitkisinin saplarını çözeltiden Bakır (II) nin uzaklaştırılması için adsorban olarak kullanmıştır. Adsorbsiyonun kesikli yapıldığı çalışmalarda adsorpsiyon çalışma değişkenleri sabit 120 dakikada, metal çözelti derişimi (2-10 mg/L), pH (2-10), adsorban miktarı (0.03-0.07 g), ve sıcaklık (30-50 °C) olarak belirlenmiştir. Birbirinden bağımsız bu dört değişken yanıt yüzey metodolojisi opimizasyon stratejisi ile optimize edilmiştir. Yanıt yüzey metodolojisi sonucunda belirenen şartlar

doğrultusunda Bakır (II) adsorpsiyonu için optimum koşullar 7.3 mg/L bakır (II) iyon derişimi, 5.9 pH, 0.03 g adsorban miktarı ve 33 °C olduğu belirlenmiştir. Bu şartlarda, adsorbanının yaklaşık %79 luk bir miktar Bakır (II) ağır metal giderimini sağladığı deneysel yöntemlerle hesaplanmıştır. Yapılan analizler neticesinde alınan sonuçlar net bir şekilde göstermiştir ki, *Brassica Napus* bitki sapların ucuz bir adsorban olarak Bakır (II) giderimi için kullanılabilir.

Boutekedijret ve Allaf (2005) çalışmalarında Biberiye yapraklarına 50-550 kPa arasında değişen basınç değerlerini uygulamış, yanıt yüzey metodolojisi kullanarak işlemler öncesi nem ihtivasi, uygulanan işlemdeki basınç ve sıcaklık değerleri, ekstraksiyon verimi, α -pinen, kamfen, gibi uçucu yağ bileşiklerinin küresel ekstraksiyon verimini araştırmışlardır. Küresel ekstraksiyon verimi için tespit edilen optimum reaksiyon koşulları: basınç seviyesi 410 kPa; nem içeriği 0.40 g H₂O / g kuru malzeme; işlem süresi 15.8 dk olarak belirlenmiştir.

Chen, Iwasaki ve Takeda (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, hem ayırma verimini hem de tohum soğanı zararını etkileyecek parametrelerin optimum kombinasyonunu bulmak için merkezi bir kompozit dönebilir ortogonal deneysel yanıt yüzey metodolojisi tasarımı olan yanıt yüzey metodolojisi kullanılmıştır. Ayırma verimliliği ve tohum ampulü hasarı tepki fonksiyonları olarak kullanılmış ve üç parametre: silindir döner hız (CRS), kılavuz plakası eğimi (GPI) ve başak-diş uzunluğu (STL) giriş değişkenleri olarak seçilmiştir. Optimum deney sonuçlarına dayanarak ikinci dereceden polinom regresyon modellerine uygun, optimum bir kombinasyon bölgesi olan CRS = 190240 rpm / GPI = 30 .40 ° / STL = 60 mm ve CRS'nin bir önem sırası, STL ve GPI, ayırma verimliliği ve tohum ampulü hasarı için oldukça önem arz etmiştir. Ayırıştırma verimliliğinin % 95'ten fazla olduğu ve aynı anda tohum ampulü hasarının % 10'un altında olduğu belirlenmiştir.

Özdemir (2019) yaptığı çalışmada, Yanıt yüzey metodolojisinden kesme sisteminde giriş koşulların optimizasyonu için kullanılan bir matematiksel modelleme metodu olarak yararlanmışlardır. Yöntemden alınan sayısal sonuçlar karışık modellerin yapılması ve çözümlenmesi aşamalarında kullanılmıştır. Grafik halinde sunulabilen yanıt yüzey yönteminden; farklı etkilerin sonucu nasıl etkilediğinin belirlenmesinde, değişkenlerin etkilerinin incelenmesinde ve yanıt yüzeyinin toplam etkisini ortaya çıkarmada yararlanmışlardır. Yapılan bu gibi çalışmalarda yanıt yüzey yöntemi üç kademede meydana gelmektedir. Öncelikle deney için koşulların belirli kombinasyonları sağlanmakta ve yanıtların belirlenebilmesi için fiziksel çalışmalar yapılmaktadır. Bu yöntemde daha az deney ile daha çok verim ve minumum maliyet sağlanmaktadır. Aynı zamanda ara tepki değerleri de hızlıca bu yöntemle belirlenebilmektedir. İkinci aşamada parametrelerin aralarındaki ilişki üssel bir

fonksiyon olarak tanımlanmaktadır. Son olarak varyans vb. analizleri ile aranılan uygun noktalar belirlenmektedir. Çalışmada amaç kullanılan optimizasyon yöntemi ile maliyeti düşürmek ve daha az sayıda deney yaparak sonuca ulaşmak olmuştur.



ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

Materyal ve Yöntem

Genel Asimetrik İndirgenme Prosedürü

Lactobacillus senmaizukei bakteri suşu MRS besiyerinde gliserol stoğundan aktifleştirilerek 37°C’de geliştirilmiştir. Gelişen sıvı kültürden 50 ml MRS besiyeri ortamına 500 µl ilave edilmiş ve seçilen deneme noktalarında reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon için 500 µl bakteri 50 ml besiyeri ortamında 2 saat bekletildikten sonra 0,1 M NaOH veya HCl kullanılarak istenilen pH’ya ayarlanmış 2 saat daha belirlenen şartlar altında karıştırılmış ve daha sonra 0.5 mmol substrat ilave edilerek karıştırılmaya devam edilmiştir. Reaksiyon süresi bittikten sonra karışım CH₂Cl₂ ile ekstrakte edilmiştir. Ham ürün silikajel içeren küçük bir kolondan süzülerek HPLC analizi ile dönüşümü belirlenmiştir. Dönüşüm HPLC’de ketonların kiral alkoller ile aynı şartlarda analiz edilerek alkol piklerinin keton piki ile karşılaştırılması sonucu belirlenmiştir. Ürünlerin ee değerleri ise ham ürünün kolon kromatografisi ile saflaştırıldıktan sonra HPLC ile belirlenmiştir ve NMR spektroskopisi ile ürünler karakterize edilmiştir.

Yanıt yüzey yöntemi optimizasyon stratejisi ile optimum reaksiyon koşullarının belirlenmesi.

Asimetrik indirgenmede tüm hücre uygulamalarında en yüksek verim, dönüşüm ve ee değerlerini elde etmek için sıcaklık, pH, inkübasyon süresi ve karıştırma hızı gibi kültürel koşullarının optimize edilmesi oldukça önemlidir. Bu parametreler, hem indirgeme ortamındaki nihai bakteri seviyelerini etkileyebilir, bu da nihai enzimin üretimi ve enzim aktivitesi için önemli olabilir, hem de biyoindirgenme reaksiyonları için daha da önemli olan seçiciliği etkileyebilir (Pereira, Robledo, Rodríguez, & Freile, 1998).

Deney dizaynı ve istatistiksel analiz.

Lactobacillus senmaizukei biyokatalizörü ile RSM optimizasyon stratejisi kullanılarak kültür parametreleri optimize edildi. Bu amaçla, merkezi kompozit tasarım (CCD) biyoindirgenme reaksiyonlarının enantiyomerik fazlalık ve dönüşüm oranı etkileyebilecek dört bağımsız değişkenin, iki bağımlı değişken üzerinde pH (3.5–7.5, X_1), sıcaklık (20–40 °C, X_2),

inkübasyon süresi (0–96 saat, X_3) ve çalkalama hızı (50–250 rpm, X_4) etkisi araştırıldı. Bağımsız değişkenlerin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. Bağımsız değişkenlerin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri

Bağımsız Değişkenler		pH Sıcaklık İnkübasyon Süresi		Çalkalama Hızı	
Birim, Semboller		(°C)		(rpm)	
		X_1	X_2	X_3	X_4
	Kod	Değerler			
Faktörlerin Seviyeleri	$-\alpha$	3.5	20	0	50
seviyeleri	-1	4.5	25	24	100
	0	5.5	30	48	150
	1	6.5	35	72	200
	$+\alpha$	7.5	40	96	250

Deney	Bağımsız Değişkenler			Yanıt Değerleri		
				Enantiyomerik aşırılık (%)	Dönüşüm Oranı (%)	
1	4.5	35	72	200	45	86
2	6.5	25	72	200	47	98
3	5.5	30	48	150	56	93
4	7.5	30	48	150	64	92
5	5.5	30	48	150	56	93
6	6.5	25	24	200	64	99
7	4.5	35	72	100	56	98
8	5.5	30	96	150	51	87
9	6.5	35	24	200	27	89
10	5.5	40	48	150	19	92
11	4.5	25	24	200	48	93
12	4.5	35	24	200	83	88
13	5.5	30	48	50	68	90
14	5.5	30	48	150	56	93
15	5.5	20	48	150	66	97
16	3.5	30	48	150	50	96
17	6.5	35	24	100	70	97
18	6.5	35	72	100	52	94
19	5.5	30	48	150	56	93
20	5.5	30	48	150	56	93
21	4.5	25	72	100	94	76
22	5.5	30	48	250	92	40
23	4.5	25	72	200	48	96
24	5.5	30	48	150	56	93
25	6.5	25	24	100	59	99
26	5.5	30	0	150	0.5	0.5
27	6.5	35	72	200	22	86
28	6.5	25	72	100	55	94
29	4.5	25	24	100	71	99
30	4.5	35	24	100	56	99

Aşağıdaki polinom model kullanılarak, çoklu regresyon, ikinci dereceden bir polinom modeli ve regresyon katsayıları oluşturmak için toplanan verileri uydurmak için kullanıldı ve burada Y tahmini enantiyomerik fazlalık ve dönüşüm oranını ayrıca β_0 , β_i , β_{ii} , β_{ij} regresyon katsayılarını göstermektedir (1).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^4 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^4 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{\substack{i=1 \\ j=i+1}}^4 \beta_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

Bu çalışmada örneklerin enantiyomerik aşırılık ve dönüşüm oranları değerlerinin ölçülmesine yönelik analizler iki kez tekrarlanmış ve bu değerler Tablo 3 de verilmiştir. Bu çalışmada logaritma dönüşümü için gerekli olan ee ve dönüşümünün yanıt değerleri %0 ile %100 arasındadır. Bu nedenle, değerler, modelleme prosedürlerine geçmeden önce logaritma dönüşümüne tabi tutulmuştur. Çünkü yanıt sonlu bir aralıkta olduğunda logaritma dönüşümü yararlıdır. Logaritma dönüşümü; logaritma $p(x)$, lojistik modeli temsil eden aşağıdaki gibi verilebilir, burada $p(x)$ yanıtı ve Y'yi temsil eder (2), (3) ve sonuç olarak aşağıdaki şekilde ifade edilebilir (4).

$$\text{logit } p(x) = \ln \left[\frac{P(X)}{1 + P(X)} \right] \quad (2)$$

$$p(x) = \frac{1}{1 + e^{-(\alpha + \sum \beta_i X_i)}} \quad (3)$$

$$\text{logit } (Y) = \log_e \left[\frac{Y - \text{lower limit}}{\text{upper limit} - Y} \right] \quad (4)$$

Maksimum ve minimum işleme değişkenlerinin ee ve cr'nin optimum değerleri, Karnopp ve arkadaşları tarafından kullanılan eşzamanlı optimizasyon tekniği kullanılarak hesaplanabilir (Karnopp, Oliveia, Andrade, Postinger, & Granato, 2017). Bu bağlamda, işleme koşullarını bulmak için arzu edilebilirlik fonksiyonları $d_i(Y_i)$ kullanıldı ve X arzu edilen yanıt değerini (ee ve cr) vermektedir. Aşağıdaki denklemler, ee ve cr yanıtlarını aynı anda maksimize etmek veya en aza indirmek için kullanılabilir (5) (6) ve L_i , U_i ve T_i 'nin sırasıyla daha düşük, üst ve hedef değerler olduğu, Y_i , L_i , U_i ve T_i ile yanıt için istenen değerleri göstermektedir.

$$d_i(\hat{y}_i) = \begin{cases} 0 & \hat{y}_i(x) < L_i \\ \left(\frac{\hat{y}_i(x) - L_i}{T_i - L_i} \right)^s & L_i \leq \hat{y}_i(x) \leq T_i \\ 1 & \hat{y}_i(x) > T_i \end{cases} \quad (5)$$

$$d_i(\hat{y}_i) = \begin{cases} 1 & \hat{y}_i(x) < T_i \\ \left(\frac{\hat{y}_i(x) - U_i}{T_i - U_i} \right)^s & T_i \leq \hat{y}_i(x) \leq U_i \\ 0 & \hat{y}_i(x) > U_i \end{cases} \quad (6)$$

Arzu edilebilirlik değerleri tek bir arzu edilebilirlik endeksi, D ile ilişkilendirilmiştir. Bunu yönetmek için, her bir yanıt, kısmi arzu edilebilirlik fonksiyonu d_i 'ye dönüştürüldü ve ardından her bir yanıt değişkeninin hesaplanması yapıldı. Her yanıt için gerekli 0 ile 1 arasında değişen bu boyutsuz işlemle yapılmıştır. Bu, sırasıyla en azdan en çok istenen sonucu kavramaya izin veren aralıktır. Bireysel arzu edilebilirlik fonksiyonunun ağırlıklı geometrik ortalaması [Denk. (4)], küresel arzu edilebilirlik fonksiyonu D kullanılarak hesaplanmıştır (7).

$$\begin{aligned} D &= d_1^{p_1} \times d_2^{p_2} \times d_3^{p_3} \times \dots \times d_n^{p_n}^{1/\sum p_i} \\ &= \left[\prod_{i=1}^n d_i^{p_i} \right]^{1/\sum p_i} \end{aligned} \quad (7)$$

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

Bulgular

Kromatografik Ayırmalar

İnce Tabaka Kromatografisi (TLC).

Silikajel 60 (HF 254 + 366) (Merck)

Kolon Kromatografisi.

Silikajel 60 (70-230 Mesh) ASTM (Merck)

Spektrumlar.

¹H-NMR Spektrumları.

¹H-NMR 400 MHz Spektrometre (Bruker)

¹³C-NMR Spektrumları.

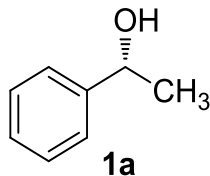
¹³C-NMR 100 MHz (Bruker)

HPLC Spektrumu

Kiral detektöre sahip Agilent 1260 HPLC

Analizler.

(*R*)-1-feniletanol (Şahin, 2017)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.38-7.33 (m, 4H), 7.31-7.26 (m, 1H), 4.84 (q, *J* = 6.45 Hz, 1H), 2.62 (bs, 1H), 1.48 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H)

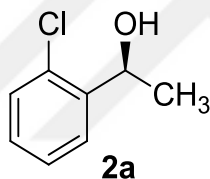
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 146.0, 128.4, 127.3, 125.5, 70.2, 25.2

Enantiyomerik aşırılık: % 79

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = -34.8$ (c 1.1, CHCl₃)

HPLC analizi: HPLC, Kiral OD-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 95:5, akış hızı 1.0 mL/dk., 210 nm, alıkonma zamanı (*R*) 9.1 dk, (*S*) 11.0 dk (Şekil 21).

(*S*)-1-(2-klorofenil)ethanol (2b) (Sokeirik vd., 2007)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.58-7.56 (m, 1H), 7.32-7.17 (m, 3H), 5.27 (q, *J* = 6.4 Hz, 1H), 2.25 (bs, OH), 1.47 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H)

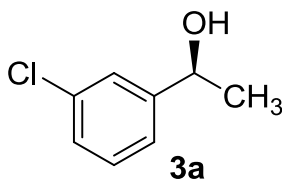
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 143.0, 131.6, 129.4, 128.4, 127.2, 126.4, 66.9, 23.5

Enantiyomerik aşırılık: %70

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = -47.6$ (c 1.0, CHCl₃)

HPLC analizi: HPLC, Kiral OD-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 98:2, akış hızı 0.8 mL/dk, 220 nm, alıkonma zamanı (*S*) 16.8 dk, (*R*) 17.2 dk (Şekil 23).

(*S*)-1-(3-klorofenil) ethanol (Ren, Wei, & Du, 2015)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 7.34-7.19 (m, 4H), 4.82 (q, *J* = 6.4 Hz, 1H), 2.43 (bs, OH), 1.45 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H)

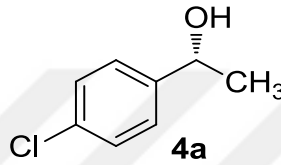
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ= 147.8, 134.3, 129.8, 127.5, 125.6, 123.5, 69.7, 25.2

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = +24$ (c 0.60, CHCl₃)

Enantiyomerik aşırılık: %62

HPLC analizi: HPLC, Kiral AS-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 99.5:0.5, akış hızı 1 mL/dk, 220 nm, alıkonma zamanı (S) 54.23 dk, (R) 47.72 dk (Şekil 35).

(*R*)-1-(4-klorofenil)etanol (Kurbanoğlu vd., 2007)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 7.29-7.22 (m, 4H), 4.79 (q, *J* = 6.5 Hz, 1H), 2.77 (bs, OH), 1.41 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H)

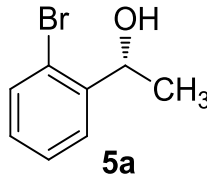
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ= 144.2, 132.9, 128.5, 126.8, 69.6, 25.2;

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = +26.3$ (c 1.0, CHCl₃)

Enantiyomerik aşırılık: % 49

HPLC analizi:) HPLC, Kiral OD-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 98:2, akış hızı 1 mL/dk, 220 nm, alıkonma zamanı (S) 14.13 dk, (R) 15.76 dk (Şekil 37).

(*R*)-1-(2-bromofenil)ethanol (Şahin, 2017b)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 7.56-7.54 (m, 1H), 7.50-7.48 (m, 1H), 7.33-7.29 (m, 1H), 7.12-7.08 (m, 1H), 5.39 (q, *J* = 6.4 Hz, 1H), 2.79 (bs, OH), 1.44 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H)

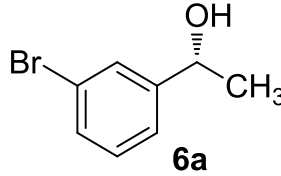
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ= 144.7, 132.6, 128.7, 127.8, 126.7, 121.6, 69.1, 23.6;

Enantiyomerik aşırılık: %77

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = +43.9$ (c 1.0, CHCl₃)

HPLC analizi: HPLC, Kiral OD-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 99:1, akış hızı 1 mL/dk, 210 nm, alıkonma zamanı (S) 19.65 dk, (R) 22.23 dk (Şekil 25).

(*R*)-1-(3-bromofenil)ethanol (Ren *vd.*, 2015)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.49 (s, 1H), 7.36-7.38 (m, 1H), 7.25-7.16 (m, 2H), 4.79 (m, 1H), 2.67 (bs, 1H), 1.44 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H)

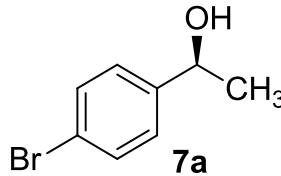
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 148.1, 130.4, 130.1, 128.5, 124.0, 122.5, 69.6, 25.2;

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = +16$ (c 1.0, CHCl₃).

Enantiyomerik aşırılık: %15

HPLC analizi: HPLC, Kiral OD-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 98:2, akış hızı 1 mL/dk, 210 nm, alıkonma zamanı (S) 16.38 dk, (R) 18.42 dk (Şekil 26).

(*S*)-1-(4-bromofenil)ethanol (Singh, & Chopra, 2016)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.43-7.40 (m, 2H), 7.18-7.15 (m, 2H), 4.75 (q, *J* = 6.5 Hz, 1H), 2.93 (bs, 1H), 1.39 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H)

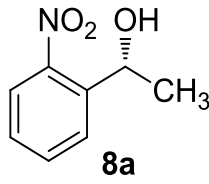
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 144.7, 131.5, 127.2, 121.0, 69.6, 25.2

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = -5.6$ (c 1.0, CHCl₃)

Enantiyomerik aşırılık: %12

HPLC analizi: HPLC, Kiral OD-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 95:5, akış hızı 1 mL/dk, 220 nm, alıkonma zamanı (S) 9.95 dk, (R) 10.86 dk (Şekil 39).

(R)-1-(2-nitrofenil)etanol (Şahin, 2017b)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 7.84 (dd, *J* = 8.2, 1.1 Hz, 1H), 7.79 (dd, *J* = 7.9, 1.1 Hz, 1H), 7.63-7.59 (m, 1H), 7.40-7.36 (m, 1H), 5.35 (q, *J* = 6.4 Hz, 1H), 2.85 (bs, OH), 1.51 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H)

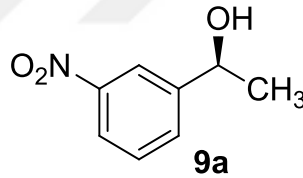
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ= 147.7, 141.0, 133.6, 128.0, 127.5, 124.2, 65.4, 24.2

Enantiyomerik aşırılık: %2

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = + 0.6$ (c 1.0, CHCl₃)

HPLC analizi: HPLC, Kiral AS-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 95:5, akış hızı 1 mL/dk, 220 nm, alıkonma zamanı (*S*) 9.95 dk, (*R*) 10.86 dk (Şekil 27).

(*S*)-1-(3-nitrofenil)ethanol (Wu, & Liang, 1999)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 8.21 (m, 1H), 8.09 (m, 1H), 7.68 (m, 1H), 7.49(m, 1H), 4.99 (q, *J* = 6.5 Hz, 1H), 2.84 (bs, OH), 1.51 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H)

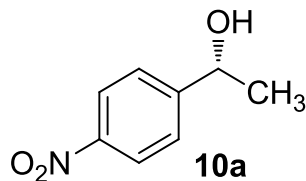
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ= 148.3, 147.9, 131.6, 129.4, 122.3, 120.4, 69.3, 29.4;

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = -32.9$ (c 1.0, CHCl₃)

Enantiyomerik aşırılık: %88

HPLC analizi: HPLC, Kiral AS-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 95:5, akış hızı 0.8 mL/dk, 220 nm, alıkonma zamanı (*S*) 23.43 dk, (*R*) 25.41 dk (Şekil 29).

(*R*)-1-(4-nitrofenil)ethanol (Şahin, 2017b)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 8.10-8.14 (m, 2H), 7.51-7.48 (m, 2H), 5.00-4.94 (m, 1H), 2.75 (bs, OH), 1.47 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H)

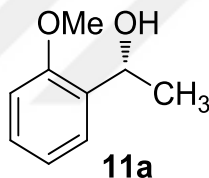
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ= 153.3, 147.0, 126.1, 123.7, 69.4, 25.4;

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = +1.3$ (c 0.5, CHCl₃)

Enantiyomerik aşırılık: %28

HPLC analizi: HPLC, Kiral AS-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 80:20, akış hızı 1mL/dk, 220 nm, alıkonma zamanı (S) 15.75 dk, (R) 12.04 dk (Şekil 43).

(*R*)-1-(2-metoksifenil)ethanol (Şahin, 2017b)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 7.36-7.43 (m, 1H), 7.28-7.23 (m, 1H), 6.97 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.88 (d, *J* = 8.20 Hz, 1H), 5.13-5.07 (m, 1H), 3.86 (s, 1H), 2.78 (bs, OH), 1.50 (d, *J* = 7.1 Hz, 3H);

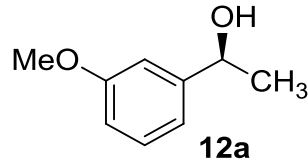
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ= 156.5, 133.4, 128.3, 126.3, 120.8, 110.4, 66.4, 55.2, 22.9;

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = +12.1$ (c 1.1, CHCl₃)

Enantiyomerik aşırılık: %49

HPLC analizi: HPLC, Kiral OD-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 98:2, akış hızı 1mL/dk, 220 nm, *t_R* (S) 18.82 dk, (R) 20.49 dk (Şekil 25).

