



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**LAKKAZ KATALİZLİ BOYARMADDE SENTEZLERİ ve SENTEZLENEN
ÜRÜNLERİN BOYAMA ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

İsmail YAKIN

DANIŞMAN
Doç. Dr. Adem ÇINARLI
(danışman imzalı olacaktır)

Kimya Anabilim Dalı

Organik Kimya, Doktora Programı

Ocak, 2025

TEZ KABUL VE ONAYI

İsmail YAKIN tarafından, **Doç. Dr. Adem ÇINARLI** danışmanlığında hazırlanan "**LAKKAZ KATALİZLİ BOYARMADDE SENTEZLERİ ve SENTEZLENEN ÜRÜNLERİN BOYAMA ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **16/01/2025** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi		İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Doç. Dr. Adem ÇINARLI		☒
	İstanbul Cerrahpaşa		Kabul
	Üniversitesi		☐
	Kimya Anabilim Dalı		Ret
ÜYE	Prof. Dr. Nihal ONUL		☐
	İstanbul Cerrahpaşa		Kabul
	Üniversitesi		☐
	Kimya Anabilim Dalı		Ret
ÜYE	Prof. Dr. Sevim KARATAŞ		☐
	Marmara Üniversitesi		Kabul
	Organik Kimya Anabilim Dalı		☐
			Ret
ÜYE	Prof. Dr. Ümit Salan		☐
	Marmara Üniversitesi		Kabul
	Organik Kimya Anabilim Dalı		☐
			Ret
ÜYE	Doç. Dr. Demet GÜRBÜZ		☐
	İstanbul Cerrahpaşa		Kabul
	Üniversitesi		☐
	Kimya Anabilim Dalı		Ret

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve bilimsel etik kuralları içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve her türlü hukuki sorumluluğu aldığımı kabul ederim.

İsmail YAKIN

(İmza)

Akademik çalışmalarım süresince desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Belma ve oğlum Kerem'e ithaf ediyorum.

BÜTÇE DESTEKLERİ

LAKKAZ KATALİZLİ BOYARMADDE SENTEZLERİ ve SENTEZLENEN ÜRÜNLERİN BOYAMA ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Bu tez çalışması, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun (TÜBİTAK) 1512-Bireysel Girişimcilik Programında 2211142 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Akademik çalışmalarım süresince her zaman yanımda olan danışman hocam Doç. Dr. Adem ÇINARLI ve değerli hocam Doç Dr. Demet GÜRBÜZ'e, deneysel çalışmalarına laboratuvar altyapısını sağlayan Smarterchem Kimya Proje ve Danışmanlık Anonim Şirketi'ne, projeme bütçesel destek sunan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na ve daima desteklerini hissettiğim sevgili eşim Belma ve oğlum Kerem'e tüm içtenliğimle teşekkür ediyorum.

Ocak 2025

İsmail YAKIN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ.....	xii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xiii
ÖZET	xiv
ABSTRACT.....	xvi
1 GİRİŞ.....	1
2 KAVRAMSAL ÇERÇEVE	3
2.1 ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.2 ENZİMATİK SENTEZLER.....	5
2.3 LAKKAZ ve LAKKAZ KATALİZLİ SENTEZLER	5
2.4 LAKKAZ REAKSİYONLARINA ETKİ EDEN FAKTÖRLER.....	9
2.4.1 pH	9
2.4.2 Sıcaklık	9
2.4.3 Enzim-Substrat Konsantrasyonu.....	10
2.4.4 Enzim Aktivitesi	10
2.4.5 Oksijen Konsantrasyonu	11
2.4.6 Reaksiyon Süresi.....	11
2.4.7 Karıştırma Hızı.....	11
2.5 TEKSTİL BOYAR MADDELERİ.....	11
2.6 BOYARMADDE PERFORMANS PARAMETRELERİ	13
3 YÖNTEM.....	15
3.1 KULLANILAN KİMYASALLAR.....	15
3.2 KULLANILAN CİHAZLAR	16

3.3	LAKKAZ KATALİZLİ BOYARMADDE SENTEZ YÖNTEMİ	16
3.4	LAKKAZ KATALİZLİ BOYARMADDE ANALİZ YÖNTEMLERİ.....	18
3.4.1	UV-Vis Analizi	18
3.4.2	HPLC Analizi	18
3.4.3	FTIR Analizi	18
3.4.4	MS Analizi	18
3.4.5	Boyarmadde Renk Tonunun Belirlenmesi için Naylon Boyama Metodu	19
4	BULGULAR	20
4.1	SENTEZLENEN LAKKAZ KATALİZLİ BİLEŞİKLER	20
4.1.1	Bileşik-1 (P1A1L1).....	20
4.1.2	Bileşik-2 (P3A2L1).....	23
4.1.3	Bileşik-3 (P3A1L1).....	27
4.1.4	Bileşik-4 (P2P3L1)	30
4.1.5	Bileşik-5 (P2A4L1).....	32
4.1.6	Bileşik-6 (P2A5L1).....	35
4.2	SENTEZLENEN BİLEŞİKLERİN RENK ÖZELLİKLERİ	39
4.3	SENTEZLENEN BİLEŞİKLERİN HASLIK ÖZELLİKLERİ	40
5	TARTIŞMA.....	49
6	SONUÇ VE ÖNERİLER	53
	KAYNAKLAR	54
	İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	56
	ETİK KURUL İZİN YAZISI	57
	KURUM İZNİ YAZILARI	58
	ÖZGEÇMİŞ	59

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1: Şiringik asit polimerizasyonu.....	3
Şekil 2.2: Azo boyarmaddelerin sentezlenme reaksiyonu.....	5
Şekil 2.3: Lakkaz enzimlerinin etki mekanizması.....	6
Şekil 2.4: Lakkaz proteininin mikroskopik yapısı.....	6
Şekil 2.5: Lakkaz enzimi ile o-fenilendiaminden 2,3-diaminofenazin sentezi.	7
Şekil 2.6: Lakkaz enzimi ile 2,5-diamino-benzensülfonik asitten 2,7-diaminofenazin-1,6-disülfonik asit sentezi.	7
Şekil 2.7: Lakkaz enzimi ile 2-amino-3-metoksibenzoik asitten fenazin bazlı turuncu boyarmadde sentezi.	8
Şekil 2.8: Lakkaz enzimi ile 3-amino-2-hidroksibenzen-sülfonik asitten fenoksazin bazlı yapıların sentezi.	8
Şekil 2.9: 2-aminotiyofenolün 1,4-kinonlarla lakkaz katalizli fenotiyazin bazlı yapıların sentezi.	9
Şekil 2.10: Lakkaz Aktivitesinin Belirleme Formülasyonu	10
Şekil 3.1: Nylon Boyama Metodu	19
Şekil 4.1: Resorsinol (P1) ile 4'-Aminoazobenzen-4-sülfonik asit (A1) reaksiyonu.....	20
Şekil 4.2: P1A1L1 kodlu reaksiyon ürününün UV-Vis Spektrumu	21
Şekil 4.3: P1A1L1 kodlu reaksiyon ürününün HPLC Kromatogramı.....	22
Şekil 4.4: P1A1L1 kodlu reaksiyon ürününün Kütle Spektrumu.....	22
Şekil 4.5: P1A1L1 kodlu reaksiyon ürününün ATR-FTIR Spektrumu.....	23
Şekil 4.6: 2-amino-4-nitrofenol (P3) ile 7,7'-(Karbonilbis(azanedil)) bis (4-hidroksi naftalen-2-sülfonik asit) (A2) reaksiyonu.....	24

Şekil 4.7: P3A2L1 kodlu reaksiyon ürününün UV-Vis Spektrumu	25
Şekil 4.8: P3A2L1 kodlu reaksiyon ürünü ürününün HPLC Kromatogramı	25
Şekil 4.9: P3A2L1 kodlu reaksiyon ürünü ürününün Kütle Spektrumu	26
Şekil 4.10: P3A2L1 kodlu reaksiyon ürününün ATR-FTIR Spektrumu.....	26
Şekil 4.11: 2-amino-4-nitrofenol (P3) ile 4'-Aminoazobenzen-4-sülfonikasit (A1) reaksiyonu.	27
Şekil 4.12: P3A1L1 kodlu reaksiyon ürününün UV-Vis Spektrumu	28
Şekil 4.13: P3A1L1 kodlu reaksiyon ürününün HPLC Kromatogramı	28
Şekil 4.14: P3A1L1 kodlu reaksiyon ürününün Kütle Spektrumu.....	29
Şekil 4.15: P3A1L1 kodlu reaksiyon ürününün ATR-FTIR Spektrumu.....	29
Şekil 4.16: 2-amino-4-nitrofenol (P3) ile Katekol (P2) reaksiyonu	30
Şekil 4.17: P2P3L1 kodlu ürünün UV-Vis Spektrumu	31
Şekil 4.18: P2P3L1 kodlu reaksiyon ürününün HPLC Kromatogramı	31
Şekil 4.19: P2P3L1 kodlu reaksiyon ürününün Kütle Spektrumu	32
Şekil 4.20: P2P3L1 kodlu ürünün ATR-FTIR Spektrumu	32
Şekil 4.21: Katekol (P2) ile 6-aminonaftalin-2-sülfonikasit (A4) reaksiyonu	33
Şekil 4.22: P2A4L1 kodlu ürünün UV-Vis Spektrumu.....	34
Şekil 4.23: P2A4L1 kodlu reaksiyon ürününün HPLC Kromatogramı	34
Şekil 4.24: P2A4L1 kodlu reaksiyon ürünü ürün Kütle Spektrumu	35
Şekil 4.25: P2A4L1 kodlu ürünün ATR-FTIR Spektrumu	35
Şekil 4.26: Katekol (P2) ile 4-amino-1-naftalinsülfonikasit (A5) reaksiyonu.....	36
Şekil 4.27: P2A5L1 kodlu ürünün UV-Vis Spektrumu.....	37
Şekil 4.28: P2A5L1 kodlu reaksiyon ürününün HPLC Kromatogramı	37
Şekil 4.29: P2A5L1 kodlu reaksiyon ürünü ürün Kütle Spektrumu	38
Şekil 4.30: P2A5L1 kodlu ürünün ATR-FTIR Spektrumu	38
Şekil 4.31: P1A1L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri.....	41
Şekil 4.32: P3A2L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri.....	42

Şekil 4.33: P3A1L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri.....	44
Şekil 4.34: P2P3L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri	45
Şekil 4.35: P2A4L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri.....	47
Şekil 4.36: P2A5L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri.....	48



TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 3.1: Deneylerde kullanılan kimyasallar	15
Tablo 3.2: Reaksiyon optimizasyon çalışmaları	17
Tablo 4.1: Reaksiyon ürünleri boyama ve renk ölçüm çalışmaları.....	39
Tablo 5.1: Reaksiyon ürünleri haslık değerlendirme tablosu	52

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
°C	: Derece santigrat
µL	: Mikrolitre
nm	: Nanometre
U	: Ünite
µmol	: Mikromol
mL	: Mililitre
cm	: Santimetre
g	: Gram
g/L	: Gram/litre
mmol	: Milimol
N	: Normal
Abs	: Absorbans
%	: Yüzde
λ	: Dalga Boyu
m/z	: Kütle yük oranı
U/g	: Lakkaz aktivite birimi

Kısaltmalar	Açıklama
ABTS	: 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonikasit
HBT	: 1-hidroksibenzotriazol
VLA	: Violurik asit
NHA	: N-hidroksiasetanilit
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
LC-MS	: Sıvı kromatografisi- Kütle spektrofotometresi
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
UV-Vis	: Ultraviyole ve görünür ışık absorpsiyon spektroskopisi
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
CI	: Renk indeksi
ISO	: Uluslararası Standartlar Teşkilatı

ÖZET

DOKTORA TEZİ

LAKKAZ KATALİZLİ BOYARMADDE SENTEZLERİ ve SENTEZLENEN ÜRÜNLERİN BOYAMA ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

İsmail YAKIN

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Organik Kimya, Doktora Programı

Danışman: Doç. Dr. Adem ÇINARLI

Kimya sektörünün büyümesi ve gelişmesi, teknolojik ilerlemeler için zorunluyken kullanılan kimyasalların olumsuz çevresel etkileri nedeniyle endişe vericidir. Tekstil boyalarının bilinen yaygın üretim teknikleri; diazo, kenetlenme ve kondenzasyon gibi reaksiyonların gerçekleştirilmesine dayandığı dolayısıyla yüksek miktarlarda asitlere, bazlara, üretim sürecinde boyarmadde ile birlikte oluşan atık ürünler nedeniyle çevreci değildir.