(S)-1-(3-metoksifenil)ethanol (Şahin, 2017)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 7.27-7.23 (m, 1H), 6.93-6.91 (m, 2H), 6.81-6.78 (m, 1H), 4.83 (q, *J* = 6.4 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.41 (bs, OH), 1.46 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H)

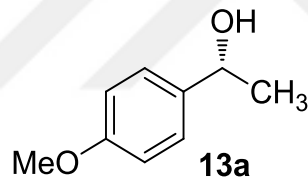
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ= 159.7, 147.6, 129.5, 117.7, 112.8, 110.9, 70.2, 55.2, 25.1;

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = -8.9$ (c 0.9, CHCl₃)

Enantiyomerik aşırılık: %15

HPLC analizi: HPLC, Kiral OD-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 95:5, akış hızı 0.8mL/dk, 210 nm, alıkonma zamanı (*S*) 20.18 dk, (*R*) 17.53 dk (Şekil 31).

(*R*)-1-(4-metoksifenil) ethanol (Singh, & Chopra, 2016)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 7.30-7.27 (m, 2H), 6.89-6.85 (m, 2H), 4.83 (q, *J* = 6.4 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 2.11 (bs, OH), 1.46, (d, *J* = 6.5 Hz, 3H)

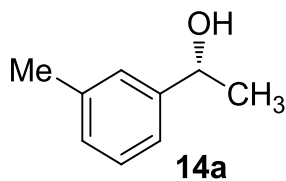
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ= 158.9, 138.0, 126.7, 113.8, 69.9, 55.3, 25.0

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = -18.5$ (c 1.0, CHCl₃)

Enantiyomerik aşırılık: %30

HPLC analizi: HPLC, Kiral OD-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 95:5, akış hızı 0.8mL/dk, 220 nm, alıkonma zamanı (*S*) 17.65 dk, (*R*) 15.79 dk (Şekil 41).

(*R*)-1-(3-metilfenil) ethanol (Yılmaz, Şahin, & Dertli, 2017)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 7.25-7.09 (m, 4H), 4.84 (q, *J* = 6.4 Hz, 1H), 3.38 (s, 3H), 2.20 (bs, OH), 1.46 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H)

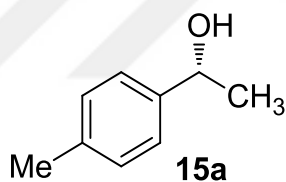
¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ=145.8, 138.1, 128.4, 128.2, 126.1, 122.4, 70.4, 25.1, 21.5;

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = +56.9$ (c 0.6, CHCl₃)

Enantiyomerik aşırılık: %93

HPLC analizi: HPLC, Kiral OD-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 97:3, akış hızı 1mL/dk, 210 nm, alıkonma zamanı (S) 14.79 dk, (*R*) 11.81 dk (Şekil 34).

(*R*)-1-(4-metilfenil)ethanol (Şahin, 2017b)



¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ= 8.10-8.14 (m, 2H), 7.51-7.48 (m, 2H), 5.00-4.94 (m, 1H), 2.75 (bs, OH), 1.47 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H)

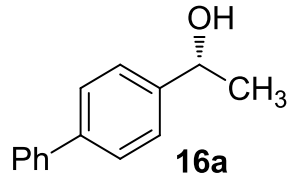
¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃) δ= 153.3, 147.0, 126.1, 123.7, 69.4, 25.4;

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = +43.5$ (c 0.5, CHCl₃)

Enantiyomerik aşırılık: %72

HPLC analizi: HPLC, Kiral AS-H kolon, hekzan/*i*-PrOH, 95:5, akış hızı 1mL/dk, 220 nm, alıkonma zamanı (S) 9.15 dk, (*R*) 8.37 dk (Şekil 45).

(*R*)-1-(*p*-biphenyl)ethanol (Şahin, 2017b)



¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ = 7.63-7.60 (m, 4H), 7.49-7.45 (m, 4H), 7.40-7.36 (m, 1H), 4.95 (qd, *J* = 6.4, 2.9 Hz, 1H), 2.24 (bs, OH: exchanges with D₂O), 1.56 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H)

¹³C-NMR (100 MHz, CDCl₃) δ = 144.9, 140.9, 140.4, 128.8, 127.3, 127.3, 127.1, 125.9, 70.1, 25.2;

Çevirme açısı: $[\alpha]_{25}^D = +43.4$ (c 0.55, CH₂Cl₂)

Enantiyomerik aşırılık: % 87

HPLC analizi: HPLC, Kiral OD kolon, hekzan/*i*-PrOH, 90:10, akış hızı 0.6mL/dk, 220 nm, alıkonma zamanı (*S*) 17.87 dk, (*R*) 19.25 dk (Şekil 36).

BEŞİNCİ BÖLÜM

Sonuç, Tartışma ve Öneriler

Sonuç

Bu çalışma, güvenli bir laktik asit bakteri suşu olan *Lactobacillus senmaizukei*'nin asimetrik biyoindirgenme reaksiyonları için bir tam hücre biyokatalizörü olarak kullanılma potansiyelinin olduğu gösterilmiştir. Tam hücre biyokatalizörlerinin biyoindirgenme reaksiyonları için önemli bir gelişme olarak, kültür koşullarının pH, sıcaklık, inkübasyon süresi ve çalkalama hızı açısından ee (%) ve cr (%) üzerindeki etkileri RSM uygulamasıyla optimize edilmiştir. % ee ve % dönüşüm için optimize şartlar; pH 4.79, sıcaklık 25 °C, inkübasyon süresi 70 saat, çalkalama hızı 100 rpm olarak belirlenmiştir. Bu optimize şartlarda ee değeri %90.3'e kadar yükselmiş, dönüşüm ise %99 olarak elde edilmiştir. Bulgularımız sadece her parametrenin önemini ortaya koymakla kalmadı, aynı zamanda bu parametrelerin ee (%) ve cr (%) değerleri üzerindeki etkileşimli ve ikinci dereceden etkilerini de göstermektedir. Daha da önemlisi, test edilen parametreler, farklı parametrelere bağlı olarak ee ve cr değerlerini etkilediği görülmektedir. *Lactobacillus senmaizukei* için RSM ile optimize edilmiş koşullar; pH 5.25, sıcaklık 25°C, 72 saat inkübasyon süresi ve 100 rpm karıştırma hızı olarak belirlendi. Bu bulgular, biyoindirgenme reaksiyonlarında tüm hücre uygulamaları için optimizasyonun önemini ortaya çıkardığı için oldukça önemlidir. Optimize şartlar altında asetofenonun türevlerinin indirgenmesi gerçekleştirilmiştir ve asetofenon türevleri %12'den % 94'e kadar değişen enantiyofazlalıklarda elde edilmiştir.

Tartışma

Asetofenon'un (R) veya (S)-1-feniletanol'e biyoindirgenmesi, organik kimyada önemli bir reaksiyondur ve asetofenon türevleri, farmasötik olarak önemli birçok bileşiğin üretimi için önemli kaynaklar olarak kullanılabilir (Mandal, Ahmad, Khan, & Kumar, 2004). Benzer şekilde, biyoindirgenme için anahtar metotlardan birisi mikrobiyal hücrelerin tüm hücre kullanılmasıdır (Şahin, 2018). Şimdiye kadar, küf, maya ve bakteri gibi farklı kaynaklardan gelen farklı mikrobiyal suşlar, biyoindirgenme potansiyelleri açısından test edilmiş ve tam hücre biyokatalizörleri olarak çok etkili oldukları gösterilmiştir. Mikrobiyal hücrelerin tüm hücre uygulamaları temel olarak büyüyen hücrelerin sıcaklık, pH, inkübasyon süresi ve

karıştırma hızı gibi kültürel koşullarına bağlıdır ve en yüksek dönüşüm ve % ee değerlerini elde etmek için bu parametreler optimize edilmelidir.

Bu parametreler, hem indirgeme ortamındaki nihai bakteri seviyelerini etkileyebilir, bu da nihai enzimin üretimi ve enzim aktivitesi için önemli olabilir, hem de biyoindirgenme reaksiyonları için daha önemli olan seçiciliği etkileyebilir. Tablo 3, test edilen parametreler ve enantiyomerik fazlalık (ee) için deneysel tasarım matrisini ve test edilen her koşulda elde edilen dönüşüm oranı değerlerini göstermektedir. RSM yaklaşımındaki bağımsız değişkenler pH 4.5-7.5, inkübasyon sıcaklığı 25–40°C, inkübasyon süresi 24–96 saat ve karıştırma hızı 50–200 rpm reaksiyon şartları kullanılarak ee ve dönüşümler belirlendi. Örneğin deneysel çalışma 1'de, *Lactobacillus senmaizukei* ile asetofenonun biyoindirgenmesi için pH 3.5, 35 °C sıcaklık, 72 saatlik inkübasyon süresi ve 200 rpm çalkalama seviyesi için test edilen koşullar ve bu koşullar altında ee ve dönüşüm oranının sırasıyla %45 ve % 86 olduğu görülmüştür (Tablo 3). pH 4.5, 35 °C, 24 saat karıştırma hızı ve 200 rpm'de yapıldığında bu değerler %83 ve %88'e yükselmiştir. Genel olarak, dönüşüm oranı (cr) değerlerinin, bağımsız değişkenlerin bağımlı değişkenlere farklı etkilerinden kaynaklanabilecek farklı çalışmalarda ee değerlerine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Çolak, Şahin, Dertli, Yılmaz, & Taylan, 2019). Bağımsız değişkenlere göre ee ve cr değerlerindeki değişiklikleri ortaya çıkarma yeteneği, bizi doğrusal, etkileşimli ve kübik modeller yerine ikinci dereceden modeli seçmeye yöneltmiştir. Buna göre Tablo 5 değişkenlerinin yanıtlar üzerindeki etkisini modellemek için en iyi tahmin performansının kübik modelle elde edilebileceğini göstermektedir. Maksimum belirleme katsayısı (R_2), ayarlanmış belirleme katsayısı (R_2), mutlak tahmini belirleme katsayısı (R_2) ve ayrıca diğer modellere göre çok düşük p değerleri ile sonuçlanmıştır.

Tablo 4. *Ee ve cr yanıtları için RSM deneysel tasarım modeli istatistikleri ve Anova analizleri*

Kaynak (EE/CR)	Std. sapma	R ²	R ² _{adj}	R ² _{pre}	F değeri	p-değeri	Press	Remarks
Linear	0.24 / 0.29	0.1436 / 0.1110	0.0066 / -0.0312	-0.3377 / -0.3860	0.073 / 0.78	0.4025 / 0.5485	2.29 / 3.17	
2FI	0.27 / 0.32	0.1960 / 0.1675	-0.2272 / -0.2707	-1.2817 / -0.9546	0.098 / 0.21	0.9706 / 0.9675	3.91 / 4.47	
Quadratic	0.23 / 0.28	0.5207 / 0.4971	0.0734 / 0.0277	-1.7607 / -1.8967	0.082 / 2.46	0.0832 / 0.0905	4.73 / 6.62	Suggested
Cubic (Backwards)*	0.08 / 0.24	0.9742 / 0.8199	0.8931 / 0.2538	N / A	0.022 / 1.57	0.0009 / 0.2834	6.36 / 59.26	Aliased
Source	Katsayı Tahmini	Karelerin toplamı	Serbestlik derecesi	Karelerin ortalaması	F değeri	p-değeri		
Model (intercept)	0.85 / 1.26	1.67 / 1.60	21 / 9	0.079 / 0.18	13.8 / 5.22	0.0004 / 0.0010		
X ₁ -pH	0.035 / -6.54×10 ⁻³	0.010 / 1.03×10 ⁻³	1 / 1	0.010 / 1.03×10 ⁻³	1.75 / 0.030	0.2223 / 0.8641		
X ₂ -sıcaklık	-0.12 / -0.028	0.12 / 0.019	1 / 1	0.12 / 0.019	21.5 / 0.56	0.0017 / 0.4633		
X ₃ -inkübasyon süresi	0.20 / 0.30	0.31 / 0.72	1 / 1	0.31 / 0.72	54.6 / 21.05	0.0001 / 0.0002		
X ₄ -karıştırma hızı	0.079 / -0.070	0.049 / 0.12	1 / 1	0.049 / 0.12	8.60 / 3.43	0.0189 / 0.0790		
X ₁ X ₂	-0.017 / ---	4.86×10 ⁻³ / ---	1 / ---	4.86×10 ⁻³ / ---	0.85 / ---	0.3847 / ---		
X ₁ X ₃	-0.023 / 6.82×10 ⁻³	8.42×10 ⁻³ / 7.43×10 ⁻³	1 / 1	8.42×10 ⁻³ / 7.43×10 ⁻³	1.46 / 0.22	0.2608 / 0.8842		
X ₁ X ₄	-0.012 / ---	2.16×10 ⁻³ / ---	1 / ---	2.16×10 ⁻³ / ---	0.38 / ---	0.5566 / ---		
X ₂ X ₃	-0.048 / ---	0.036 / ---	1 / ---	0.036 / ---	6.34 / ---	0.0360 / ---		
X ₂ X ₄	0.016 / ---	3.95×10 ⁻³ / ---	1 / ---	3.95×10 ⁻³ / ---	0.69 / ---	0.4311 / ---		
X ₃ X ₄	-0.046 / ---	0.034 / ---	1 / ---	0.034 / ---	5.88 / ---	0.0415 / ---		
X ₁ ²	0.017 / 0.057	7.47×10 ⁻³ / 0.091	1 / 1	7.47×10 ⁻³ / 0.091	1.30 / 2.68	0.2871 / 0.1173		
X ₂ ²	-0.023 / 0.061	0.014 / 0.10	1 / 1	0.014 / 0.10	2.45 / 3.01	0.1560 / 0.0982		
X ₃ ²	-0.098 / -0.12	0.26 / 0.43	1 / 1	0.26 / 0.43	45.6 / 12.59	0.0001 / 0.0020		
X ₄ ²	0.084 / ---	0.19 / ---	1 / ---	0.19 / ---	33.8 / ---	0.0004 / ---		
X ₁ X ₂ X ₃	0.044 / ---	0.031 / ---	1 / ---	0.031 / ---	5.33 / ---	0.0498 / ---		
X ₁ X ₂ X ₄	-0.11 / ---	0.18 / ---	1 / ---	0.18 / ---	32.1 / ---	0.0005 / ---		
X ₁ X ₃ X ₄	0.045 / ---	0.033 / ---	1 / ---	0.033 / ---	5.76 / ---	0.0432 / ---		
X ₁ ² X ₂	0.071 / ---	0.027 / ---	1 / ---	0.027 / ---	4.73 / ---	0.0614 / ---		
X ₁ ² X ₃	-0.23 / -0.34	0.29 / 0.63	1 / 1	0.29 / 0.63	50.01 / 18.60	0.0001 / 0.003		
X ₁ ² X ₄	-0.17 / ---	0.15 / ---	1 / ---	0.15 / ---	25.5 / ---	0.0010 / ---		
X ₁ X ₂ ²	-0.11 / ---	0.065 / ---	1 / ---	0.065 / ---	11.4 / ---	0.0098 / ---		
Artık	0.046 / 0.68		8 / 20	5.75×10 ⁻³ / 0.034				
Artık kalıntı	0.046 / 0.68		3 / 15	0.015 / 0.046		not significant		
Saf hata	0.000 / 0.000		5 / 5	0.000 / 0.000				
Cor toplam	1.71 / 2.28		29 / 29					
Standart sapma	0.076 / 0.18							
Ortalama	0.83 / 1.25							
C.V. %	9.14 / 14.73							
Yeterli hassasiyet	19.73 / 13.07							

*Aşamalı regresyon ile bulunan terimler, geriye doğru eleme prosedürü uygulanarak seçilen kübik modelden çıkarıldı.

* 1.000 kaldıraçlı durumlar: Pres istatistikleri belirtilmemiştir.

Öte yandan, model tam kübik modelle yeterince ifade edilemedi; bu nedenle önemsiz terimler, geriye dönük eleme regresyon (BER) metodu kullanılarak elimine edildi. BER prosedürü, anlamlı olmayan etkileşimi ve ikinci dereceden etkileri kaldırarak ve sadece $p < 0.01$, $p < 0.05$ ve $p < 0.1$ seviyelerinde önemli olan faktörleri seçerek indirgenmiş modeli oluşturmamızı sağladı. Ee ve cr değerlerinin gerçek değerler cinsinden açıklaması için indirgenmiş kübik denklemler aşağıda gösterildiği gibi verilmiştir.

Logit Y (Enantiomeric excess, %)

$$\begin{aligned}
 &= \text{Ln}[(\text{ee} (\%) + 0.00)/(100.00 - \text{ee} (\%))] \\
 &= 280.8 - 81.8X_1 - 7.5X_2 - 1.10X_3 - 0.81X_4 \\
 &+ 1.39X_1X_2 + 0.58X_1X_3 + 0.23X_1X_4 - 0.01X_2X_3 \\
 &+ 0.01X_2X_4 - 1.22 \times 10^{-3}X_3X_4 + 5.44X_1^2 + 0.11X_2^2 \\
 &- 1.07 \times 10^{-3}X_3^2 + 1.76 \times 10^{-4}X_4^2 + 1.80 \times 10^{-3}X_1X_2X_3 \\
 &- 1.95 \times 10^{-3}X_1X_2X_4 + 1.88 \times 10^{-4}X_1X_3X_4 \\
 &- 0.06X_1^2X_3 - 0.02X_1^2X_4 - 0.02X_1X_2^2
 \end{aligned}$$

(8)

Logit Y (Conversion rate (%))

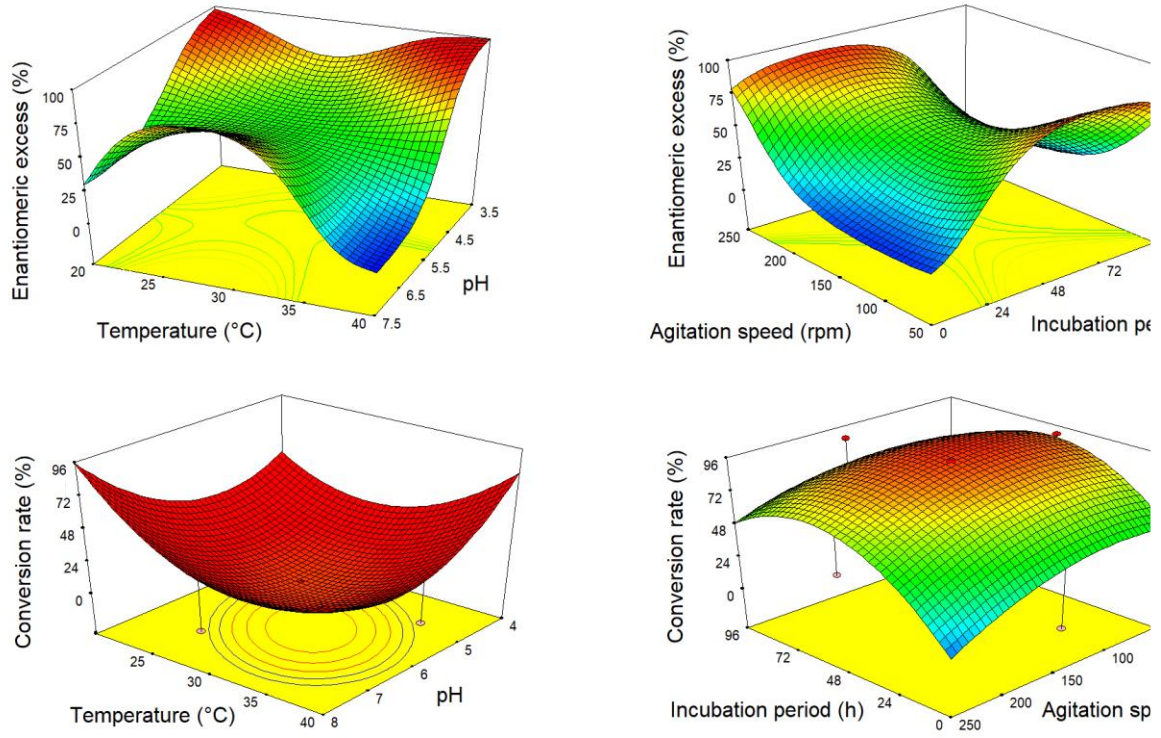
$$\begin{aligned}
 &= \text{Ln}[(\text{cr} (\%) + 0.00)/(100.00 - \text{cr} (\%))] \\
 &= 143.8 - 53.2X_1 - 2.64X_3 - 9.21 \times 10^{-3}X_4 \\
 &+ 1.03X_1X_3 + 4.84X_1^2 - 1.38 \times 10^{-3}X_3^2 - 0.09X_1X_2X_3
 \end{aligned}$$

(9)

Yanıtları modellemek ve optimize etmek için, üçüncü dereceden polinom denklemleri (8) ve (9) kullanıldı. Bu nedenle literatürde kübik modelin yeterli kullanılabileceği iyi bilinen araştırma örnekleri vardır (Sohrabi, & Akhlaghian, 2016a). Tablo 4, merkezi bileşik model istatistiklerini ve çok düşük olasılıklara sahip F-testi değerlerini ($p < 0.0004$ ve 0.001) göstermektedir, bu da modellerin sonuçları tahmin etme yeterliliğinin yüksek olduğunu ve bağımsız değişkenlerin anlamlı kombinasyonlara sahip olduğunu göstermektedir. İndirgenmiş kübik model, diğer modellere göre maksimum katsayı belirleme (R_2), düzeltilmiş katsayı belirleme (R_2) ve en düşük standart sapmalara sahiptir. Uyum eksikliği değerleri önemsiz olmalıdır ve bu çalışmada bunların anlamlı olmadığı görülmüştür, bu da modelin iyi bir öngörülebilirliğe sahip olduğu anlamına gelmektedir. Sonuç olarak, küçültülmüş kübik polinom modeli, bağımsız değişkenlerin, belirlenen deneysel aralıktaki bağımlı değişkenler üzerindeki etkilerini açıklamaya yeterli görünmüştür (Sohrabi, & Akhlaghian, 2016b). Her iki model için belirleme katsayıları 0,9742 ve 0,8199 olarak belirlenmiş olup, deneysel ve tahmin edilen sonuçlar arasında tanımlayıcı bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Yeterli hassasiyet,

öngörülen cevabın ölçüm mesafesi cinsinden sinyalin gürültüye oranını gösteren bir göstergedir ve bu değerin 4'ten büyük olması istenir.

Çalışmamızda Tablo 4 'den de görülebileceği gibi, yeterli düzeltme değerlerinin 19.73 ve 13.07 olması ve bu değerlerin 4'ün üzerinde olması modellerin tasarım alanında kullanılabileceğini doğrulamaktadır. Ayrıca iki model için varyans katsayısı (% CV), tasarımın güvenilirliğini ve tekrarlanabilirliğini gösteren düşük değerler olan 9 ve 14 olarak belirlenmiştir. Yanıtlar üzerindeki doğrusal, etkileşim ve ikinci dereceden etkiler arasındaki ilişkiler Tablo 4 ile sunulan Anova sonuçlarıyla ortaya çıkarılmıştır. Her bir varyans kaynağı 0.05'ten düşük p değerlerine sahiptir ve bu faktörlerin (işleme değişkenleri) bazı doğrusal, etkileşim ve ikinci dereceden etkilerinin ee ve cr değerlerini önemli ölçüde değiştirdiğini gösterdi. İki yanıt için kullanılan RSM modellerinin F değerleri 13.8 ve 5.22 dir ve modellerin önemini göstermektedir. Anlamlı olmaması beklenen uyumsuzluk F değerleri, saf hataya göre önemsizdir. Tablo 4 'ten, doğrusal terimler [sıcaklık (X_2), inkübasyon süresi (X_3) ve çalkalama hızı (X_4)], etkileşim terimleri [sıcaklık inkübasyon süresi (X_2X_3) ve inkübasyon periyodu, karıştırma hızı (X_3X_4)] ve ikinci dereceden terimler [kuluçka süresi X_3^2 ve çalkalama hızı (X_4^2)], daha yüksek F değerleri ve düşük p değerleri ile gösterildiği gibi, ee değerleri üzerinde önemli etkilere sahiptir. Bazı doğrusal ve ikinci dereceden terimlerin de cr değerleri üzerinde önemli etkileri olmuştur. Şekil 20, bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren üç boyutlu grafikleri ve yansıtılan kontur çizimleri pH, sıcaklık, inkübasyon süresi ve çalkalama hızını temsil etmektedir.



Şekil 20. Bağımsız değişkenlerin seçicilik ve dönüşüm üzerine etkileri.

pH'in etkisi net değildir; bununla birlikte, ee değerlerinin sıcaklık seviyelerindeki artışla azaldığı görülmüştür. İnkübasyon süresinin etkisi ile ilgili olarak, inkübasyon süresi arttıkça ee ve cr değerlerini artırmıştır. Çalkalama hızı, ee değerlerini arttırmada açık bir etkiye sahiptir, çalkalama hızı arttıkça cr değerlerinin azaldığı gözlenmiştir. Enantiyomerik fazlalık ve dönüşümü maksimize etmek için bağımsız değişkenler, eşzamanlı olarak çoklu yanıt optimizasyon tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Tablo 5. 'deki veriler enantiyomerik fazlalığın ve dönüşüm oranının maksimizasyonu için en çok arzu edilen değeri ($D=0.942$) elde etmek ve tanımlanan faktör değerlerini göstermektedir.

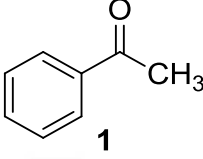
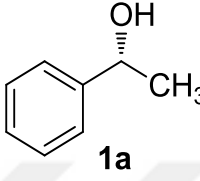
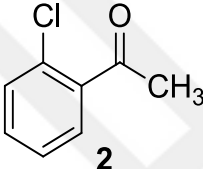
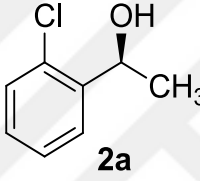
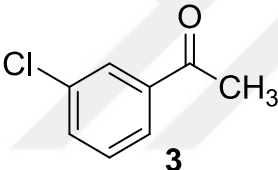
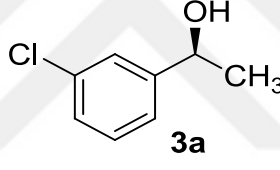
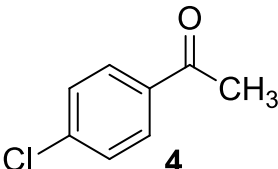
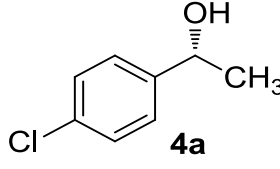
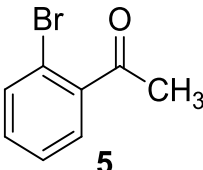
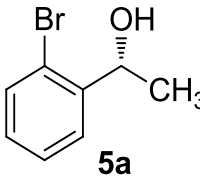
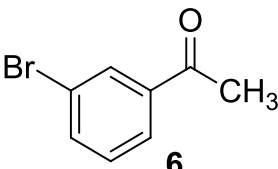
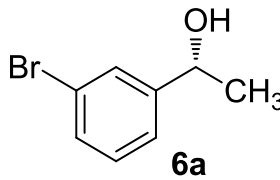
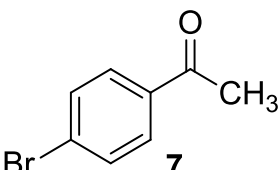
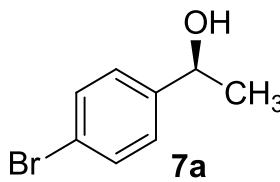
Tablo 5. Hesaplanan optimum ee ve dönüşüm değerleri

	Bağımsız Değişkenler				Yanıtlar		İstenen Değer
	pH	Sıcaklık (°C)	İnkübasyon Süresi	Çalkalama Hızı (rpm)	EE (%)	CR (%)	
Optimizasyon							
Maksimum	5.25	25	72	100	90.0	98.4	0.942

Bu çalışmada, maksimum ee ve cr elde etmek için pH 5.25, 25 °C sıcaklık, 72 saat inkübasyon süresi ve 100 rpm karıştırma hızına reaksiyon şartlarında ee'nin %90 ve dönüşümün %98.4 olduğu elde edilmiştir. Tahmin edilen kültür parametreleri test edildi ve bu

koşullar altında, ee ve cr değerlerinin sırasıyla %79 ve %94 olduğu gözlemlendi. Bu da modelin karşılaştırılabilir olduğunu ve deneysel verilerin cr ve ee değerleri ile uyumlu olduğunu göstermektedir. Tüm bu bulgular, bir tam hücre biyokatalizörü kullanarak biyoindirgenme reaksiyonları için en yüksek ee ve cr değerlerini elde etmek için optimizasyon sürecinin önemini ortaya koymaktadır. Bu optimizasyon şartları altında asetofenon türevlerinin asimetrik indirgenmesi gerçekleştirildi (Tablo 5).

Tablo 6. Asetofenon ve türevlerinin asimetrik indirgenmesi

Deney	Substrat	Ürün	ee (%) ^a	Dönüşüm (%) ^b	Verim (%) ^c
1	 1	 1a	79 (R)	94	90
2	 2	 2a	69 (S)	92	87
3	 3	 3a	54 (S)	87	82
4	 4	 4a	49 (R)	97	91
5	 5	 5a	76 (R)	56	51
6	 6	 6a	52 (R)	75	68
7	 7	 7a	12 (S)	95	90

8			14 (R)	67	58
9			88 (S)	99.9	95
10			28 (R)	95	89
11			49 (R)	79	69
12			14 (S)	97	91
13			30 (R)	91	83
14			94 (R)	99	92
15			72 (R)	97	89
16			88 (R)	95	88

^a enantiyomerik aşırılık kiral HPLC ile belirlendi, konfigürasyon ise çevirme açılarının literatür verileriyle karşılaştırılarak belirlendi, ^b dönüşümler kiral HPLC ile belirlendi, ^c izole verim

Asetofenonun türevlerinin asimetrik indirgenmeleri incelendiğinde, elektron çeken grup olan brom ve klor gibi halojenlerde halojenin reaksiyon merkezinden uzaklaştıkça seçiciliğin düştüğü ve reaksiyon reaktivitesinin ise arttığı görülmektedir (Tablo 6, deney 2-7). Bu da bu grupların sterik ve elektronik olarak seçiciliği etkilediğini göstermektedir. Örneğin sterik olarak daha hacimli olan brom atomunun orto pozisyonunda olduğu asetofenon türevinde görülen seçiciliğin, orto pozisyonundaki klor fonksiyonel grubuna göre daha fazla olduğu görülmektedir (Tablo 6, deney 5). Bu da brom atomunun sterik olarak seçiciliğe olan etkisini göstermektedir. Güçlü elektron çekici grup olan nitro fonksiyonel grubu meta pozisyonunda olduğunda seçicilik (%88 ee) ve reaktivitenin (%99.9) arttığı gözlenmiştir. Enantiyoseçici reaksiyonda S konfigürasyona sahip ürün oluşmuştur (Tablo 6, deney 9). Orto ve para pozisyonunda olduğu durumlarda seçiciliğin (%14 ee, %28 ee) keskin bir şekilde düştüğü belirlenmiştir (Tablo 6, deney 8,10). Elektron verici gruplar metil ve metoksi karşılaştırıldığında ise 3-metilasetofenon substratı ile en yüksek seçicilik (%94) ve (%99) dönüşüm elde edilmiştir (Tablo 6, deney 14). Elektron sağlayan metoksi grubunun olduğu substratlarda enantiyomerik aşırılıkların düşük, dönüşümlerin ise yüksek olduğu görülmektedir. 4-fenil asetofenon türevi ise yüksek seçicilik (%88 ee) ve dönüşüm (%95) ile ilgili sekonder alkole indirgenmiştir (Tablo 6, deney 16). Elde edilen kiral sekonder alkollerin konfigürasyonları ise substratın benzen halkasındaki pozisyonuna göre değişmektedir. Bu da muhtemelen substratların enzimin aktif merkezi ile farklı bir şekilde etkileşerek konfigürasyonlarının değiştiği anlamına gelmektedir.

Öneriler

Bu çalışma ile *Lactobacillus senmaizukei* biyokatalizörünün asimetrik indirgenmede kullanılabilecek önemli bir katalizör olduğu ve farklı substratların asimetrik indirgenmesinde de kullanılabileceği gösterilmiştir. Bulgularımız sadece her bir parametrenin önemini ortaya koymakla kalmamış, aynı zamanda bu parametrelerin ee ve dönüşüm değerleri üzerindeki etkileşimli ve karesel etkilerini de göstermiştir. Önemli olarak, test edilen parametreler farklı parametrelere bağlı olarak ee ve dönüşüm değerlerini etkilemiştir. Bu bulgular, biyo-indirgeme reaksiyonu için tüm hücre uygulamalarının optimizasyonun önemini ortaya çıkardığından önemlidir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar farklı substratların asimetrik indirgenmesine ışık tutacaktır. Bu biyokatalizör RSM optimizasyon stratejisi kullanılarak farklı substratların asimetrik indirgenmesinde kullanılabilirliğini göstermektedir. Laboratuvar ölçeğinde yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar kullanılarak daha büyük ve endüstriyel ölçekte üretim

yapmak mümkün olabilir. Elde edilen bu sonuçlar bu bakteri suşunun farklı prokiral ketonların asimetrik indirgenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir.



Kaynakça

- Acar, M. (2013). *Mandalina (Citrus reticulata) meyvesinden saflaştırılan beta-glukosidaz enziminin nanopartiküllere immobilizasyonu ve meyve suyu aroma arttırma etkisi* (Yüksek lisans tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi. (Tez No. 337168)
- Agustian, J., Kamaruddin, A. H., & Bhatia, S. (2010). Single enantiomeric β -blockers—The existing technologies. *Process Biochemistry*, 45(10), 1587-1604. <https://doi.org/10.1016/j.prochio.2010.06.022>
- Akseli, I., Mani, G. N., & Cetinkaya, C. (2008). Non-destructive acoustic defect detection in drug tablets. *International journal of pharmaceutics*, 360(1-2), 65-76. doi: 10.1016 / j.ijpharm.2008.04.019
- Anjum, M. F., Tasadduq, I., & Al-Sultan, K. (1997). Response surface methodology: A neural network approach. *European Journal of Operational Research*, 101(1), 65-73. doi: /10.1080/03610920008832604
- Atkins, R. C., & Carey, F. A. (1997). *Organic Chemistry*. (1.Baskı). New York: The McGraw-Hill Publisher
- Babaarslan, Ç. (2008). *Biyokatalitik Olarak Enantiyoseçimli α -Hidroksi Keton Üretim Prosesinin Geliştirilmesi* (Yayımlanmamış doktora tezi). Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye.
- Banga, J. R., Balsa-Canto, E., Moles, C. G., & Alonso, A. A. (2003). Improving food Processing using modern optimization methods. *Trends in food science & Technology*, 14(4), 131-144. doi :10.1016 / s0924-2244 (03) 00048-7
- Blaschke, G. (1980). Chromatographic Resolution of Racemates. New analytical methods. *Angewandte Chemie International Edition in English*, (17). 19(1), 13-24. <https://doi.org/10.1002/anie.198000131>
- Binay, B. (2012). *Endüstriyel Uygulamalar İçin Yeni Biyokatalizörlerin Geliştirilmesi* (Doktora Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi. (Tez No. 332999)
- Box, G. E., & Draper, N. R. (1987). *Empirical model-building and response surfaces* [e-kitap sürümü] <https://psycnet.apa.org/record/1987-97236-000>
- Box, G. E., & Wilson, K. B. (1951). On the experimental attainment of optimum conditions. *Journal of the royal statistical society: Series b (Methodological)*, 13(1), 1-38. doi: 10.12691/ajfn-6-4-3.
- Chen, H., Iwasaki, M., & Takeda, H. (2004). Development of a baker's garlic seed bulb cluster separator using response surface methodology. *American Society of Agricultural and Biological Engineers*. doi: 10.13031/2013.16155
- Chua, Lee, S., & Sarmidi, M. R. (2004). Immobilised lipase-catalysed resolution of (R, S)-1-phenylethanol in recirculated packed bed reactor. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 28(2-3), 111-119. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2004.02.004>
- Collins, A. M., & Kennedy, J. (1999). Biotransformations and bioconversions in New Zealand: past endeavours and future potential. *Australasian Biotechnology*, 9, 86-94.: <http://hdl.handle.net/1807/19753>
- Corzo, O., & Gomez, E. R. (2004). Optimization of osmotic dehydration of cantaloupe using desired function methodology. *Journal of Food Engineering*, 64:213-219. <http://dx.doi.org/0.12691 / ajfst-7-6-2>

- Çalışkan, İ. (2015). *Kiral katalizör yardımı ile enantiyomerik binol eldesi* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi. (Tez No. 406403).
- Çolak, N. S., Şahin, E., Dertli, E., Yilmaz, M. T., & Taylan, O. (2019). Response surface methodology as optimization strategy for asymmetric bioreduction of acetophenone using whole cell of *Lactobacillus senmaizukei*. *Preparative biochemistry & biotechnology*, 49(9), 884-890.
- Değirmencioğlu, A., & Yazgı, A. (2006). Tepki Yüzeyleri Metodolojisi "Optimizasyon Esaslı Çalışmalara İlişkin Teorik Esaslar ve Tarımsal Mekanizasyon Uygulamaları" *Tarım Makinaları Bilimi Dergisi* 2 (2), 111-115.
- Duran, N., De Conti, R., & Rodrigues, J. A. (2000). Biotransformations by microorganisms, organisms and enzymes: state of art. *Boletín de la Sociedad Chilena de Química*, 45(1), 109-121. <http://dx.doi.org/10.4067/S0366-16442000000100015>
- Dündar, A. (2011). *Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köftelerde heterosiklik aromatik aminlerin oluşumunun sınırlandırılmasında optimum tuz, askorbik asit ve yağ kullanım seviyelerinin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi. (Tez No. 286865).
- Erdélyi, B., Szabó, A., Seres, G., Birincsik, L., Ivanics, J., Szatzker, G., & Poppe, L. (2006). Stereoselective production of (S)-1-alkyl- and 1-arylethanol by freshly harvested and lyophilized yeast cells. *Tetrahedron: Asymmetry*, 17(2), 268-274. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2005.12.025>
- Eren, İ. (2004). *Patateslerin osmotik dehidrasyonunun "Response Surface" metodu kullanılarak optimizasyonu* (Yüksek Lisans Tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi. (Tez No. 149672).
- Eriksson, T., Bjoerkman, S., & Höglund, P. (2001). Talidomidin klinik farmakolojisi. *Avrupa Klinik Farmakoloji Dergisi*, 57, 365-376. doi: 10.1007 / s002280100320
- Genç, B., & Çelik, A. (2010). *Kiral Alkol Sentezine Yönelik Alkol Dehidrogenaz Merkezli Sistemlerin Geliştirilmesi* 24. Ulusal Kimya Kongresi, Karaelmas Üniversitesi Zonguldak.
- Ghanem, A., & Aboul-Enein. (2004). Lipase-mediated chiral resolution of racemates in organic solvents. *Tetrahedron:Asymmetry*, 15(21), 3331-3351. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2004.09.019>
- Gomes, A. M., & Malcata, F. X. (1998). Development of probiotic cheese manufactured from goat milk: response surface analysis via technological manipulation. *Journal of dairy science*, 81(6), 1492-1507. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75715-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75715-7)
- Daviglus, M. L., Bell, C. C., Berrettini, W., Bowen, P. E., Connolly Jr, E. S., Cox, N. J., & Trevisan, M. (2010). National Institutes of Health State-of-the-Science Conference statement: preventing Alzheimer disease and cognitive decline. *Annals of internal medicine*, 153(3), 176-181. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-153-3-201008030-00260>
- Gröger, H., Rollmann, C., Chamouleau, F., Sebastien, I., May, O., Wienand, W., & Drauz, K. (2007). Enantioselective reduction of 4-fluoroacetophenone at high substrate concentration using a tailor-made recombinant whole-cell catalyst. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 349(4-5), 709-712. doi: <https://doi.org/10.1002/adsc.200600606>
- Hage, A., Petra, D.G.I., Field, J.A., Schipper, D., Wijnberg, J.B.P.A., Kamer, P.C.J., Reek, J.N.H., Van Leeuwen, P.W.N.M., Waver, R., & Schoemaker, H.E, (2001). Asymmetric

reduction of ketones via whole cell bioconversions and transfer hydrogenation: complementary approaches, *Tetrahedron: Asymmetry*, 12,7, 1025-1034. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(01\)00172-0](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(01)00172-0)

- Hegazy, M. E. F., Mohamed, T. A., ElShamy, A. I., Abou-El-Hamd, H. M., Mahalel, U. A., Reda, E. H., & Abdel-Azim, N. S. (2015). Microbial biotransformation as a tool for drug development based on natural products from mevalonic acid pathway: a review. *Journal of advanced research*, 6(1), 17-33. doi: 10.1016/j.jare.2014.11.009
- Hutt, A. J., & Tan, S. C. (1996). Drug chirality and its clinical significance. *Drugs*, 52(5), 1-12. doi: 10.2165/00003495-199600525-00003
- Jaafar, L., León, M., & Zueco, J. (2003). Isolation of the MNN9 gene of *Yarrowia lipolytica* (YIMNN9) and phenotype analysis of a mutant ylmnn9Δ strain. *Yeast*, 20(7), 633-644. Doi: 10.1002/yea.990
- Janeczko, T., & Kostrzewa-Susłow, E. (2014). Enantioselective reduction of propiophenone formed from 3-chloropropiophenone and stereoinversion of the resulting alcohols in selected yeast cultures. *Tetrahedron: Asymmetry*, 25(18-19), 1264-1269. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2014.08.006>
- Johnson, E. A. (2013). Biotechnology of non-Saccharomyces yeasts—the ascomycetes. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(2), 503-517. doi: 10.1007/s00253-013-5046-z
- Karaca, E. Ö. (2018). “Yeni Schiff bazı bileşiklerinin sentezi ve yapılarının aydınlatılması”, *Politeknik Dergisi*, 21(1): 245-249. <https://doi.org/10.2339/politeknik.382621>
- Karnopp, A. R., Oliveira, K. G., de Andrade, E. F., Postingher, B. M., & Granato, D. (2017). Optimization of an organic yogurt based on sensorial, nutritional, and functional perspectives. *Food chemistry*, 233, 401-411.
- Kazıcı, H. Ç., & Mehmetoğlu, Ü. (2015). Enantiyomerik Olarak Saf Sekonder Alkollerin Üretiminde Bitki Biyokatalizörleri Kullanımı. *Gazi Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 30(1). <https://doi.org/10.17341/gummfd.39953>
- Kılıç, M., Bayraktar, E., Ateş, S., & Mehmetoglu, Ü. (2002). Investigation of extractive citric acid fermentation using response-surface methodology. *Process Biochemistry*, 37(7), 759-767. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(01\)00277-1](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00277-1)
- Kujovic A. (2016). *Biyolojik aktif bileşiklerde kiralitenin önemi*. Ankara Üniversitesi, Lisans araştırma projesi.
- Kurbanoglu, E. B., Zilbeyaz, K., Kurbanoglu, N. I., & Kilic, H. (2007). Enantioselective reduction of substituted acetophenones by *Aspergillus niger*. *Tetrahedron: Asymmetry*, 18(10), 1159-1162. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2007.05.017>
- Kurbanoglu, E. B., Zilbeyaz, K., Taskin, M., İzzet, N. (2010). *Penicillium expansum* Fungusu ile 3, 5-bis (trifluoromethyl)-acetophenone Ketonunun Asimetrik İndirgenmesiyle Emes Hastalığının Tedavisi İçin (R)-3, 5-bis(trifluoromethyl)phenyl ethanol'ün Total Üretimi. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Zonguldak.
- Kurbanoglu, E. B., Zilbeyaz, K., & Kurbanoglu, N. I. (2011). *Cryptococcus laurentii* as a new biocatalyst for the asymmetric reduction of substituted acetophenones. *Tetrahedron: Asymmetry*, 22; 345-350. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2011.01.014>
- Kong, M., & Lee, J. J. (2006). A generalized response surface model with varying relative potency for assessing drug interaction. *Biometrics*, 62(4), 986-995. doi: 10.1111/j.1541-0420.2006.00579.x