Biyolojik katalizörler olan enzimlerin, kimyasal reaksiyonları nötr koşullarda, yan ürüne neden olmaksızın gerçekleştirebilmeleri klasik boya üretim metodlarına alternatif olarak kullanılmalarını gündeme getirmiştir. Oksidoredüktaz enzim sınıfından olan lakkazlar yapılarında hidroksi ve amin fonksiyonel grupları bulunan kimyasal yapıları katalizleyip reaksiyona girebilmektedir.

Tez kapsamında, endüstriyel olarak üretilen lakkaz enzimleriyle çevreye zararsız olarak tanımlanan fenolik ve aromatik yapıli hammaddelele, lakkazların optimum performans

gösterdiği reaksiyon koşullarında fenazin, fenoksazin, fenoksazinon ve fenotiyazin grupları içeren heterosiklik yapılı boyarmaddeler sentezlenmiş, karakterize edilmiş ve mevcut tekstil boyarmaddelerine ekolojik alternatif olarak kullanılabilirliği için çalışılmıştır. Sentezlenen lakkaz katalizli bileşiklerin, boyarmadde özelliklerinin incelenmiş ve naylon, naylon karışımı kumaşların boyanmasında halihazırda kullanılan azo yapılı boyarmaddelere alternatif olabilecek haslık değerlerini sağladığı belirlenmiştir.

Enzimatik sentezlerin yaygınlaşması ve ticarileşmesiyle birlikte daha temiz ve sürdürülebilir bir dünya hedefi mümkün olabilecektir.

Ocak 2025 , 77 sayfa.

Anahtar kelimeler: Enzimatik Boyarmadde, Lakkaz Katalizli Sentezler , Tekstil Boya

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

LACCASE CATALYSED DYESTUFF SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF THE DYEING PROPERTIES OF SYNTHESIZED PRODUCTS

İsmail YAKIN

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemistry

Organic Chemistry, Ph.D Programme

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Adem ÇINARLI

The growth and development of the chemical industry is worrisome due to the negative environmental impact of the chemicals used while imperative for technological advances. Known common production techniques of textile dyes; diazo is not environmentally friendly due to the fact that it is based on the realization of reactions such as coupling and condensation, so it is resistant to high amounts of acids, bases, and waste products formed with dyestuff during the production process.

The fact that enzymes, which are biological catalysts, can carry out chemical reactions under neutral conditions without causing by-products has brought their use as an alternative to classical dyestuff production methods. Laccases, which belong to the oxidoreductase enzyme class, can catalyze and react chemical structures with hydroxy and amine functional groups in their structures.

Within the scope of the thesis, phenolic and aromatic raw materials, which are defined as harmless to the environment with industrially produced laccase enzymes, heterocyclic dyestuffs containing phenazine, phenoxazine, phenoxazinone and phenothiazine groups under reaction conditions in which laccases perform optimally, were synthesized, characterized and studied for their use as an ecological alternative to existing textile dyestuffs.

The dyestuff properties of the synthesized laccase-catalyzed compounds were examined and it was determined that they provided fastness values that could be an alternative to azo dyestuffs currently used in the dyeing of nylon and nylon blended fabrics.

With the widespread and commercialization of enzymatic syntheses, the goal of a cleaner and more sustainable world will be possible.

January 2025, [77] pages.

Keywords: Enzymatic Dyestuff, Laccase catalysed synthesis, Laccase catalysed dyestuff, Textile Dye

1 GİRİŞ

Dünyada ve ülkemizde kimya sektörünün büyümesi bir yandan teknolojik gelişmeler için zorunluyken diğer yandan mevcut proseslerde kullanılan kalıcı ve mobil kimyasalların insan sağlığı ve çevre üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle sıfır kirlilik odaklı yenilikçi çözümlere muhtaçtır. Tekstil boyalarının mevcut metodlarla üretimlerinde yüksek miktarlarda asitlere, bazlara ve enerjiye ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca üretilen boyarmadde ile birlikte oluşan atık ürünler nedeniyle de çevreci değildir.

Organik kimyada enzimlerle bazı sentetik reaksiyonların gerçekleştirilebilmesi özellikle boyarmadde kimyası açısından yeni bir bakış açısı oluşturmuştur. Farklı sektörlerde oksido-redüktif özellikleri için kullanılan lakkaz enzimleri gerek ticari olarak üretilebilirlikleri gerekse hem reaksiyonları hızlandırıp hem de yan ürüne sebep olmadıkları için ekolojik tekstil boyarmaddesi sentezlenmesi için tercih edilmiştir.

Tez çalışmasının temel yaklaşımını lakkaz kullanarak boyarmadde sentezlemek oluşturmaktadır. Bu kapsamda yeni boyarmadde elde etmek için kaynaklı lakkazların enzim nitelikleri, oksidoredüksiyon kapasiteleri ve aktiviteleri belirlendikten sonra boyarmadde endüstrisinde ticari kullanımı olan monofenoller, difenoller, polifenoller, farklı süstitüe fenoller gibi fenolik başlangıç maddeleri ile poliamin ve aromatik amin yapısındaki başlangıç maddeleri kullanılarak boyarmadde sentezlenmesi için çalışılmıştır.

Sentez verimlerinin optimum olarak gerçekleşmesi için temel reaksiyon parametreleri olan; sıcaklık, pH, tampon etkisi gibi reaksiyon koşulları belirlenmiştir.

Sentezlenen boyarmadde özellikli bileşiklerin yapısal analizleri UV-Vis, HPLC, FTIR ve MS yöntemleri ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sentez ürünlerin boyama özelliklerinin incelenmesi kapsamında; boyarmaddenin etki ettiği lif türlerinin belirlenip, belirlenen lifler için boyanabilirlik çalışmaları yapılmış ve elde edilen boyanmış liflerin performans ve haslık testleri gerçekleştirilmiştir.

Yeni sentezlenen organik bileşiklerin organik kimya literatürüne katkı yapacağı açıktır.

Tez kapsamında geliştirilen enzimatik boyarmaddelerin nötr koşullarda, çevreye zararsız hammaddeler ve lakkaz ile klasik boyarmaddelere göre kısa sürelerde ve düşük enerji tüketimi ile üretilip gerekli oranlarda saflaştırılarak ticari boyarmaddelere ekolojik alternatif olarak tekstil pazarında yer bulması sonrasında başta su kaynakları olmak üzere iklim değişikliği, çevre ve biyoçeşitliliğin korunması ile temiz ve döngüsel ekonomiye katkı sağlanacaktır.

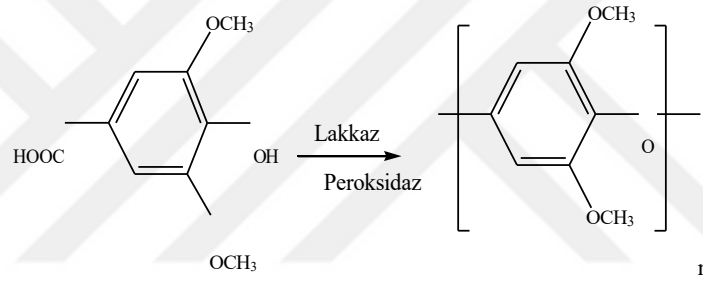


2 KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1 ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Lakkaz gibi oksido-redüktif enzimlerle boyarmadde üretilebilmesi fikri, sentetik boyarmadde üretimine alternatif olabilecek bir çözüm olarak karşımıza çıkmıştır. Tezde hedeflenen yeniliğe dair mevcut literatür taranarak deney setlerinde kullanılması düşünülen başlangıç maddeleri ve proses şartlarına dair bilgiler elde edilmiştir.

1996 yılında, Ikeda, R. ve diğ. şiringik asit polimerizasyonunu lakkaz ve peroksidaz katalizörlüğünde yapmışlardır. [1]



Şekil 2.1: Şiringik asit polimerizasyonu

1999 yılında, Setti L. ve diğ. metoksifenol, MBTH ve lakkaz ile kırmızı boyarmadde sentezi yapmıştır. [2]

2005 yılında, Mustafa R. ve diğ. Pyricularia Oryzae lakkazı, ferulik asit ve diğer polifenolik bileşikler ile sarı renkli boyarmadde sentezlemiştir. [3]

2002 yılında, Mikolasch A., amin türevlerinden lakkaz ile 3-(3,4-dihidroksifenil)- propiyonikasit reaksiyonlarını yapmıştır. [4]

2005 yılında, Intra, A., lakkaz ile tetrahidro-2-naftol türevlerini sentezlemiştir. [5]

2008 yılında, Camarero, S. ve diğ. lakkaz kullanarak fenolik bileşiklerle (gallik asit, şiringik asit, ferulik asit, kateşin, katekol) boyarmadde sentezleri yapmışlardır. [6]

2004-2008 yılları arasında Vanhulle S. ve diğ. AB fonlarından destekli üniversite-sanayi (Setaş Kimya) iş birliği projesinde (SOPHIED) doğal suşlardan lakkazların izole edilmesi,

immobilizasyonu ve elde edilen lakkazlar ile boyarmadde sentezlemiştir. İlgili proje kapsamında Asit Mavi 62 boyasının kendi içinde polimerleşmesi ile Asit Kırmızı-1 boyasını ve 3-hidroksi-antranilikasit kullanarak fenoksazin bazlı kırmızı boyarmadde elde etmiştir. [7]

2012 yılında, Pogni R. ve diğ. AB fonlarından destekli ‘‘Bioprocessing for sustainable production of coloured textiles’’ projesinde lakkaz kullanarak sarı, kırmızı ve mavi renkli 3 boyarmadde sentezlenmiştir. [23]

2015 yılında, İsmail Yakın tamamladığı ‘‘Enzimler ile Boyarmadde Sentezleri, Sentezlenen Bio-Boyarmaddelerin Karakterizasyonları ve Boyarmadde Özelliklerinin İncelenmeleri’’ isimli yüksek lisans tezi kapsamında sarı-kahverengi tonları için H-Asit, kırmızı tonları için de 3- hidroksiantranilik asit ve resorsinol + m-fenilendiamin reaksiyonlarını gerçekleştirmiştir. [8]

2016 yılında, Sun, Xing ve Tang ferulik asit kullanarak ipekli, yünlü, pamuklu, poliamid ve viskon dokuma kumaşları enzimatik olarak boyamışlardır. [9]

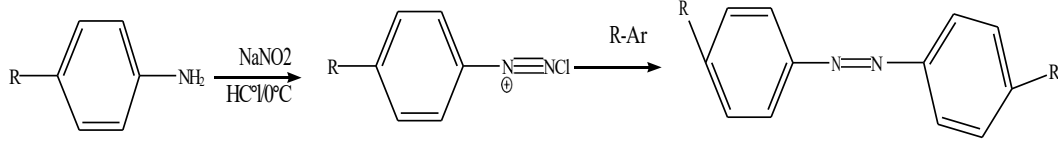
2021 yılında, tekstil boyamada enzimlerin en yeni uygulamalarından biri olarak tekstil malzemelerinin lakkaz destekli renklendirilmesi için Atav R., Buğdaycı B. ve Yakın İ. (geleneksel mordanlara alternatif olarak St. John's wort ve beyaz soğan kabuğu ekstraktları ile pamuklu kumaşları boyamak için lakkaz katalizli enzimatik boya sentezi kullanılmıştır. [10]

2021 yılında Atav R., Buğdaycı B., Bozkurt Ö., Yıldız A., Güneş E. ve Yakın İ, lakkaz kullanarak 3-metil-2-benzotiyazolinon hidrazon hidroklorür ve metoksifenol'den kırmızı, 2,2'-azino-bis(3etilbenzotiyazolin-6-sülfonikasit) diamonyum tuzunun kendi içinde polimerizasyonu ile mavi renk elde ederek pamuk elyafın boyanabilirliği için çalışmışlardır. [11]

2024 yılında Atav R., Karagören E., Soysal S., ve Yakın İ, lakkaz kullanarak Enzymatic coloration of polyamide fabrics and its comparison with conventional dyeing ile lakkaz bazlı boyarmaddeler ile poliamid elyafı renklendirmişlerdir. [12]

2.2 ENZİMATİK SENTEZLER

Organik boyarmadde sentezinde sıklıkla kullanılan diazonyum reaksiyonlarının, yüksek enerji gereksinimi ve asidik pH'larda gerçekleşen reaksiyonların nötralizasyon sonrasında, NaCl ve Na₂SO₄ gibi çeşitli yan ürünlerin oluşması nedeniyle çevresel etkileri yüksektir.



Şekil 2.2: Azo boyarmaddelerin sentezlenme reaksiyonu

Oksido-redüktif enzimlerle klasik boyarmadde sentezlerine alternatif olabilecek nitelikte bazı reaksiyonların gerçekleştirilmesi sentetik boyarmadde proseslerine yeni bir bakış açısı doğurmuştur.