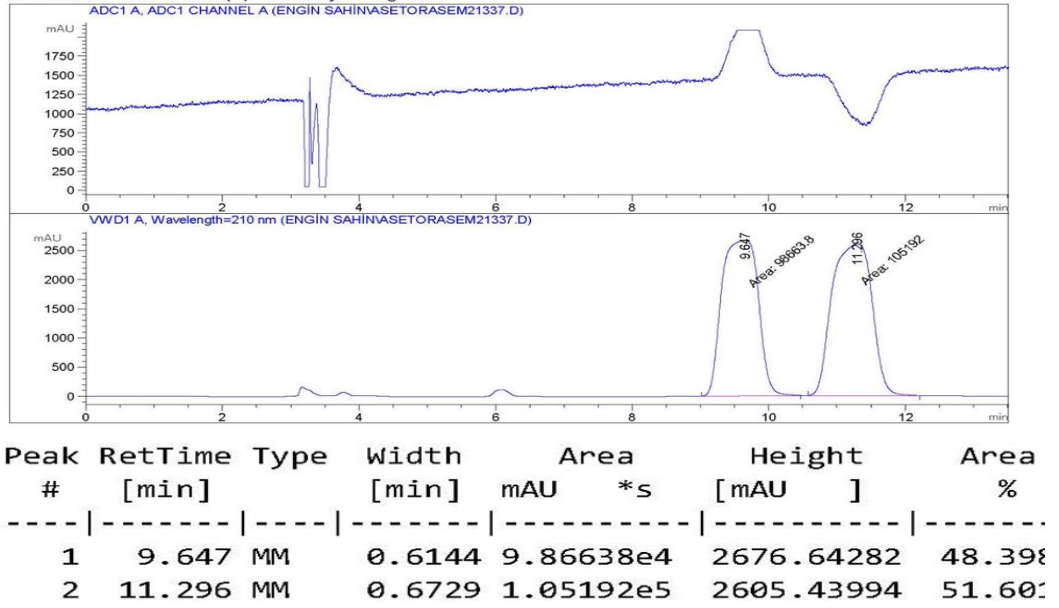
- Leresche, J. E., & Meyer, H. P. (2006). Chemocatalysis and biocatalysis (biotransformation): some thoughts of a chemist and of a biotechnologist. *Organic Process Research & Development*, 10(3), 572-58 <https://doi.org/10.1021/op0600308>
- Lund, I. T., Bøckmann, P. L., & Jacobsen, E. E. (2016). Highly enantioselective CALB-catalyzed kinetic resolution of building blocks for β -blocker atenolol. *Tetrahedron*, 72(46), 7288-7292. doi:10.1016/j.tet.2016.02.018
- Malyemez, A. S., Bayraktar, E., & Mehmetoğlu, Ü. (2017). Optimization of process parameters and kinetic modeling for the enantioselective kinetic resolution of (R, S)-2-pentanol. *Turkish Journal of Biochemistry*, 42(6), 600-608. <https://doi.org/10.1515/tjb-2016-0299>
- Mandal, D., Ahmad, A., Khan, M. I., & Kumar, R. (2004). Enantioselective Bioreduction of Acetophenone and Its Analogous by the Fungus *Trichothecium* sp. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 27, 61–63. doi: 10.1016/j.molcatb.2003.09.009.
- Mandwal, A. K., Tripathi, C. K. M., Trivedi, P. D., Joshi, A. K., Agarwal, S. C., & Bihari, V. (2004). Production of L-phenylacetyl carbinol by immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology letters*, 26(3), 217-221. doi: 10.1023/b:bile.0000013718.88453.f0
- March, S. & Michael, B. (2001). March's Advanced Organic Chemistry Reactions. *Mechanism and Structure*, 155-156, 147-150, 151-155. <https://doi.org/10.1021/op700136u>
- Maruotti, N., Cantatore, F. P., & Ribatti, D. (2006). Thalidomide in treatment of connective diseases and vasculities. *Reumatismo*, 187-190. <https://doi.org/10.4081/reumatismo.2006.187>
- Molinari, F., Gandolfi, R., Villa, R., & Occhiato, E. G. (1999). Lyophilised yeasts: easy-to-handle biocatalysts for stereoselective reduction of ketones. *Tetrahedron: Asymmetry*, 10(18), 3515-3520. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(99\)00379-1](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(99)00379-1)
- Myers, R. H., Khuri, A. I., & Carter, W. H. (1989). Response surface methodology: 1966–1988. *Technometrics*, 31(2), 137-157. <https://doi.org/10.1080/00401706.1989.10488509>
- Nakamura, F., & Dokai, T. (1989). Estimation of the effect of riparian forest on stream temperature based on heat budget. *Journal of the Japanese Forestry Society*, 71(10), 387-394. https://doi.org/10.11519/jjfs1953.71.10_387
- Nakamura, K., Yamanaka, R., Matsuda, T., & Harada, T. (2003). Recent developments in asymmetric reduction of ketones with biocatalysts. *Tetrahedron: Asymmetry*, 14(18), 2659-2681. [https://doi.org/10.1016/S0957-4166\(03\)00526-3](https://doi.org/10.1016/S0957-4166(03)00526-3)
- Nakamura, K., & Matsuda, T. (1998). Asymmetric Reduction of Ketones by the Acetone Powder of *Geotrichum candidum*. *The Journal of Organic Chemistry*, 63(24), 8957-8964. <https://doi.org/10.1021/jo9812779>
- Ong, A. L., Kamaruddin, A. H., Bhatia, S., Long, W. S., Lim, S. T., & Kumari, R. (2006). Performance of free *Candida antarctica* lipase B in the enantioselective esterification of (R)-ketoprofen. *Enzyme and microbial technology*, 39(4), 924-929. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2006.01.029>
- Özdemir, M. (2019). Yüzey pürüzlülüğü üzerinde kesme parametrelerinin etki oranlarının Yüzey Yanıt Yöntemi kullanarak analizi. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi* 7(3), 639-648. <https://doi.org/10.29109/gujsc.595722>

- Pereira-Pacheco, F., Robledo, D., Rodríguez-Carvajal, L., & Freile-Pelegrín, Y. (2007). Optimization of native agar extraction from *Hydropuntia cornea* from Yucatán, México. *Bioresource Technology*, 98(6), 1278-1284. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.05.016>
- Rachidi, N., Martinez, M. J., Barre, P., & Blondin, B. (2000). *Saccharomyces cerevisiae* PAU genes are induced by anaerobiosis. *Molecular microbiology*, 35(6), 1421-1430. doi: 10.1046/j.1365-2958.2000.01807.x
- Ren, X., Wei, S., & Du, H. (2015). Facile Development of Chiral Alkenylboranes from Chiral Diynes for Asymmetric Hydrogenation of Silyl Enol Ethers. *Organic Letters* 17, 990-993. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b00085>
- Rezzoug, S. A., Boutekedjiret, C., & Allaf, K. (2005). Optimization of operating conditions of rosemary essential oil extraction by a fast controlled pressure drop process using response surface methodology. *Journal of Food Engineering* 71(1), 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.044>
- Roller, D., & Ane, B. K. (2009). Geometric constraint modelling: Boundary planar B-spline curves and control polyhedra for 5-axes response surface graph. *Computer aided geometric design*, 26(5), 493-509. <https://doi.org/10.1016/j.cagd.2009.03.001>
- Rozenbaum, H. F., Patitucci, M. L., Antunes, O. A. C., & Pereira Jr, N. (2006). Production of aromas and fragrances through microbial oxidation of monoterpenes. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23(3), 273-279. doi: 10.1590/S0104-66322006000300001
- Serra, M. E. S., Murtinho, D., & Paz, V. (2017). Enantioselective ethylation of aldehydes with 1,3-N-donor ligands derived from (+)-camphoric acid. *Tetrahedron: Asymmetry*, 28(2), 381-386 doi: <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2009.12.012>
- Singh, A., & Chopra, H. K. (2016). New benzimidazolium-based chiral ionic liquids: synthesis and application in enantioselective sodium borohydride reductions in water. *Tetrahedron: Asymmetry*, 27(11-12), 448-453. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2016.04.004>
- Sohrabi, S., & Akhlaghian, F. (2016a). Modeling and Optimization of Phenol Degradation over Copper-Doped Titanium Dioxide Photocatalyst Using Response Surface Methodology. *Process Safety and Environmental*, 99, 120–128. doi: 10.1016/j.psep.2015. 10.016.
- Sohrabi, S., & Akhlaghian, F. (2016b). Surface Investigation and Catalytic Activity of Iron-Modified TiO₂. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 6, 93–102. doi:10.1007/s40097-015-0182
- Songür, R., & Mehmetoğlu, Ü. (2018). Rasemik propranololün biyokatalitik derasemizasyonuna ses ötesi dalga ve tepkime parametrelerinin etkisi. *Gazi Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 33(2), 575-584. <https://doi.org/10.17341/gazimmfd.416366>
- Snell, D., & Colby, J. (1999). Enantioselective hydrolysis of racemic ibuprofen amide to s-(+)-ibuprofen by *Rhodococcus* AJ270. *Enzyme and microbial technology*, 24(3-4), 160-163. doi: 10.1016/S0141-0229(98)00097-0
- Sokeirik, Y. S., Mori, H., Omote, M., Sato, K., Tarui, A., Kumadaki, I., & Ando, A. (2007). Synthesis of a fluorous ligand and its application for asymmetric addition of dimethylzinc to aldehydes. *Organic letters*, 9(10), 1927-1929. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ol070466n>

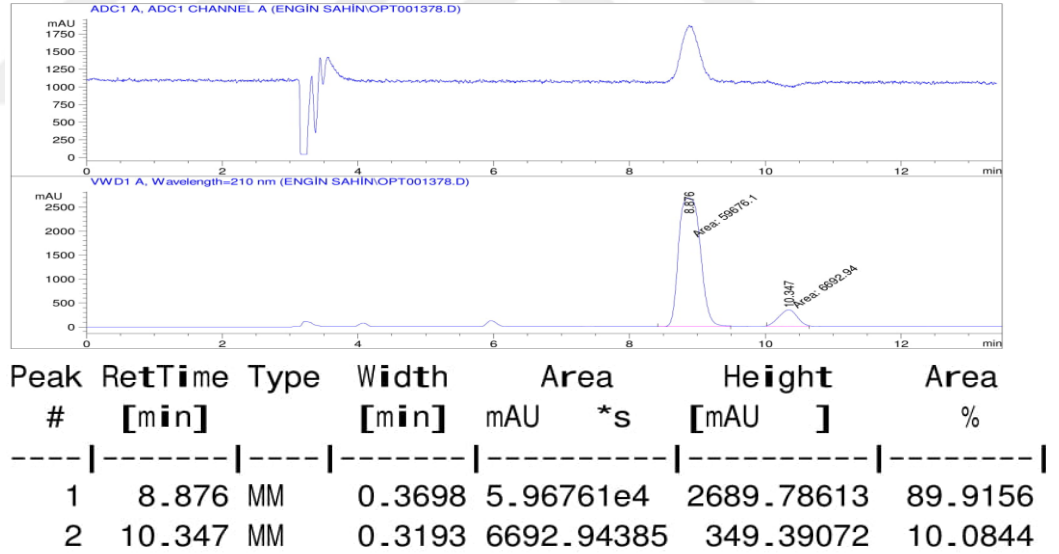
- Songür, R., (2019). *Biyokatalitik olarak enantiyomerik saflıkta β -bloker* üretimi. (Doktora tezi). Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi. (Tez No. 548849)
- Stinson, S. C. (1998). Counting on chirality. *Chemical & Engineering News*, 76(38), 83-104. <https://doi.org/10.1021/cen-v076n038.p083>
- Şahin, E. (2017). Debaryomyces hansenii as a new biocatalyst in the asymmetric reduction of substituted acetophenones. *Biocatalysis and Biotransformation*, 35(5), 363-371. <https://doi.org/10.1080/10242422.2017.1348500>
- Şahin, E. (2017b). Lactobacillus curvatus Suşu ile Asetofenon Türevlerinin Asimetrik İndirgenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(2), 285-308. <http://dx.doi.org/10.17714/gufbed.2017.07.019>
- Şahin, E. (2018). Production of (R)-1-(1, 3-benzodioxol-5-yl) ethanol in high enantiomeric purity by Lactobacillus paracasei BD 101. *Chirality*, 30(2), 189-194. <https://doi.org/10.1002/chir.22782>
- Şimşek, Y. (2018). Sulu Çözeltilerden Bakır (II) Adsorpsiyon sürecinin optimizasyonunda yüzey yanıt metodolojisinin uygulanması. *Akademik Platform Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 6(3), 182-191. <https://doi.org/10.21541/apjes.393848>
- Tang, F. H., Zhao, Y. J., & Tang, A. K. (2005). Presence of ectoparasitic trichodinids (*Ciliophora*, *Oligohymenophorea*, *Peritrichida*) on the gills of cultured freshwater fish, *Carassius auratus* in Chongqing, China, with the description of a new species of the genus *Trichodina*. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 30(1), 35-40.0.
- Tripathi, C. M., Agarwal, S. C., & Basu, S. K. (1997). Production of L-phenylacetylcarbinol by fermentation. *Journal of fermentation and bioengineering*, 84(6), 487-492. [https://doi.org/10.1016/S0922-338X\(97\)81900-9](https://doi.org/10.1016/S0922-338X(97)81900-9)
- Turan, M. D., & Altundoğan, H. S. (2011). Hidrometalurjik araştırmalarda yanıt yüzey yöntemlerinin (yyy) kullanımı. *Bilimsel Madencilik Dergisi*, 50(3), 11-23.
- Tunç, İ., Çalışkan, F., Özkan, G., & Karacabey, E. (2014). Mikrodalga destekli soxhlet cihazı ile fındık yağı ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu. *Akademik Gıda*, 12(1), 20-28.
- Yılmaz, D., Şahin, E., & Dertli, E. (2017). Highly enantioselective production of chiral secondary alcohols using Lactobacillus paracasei BD 101 as a new whole cell biocatalyst and evaluation of their antimicrobial effects. *Chemistry & biodiversity*, 14(11), e1700269. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201700269>
- Yin, Y., & Carter Jr, C. W. (1996). Incomplete factorial and response surface methods in experimental design: yield optimization of tRNATrp from in vitro T7 RNA polymerase transcription. *Nucleic acids research*, 24(7), 1279-1286. doi: 10.1093/nar/24.7.1279
- Williams, R. C., Riley, C. M., Sigvardson, K. W., Fortunak, J., Ma, P., Nicolas, E. C., Unger, S.E., Krahn, D.F. & Bremmer, S.L. (1998). Pharmaceutical Development and Specification of Stereoisomers *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 17, 917-924. [https://doi.org/10.1016/S0731-7085\(98\)00059-4](https://doi.org/10.1016/S0731-7085(98)00059-4)
- Wu, J. Y., & Liang, T.L. (1999). Enhancement of Enantioselectivity by Altering Alcohol Concentration for Esterification in Supercritical CO₂. *Journal of Chemical Engineering*, 32, 338- 340. <https://doi.org/10.1252/jcej.32.338>

Ekler

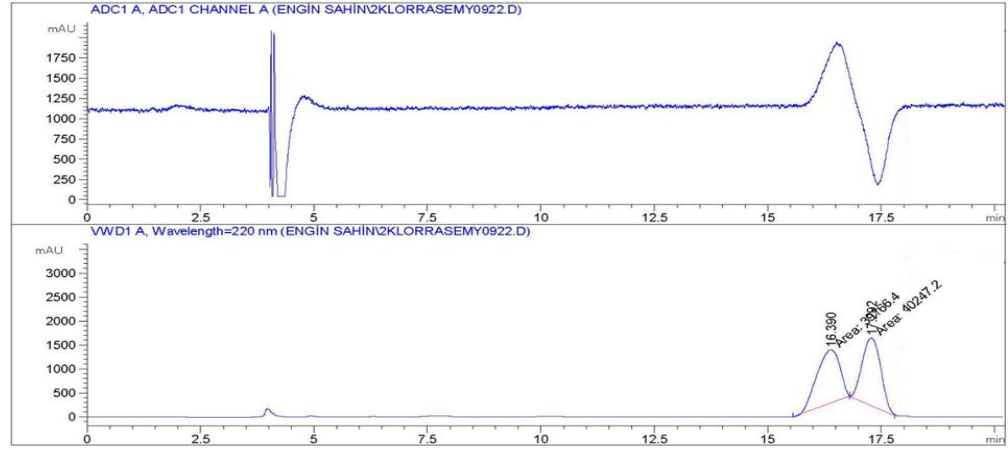
EK-1. HPLC Spektrumları



Şekil 21. Rasemik 1-fenil etanol'ün HPLC spektrumu

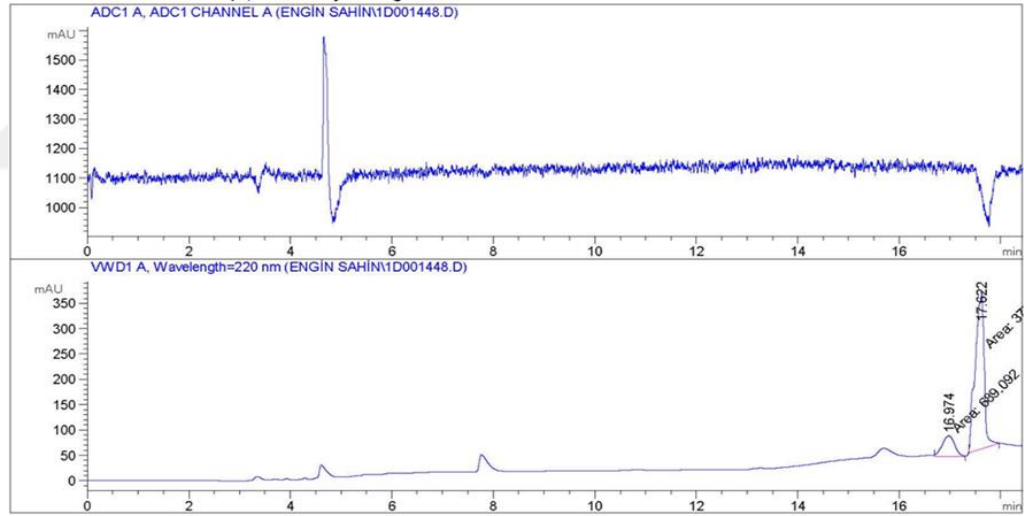


Şekil 22. (S)-(1-fenil) etanol (1a)'nın HPLC spektrumu.



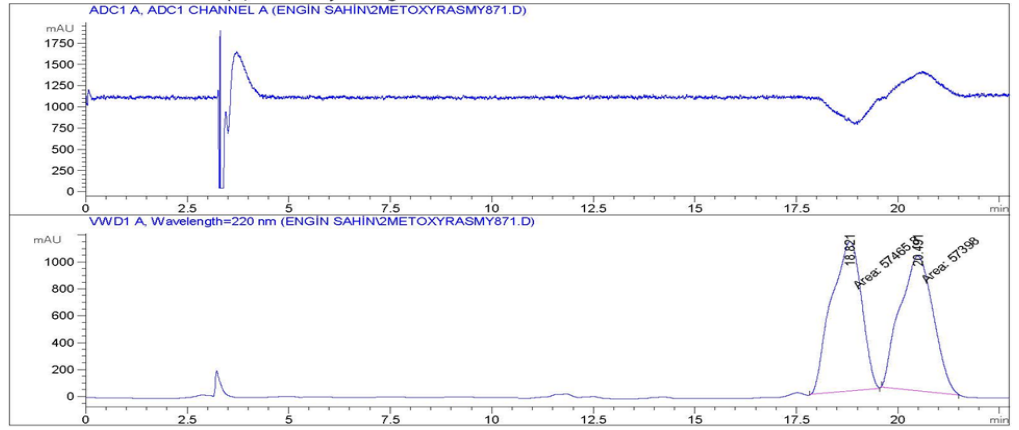
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU	Height [mAU]	Area %
1	16.390	MM	0.5892	3.91664e4	1107.89429	49.3195
2	17.292	MM	0.4750	4.02472e4	1412.07715	50.6805

Şekil 23. Rasemik-(2-klorofenil) etanol'ün HPLC spektrumu.



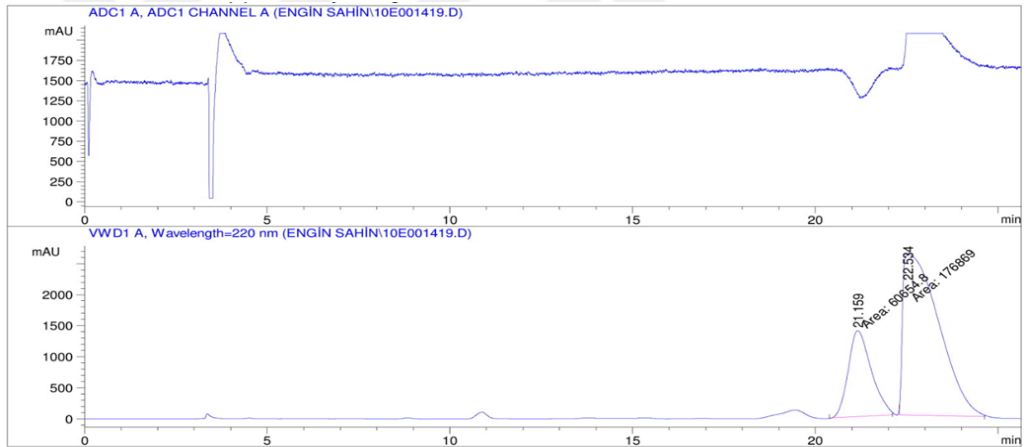
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU	Height [mAU]	Area %
1	16.974	MM	0.2823	689.09192	40.68922	15.4203
2	17.622	MM	0.2024	3779.63257	311.30630	84.5797

Şekil 24. (S)-(2-klorofenil) etanol (2a)'nın HPLC spektrumu.



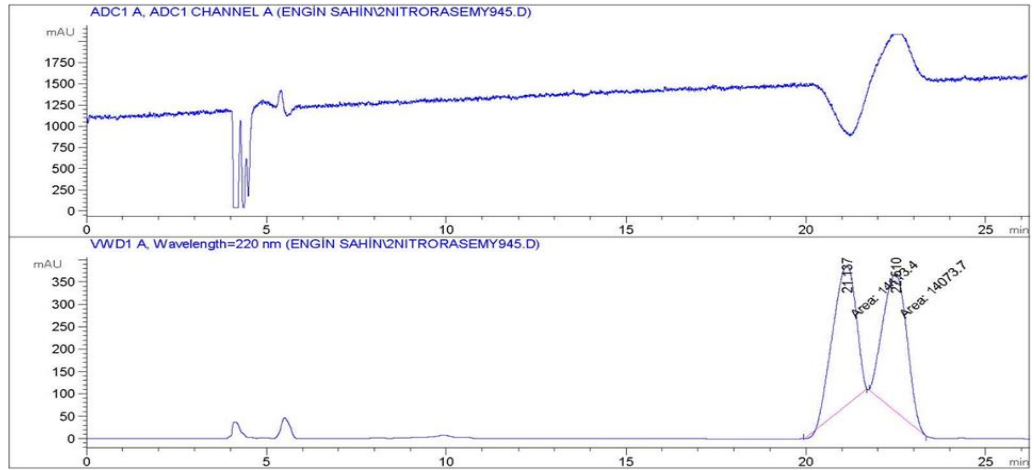
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	18.821	MM	0.8605	5.74658e4	1112.98120	50.029
2	20.491	MM	0.9530	5.73980e4	1003.75995	49.970

Şekil 25. Rasemik 2-metoksifenil etanol'ün HPLC spektrumu.



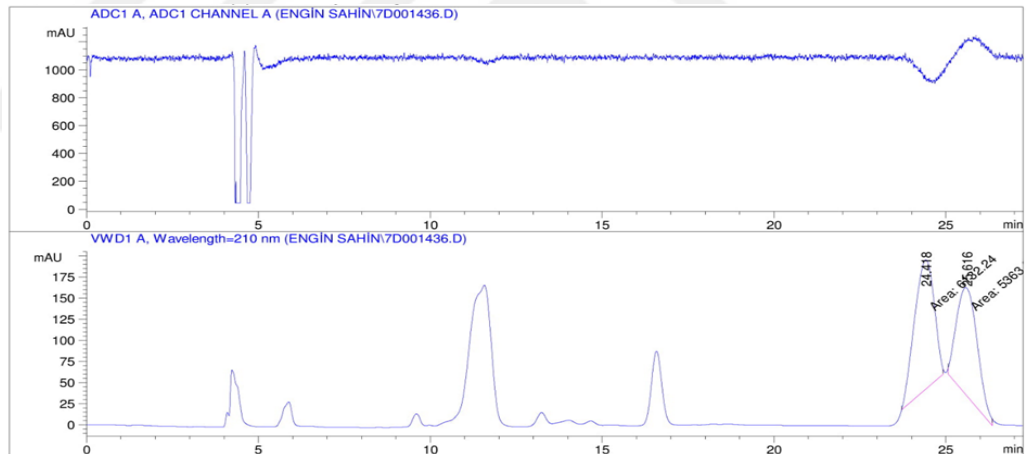
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	21.159	MM	0.7304	6.06548e4	1384.03906	25.5363
2	22.534	MM	1.1370	1.76869e5	2592.61182	74.4637

Şekil 26. (R)-(2-metoksifenil) etanol (3a)'nın HPLC spektrumu.



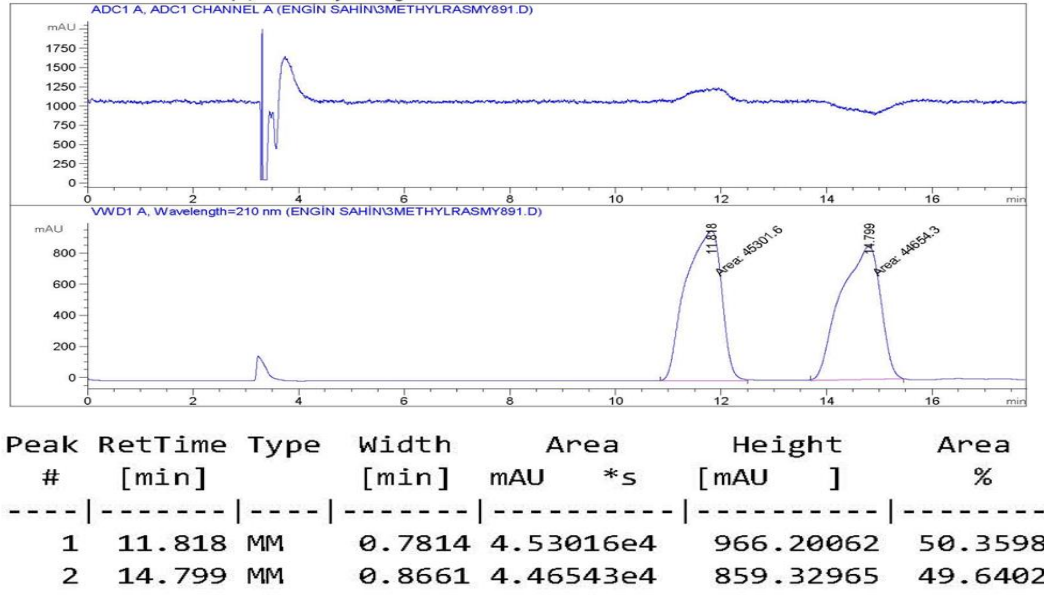
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	21.137	MM	0.7572	1.41134e4	310.65750	50.070
2	22.510	MM	0.7665	1.40737e4	306.00131	49.929

Şekil 27. Rasemik -(2-nitrofenil) etanol'ün HPLC spektrumu.