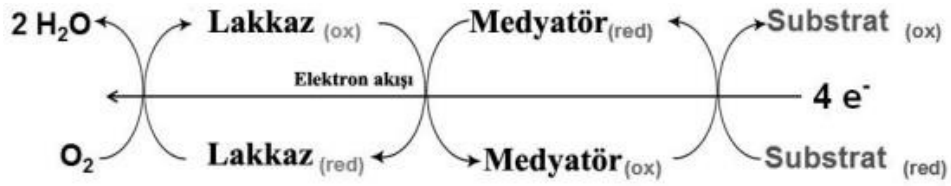
Hücresi dışında bakır atomu içeren ve bu oksido-redüksiyon için havada bulunan oksijeni kullanabilen lakkaz enzimleri, çeşitli fenolik bileşiklerin oksidasyonunu katalizleyebilmektedir. [13]

Lakkaza benzerlik gösteren diğer enzim grubu peroksidazlardır. Bu grup enzimler oksido-redüksiyon için hidrojen peroksit gerekliken, lakkazın sadece havanın oksijeni ile katalitik etki göstermesi ekolojik etki ve kullanım açısından tercih sebebidir. Lakkazların bu oksido-redüktif yeteneği alternatif ve yenilikçi süreçlerde bu enzimleri vazgeçilmez kılmaktadır.

Akkara J.A. ve diğ. 1992 yılında, oksido-redüktaz sınıfından olan peroksidaz ile polianilin sentezleyerek enzimlerle boyarmadde sentezi adına literatüre geçen ilk çalışmaları gerçekleştirmiştir. [14]

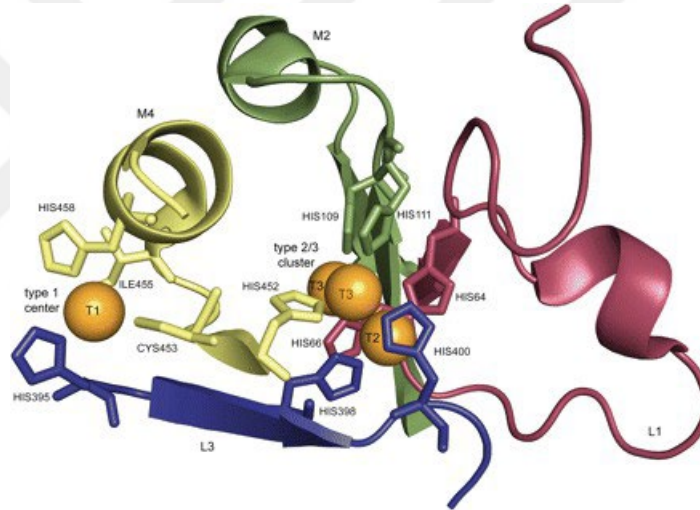
2.3 LAKKAZ ve LAKKAZ KATALİZLİ SENTEZLER

Birden çok bakır atomuna sahip bir protein olan lakkaz, radikal oluşturup katalizörlüğünü yaptığı reaksiyonlarla benzen, naftalin ve türevleri şeklindeki farklı bileşiklerin oksidasyonu için havanın oksijenini kullanmaktadır. Oksido-redüksiyon tepkimesinde havadan alınan oksijenin suya indirgenmesi ile amin ve hidroksi grubu içeren bileşiklerin oksidasyonu katalizlenmektedir.



Şekil 2.3: Lakkaz enzimlerinin etki mekanizması

Benzendiol, p-difenol lakkazın diğer isimleridir. Lakkazlar, oldukça geniş bir spektrumda difenolik bileşiklerin oksidasyonlarını gerçekleştirebilir. Ultra-viyole spektrumlarında 340 nm’de küçük bir pik oluşturup 600 nm’de ise maksimum pik vermektedirler. [15]



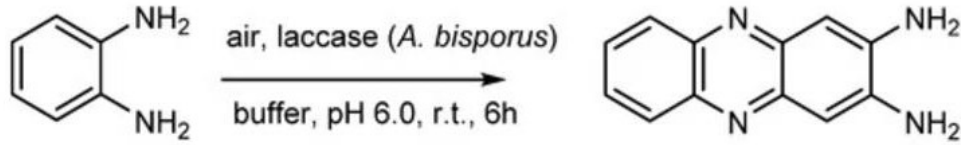
Şekil 2.4: Lakkaz proteininin mikroskopik yapısı

Lakkaz enzimlerinin ölçülen redoks potansiyelleri genellikle fenolik olmayan bileşiklerin redoks potansiyellerinden daha düşüktür, bu nedenle lakkazlar genellikle bu tür bileşikleri oksitleyemez. Ancak, küçük moleküllerin elektron transfer aracı olarak rol aldığı durumlarda, lakkazların fenolik olmayan bileşikleri oksitleyebildiği bilinmektedir. Bu küçük moleküller, substrat ile lakkaz arasında elektron taşıyıcı gibi davranan ve enzimatik oksidasyon sonucunda kararlı radikallere dönüşen bileşiklerdir. Oluşan kararlı radikallere dönüşen bu moleküller, redoks aracı olarak işlev görerek lakkaz enzimlerinin substratı olmayan diğer bileşikleri oksitleyebilir. Lakkaz enzimleri için ilk redoks aracı ABTS ve sonraki süreçte diğer sentetik redoks araçlarının HBT, VLA, NHA ve aromatik fenol türevlerinin (ferrosiyamid) kullanıldığı gözlenmiştir.

Organik sentezlerde lakkazların kullanımı ile çok çeşitli heterosiklik bileşiklerin sentezlenmesi klasik kimyasal oksidasyon yöntemlerine ciddi anlamda ekolojik alternatiftir. Bu enzimatik yaklaşımla elde edilen farklı aromatik çeşitlilik, lakkazların hem fenol hem de aromatik amin oksidasyonu için umut verici araçlar olduğunu ve katma değerli aromatik bileşiklerin üretiminde kullanılabileceklerini göstermektedir. [16]

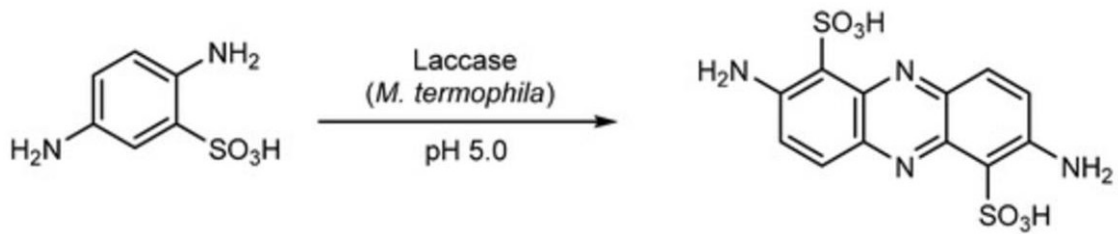
Fenazin bileşikleri, biyolojik olarak aktif bileşiklerin yapısında yaygın olarak bulunan çok işlevli ve çok yönlü yapı taşlarıdır. Önemleri ve geniş uygulama alanları nedeniyle, bu aromatik halkaların oluşumu için kimyasal yollara bir alternatif olarak yeni, enzimatik sentezlerin geliştirilmesi çok önemlidir.

A. bisporus'tan elde edilen ticari bir lakkazın katalitik miktarlarının varlığında, çok hafif reaksiyon koşulları altında o-fenilendiaminin oksidatif dönüşümü ile 2,3-diaminofenazin sentezlenebilmiştir. [17]



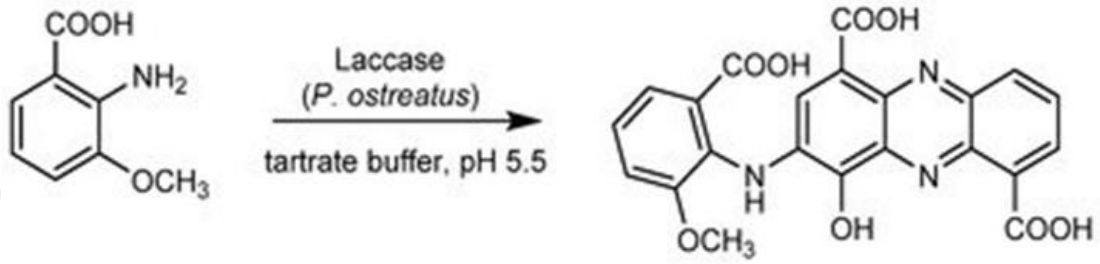
Şekil 2.5: Lakkaz enzimi ile o-fenilendiaminden 2,3-diaminofenazin sentezi.

M. termophila lakkazı tarafından 2,5-diamino-benzensülfonik asidin oksidatif dimerizasyonu, 2,7-diaminofenazin-1,6-disülfonik asidin oluşumuyla sonuçlanmıştır. [18]



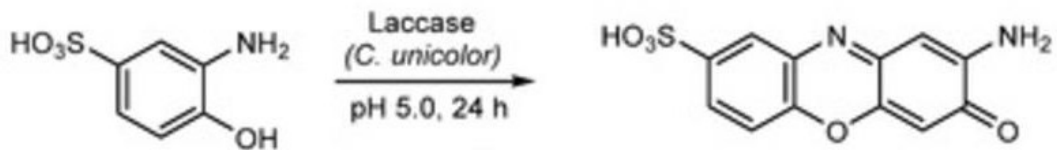
Şekil 2.6: Lakkaz enzimi ile 2,5-diamino-benzensülfonik asitten 2,7-diaminofenazin-1,6-disülfonik asit sentezi.

P. ostreatus suşundan elde edilen lakkaz varlığında 2-amino-3-metoksibenzoik asidin homomoleküler transformasyonu ile fenazin bazlı bir turuncu renkli boyarmaddenin oluşumu sağlanmıştır. Bu ve benzer türevlendirme ile elde edilen boyalar, antibakteriyel ve antioksidatif aktivitelerin yanı sıra mükemmel boyama özellikleri sergilediler; bu nedenle, önerilen enzim aracılı sentez, tıp ve tekstil endüstrisi için yüksek öneme sahip yeni antimikrobiyal bileşiklerin sentezi için alternatif bir çözüm ortaya koymuştur. [19]



Şekil 2.7: Lakkaz enzimi ile 2-amino-3-metoksibenzoik asitten fenazin bazlı turuncu boyarmadde sentezi.

Fenoksazinler ve fenoksazonlar, bir trisiklik iminokinon çekirdek yapısı içeren önemli heterosiklik bileşik sınıflarıdır ve ayrıca önemli biyolojik aktiviteler ve redoks özellikleri sergileyen bileşiklerde bulunan önemli bir yapı taşıdır. 3-hidroksiortanilik asit ve 3-amino-2-hidroksibenzen-sülfonik asidin sülfonamid türevlerinin *Trametes versicolor* ve *Cerrena unicolor* lakkazları tarafından oksidasyonu ile fenoksazonlar elde edilebilmektedir. [20]

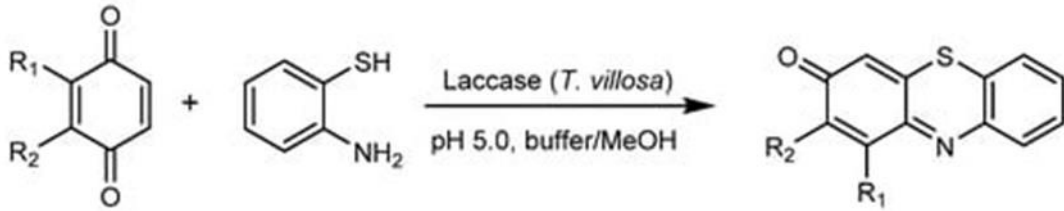


Şekil 2.8: Lakkaz enzimi ile 3-amino-2-hidroksibenzen-sülfonik asitten fenoksazin bazlı yapıların sentezi.

Fenotiyazinler, tıbbın birçok alanında, özellikle alzheimer ve parkinson hastalıkları gibi nörodejeneratif hastalıkların tedavisinde uygulanabilen heterosiklik kükürt bileşikleridir. Lakkazların hidrokinonları ve katekolleri p-kinonlar ve o-kinonlar üretmek için oksitleyebildiği göz önüne alındığında, kükürt bazlı nükleofilleri (1,2-etanditiyol veya 2-aminotiyofenol) içeren

reaksiyonlarından yararlanılarak fenotiyazinlerin sentezi için sürdürülebilir bir yaklaşım sağlanmaktadır.

2-aminotiofenolün 1,4-kinonlarla lakkaz katalizli sentez reaksiyonları sonucunda fenotiyazin bileşikler elde edilmektedir. [21]



Şekil 2.9: 2-aminotiofenolün 1,4-kinonlarla lakkaz katalizli fenotiyazin bazlı yapıların sentezi.

2.4 LAKKAZ REAKSİYONLARINA ETKİ EDEN FAKTÖRLER

Lakkaz reaksiyonları için belirlenen kritik faktörler; optimum lakkaz aktivitesinin sağlandığı pH, ortam sıcaklıkları, enzim etken madde korelasyonu, enzim aktivitesi, ortamdaki oksijen derişimi, tepkime süresi ve reaksiyon devir hızı olarak tanımlanabilir.

2.4.1 pH

Birçok enzimde olduğu gibi lakkaz enzimleri için de maksimum aktivitelerin pH'a bağımlıdır. Özellikle fenol içeren etken maddeler için lakkaz enzimlerinin pH bağımlılıkları belirli noktada maksimuma ulaşan bir grafik şeklindedir. Ph artışı, fenol bileşiklerinin fenol-fenolat dönüşümlerine, bunun sonucunda ise redüksiyon potansiyelinin ve aktivitenin düşüşüne neden olur. Çan eğrisi şeklindeki aktivite pH eğrisinin tepe noktası ise genellikle asidik pH'larda olmaktadır, bununla birlikte en yüksek aktivitenin pH 9-10 gibi olduğu lakkaz enzimleri de mevcuttur. Lakkazların farklı pH'larda da aktif olacak şekilde modifiye edilmeleri lakkazların çeşitli endüstrilerde de kullanılabilirliği açısından önemlidir.

2.4.2 Sıcaklık

Literatürde yer bulan çalışmalarda farklı orjinli lakkazların kullanıldığı reaksiyonlarda en yüksek aktivitenin 30-45 °C'lerde gösterdiği, bu noktadan sonra ise reaksiyon hızlarında ciddi düşüşler gözlenmektedir. Bu durumda lakkazların protein yapısında olması ve yüksek sıcaklıklarda denatüre olması en önemli etkidir.

2.4.3 Enzim-Substrat Konsantrasyonu

Substrat konsantrasyonu arttıkça, enzim reaksiyon hızı da artar. Bu artış, substrat moleküllerinin enzim aktif bölgelerine bağlanma sıklığının artmasından kaynaklanır. Ancak, belirli bir noktadan sonra artan substrat konsantrasyonunun enzim aktivitesini artırmadığı bir doyma noktası görülür. Bu noktaya ulaşıldığında, tüm enzim aktif bölgeleri zaten substrat molekülleri ile doludur ve artan substrat konsantrasyonunun etkisi azalır.

2.4.4 Enzim Aktivitesi

Lakkaz aktivitesinin belirlenmesi için kullanılan yöntemler arasında spektrofotometri, elektrokimyasal yöntemler, immünolojik yöntemler ve HPLC gibi analitik teknikler bulunmaktadır. Spektrofotometri, enzimatik reaksiyon sonucu oluşan ürünlerin absorbansını ölçerek lakkaz aktivitesini belirler. Elektrokimyasal teknikler ise enzimatik reaksiyon sonucu oluşan elektrik akımını ölçerek aktiviteyi belirler. İmmünolojik yöntemlerde ise antikorların lakkaz enzimine bağlanması ve bu bağlanmanın ölçülmesiyle aktivite belirlenir. HPLC ise enzimatik reaksiyon sonucu oluşan ürünlerin ayrılması ve tespiti için kullanılır.

Pratik ve kolay uygulanabilir metod olarak, Lakkaz aktivitesi ABTS'nin substrat olarak kullanıldığı prosedüre göre tespit edilebilir. Bu prosedürde 100 µL enzim, 300 µL ABTS (substrat) ve 600 µL sodyum asetat tamponu alınarak 15 dakika 55°C'de inkübe edildikten sonra 420 nm'de spektrofotometrede ölçüm yapılır. [22]

Enzim aktivitesi (U), birim zamanda 1 µmol ABTS'nin oksidasyonu için gerekli olan enzim miktarı diye tanımlanabilir. Enzim aktivitesi U/mL (µmol dk⁻¹ mL⁻¹) olarak ifade edilir ve aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$Aktivite \left(\frac{U}{mL} \right) = \frac{[\Delta Abs \times V_t \times 1000]}{[\epsilon_s \times d \times V_e \times t \text{ (süre)}] \times \text{Seyreltme Faktörü}}$$

ΔAbs = Absorbans değişimi

V_t = Toplam hacim (mL)

ϵ_s = ABTS için molar ekstinksiyon katsayısı (36000 M⁻¹ cm⁻¹)

V_e = Enzim hacmi (mL)

Şekil 2.10: Lakkaz Aktivitesinin Belirleme Formülasyonu

2.4.5 Oksijen Derişimi

Oksido-redüktaz karakterinde olan lakkazların tepkime hızları ortamda bulunan oksijen yoğunluğu ile doğrudan ilgilidir. Lakkaz, substrat moleküllerini oksitleyerek oksijenin indirgenmiş formlarını (radikaller, peroksitler vb.) oluşturur. Bu reaksiyonlar sırasında serbest radikallerin oluşumuyla birlikte oksijen kullanımı ve peroksit oluşumu artar. Dolayısıyla, oksijenin varlığı lakkazın reaksiyon hızını olumlu yönde etkiler. Oksijen molekülleri aynı zamanda lakkazın katalitik döngüsü içinde rejenerasyonu için gereklidir. Bu nedenle, lakkaz reaksiyonlarında oksijenin varlığı ve konsantrasyonu enzim aktivitesi üzerinde belirleyici bir faktördür.

2.4.6 Reaksiyon Süresi

Lakkaz reaksiyon süresi, bir malzemenin uygulandıktan sonra ne kadar sürede reaksiyona girdiğini ve istenilen sonuçları verdiğini belirten önemli bir parametredir. Bu süre, malzemenin performansı ve kalitesi üzerinde doğrudan etkili olabilir. Özellikle endüstriyel uygulamalarda, lakkazın hızlı reaksiyon göstermesi ve istenilen sonuca ulaşması gerekmektedir. Reaksiyon süresinin doğru bir şekilde belirlenmesi, ürünün kalitesi ve dayanıklılığı için kritik bir faktördür. Bu nedenle, reaksiyon süresinin belirlenmesi ve optimize edilmesi, endüstriyel uygulamalarda büyük önem taşımaktadır.

2.4.7 Reaksiyon Devir Hızı

Lakkazın etki ettiği kimyasalların tepkimeye girmesi için ulaşılması gerekli aktivasyon enerjisine ulaşılması gerekliliği nedeniyle reaksiyon devir hızı da önemlidir.

2.5 TEKSTİL BOYAR MADDELERİ

Tekstil boyarmaddelerinin kimyasal yapıları genellikle organik bileşiklerden oluşur ve çoğunlukla azo, antrakinin, ftalosiyenin ve triarilmetan türevlerinden oluşur. Bu bileşiklerin kimyasal yapıları renk pigmentlerinin oluşumuna ve tekstil malzemelerine bağlanmasına olanak sağlar.

Boyarmaddelerin sınıflandırılması çok farklı niteliklere göre yapılabilmektedir. En yaygın olanı ise boyayabildiği elyafa göre ve kimyasal yapılarına göre olandır. Reaktif, pigment, dispers, bazik, asit, direkt, mordan ve kükürt olarak sınıflandırılabilir. Boyarmaddeleri molekülün kromofor grubuna göre; azo boyarmaddeleri, nitro boyarmaddeleri, nitrozo boyarmaddeleri,

polimetin boyarmaddeleri, arilmetin boyarmaddeleri, aza-18 anulen boyarmaddeleri, karbonil boyarmaddeleri yaygın sınıflandırmalar arasındadır.

Bazı boyarmaddelerin kimyasal yapısı suya karşı dayanıklı olabilirken, diğerleri ışığa karşı daha dayanıklı olabilir. Kimyasal yapıları incelenerek boyanın ve tekstil malzemesinin özellikleri belirlenir ve ürünün kalitesini etkiler. Tekstil boyarmaddeleri tekstil endüstrisinde geniş bir kullanım alanına sahiptir. Bu maddeler, pamuk, yün, ipek, sentetik lifler ve diğer tekstil materyallerinin boyanması ve renklendirilmesinde yaygın olarak kullanılır. Ayrıca, bu boyarmaddeleri ayrıca ev tekstili, giyim, ayakkabı ve mobilya endüstrilerinde de kullanılmaktadır. Çeşitli kumaş türleri ve tekstil ürünleri için farklı renk seçenekleri ve özellikler sunan boyarmaddeleri, tekstil sektöründe vazgeçilmez bir role sahiptir. Bu maddeler aynı zamanda tekstil ürünlerine dayanıklılık sağlamak, renk koruma ve renk solması önleme gibi özellikler kazandırmak için de kullanılır.

Tekstil boyarmaddelerinin çevresel etkileri genellikle atık su, hava ve toprak kirliliği olarak ortaya çıkar. Boya üretimi sırasında kullanılan kimyasalların atık suya karışması, su kaynaklarının kirlenmesine neden olabilir. Ayrıca, boya üretimi ve uygulaması sırasında ortaya çıkan kimyasal dumanlar da hava kirliliğine yol açabilir. Bu kimyasal maddelerin toprakla teması ise tarım alanlarını ve ekosistemleri olumsuz etkileyebilir. Bu nedenle, tekstil endüstrisinde çevre dostu ve sürdürülebilir boya üretim yöntemlerinin benimsenmesi ve atık yönetimi konusunda dikkatli olunması gerekmektedir.

Tekstil boyarmaddeleri üretiminde sürdürülebilirlik yaklaşımları, çevresel etkilerin minimize edilmesi ve kaynakların verimli kullanımını içerir. Bu yaklaşımlar arasında atık suyun azaltılması, enerji verimliliği, yenilenebilir hammaddelerin kullanımı ve kimyasal maddelerin çevresel etkilerinin azaltılması bulunur. Ayrıca, yeşil kimya prensiplerine uygun üretim teknikleri ve tehlikeli kimyasal maddelerin yerine daha güvenli alternatiflerin kullanılması da sürdürülebilirlik yaklaşımları arasında yer alır. Bu yaklaşımların uygulanmasıyla, tekstil boyarmaddeleri üretim süreci çevresel olarak daha sürdürülebilir hale gelir ve sektördeki olumsuz etkilerin azaltılmasına katkı sağlanır.

2.6 BOYARMADDE PERFORMANS PARAMETRELERİ

Tekstil boyarmaddelerinin kimyasal yapıları genellikle organik bileşiklerden oluşur ve çoğunlukla azo, antraknon, fitalosiyanın ve triarilmetan türevlerinden oluşur. Bu bileşiklerin kimyasal yapıları renk pigmentlerinin oluşumuna ve tekstil malzemelerine bağlanmasına olanak sağlar. Bazı boyarmaddelerin kimyasal yapısı suya karşı dayanıklı olabilirken, diğerleri dayanıksız olabilmektedir. Haslık, bir tekstil malzemesinin dayanıklılık ve kopma direncini ifade eder. Bu özellik, tekstil ürünlerinin kullanım ömrü ve kalitesi üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Özellikle dayanıklı ve uzun ömürlü tekstil ürünleri üretmek isteyen üreticiler için haslık, oldukça önemlidir. Ayrıca, tüketici perspektifinden bakıldığında, dayanıklı ve yüksek haslık özelliklerine sahip tekstil ürünleri, uzun vadeli kullanım için tercih edilen ürünlerdir. Bu nedenle, tekstil materyallerinin haslık özelliklerinin doğru bir şekilde belirlenmesi ve geliştirilmesi hem üreticiler hem de tüketiciler için büyük önem taşımaktadır.

Renk verimi (Haslıklar) ve CIELAB belirlenmesi: Rengin sayısal ifadesi olarak ta kabul edilen $CIEL^*a^*b^*$ değerleri tekstil yüzeylerinin renklendirilmesi sonrasında 400-700 nm aralığında maksimum absorpsiyonun (minimum remisyon) gözlemlendiği dalga boyunda spektrofotometre kullanılarak ölçülmektedir. (D65/10° metodu ile)

Renk Haslığı da boyanmış yüzeylerin çeşitli soldurucu etkiler nedeniyle renkte görülen değişimlerin ifadesidir.

R: Maksimum absorpsiyon dalga boyundaki reflektans değeri

L^* : Açıklık/koyuluk değeri , a^* : Kırmızılık/yeşillik değeri, b^* : Sarılık/mavilik değeri

Yıkama haslığı tayini: Boyanmış numunelerin yıkama haslığı tayini ISO 105 C-06 göre yıkama haslığı test cihazında yapılmaktadır. Yıkama haslığının belirlenmesi için bir yüzüne multi-fiber dikilmiş olan test numunesi, 60°C’da 30 dakika süreyle deterjan çözeltisiyle işlem yapılmaktadır.