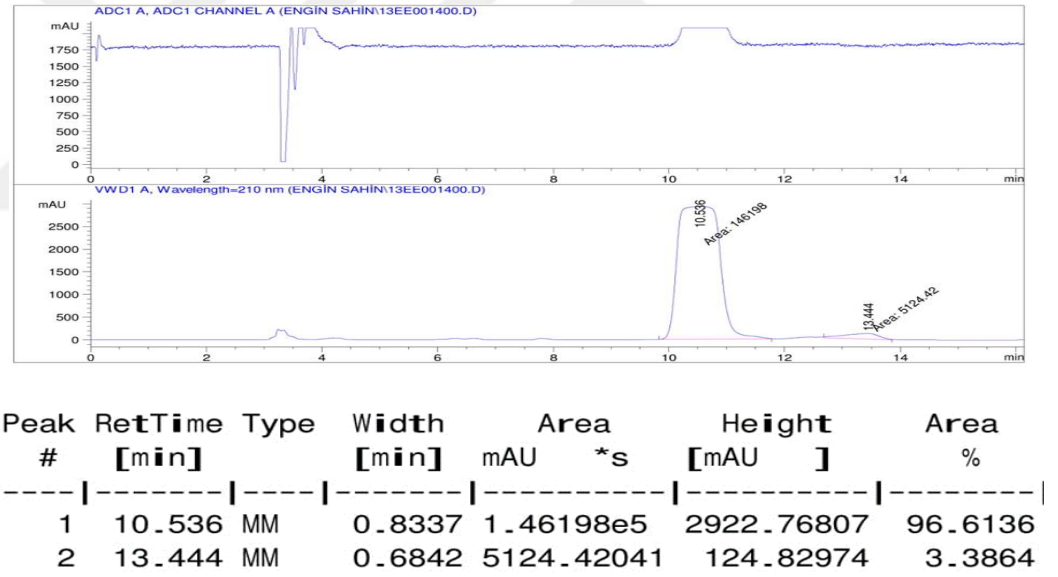


Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	24.418	MM	0.6681	6132.24268	152.98535	53.3456
2	25.616	MM	0.6996	5363.07129	127.76653	46.6544

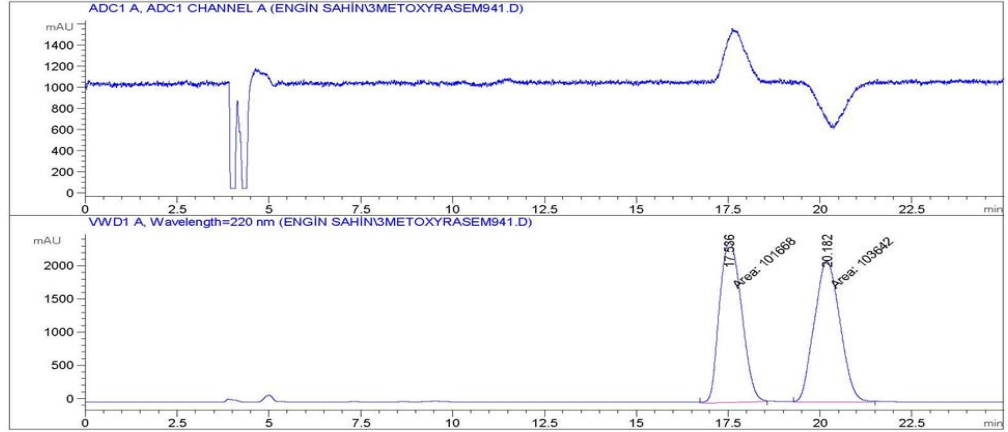
Şekil 28. (R)-(2-nitrofenil) etanol (4a)'nın HPLC spektrumu..



Şekil 29. Rasemik-(3-metilfenil) etanol'ün HPLC spektrumu.

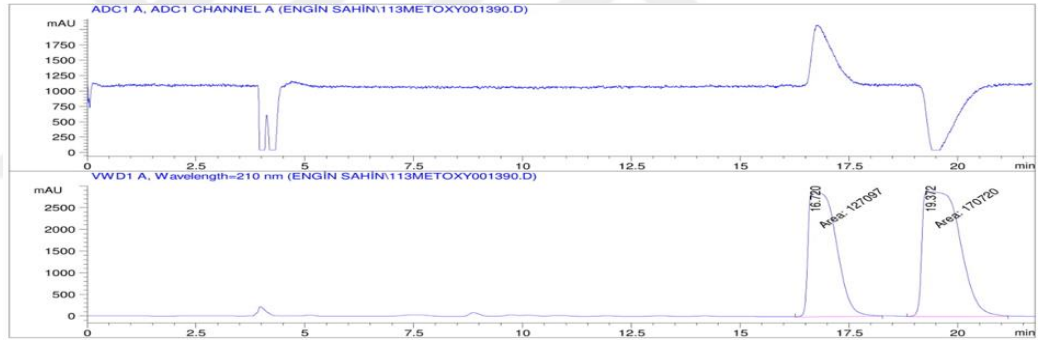


Şekil 30. (R)-(3-metilfenil) etanol (6a)'nın HPLC spektrumu



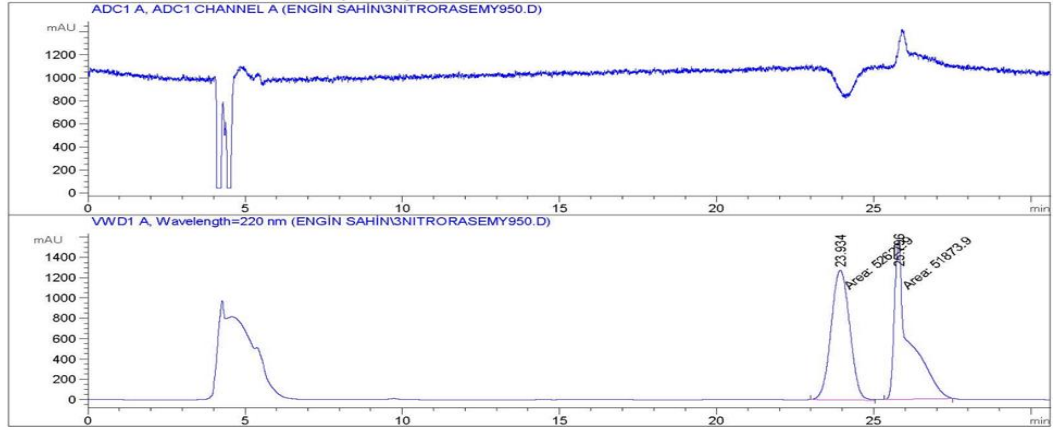
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	17.536	MM	0.7015	1.01668e5	2415.62036	49.5194
2	20.182	MM	0.8130	1.03642e5	2124.56934	50.4806

Şekil 31. Rasemik-(3-metoksifenil) etanol HPLC spektrumu



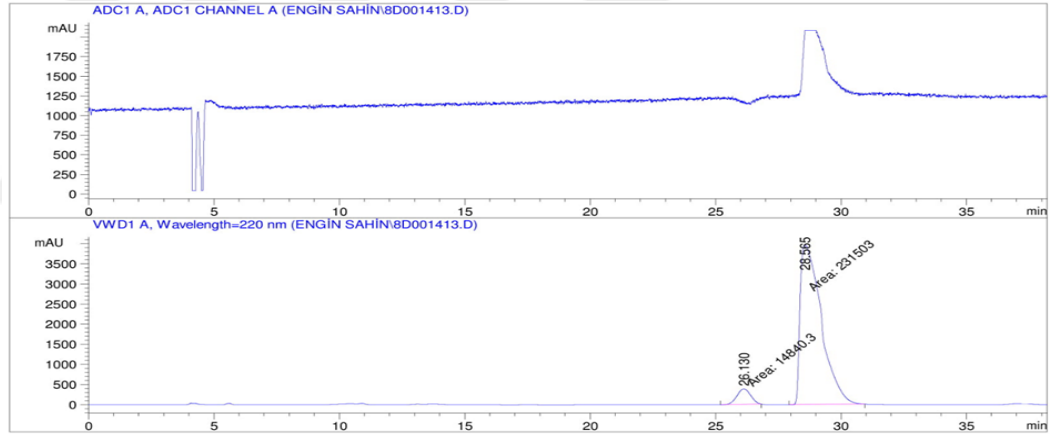
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	16.720	MM	0.7384	1.27097e5	2868.86865	42.6763
2	19.372	MM	0.9894	1.70720e5	2875.83496	57.3237

Şekil 32. (S)-(3-metoksifenil) etanol (7a)'nın HPLC spektrumu



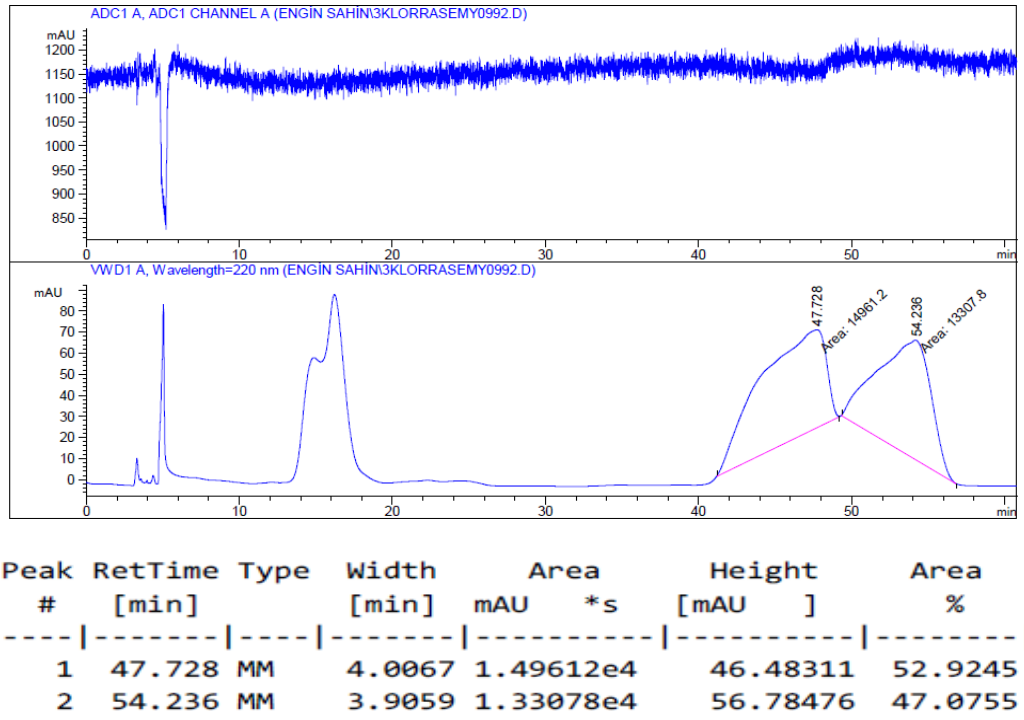
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	23.934	MM	0.6860	5.26229e4	1278.45349	50.3584
2	25.796	MM	0.5551	5.18739e4	1557.55090	49.6416

Şekil 33. Rasemik -(3-nitrofenil) etanol'ün HPLC spektrumu

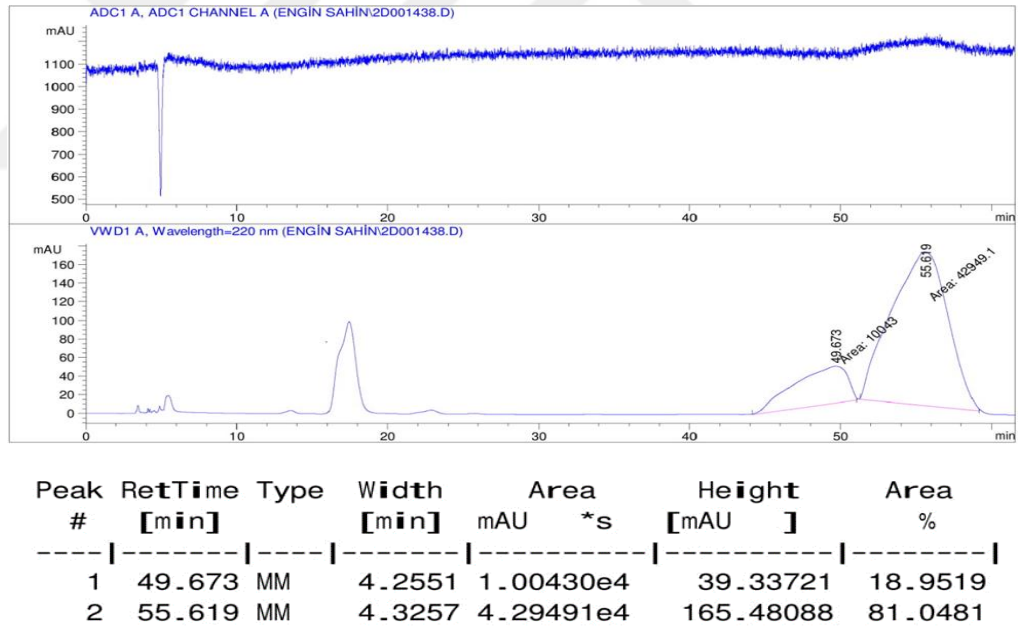


Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	26.130	MM	0.6360	1.48403e4	388.87384	6.0242
2	28.565	MM	0.9739	2.31503e5	3961.67017	93.9758

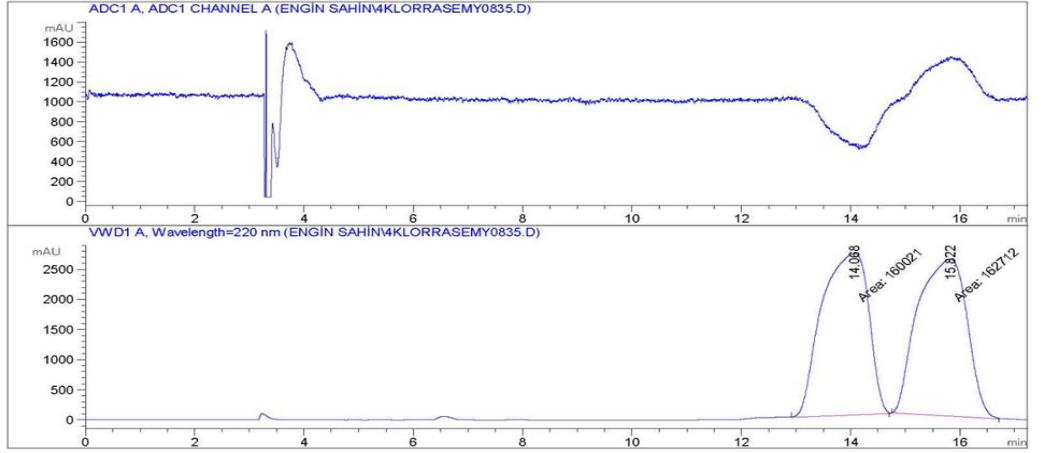
Şekil 34. (S)-(3-nitrofenil) etanol (9a)'nın HPLC spektrumu



Şekil 35. Rasemik-(3-klorofenil) etanol'ün HPLC spektrumu

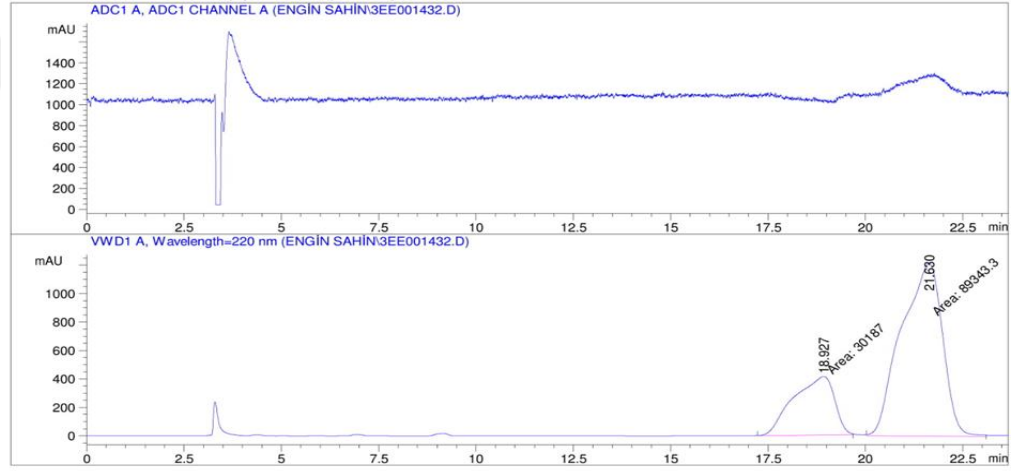


Şekil 36. (R)-(3-klorofenil) etanol (**10a**)'nın HPLC spektrumu



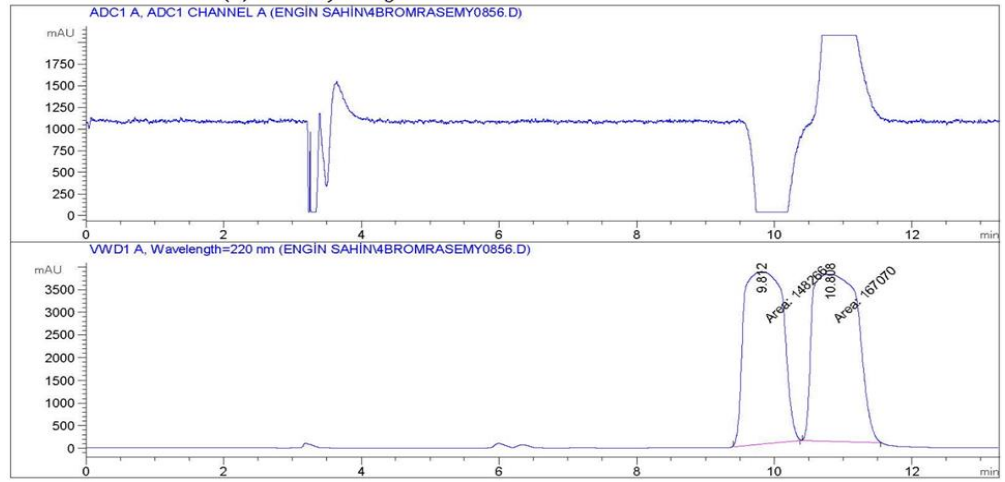
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	14.068	MM	0.9945	1.60021e5	2681.89258	49.583
2	15.822	MM	1.0396	1.62712e5	2608.47241	50.416

Şekil 37. Rasemik -(4-klorofenil) etanol'ün HPLC spektrumu



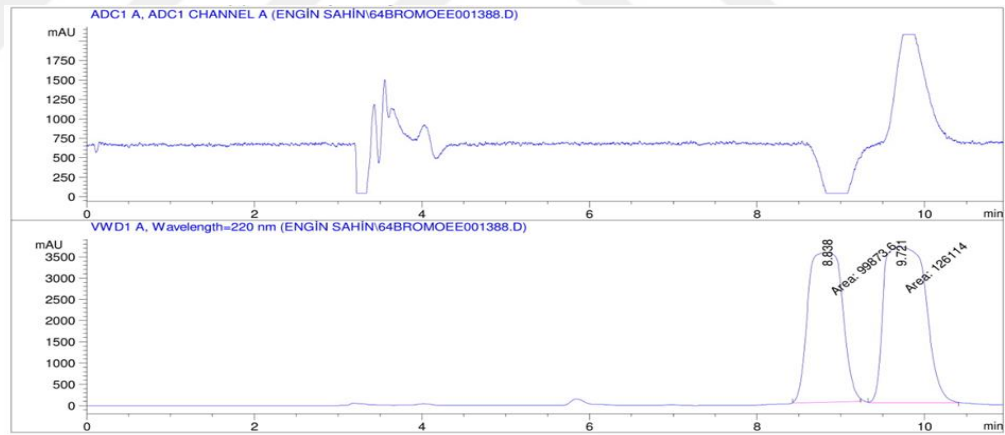
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	18.927	MM	1.2253	3.01870e4	410.60590	25.2547
2	21.630	MM	1.2246	8.93433e4	1215.90930	74.7453

Şekil 38. (R)-(4-klorofenil) etanol (**11a**)'nın HPLC spektrumu



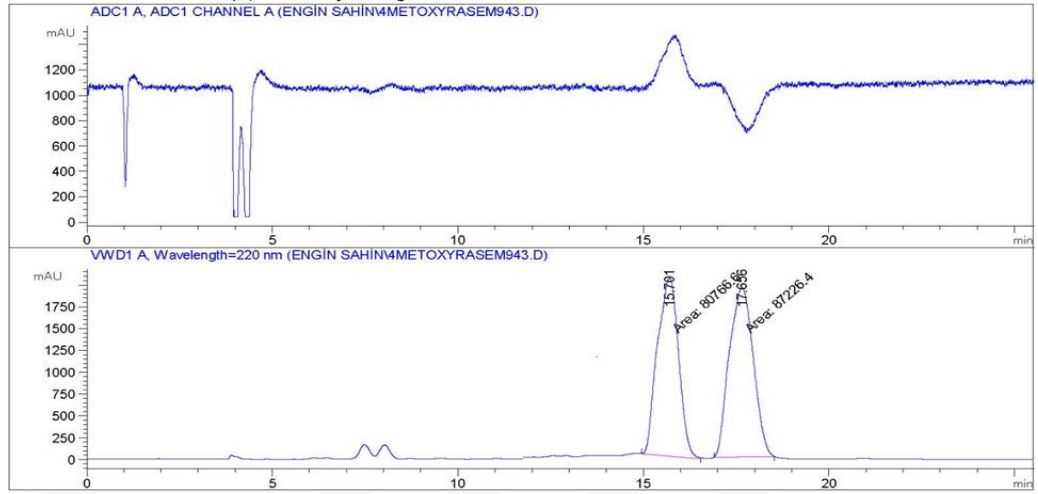
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	9.812	MM	0.6494	1.48266e5	3805.28760	47.01
2	10.808	MM	0.7560	1.67070e5	3683.30078	52.98