Işık haslığı tayini: Işık haslığı boyanmış materyalin güneşe maruz kalması sonucu solmaya karşı direncinin belirlenmesi amacıyla yapılır. Boyanmış numunelerin ışık haslığı tayini ISO 105 B-O2 göre yapılır. Bu testte güneşi simüle edecek şekilde Xenon vb ısı ve ışık kaynağı lambanın yer aldığı test ekipmanı kullanılır.

Su haslığı testi: Tekstil malzemelerinin suya daldırmaya karşı direncini belirlenmesidir. ISO 105 E01 e göre 37°C 4 saat esasına göre yapılmaktadır. Bu testin yıkama haslığı testinden farkı, yıkama haslığı testinde deterjan ilavesi de olduğu için bazık bir pH solüsyonu kullanılırken su haslığı testi ise nötr pH seviyelerinde gerçekleştirilmesidir.

Asidik ve alkali ter haslığı testi: Testin amacı, tekstil kumaşları üzerindeki boyalar ile insan teri arasındaki potansiyel reaksiyon nedeniyle renk solması ve renk değişiminin ölçülmesidir. Test edilen numune örnekleri; belirli basınç, sıcaklık ve süre altında iki plaka arasında iki farklı pH değerine sahip çözeltiye daldırılan multifiberlerle temas halindedir. ISO 105 E04 e göre yapılarak gri skalaya göre değerlendirilmektedir.

Gri Skala: Bir malzemenin görünümünün renk tonlamasındaki farklılıklarının değerlendirilmesidir. ISO 105-A02 standardına göre kıyaslanmaktadır. Bir numunenin renk kaybını görsel olarak değerlendirmek için 1'den 5'e kadar derecelendirme ile kullanılmaktadır. Gri Skala Değerlendirme Dereceleri: 1-Kötü 2-Orta 3-Az İyi 4-İyi 5-Pekiyi olarak değerlendirilmektedir.

3 YÖNTEM

3.1 KULLANILAN KİMYASALLAR

Tablo 3.1: Deneylerde kullanılan kimyasallar

Kimyasal Adı	Çalışmadaki Kodu	Üretici	Cas. No	Molekül Ağırlığı
Sodyum Asetat Trihidrat	Asetat Tampon	Merck	6131-90-4	136.08
Asetik Asit (Glasiyel)	Asetat Tampon	Merck	64-19-7	60.05
Lakkaz (EcoFade LT100)	L1	Dupont	80498-15-3	1072.1
Lakkaz (Novoprime® Base 268)	L2	Novazyme	80498-15-3	1072.1
Resorsinol	P1	Sigma	108-46-3	110.11
Katekol	P2	Merck	120-80-9	110.11
2-amino-4-nitrofenol	P3	Sigma	99-57-0	154.12
Hidrokinon	P4	Eastman	123-31-9	110.11
2-hidroksi-3,5-dinitrobenzoikasit	P5	Merck	609-99-4	228.12
4'-Aminoazobenzen-4-sülfonikasit	A1	Hubei Chem	104-23-4	277.3
7,7'-(Karbonilbis(azanedil))bis(4-hidroksinaftalin-2-sülfonikasit)	A2	Aceto	134-47-4	504.5
4,4'-dinitrostilben-2,2'-disülfonikasit	A3	Sigma	78333-24-1	430.4
6-aminonaftalin-2-sülfonikasit	A4	Tci Chem.	93-00-5	223.25
4-amino-1-naftalinsülfonikasit	A5	Merck	84-86-6	223.35
Fenotiyazin	A6	Hubei Biotech	92-84-2	199.27

3.2 KULLANILAN CİHAZLAR

Çalışma sonunda elde edilen ürünlerin UV-Vis Spektrumları Shimadzu UV–1601 UV/Vis spektrofotometre cihazı ile ölçüldü. FT-IR spektrumları Shimadzu Model: IRSpirit-T ve QATR-S Zn-Se ATR ile alındı. Bileşiklerin saflık/safsızlık analizleri HPLC Likrom Waters E2695 ile ve kütle analizleri LC-MS Shimadzu LCMSMS-8030 ile yapılmıştır.

Boyarmaddelerin molekül yapılarının çizimleri ve molekül kütlelerinin hesaplanması için ACD/Chemsketch programı kullanıldı.

Boyanmış numunelerin ön yıkama ve ard işlemleri laboratuvar tipi yıkama numunelerinde yapıldı. Boyama işlemi Ataç marka HT boyama makinasında yapıldı. Boyanmış kumaşların renk ölçümleri Datacolor 600 model spektrofotometrede standart ışık D65, 10° standart koşullarda yapıldı. Test edilen numunelerin yıkama haslığı (renk kirletme ve renk değişimi tayini) ISO 105'e göre, ter haslıkları (asidik ve bazik) ISO 105- E04 standardına göre yapıldı. Numunelerin ışık haslığı ISO 105-B02 standardına göre ışık haslığı test cihazında yapıldı.

3.3 LAKKAZ KATALİZLİ BOYARMADDE SENTEZ YÖNTEMİ

Lakkaz enzimiyle katalizlenen boyarmadde sentezlemleri için EcoFade LT100 (L1) (Dupont) ve Novoprime® Base 268 (L2) (Novazyme) kullanılmıştır. Lakkaz enziminin aktivitesinin en yüksek olduğu pH 5 te (asetik asit/sodyum asetat tamponu ile) Resorsinol (P1), Katekol (P2), 2-amino-4-nitrofenol (P3) ve 2-hidroksi-3,5-dinitrobenzoikasit (P5) gibi fenolik başlangıç maddeleri ile 4'-Aminoazobenzen-4-sülfonikasit (A1), 7,7'-(Karbonilbis(azanedil))bis(4-hidroksinaftalen-2-sülfonikasit) (A2), 6-aminonaftalin-2-sülfonikasit (A4), 4-amino-1-naftalinsülfonikasit (A5) ve Fenotiyazin (A6) gibi aromatik amin yapısındaki başlangıç maddeleri birlikte kullanılarak boyarmadde sentez çalışmaları yapılmıştır.

Boyarmadde sentezinde kullanılabilecek farklı kaynaklı lakkazlar ile belirlenmiş olan başlangıç maddelerinin reaksiyona girme koşullarının belirlenebilmesi için optimizasyon denemeleri yapılmıştır.

Bu kapsamda başlangıç maddelerinin lakkaz enzimi katalizörlüğünde elde edilebilen renkler belirlendikten sonra, hedeflenen renklerin en yüksek verimde elde edilebilmesini sağlayan tepkime şartlarının (enzim konsantrasyonu, süre ve sıcaklık) optimizasyonu için;

- Lakkaz enzimi konsantrasyonlarında (2-10 g/L) reaksiyon verimi
- Farklı sıcaklıklarda (35-50- 60-80°C) reaksiyon verimi
- Farklı sürelerde (1-2-3 saat) reaksiyon verimi

Yapılan optimizasyon çalışmalarında renkli bileşik elde etmek için yapılan çalışmalar sonucuna göre reaksiyon parametreleri belirlenmiştir.

Tablo 3.2: Reaksiyon Optimizasyon Çalışmaları

Deney Kodu	Başlangıç Maddeleri	Reaksiyon Koşulları	Sonuç
P1A1L1	P1: 12,5 mmol A1: 12,5 mmol L1: 5 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 35 °C’de 2 saat, 50 °C’de 2 saat sonrasında 25 °C’de 12 saat.	Sarı renkli, stabil boyarmadde elde edilmiştir.
P1A1L2	P1: 12,5 mmol A1: 12,5 mmol L2: 5 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 35 °C’de 2 saat, 50 °C’de 2 saat sonrasında 25 °C’de 12 saat.	Sarı renkli, stabil boyarmadde elde edilmiştir.
P3A2L1	P3: 20,0 mmol A2: 20,0 mmol L1: 5 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 40 °C’de 2 saat, 60 °C’de 2 saat sonrasında 25 °C’de 12 saat.	Turuncu-Kiremit renkli, stabil renk.
P3A2L2	P3: 20,0 mmol A2: 20,0 mmol L2: 5 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 40 °C’de 2 saat, 60 °C’de 2 saat sonrasında 25 °C’de 12 saat.	Turuncu-Kiremit renkli, stabil renk.
P3A1L1	P3: 20,0 mmol A1: 20,0 mmol L1: 8 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 40 °C’de 2 saat, 60 °C’de 2 saat sonrasında 25 °C’de 12 saat.	Yeşilimsi sarı-fıstık yeşili, stabil renk.
P3A1L2	P3: 20,0 mmol A1: 20,0 mmol L2: 8 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 40 °C’de 2 saat, 60 °C’de 2 saat sonrasında 25 °C’de 12 saat.	Yeşilimsi sarı-fıstık yeşili, stabil renk.
P5A3L1	P5: 8,8 mmol A3: 8,8 mmol L1: 6 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 40 °C’de 2 saat, 60 °C’de 2 saat sonrasında 25 °C’de 12 saat.	Açık sarı, stabil renk.
P5A3L2	P5: 8,8 mmol A3: 8,8 mmol L2: 6 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 40 °C’de 2 saat, 60 °C’de 2 saat sonrasında 25 °C’de 12 saat.	Açık sarı, stabil renk.
P2P3L1	P2: 20,0 mmol P3: 20,0 mmol L1: 6 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 40 °C’de 2 saat, 60 °C’de 2 saat sonrasında 25 °C’de 12 saat.	Zeytin yeşili, stabil renk.

P2P3L2	P2: 20,0 mmol P3: 20,0 mmol L2: 6 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 40 °C'de 2 saat, 60 °C'de 2 saat sonrasında 25 °C'de 12 saat.	Zeytin yeşili, stabil renk.
P2A4L1	P2: 13,5 mmol P3: 13,5 mmol L1: 6 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 40 °C'de 2 saat, 60 °C'de 2 saat sonrasında 25 °C'de 12 saat.	Sarı-Kahve, stabil renk.
P2A4L2	P2: 13,5 mmol P3: 13,5 mmol L2: 6 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 40 °C'de 2 saat, 60 °C'de 2 saat sonrasında 25 °C'de 12 saat.	Sarı-Kahve, stabil renk.
P2A5L1	P2: 13,5 mmol A5: 13,5 mmol L1: 6 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 40 °C'de 2 saat, 60 °C'de 2 saat sonrasında 25 °C'de 48 saat.	Doygun kahve, stabil renk.
P2A5L2	P2: 13,5 mmol A5: 13,5 mmol L2: 6 g/L	Reaksiyon Ortamı: Asetat Tampon pH:5 Sıcaklık: 40 °C'de 2 saat, 60 °C'de 2 saat sonrasında 25 °C'de 48 saat.	Doygun kahve, stabil renk.

3.4 LAKKAZ KATALİZLİ BOYARMADDE ANALİZ YÖNTEMLERİ

3.4.1 UV-Vis Analizi

Shimadzu UV-1800 marka cihaz ile 190-800 nm aralığında gerçekleştirilmiştir. Analiz numuneleri öncelikle 0,1 g alınarak 25 ml balon jojede su ile çözülerek stok çözelti hazırlanmıştır. Buradan 0-2-0,9 Abs aralığına denk gelecek şekilde seyreltilerek spektral ölçümler alınmıştır.

3.4.2 HPLC Analizi

HPLC analizleri HPLC Likrom Waters E2695 marka cihaz ile aşağıdaki metoda göre gerçekleştirilmiştir: Kolon: GL Sciences Inertsil ODS3 4,6x250mm 5µm, Mobil faz: 0.75 g tetra-n-butilamonyum hidrojen sülfat / 250 ml Deiyonize Su / 250 ml Asetonitril Akış: 0.5 ml/dk isokratik, Dalga Boyu: 393 nm, Kolon fırın: 25 °C, Enjeksiyon hacmi: 5 µl şeklindedir. Numune hazırlama aşamasında ise 0,1 g test numunesi tartılıp 100 ml'lik balon jojede 1:1 ACN/ Su karışımı ile çözülerek hazırlanır.

3.4.3 FTIR Analizi

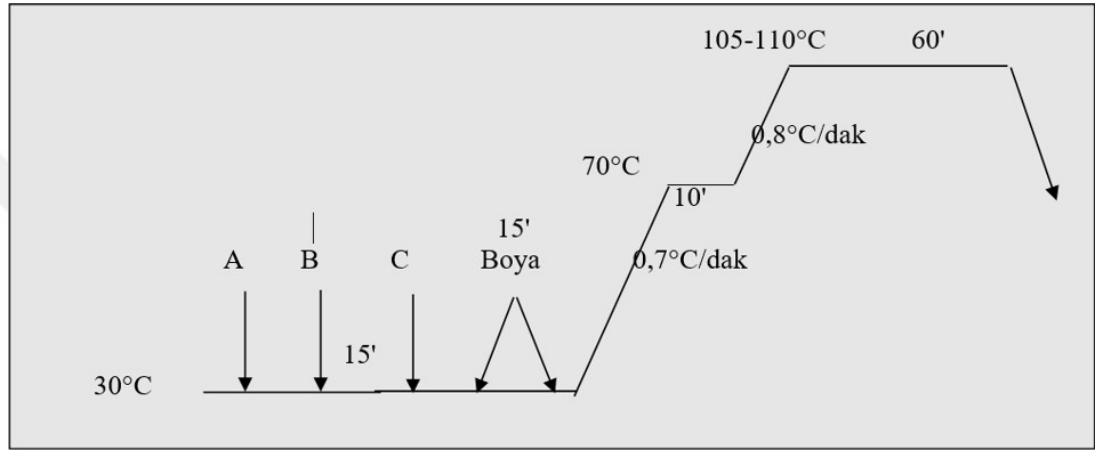
FT-IR spektrumları Shimadzu Model: IRSpirit-T ve QATR-S Zn-Se ATR nin kullanıldığı cihaz ile 600-4000 cm⁻¹ aralığında gerçekleştirilmiştir.

3.4.4 MS Analizi

Kütle analizleri Shimadzu LC-MSMS 8030 marka cihaz ile Q3-Tarama metodu uyarınca gerçekleştirilmiştir.

3.4.5 Boyarmadde Renk Tonunun Belirlenmesi için Naylon Boyama Metodu

Laboratuvar tipi (Ataç HT) tüplü boyama makinasında aşağıdaki metoda göre çektirme (exhaust) esasına göre yapılmıştır. Boyama çalışması %100 poliamid örme 70 denye naylon gipeli interlok (kumaşın ön ve arka yüzeyinde 150 denye naylon filament, orta kısmında 70 denye naylon gipe kullanılmıştır.) boyamaya hazır kumaş (300 g/m²) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1: Naylon Boyama Metodu

Bu diagramda; A ile ifade edilen dispergatör (1 g/L), B ile ifade edilen egalizatör (1 g/L) ve C ile ifade edilen ajan ise asit tamponudur (2 g/L). İlgili çalışmalarda Flotte Oranı:1/10 olup boya dozajlanmadan önce pH soda ile 6.5-7.5 aralığına ayarlanmıştır. Boyama sonrasında uygulanan yıkama prosedürü ise; 2 kez 40° C de yapılan soğuk durulama sonrası %2'lik yüzey aktif ile pH:4.0-4.5 ve 50-70 °C de yıkama şeklindedir.

4 BULGULAR

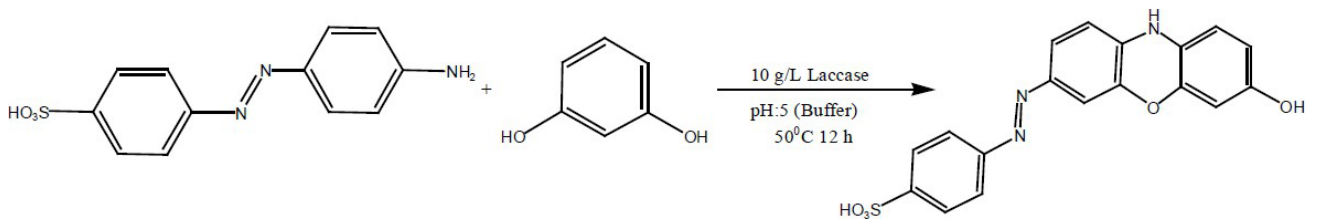
4.1 SENTEZLENEN LAKKAZ KATALİZLİ BİLEŞİKLER

Tüm sentez çalışmaları, fungal orijinli (*Cerrena unicolor*) 5.700 U/g aktiviteli Primagreen Ecofade LT100 (Dupont) isimli ticari isimli lakkaz enzimi kullanılarak yapılmıştır. Reaksiyonların optimum verimde gerçekleştirilebilmesi için lakkaz enziminin aktivitesinin maksimum olduğu değeri sağlamak için (pH=5) 0,1N sodyum asetat tamponu (asetik asit/sodyum asetat) kullanılmıştır.

0,1N Sodyum Asetat Tamponu Hazırlanışı; 13,6 g sodyum asetat trihidrat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) ve 6,0 g asetik asit (CH_3COOH) 1000 mL'lik balon jode karıştırılır. Tampon çözeltinin pH'nın 5,0 olduğu kontrol edilir.

4.1.1 Bileşik-1 (P1A1L1)

250 ml'lik 3 boyunlu balon içerisine Sodyum Asetat Tamponu alınıp üzerine 12,5 mmol (1,375 g) Resorsinol (P1) ve 12,5 mmol (3,47 g) 4'-Aminoazobenzen-4-sülfonikası (A1) ve 2,5 g Lakkaz (EcoFade LT100) (L1) alınarak reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyona pH 5'te oda sıcaklığında başlanılmış olup sonrasında ise 35 °C'de 2 saat devam edilmiştir. 50 °C'de 12 saat reaksiyon sonrasında sarı renkli reaksiyon ortamında çözünür, stabil renk elde edilmiştir.



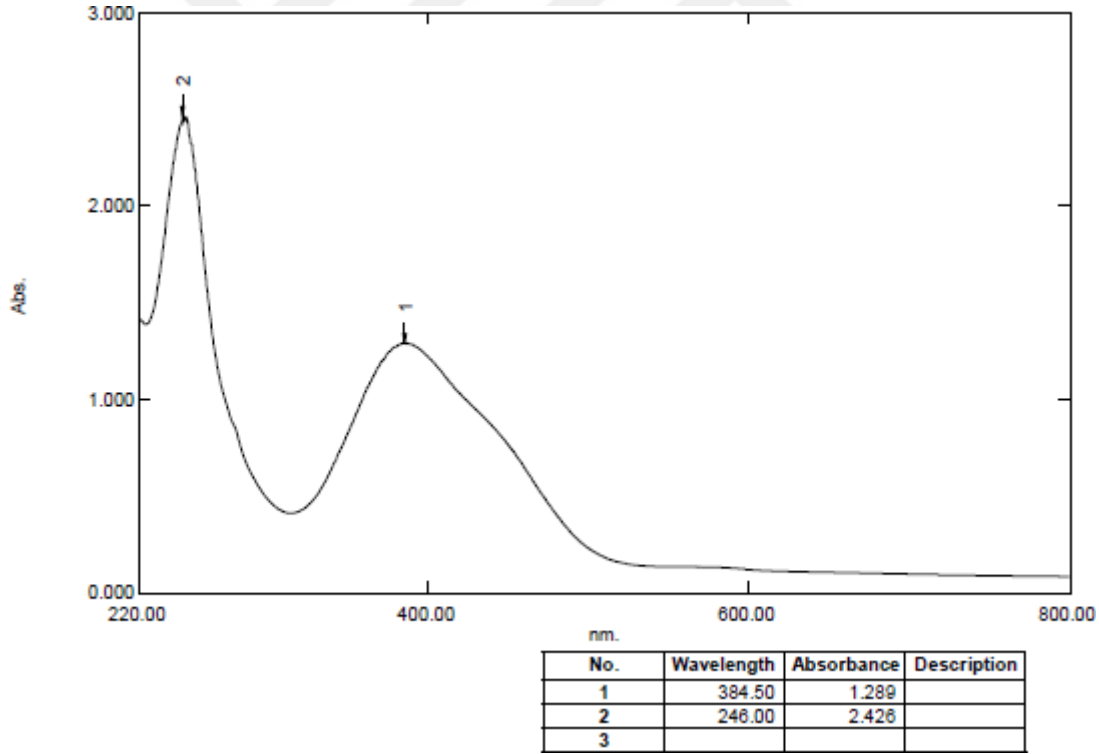
Şekil 4.1: Resorsinol (P1) ile 4'-Aminoazobenzen-4-sülfonikası (A1) reaksiyonu.

Gerçekleşen reaksiyonların kontrolü için UV-Vis analizleri, 190-800 nm aralığında gerçekleştirilmiştir. İlgili analizde elde edilen spektrumların tepe noktaları $\lambda_{1\text{max}} = 384 \text{ nm}$ ve $\lambda_{2\text{max}} = 246 \text{ nm}$ olarak tespit edilmiştir. (Şekil 4.2)

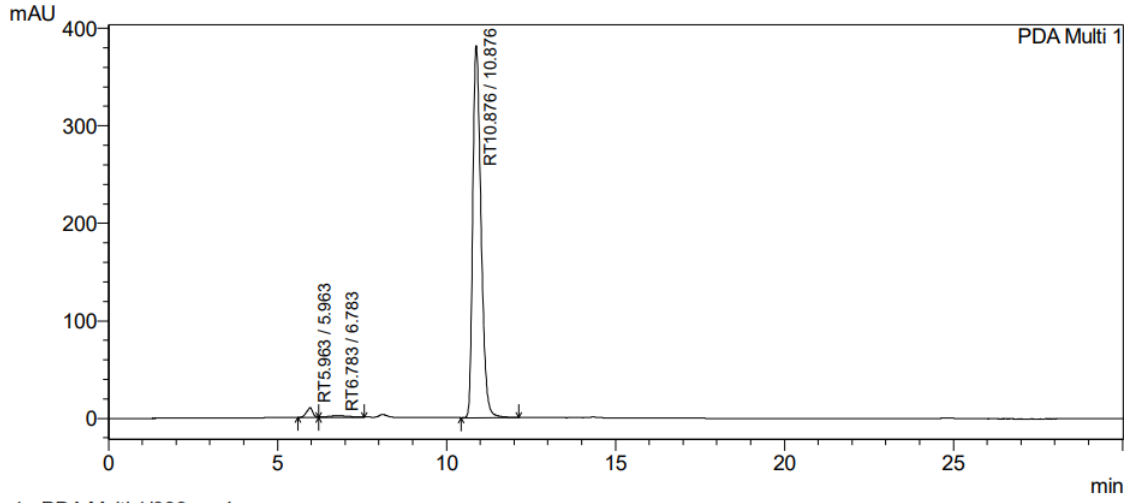
HPLC ile saflık/purity kontrolü yapılmıştır. Elde edilen ürünün saflığı %96,8 olarak (Rt: 10.876 dk) olarak tespit edilmiştir. (Şekil 4.3)

Yapısal karakterizasyon için uygulanan LC-MSMS analizinde negatif ESI uygulanmıştır. Analiz elde edilen ürüne dair beklenen $C_{18}H_{13}N_3O_5S$ formülüne sahip 7-(aminoazobenzen-4'-sülfonikası)-10H-fenoksazin-3-hidroksi yapısına dair beklenen moleküler pik 383 m/z'dir. M/S analizinde 387: M-4, 305: M-SO₃H, 276: 4-aminoazobenzene iyonları tespit edilmiştir. (Şekil 4.4)

FT-IR analizi sonucuna göre ν (cm⁻¹) = 3350 (O-H), 2930 (C-H), 1624, 1605 (C=O), 1209, 1170 (C-N), 1560 (C=C) gerilme bantları, N=N:1486 cm⁻¹ ve Ar:2930 cm⁻¹ varlığı tespit edilmiştir. (Şekil 4.5)