Şekil 39. Rasemik -(4-bromofenil) etanol'ün HPLC spektrumu



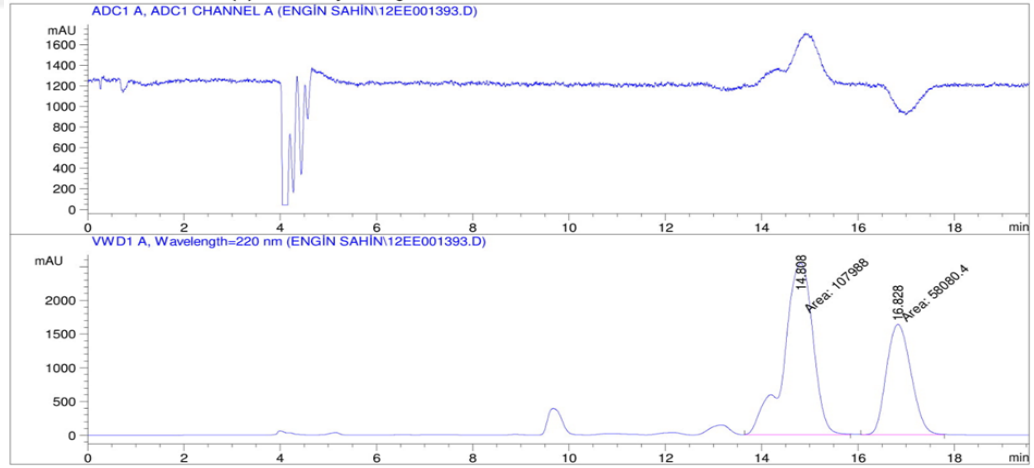
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	8.838	MM	0.4726	9.98736e4	3522.20850	44.1943
2	9.721	MM	0.5739	1.26114e5	3662.31177	55.8057

Şekil 40. (S)-(4-bromofenil) etanol (12a)'nın HPLC spektrumu



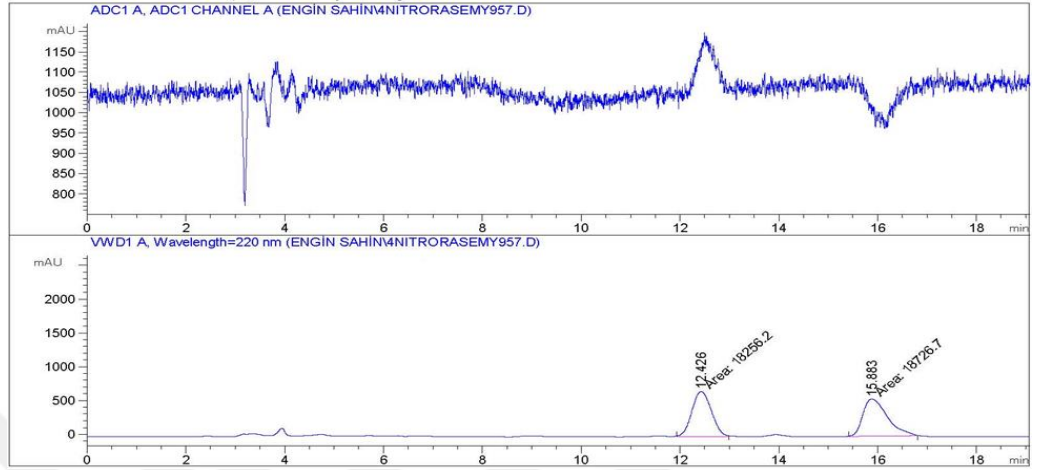
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	15.701	MM	0.6596	8.07666e4	2040.82080	48.0774
2	17.656	MM	0.7500	8.72264e4	1938.29895	51.9226

Şekil 41. Rasemik -(4-metoksifenil) etanol'ün HPLC spektrumu



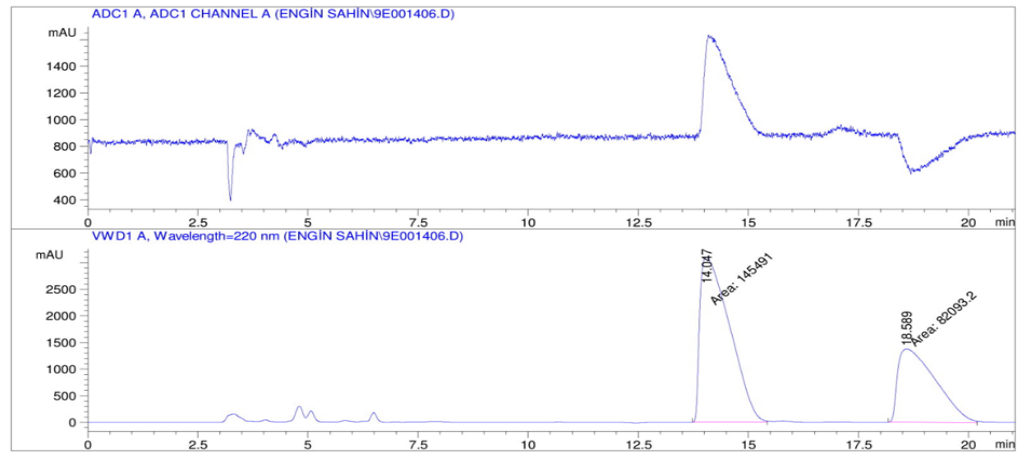
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	14.808	MM	0.7078	1.07988e5	2542.86060	65.0263
2	16.828	MM	0.5912	5.80804e4	1637.39722	34.9737

Şekil 42. (S)-(4-metoksifenil) etanol (**13a**)'nın HPLC spektrumu



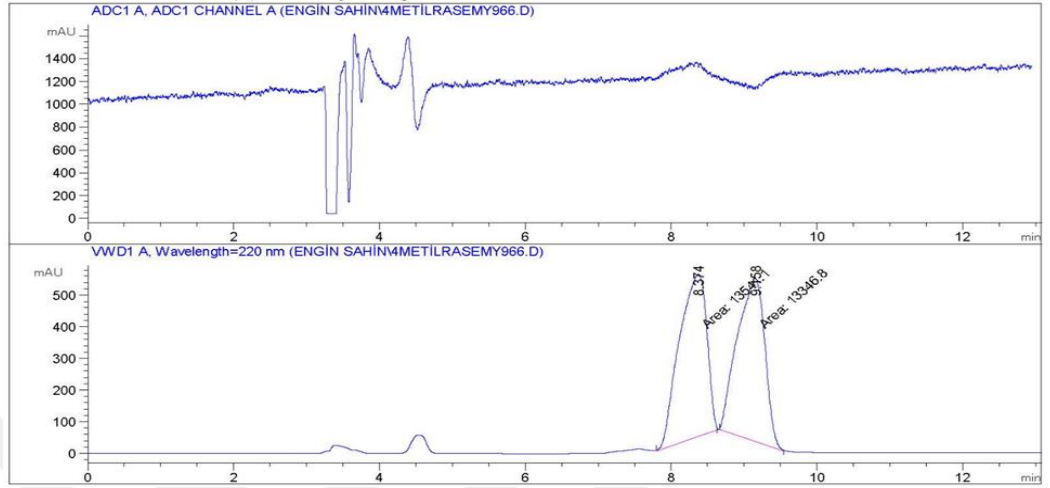
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	12.426	MM	0.4560	1.82562e4	667.33081	49.3640
2	15.883	MM	0.5700	1.87267e4	547.59491	50.6360

Şekil 43. Rasemik-(4-nitrofenil) etanol'ün HPLC spektrumu



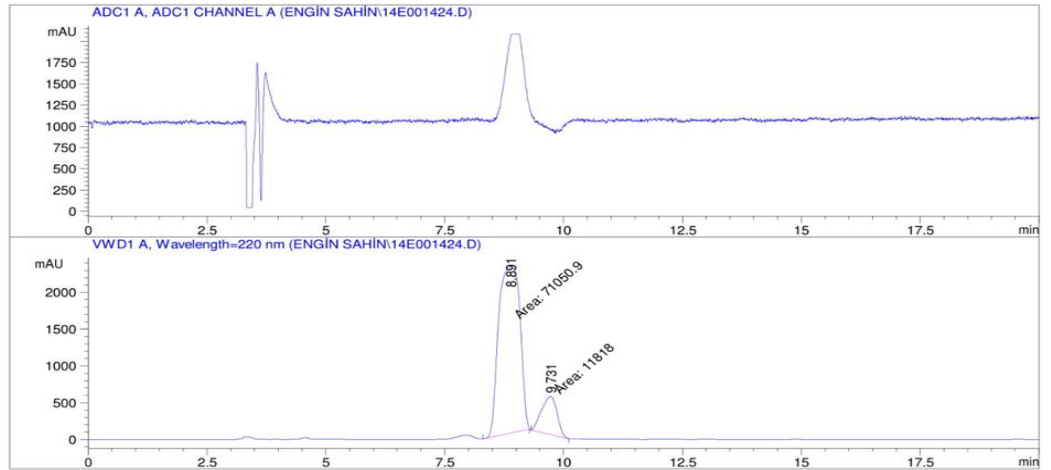
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	14.047	MM	0.7816	1.45491e5	3102.25659	63.9284
2	18.589	MM	0.9932	8.20932e4	1377.58411	36.0716

Şekil 44. (S)-(4-nitrofenil) etanol (**14a**)'nın HPLC Spektrumu



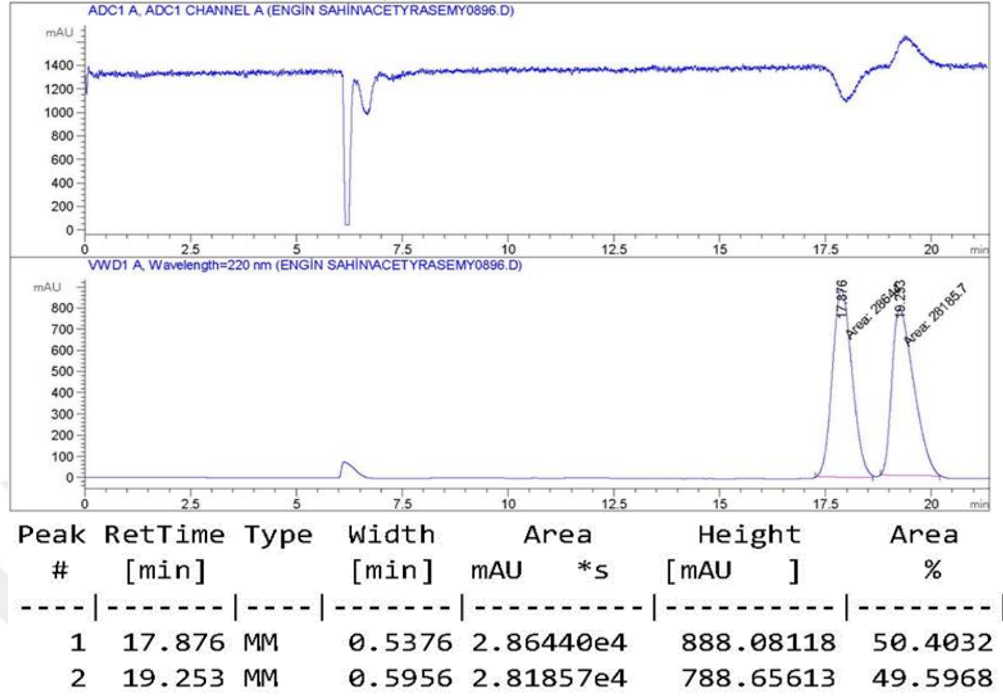
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	8.374	MM	0.4401	1.35411e4	512.75995	50.3614
2	9.158	MM	0.4395	1.33468e4	506.13147	49.6386

Şekil 45. Rasemik (4-metilfenil) etanol'ün HPLC spektrumu

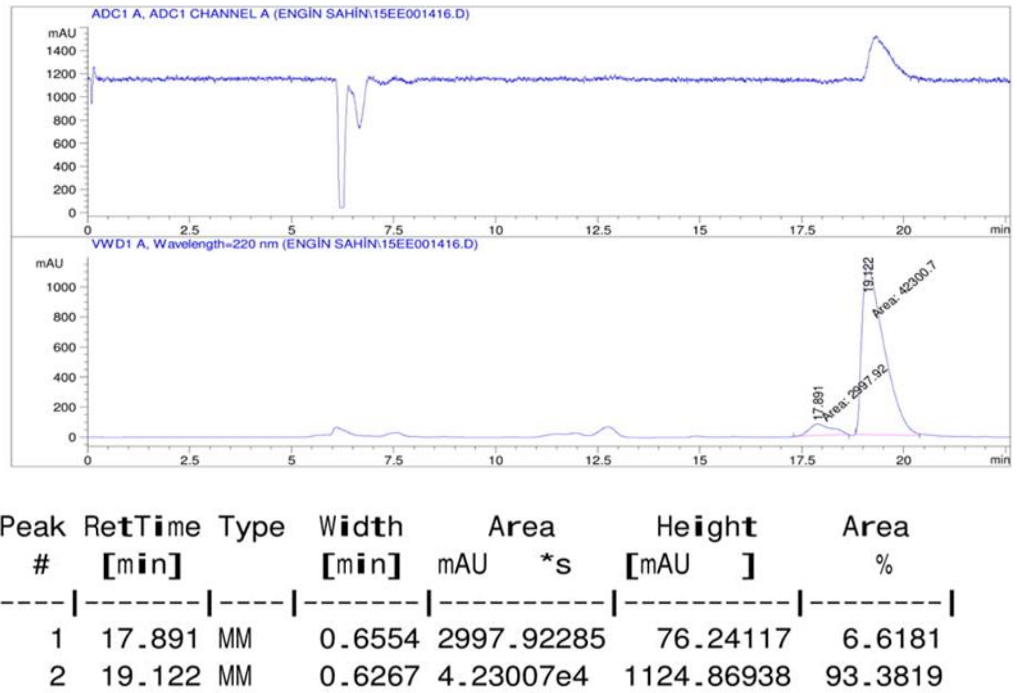


Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	8.891	MM	0.5219	7.10509e4	2268.79883	85.7389
2	9.731	MM	0.3785	1.18180e4	520.35132	14.2611

Şekil 46. (R)-(4-metilfenil) etanol (**15a**)'nın HPLC spektrumu

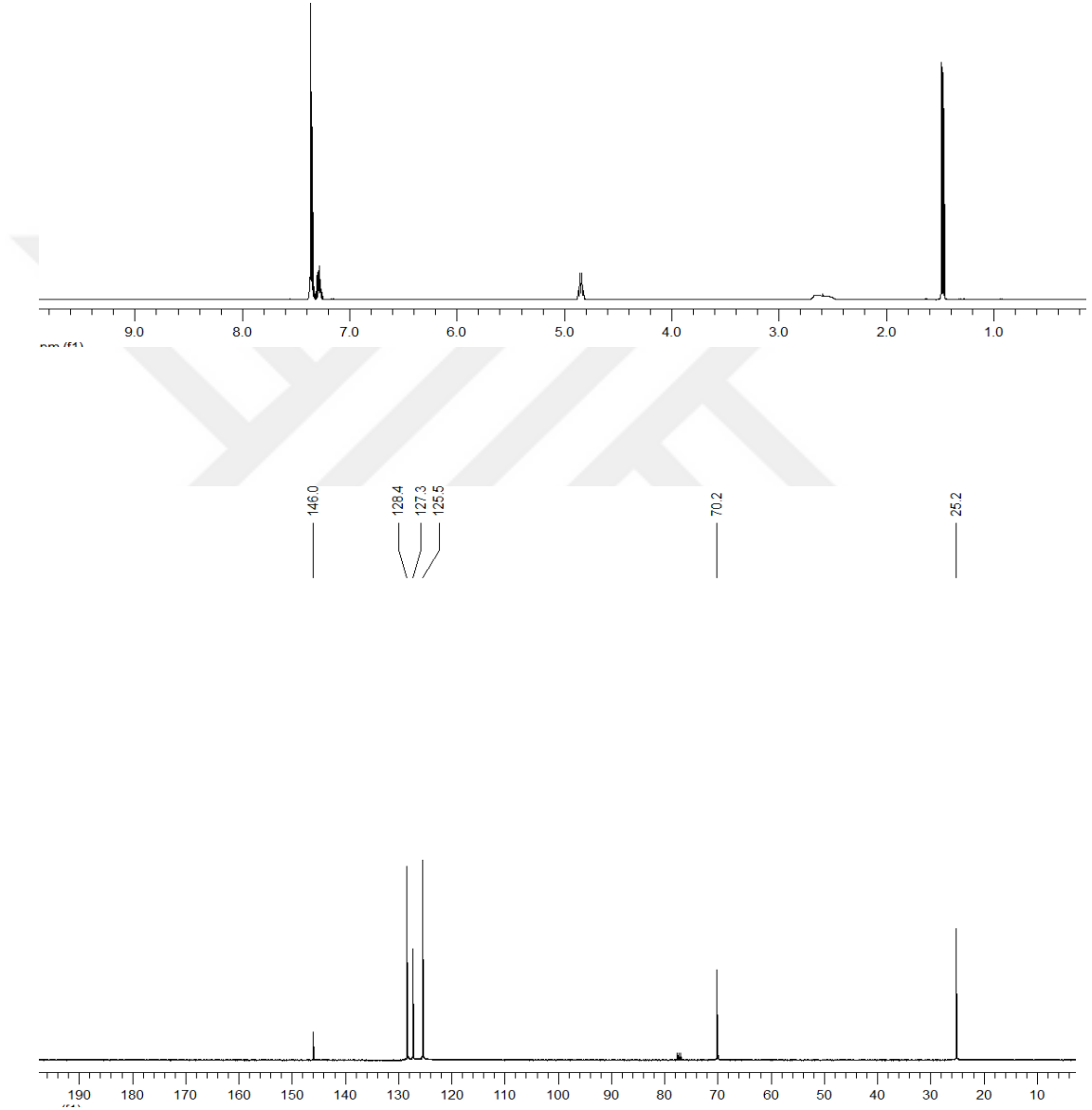


Şekil 47. Rasemik (*p*-bifenil) etanol'ün HPLC spektrumu

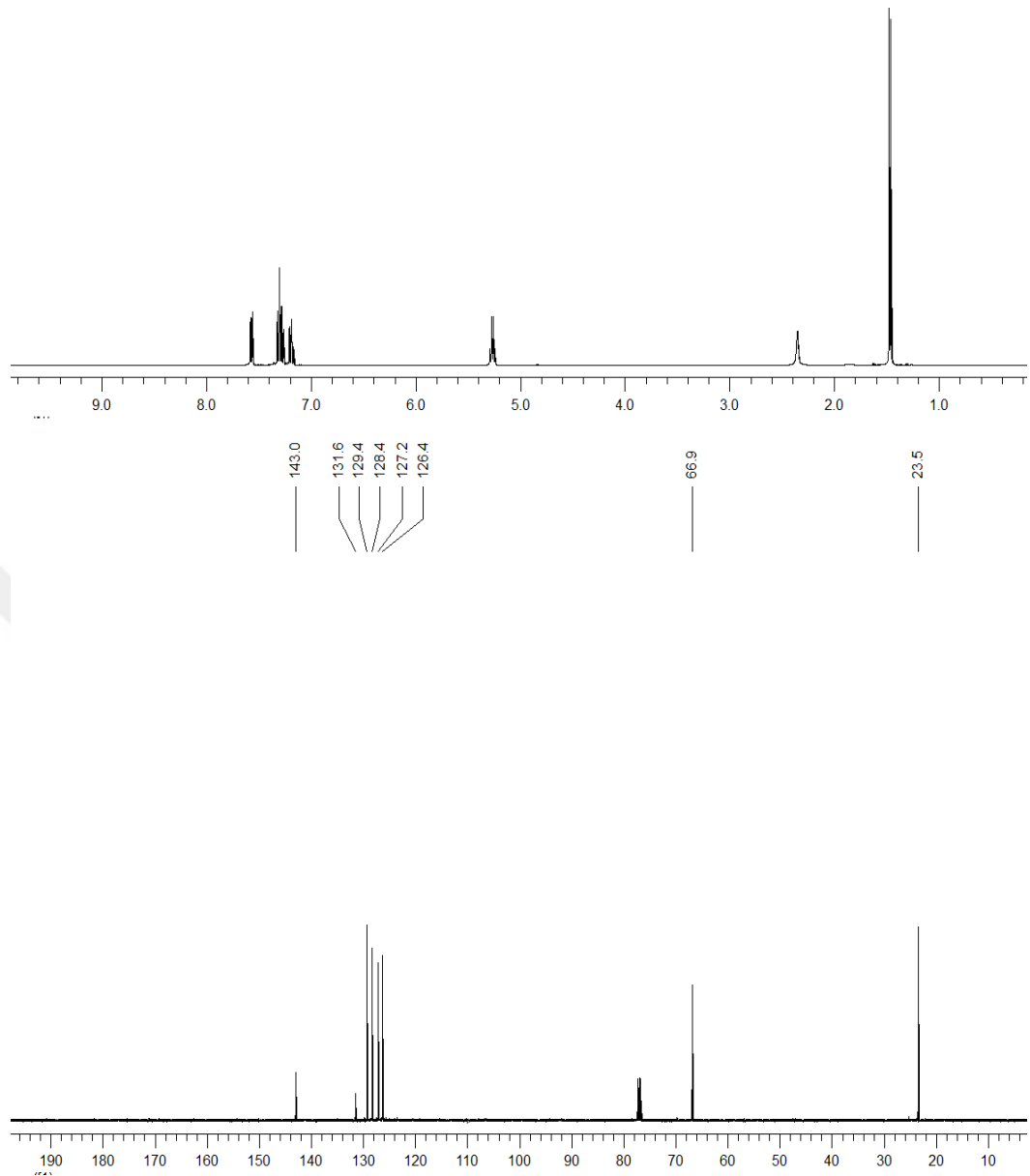


Şekil 48. (*R*)-1-(*p*-bifenil) etanol HPLC spektrumu

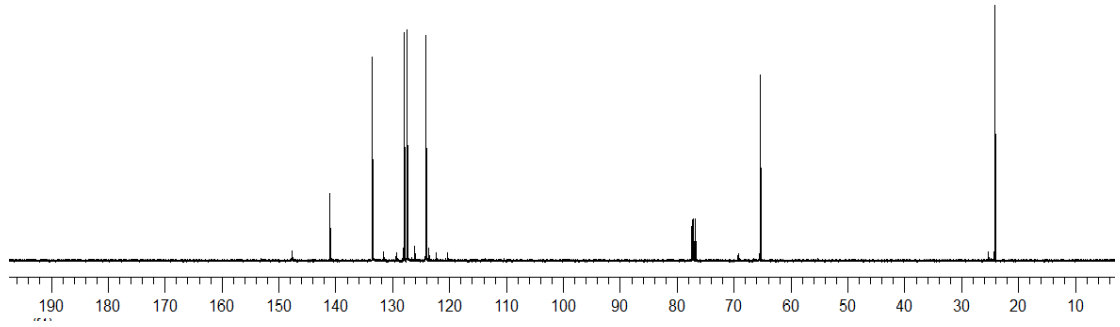
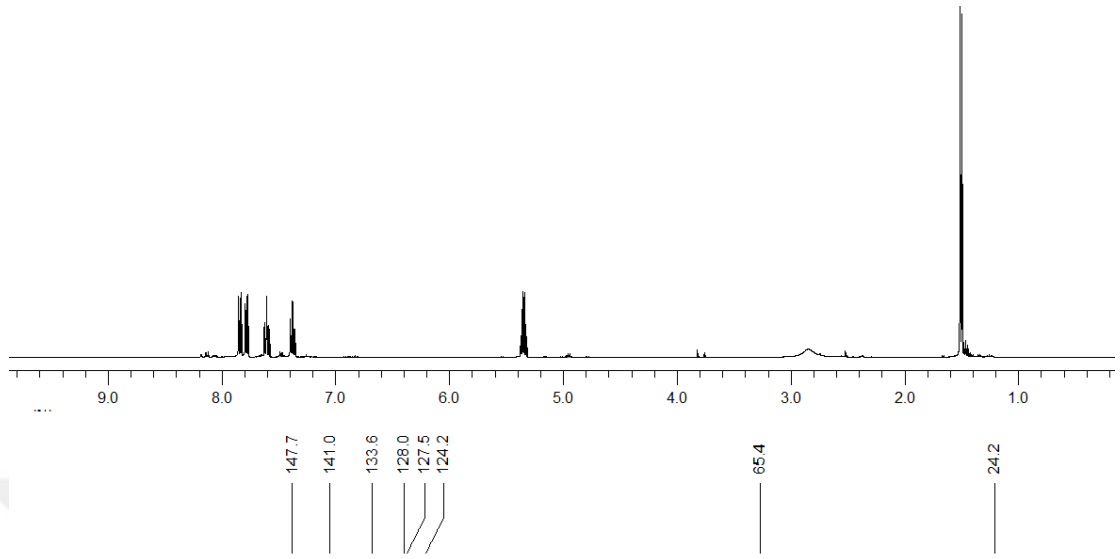
EK-2. NMR Spektrumları



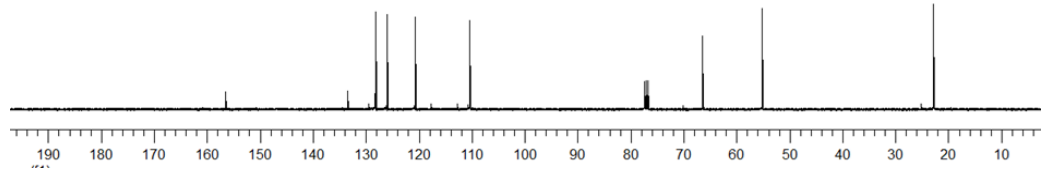
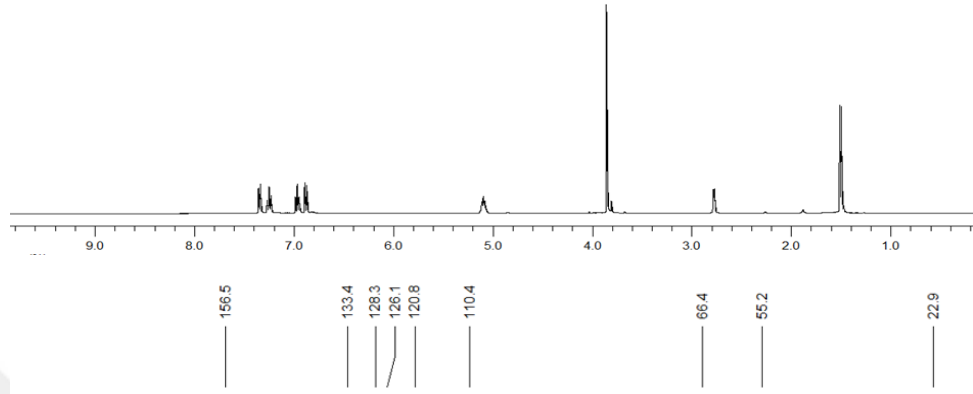
Şekil 47. (S)-1-feniletanol (1a)'nın 400 MHz ¹H ve 100 MHz ¹³C-NMR spektrumları (CDCl₃).



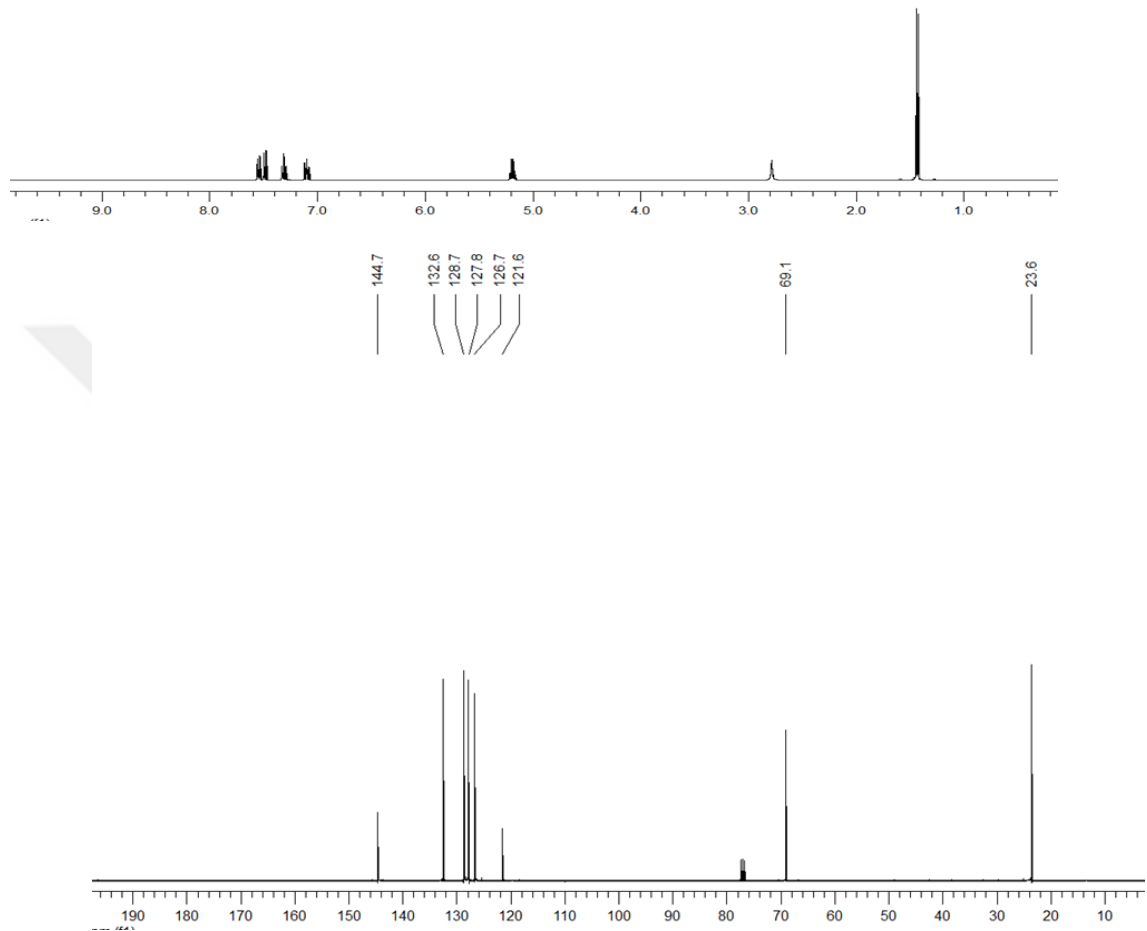
Şekil 48. (S)-1-(2-klorofenil)etanol (**2a**)'nın 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3).



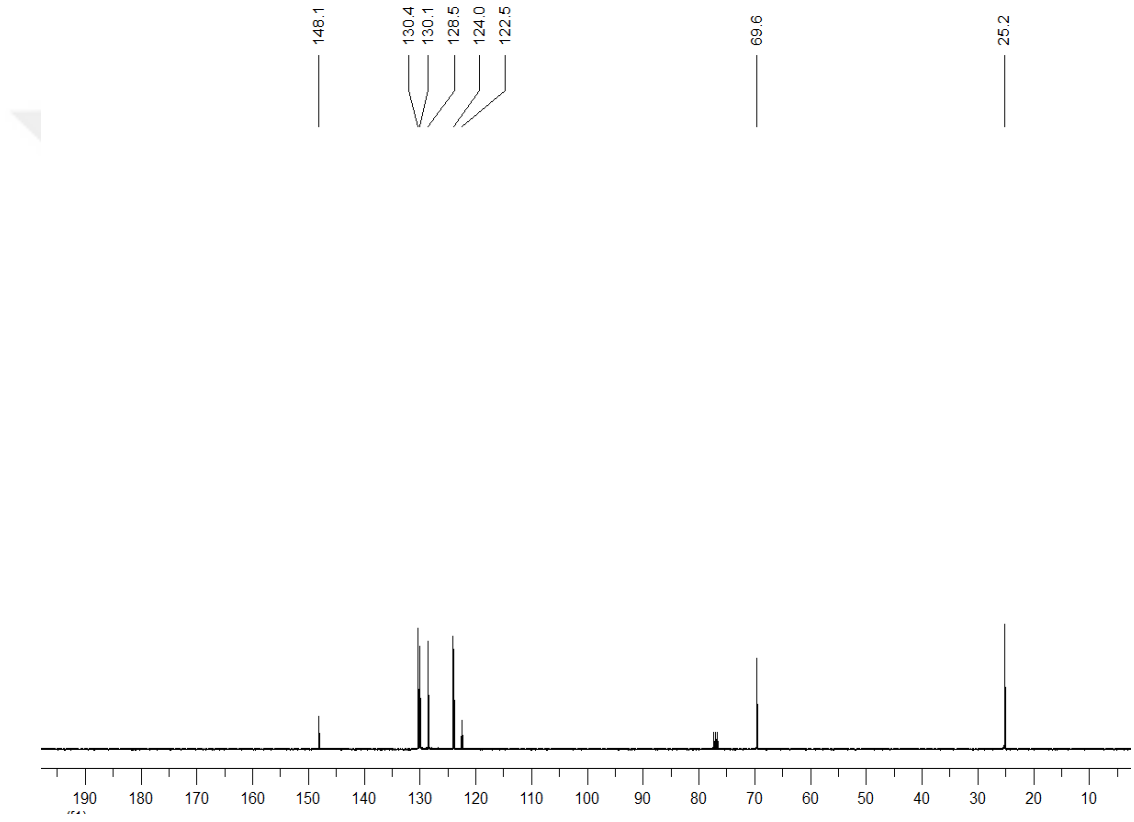
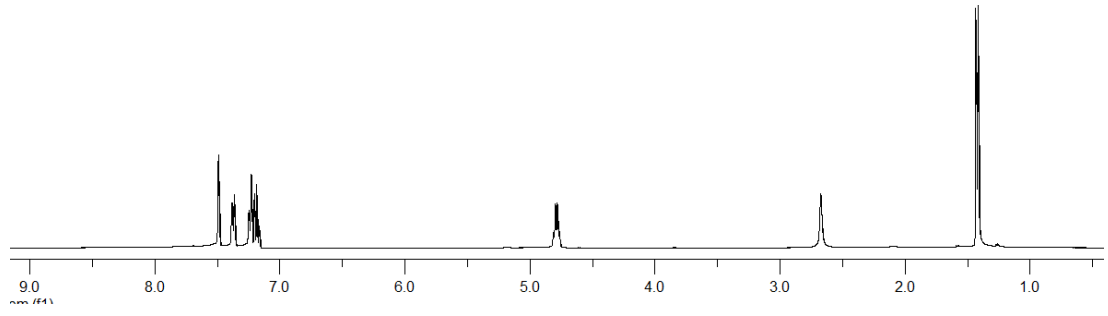
Şekil 49. (R)-1-(2-nitro fenil) etanol (**3a**)'nın 400 MHz ¹H ve 100 MHz ¹³C-NMR spektrumları (CDCl₃).



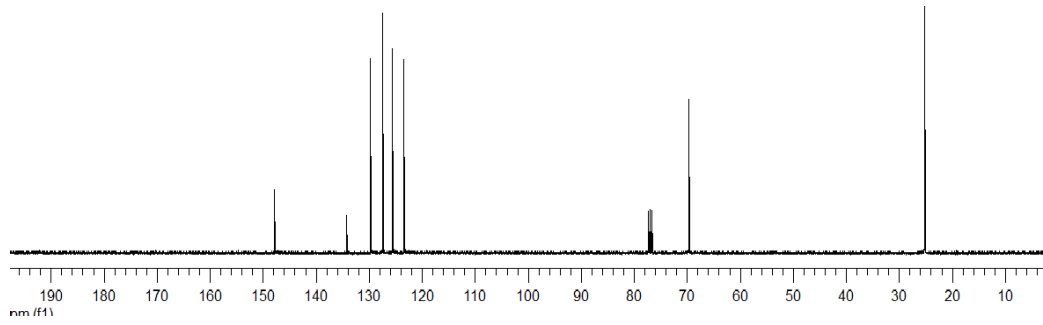
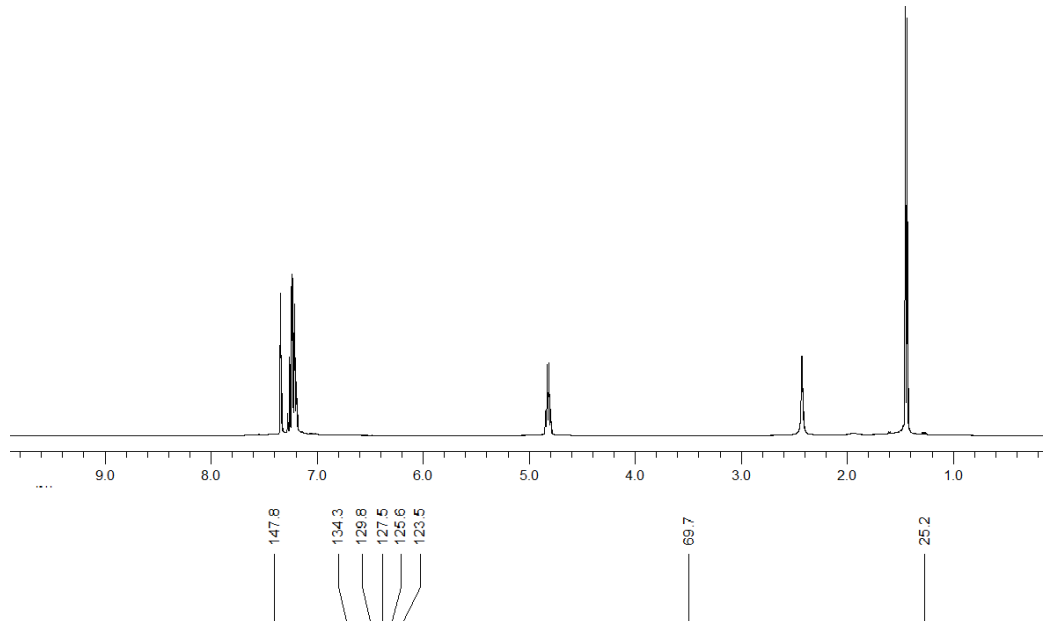
Şekil 50. (*R*)-1-(2-metoksifenil)etanol (**4a**)'nın 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3).



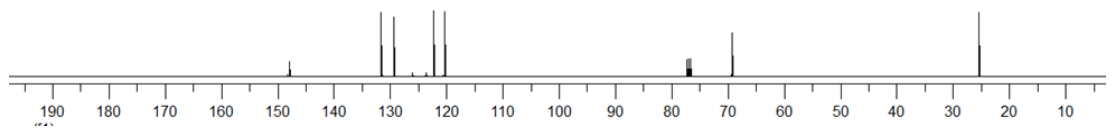
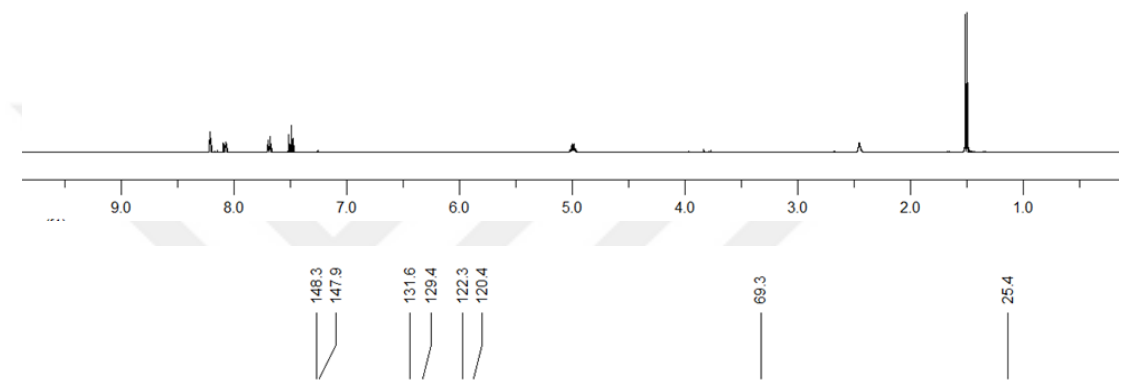
Şekil 51. (R)-1-(2-bromofenil)etanol (**5a**)’nın 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3).



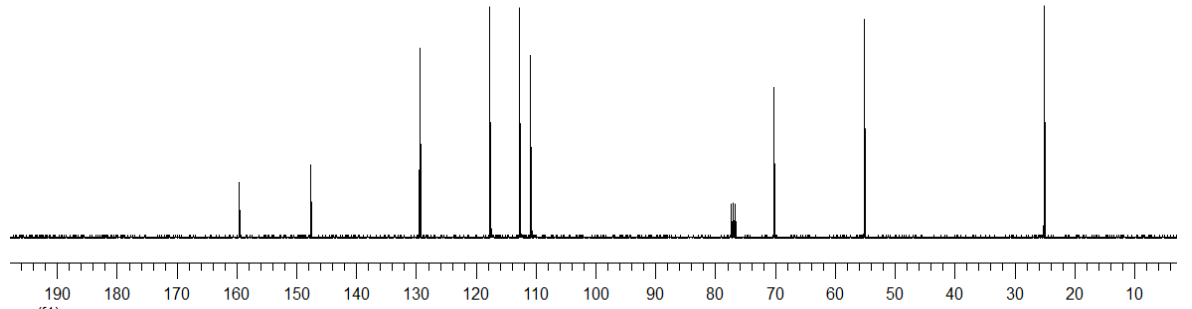
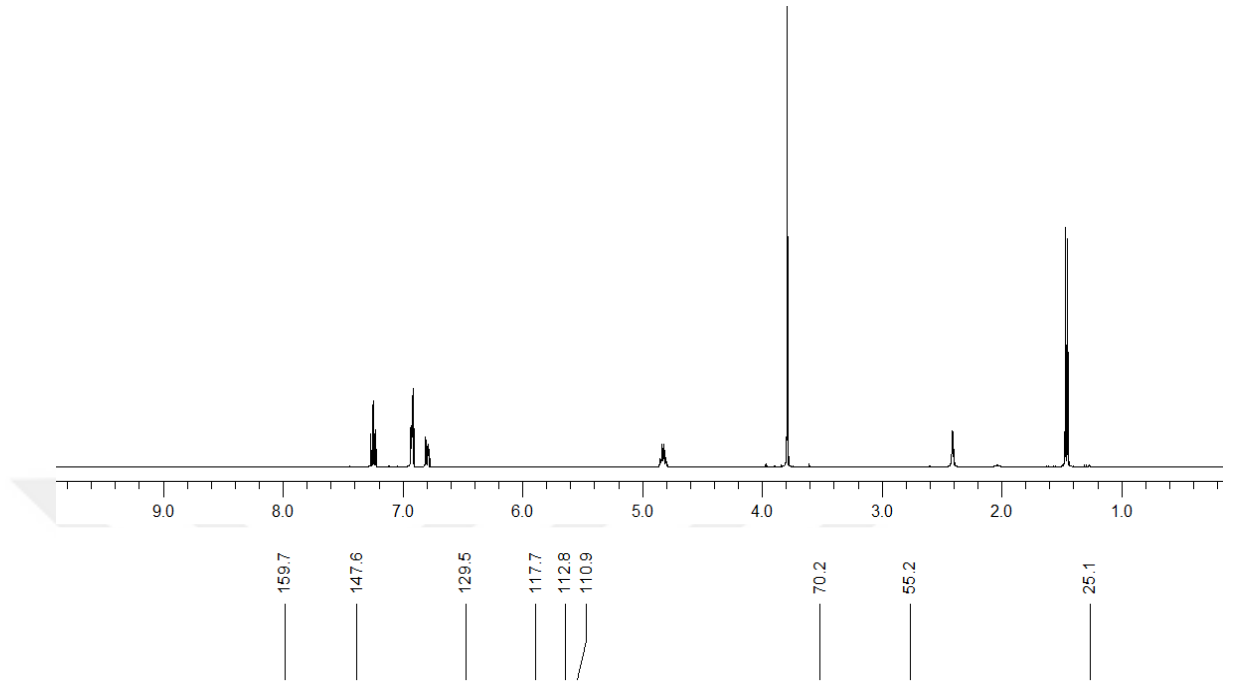
Şekil 52. (*R*)-1-(3-bromo fenil) etanol (**6a**)'nın 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3).



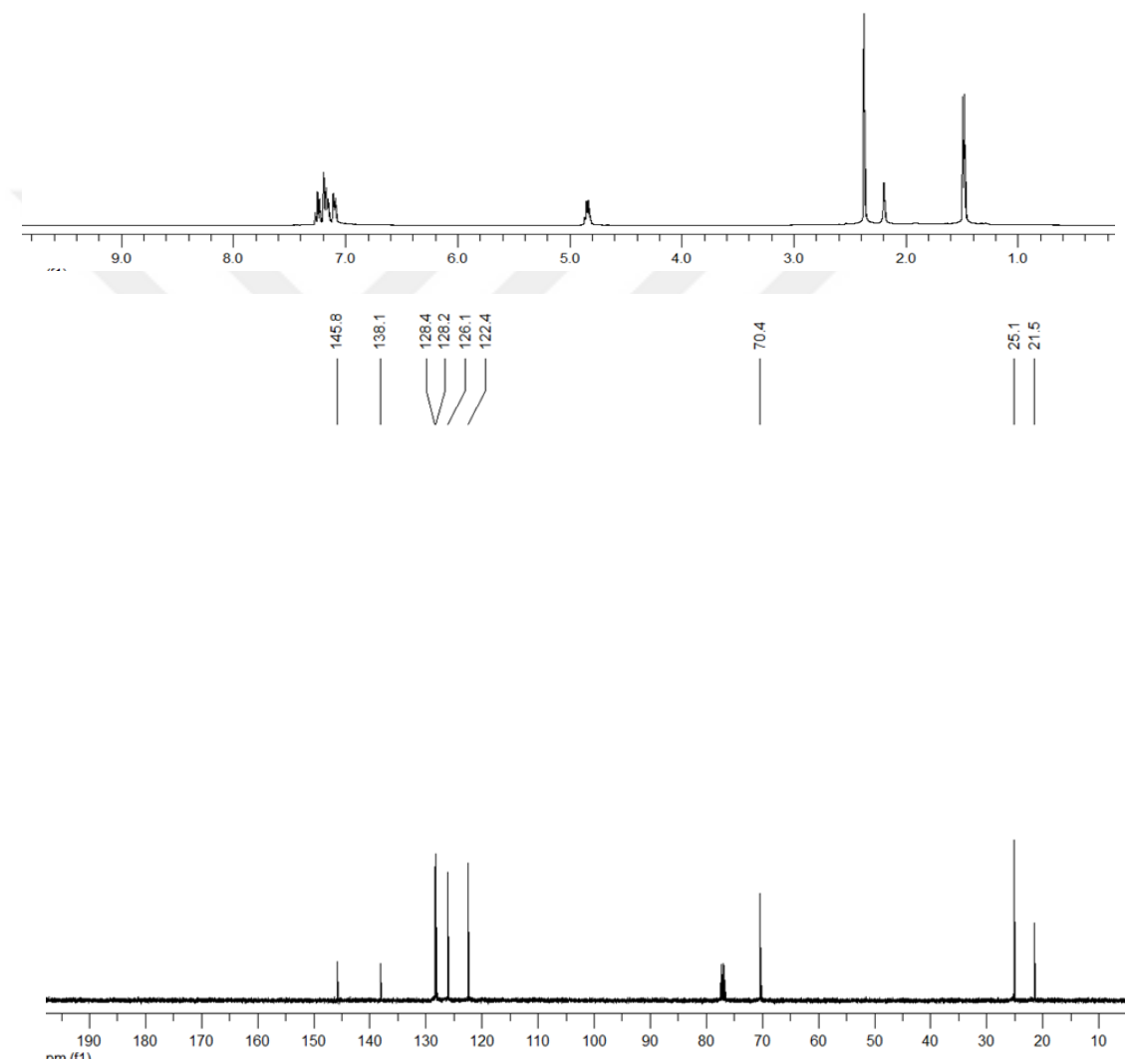
Şekil 53. (*R*)-1-(3-klorofenil) etanol (**7a**)'nın 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3).