Şekil 4.2: P1A1L1 kodlu reaksiyon ürününün UV-Vis Spektrumu

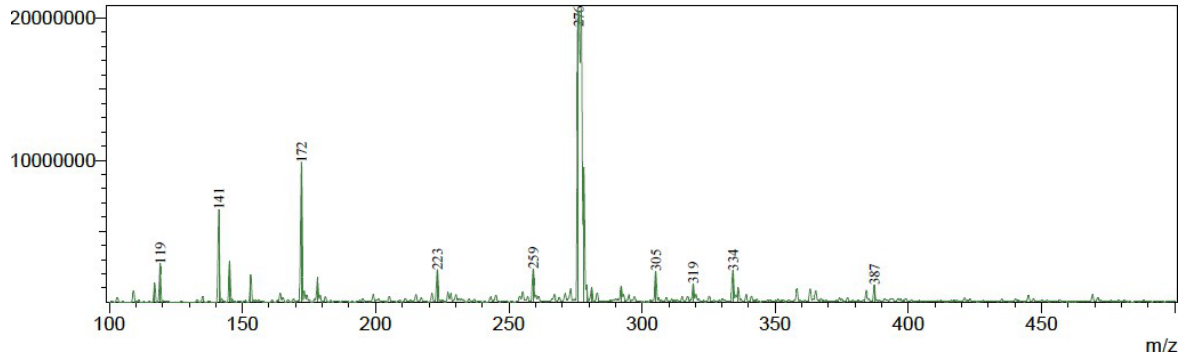


PeakTable

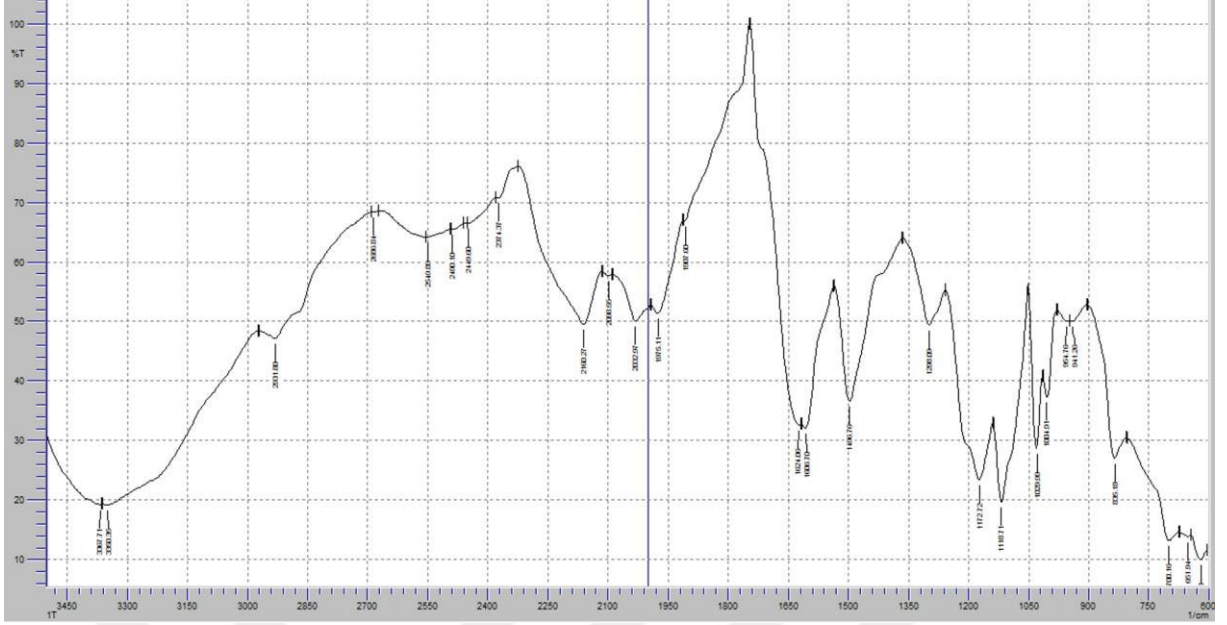
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %	Conc.
1	RT5.963	5.963	133222	1.984	0.000
2	RT6.783	6.783	80310	1.196	0.000
3	RT10.876	10.876	6500579	96.820	0.000
Total			6714111	100.000	

Şekil 4.3: P1A1L1 kodlu reaksiyon ürününün HPLC Kromatogramı

R. Time: 0.051 (Scan#: 4)
 MassPeaks: 19 BasePeak: 276 (200000000)
 Spectrum Mode: Single 0.051 (4)
 BG Mode: None Polarity: Negative Segment 1 - Event 2



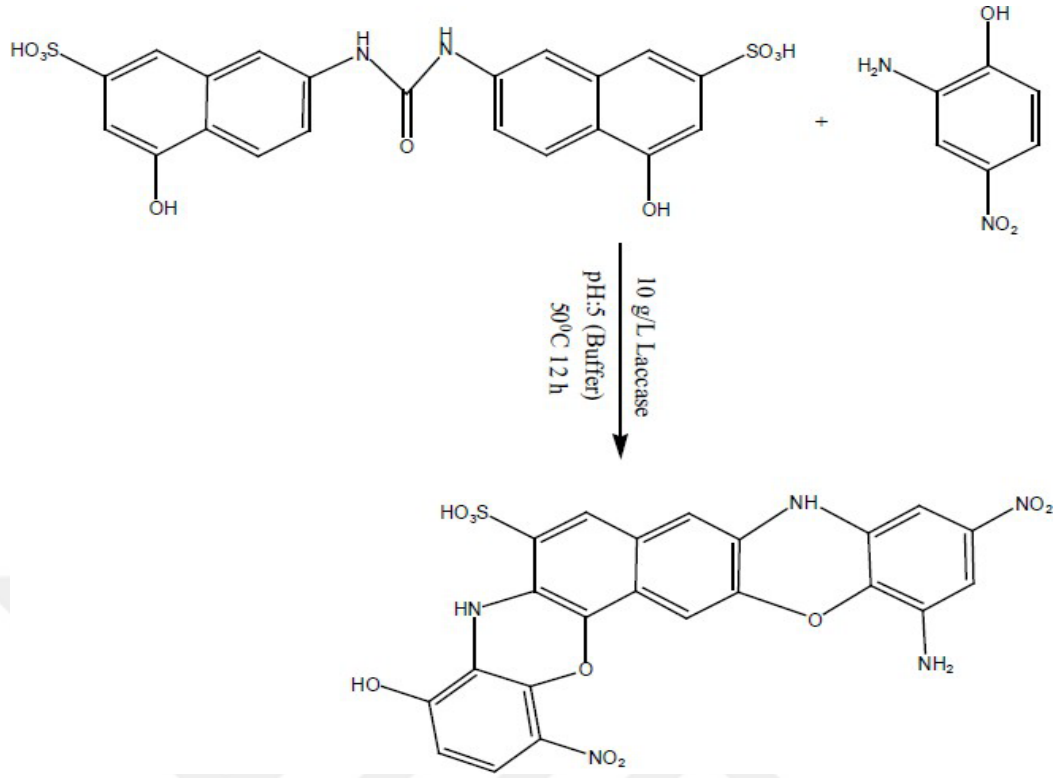
Şekil 4.4: P1A1L1 kodlu reaksiyon ürününün Kütle Spektrumu



Şekil 4.5: P1A1L1 kodlu reaksiyon ürününün ATR-FTIR Spektrumu

4.1.2 Bileşik-2 (P3A2L1)

250 ml'lik 3 boyunlu balon içerisine Sodyum Asetat Tamponu alınıp üzerine 20 mmol (3,1g) 2-amino-4-nitrofenol (P3) ve 20 mmol (10,1 g) 7,7'-(Karbonilbis(azanedil))bis(4-hidroksinaftalen-2-sülfonikası) (A2) ve 2,5 g Lakkaz (EcoFade LT100) (L1) alınarak reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyona pH 5'te oda sıcaklığında başlanılmış olup sonrasında ise 35 °C'de 2 saat devam edilmiştir. 50 °C'de 12 saat reaksiyon sonrasında gold-sarı renkli reaksiyon ortamında çözünür, stabil renk elde edilmiştir.



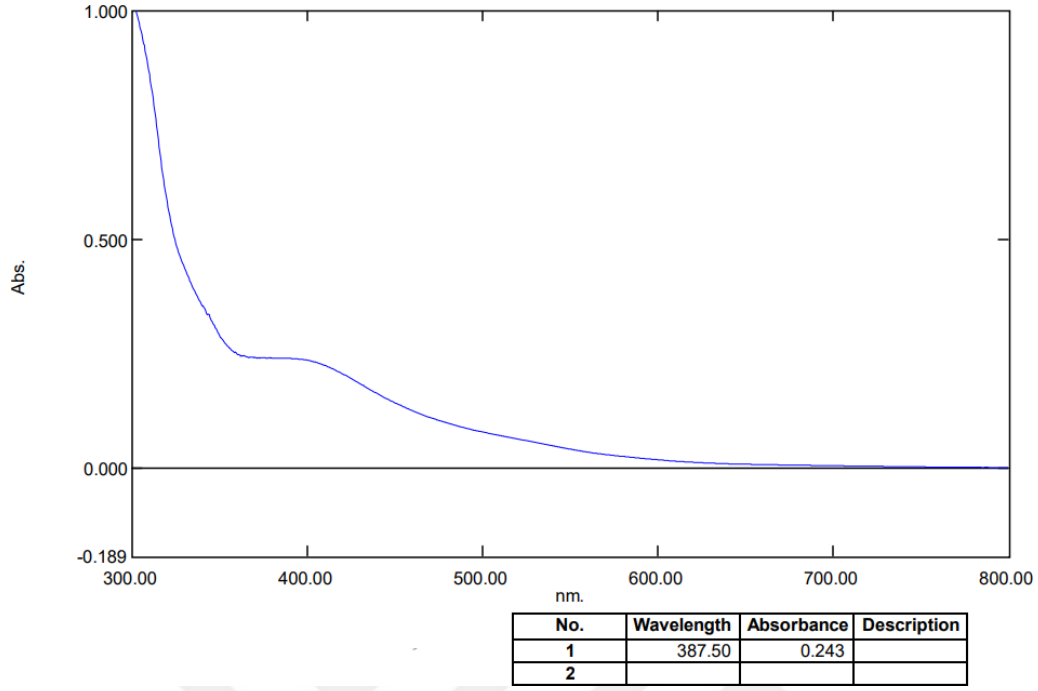
Şekil 4.6: 2-amino-4-nitrofenol (P3) ile 7,7'-(Karbonilbis(azanedil))bis(4-hidroksinaftalen-2-sülfonikası) (A2) reaksiyonu.

Gerçekleşen reaksiyonların kontrolü için UV-Vis analizleri, 190-800 nm aralığında gerçekleştirilmiştir. İlgili analizde elde edilen spektrumların tepe noktaları $\lambda_{1\max} = 387$ nm tespit edilmiştir. (Şekil 4.8)

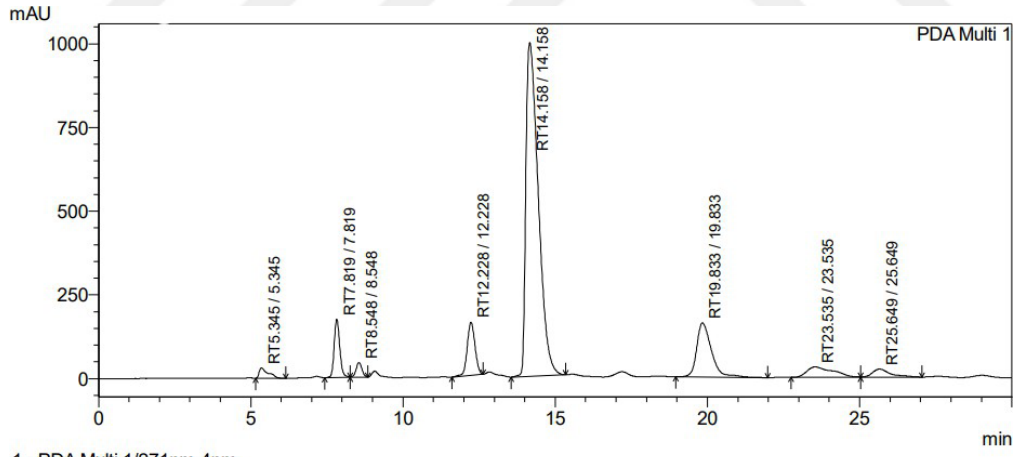
HPLC ile saflık/purity kontrolü yapılmıştır. Elde edilen ürünün saflığı %65,87 olarak (Rt: 14.158 dk) olarak tespit edilmiştir. (Şekil 4.9)

Yapısal karakterizasyon için LC-MSMS analizinde pozitif ESI uygulanmıştır. Analiz sonucunda elde edilen ürüne dair beklenen $C_{22}H_{13}N_5O_{10}S$ formülüne sahip bileşik için beklenen moleküler pik 539 m/z'dir. M/S analizinde 528: M-11 iyonları tespit edilmiştir. (Şekil 4.10)

FT-IR analizi sonucuna göre ν (cm⁻¹) = 3357 (O-H), 2931 (C-H), 1624, 1606 (C=O), 1172 (C-N), 1496 (C=C) gerilme bantları, varlığı tespit edilmiştir. (Şekil 4.11)