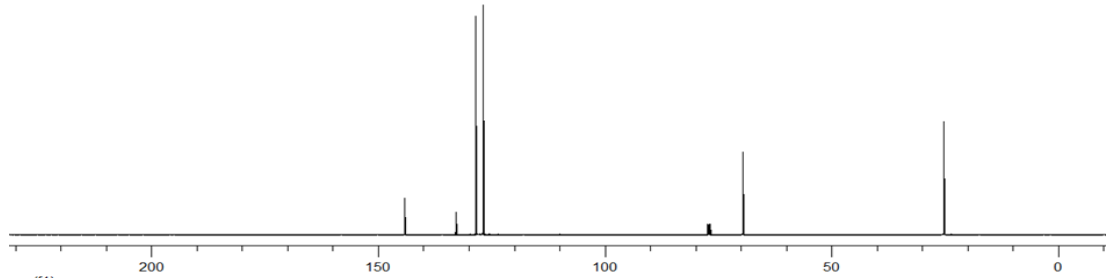
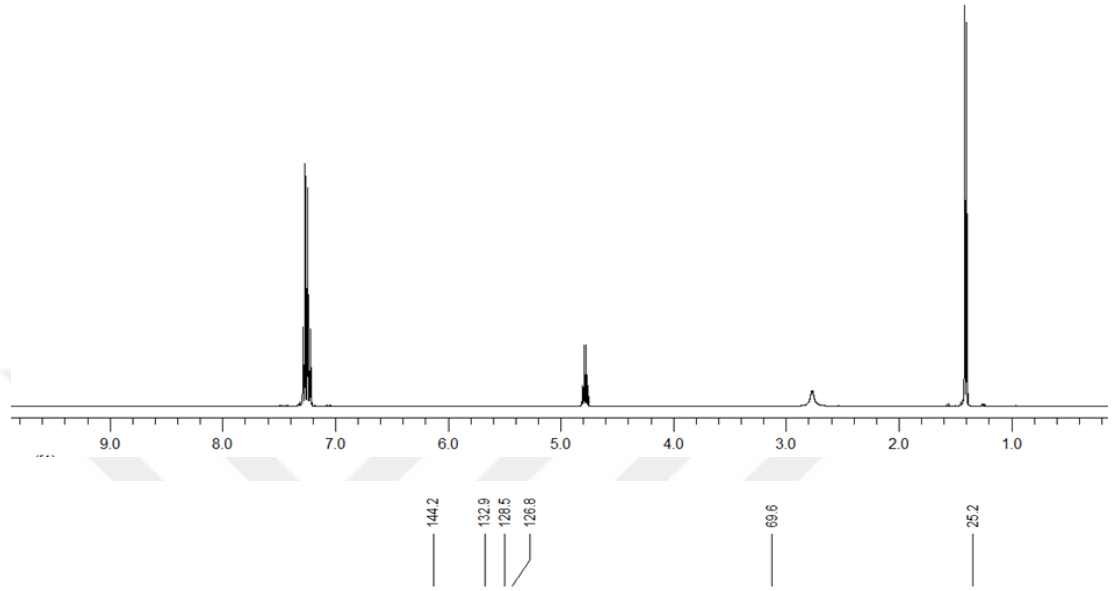
Şekil 54. (S)-1-(3-nitrofenil)etanol (**8a**)’nın 400 MHz ¹H ve 100 MHz ¹³C-NMR spektrumları (CDCl₃).



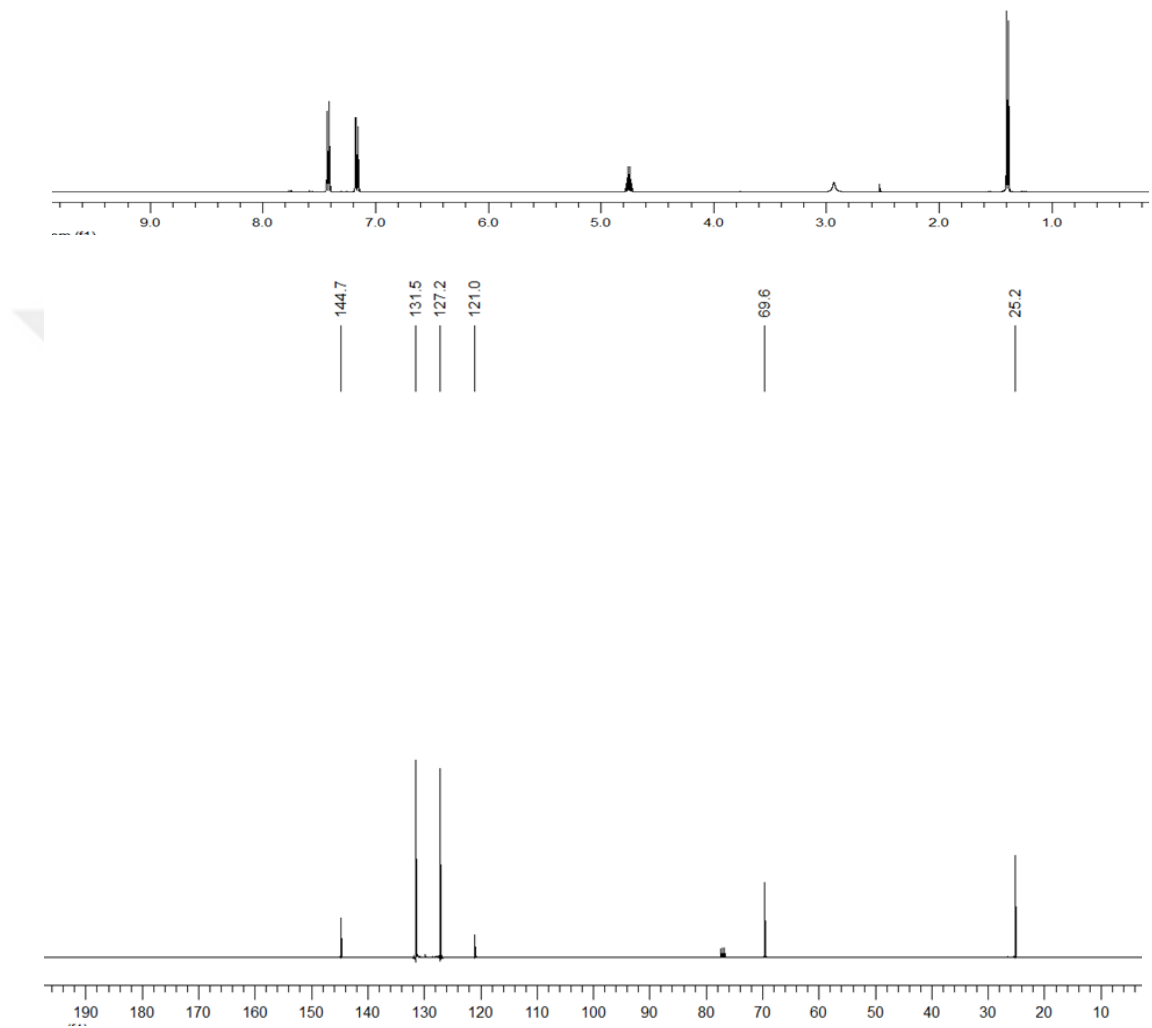
Şekil 55. (S)-1-(3-metoksifenil) etanol (**9a**)'nın 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3).



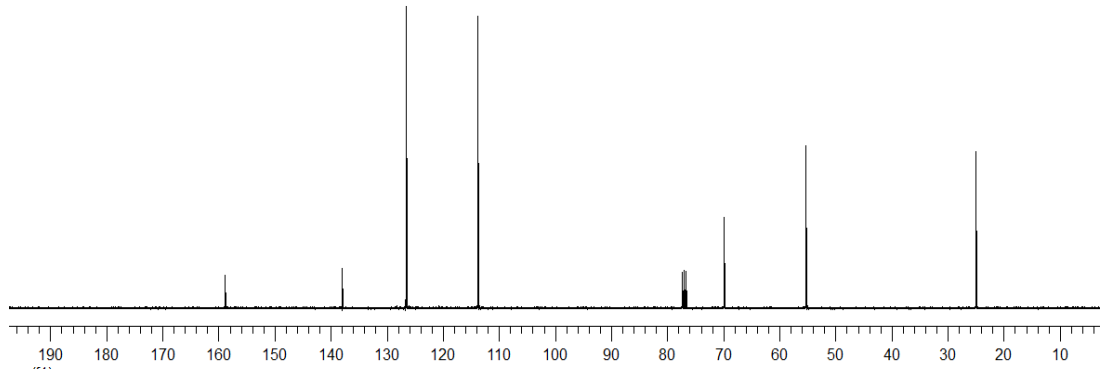
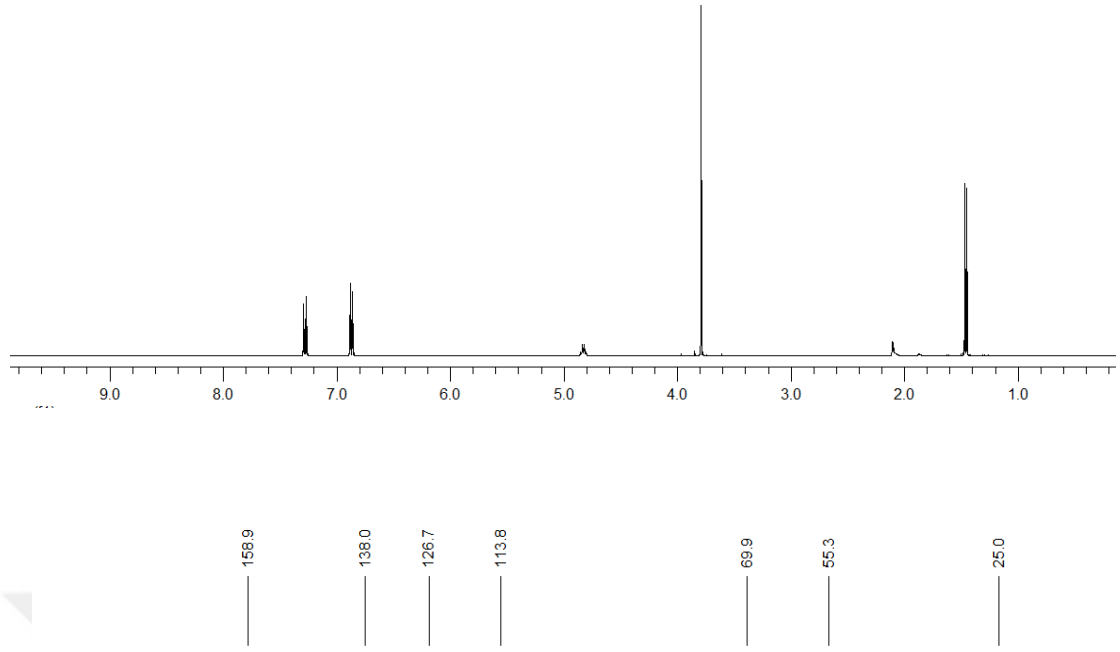
Şekil 56. (R)-1-(3-metilfenil)etanol (**10a**)'nın 400 MHz ¹H ve 100 MHz ¹³C-NMR spektrumları (CDCl₃).



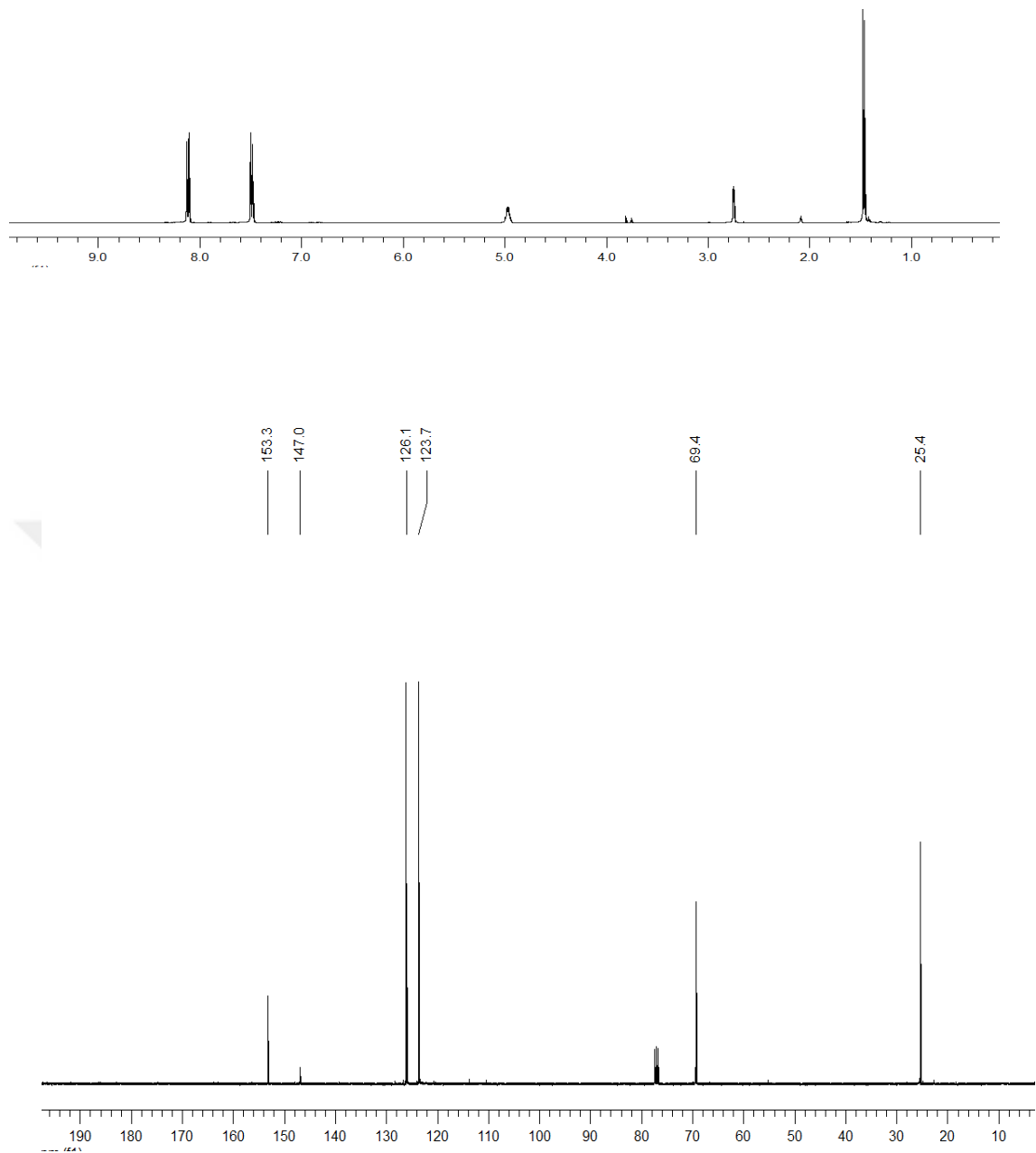
Şekil 57. (R) (4-klorofenil) etanol (**11a**)'nın 400 MHz ¹H ve 100 MHz ¹³C-NMR spektrumları (CDCl₃).



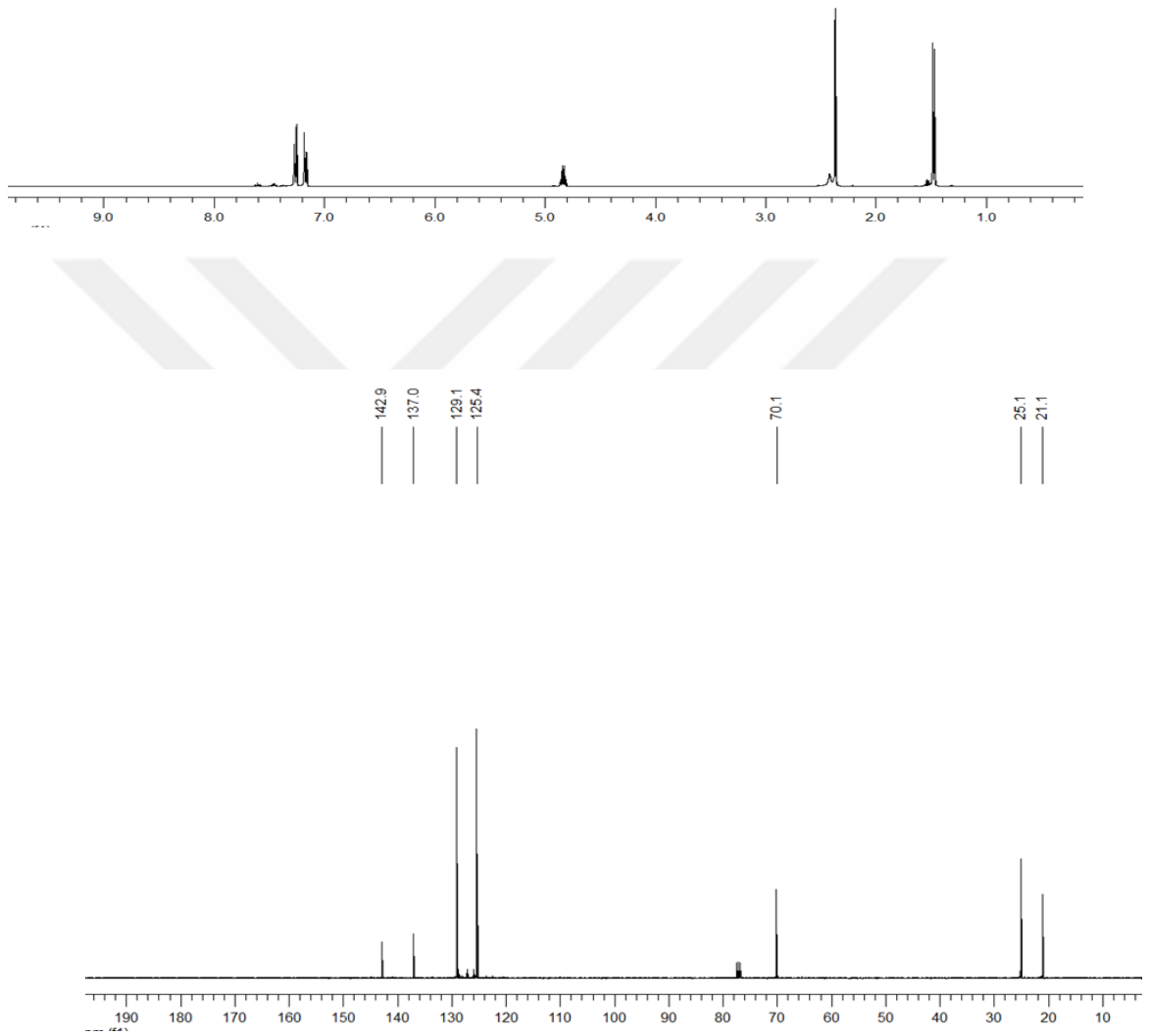
Şekil 58. (S)-1-(4-bromofenil)etanol (**12a**)'nın 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3).



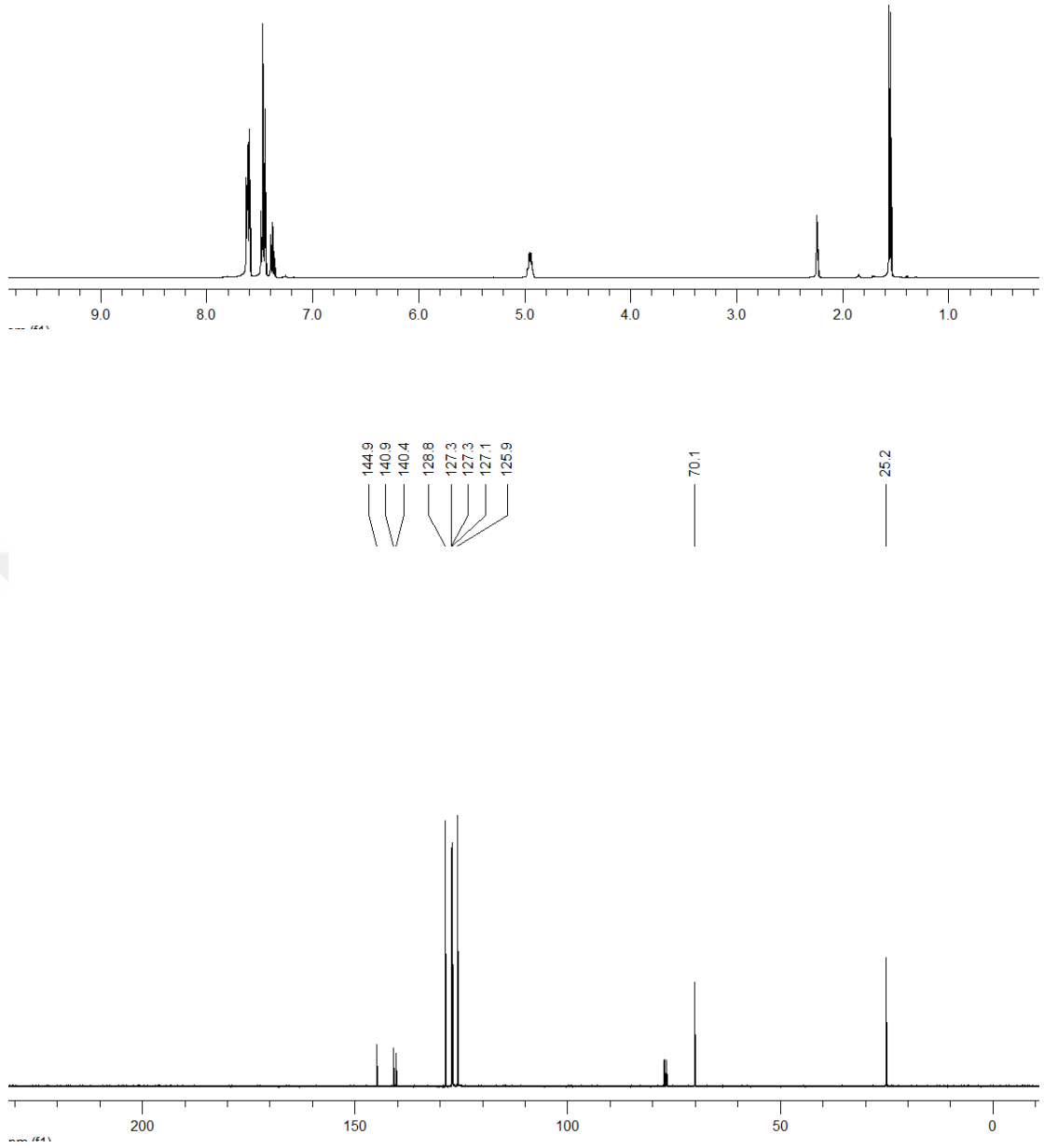
Şekil 59. (S)-1-(4-metoksifenil) etanol (**13a**)'nın 400 MHz ¹H ve 100 MHz ¹³C-NMR spektrumları (CDCl₃).



Şekil 60. (S)-1-(4-nitrofenil)etanol (**14a**)’nın 400 MHz ¹H ve 100 MHz ¹³C-NMR spektrumları (CDCl₃).



Şekil 61. (R)-1-(4-metilfenil)etanol (**15a**)'nın 400 MHz ¹H ve 100 MHz ¹³C-NMR spektrumları (CDCl₃).



Şekil 62. (R)-1-(*p*-bifenil) etanol (**16a**)’nın 400 MHz ^1H ve 100 MHz ^{13}C -NMR spektrumları (CDCl_3).

Özgeçmiş

1996 yılında Trabzon’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Trabzon’da tamamladı. 2013 yılında lisans eğitimine Bayburt Üniversitesinde başladı. 2017 yılında lisans eğitimini tamamladı. 2017 yılında Bayburt Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başladı.