Şekil 4.7: P3A2L1 kodlu reaksiyon ürününün UV-Vis Spektrumu



1 PDA Multi 1/271nm 4nm

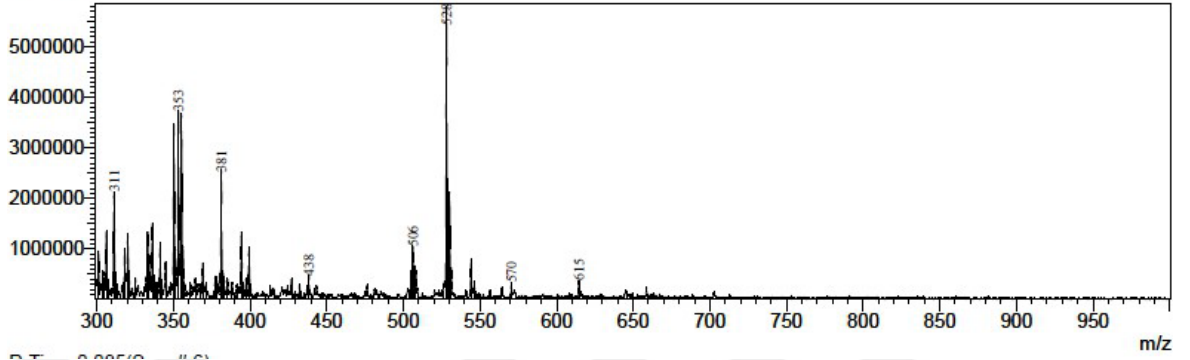
PeakTable

PDA Ch1 271nm 4nm

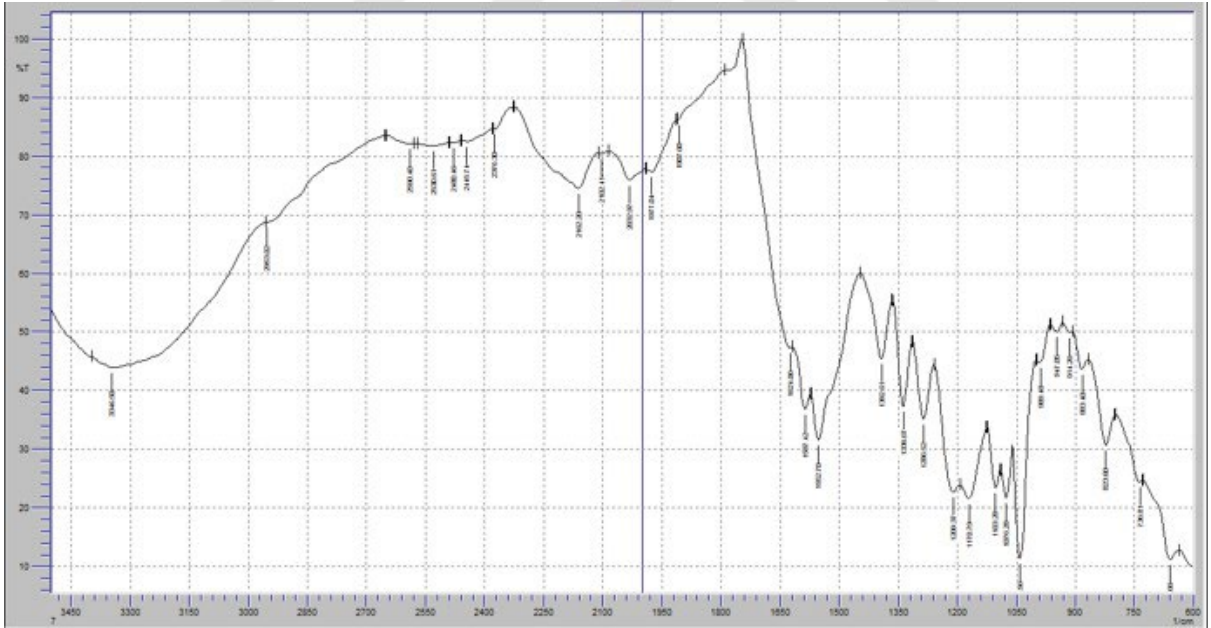
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %	Conc.
1	RT5.345	5.345	627375	1.464	0.000
2	RT7.819	7.819	2243026	5.235	0.000
3	RT8.548	8.548	580846	1.356	0.000
4	RT12.228	12.228	2819463	6.580	0.000
5	RT14.158	14.158	28225645	65.870	0.000
6	RT19.833	19.833	5457767	12.737	0.000
7	RT23.535	23.535	1902934	4.441	0.000
8	RT25.649	25.649	993636	2.319	0.000
Total			42850692	100.000	

Şekil 4.8: P3A2L1 kodlu reaksiyon ürünü ürününün HPLC Kromatogramı

R.Time:0.068(Scan#5)
 MassPeaks:61 BasePeak:528(5808290)
 Spectrum Mode:Single 0.068(5)
 BG Mode:None Polarity:Positive Segment 1 - Event 1



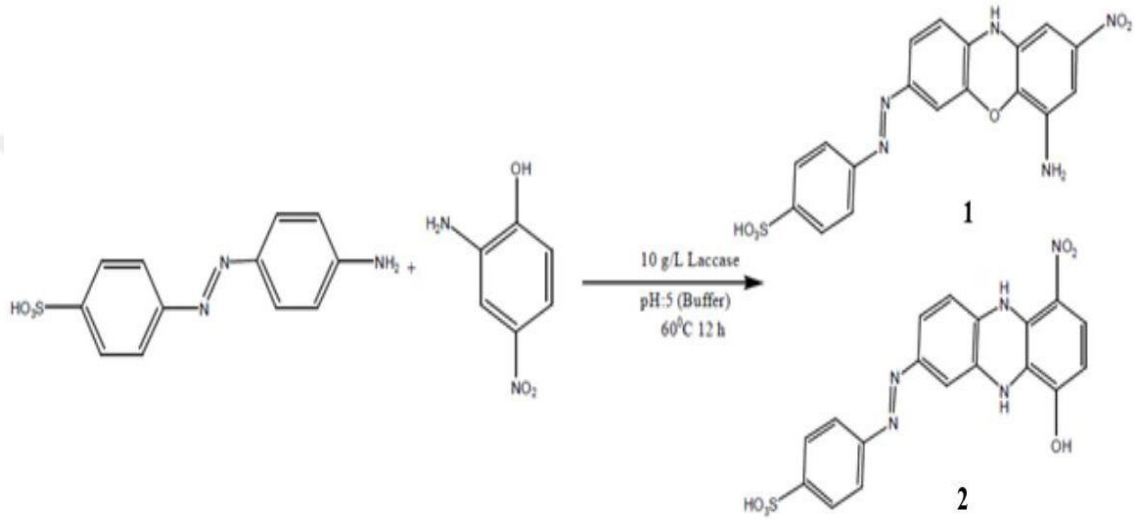
Şekil 4.9: P3A2L1 kodlu reaksiyon ürünü ürününün Kütle Spektrumu



Şekil 4.10: P3A2L1 kodlu reaksiyon ürünü ATR-FTIR Spektrumu

4.1.3 Bileşik-3 (P3A1L1)

250 ml'lik 3 boyunlu balon içerisine Sodyum Asetat Tamponu alınıp üzerine 20 mmol (3,1g) 2-amino-4-nitrofenol (P3) ve 20 mmol (5,55 g) 4'-Aminoazobenzen-4-sülfonikasit (A1) ve 2,5 g Lakkaz (EcoFade LT100) (L1) alınarak reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyona pH 5'te oda sıcaklığında başlanılmış olup sonrasında ise 35 °C'de 2 saat devam edilmiştir. 60 °C'de 12 saat reaksiyon sonrasında yeşilimsi sarı (fıstık yeşili) renkli reaksiyon ortamında çözünür, stabil renk elde edilmiştir.



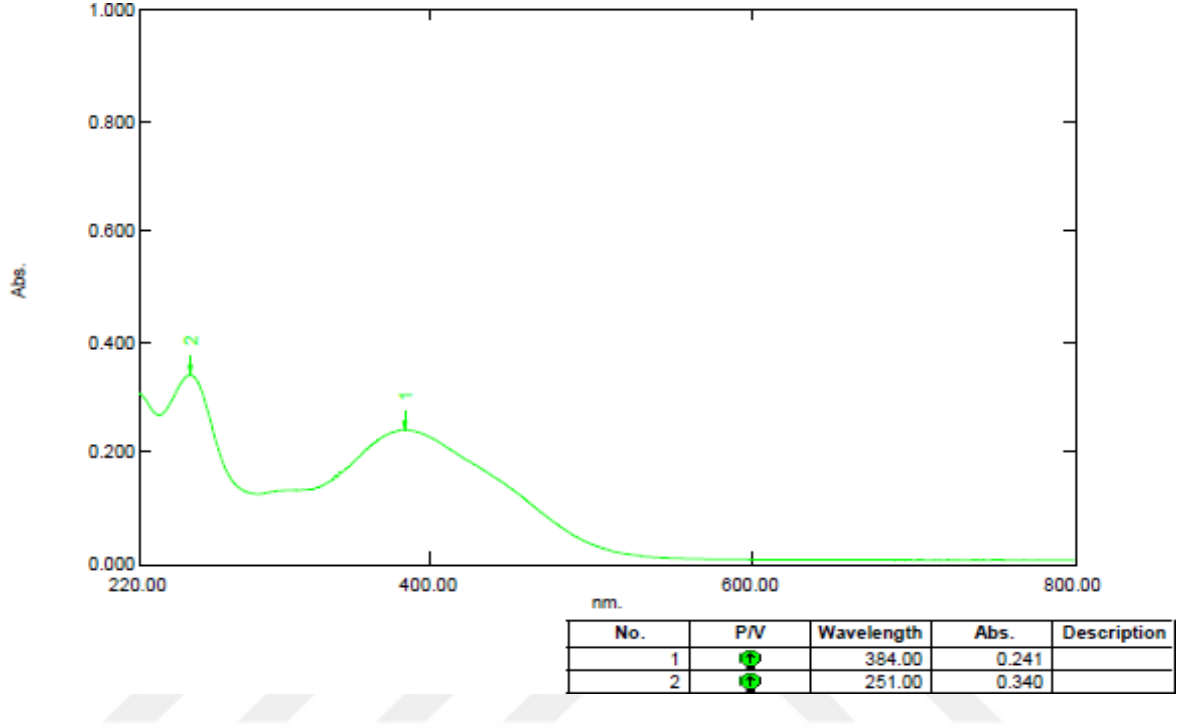
Şekil 4.11: 2-amino-4-nitrofenol (P3) ile 4'-Aminoazobenzen-4-sülfonikasit (A1) reaksiyonu.

Gerçekleşen reaksiyonların kontrolü için UV-Vis analizleri, 190-800 nm aralığında gerçekleştirilmiştir. İlgili analizde elde edilen spektrumların tepe noktaları $\lambda_{1max} = 384$ nm tespit edilmiştir. (Şekil 4.12)

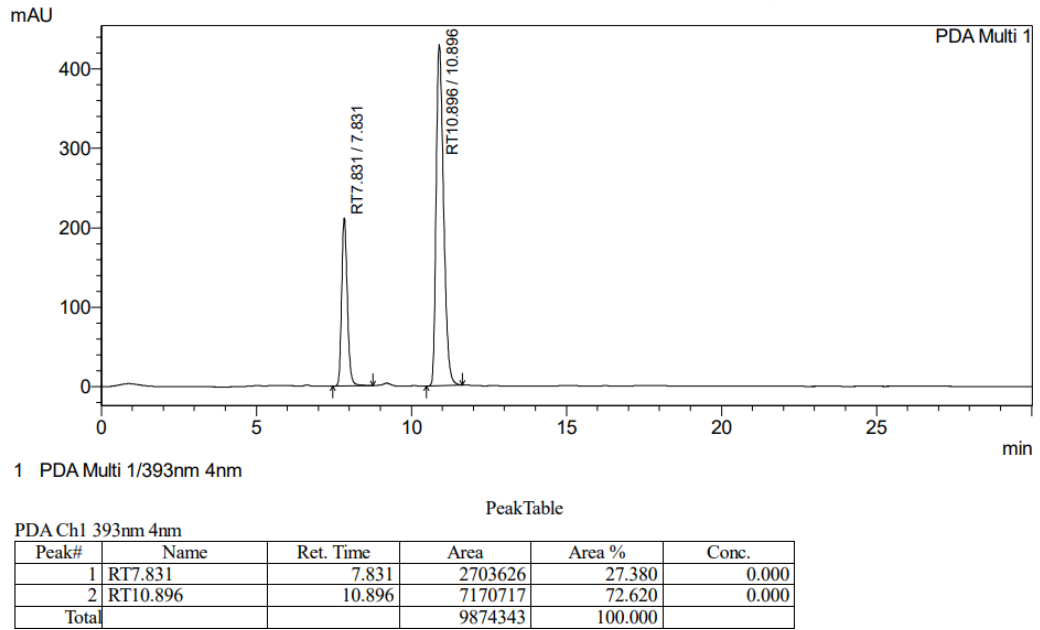
HPLC ile saflık/purity kontrolü yapılmıştır. Elde edilen ürünün saflığı %72,62 (Rt: 10.896 dk) olarak tespit edilmiştir. (Şekil 4.13)

Reaksiyon sonucunda elde edilen izomer ürünlere dair beklenen $C_{18}H_{13}N_5O_6S$ formülüne sahip bileşik 7-(aminoazobenzen-4'-sülfonikasit)-10H-fenoksazin-2-nitro-4-amino olup beklenen moleküler pik 427 m/z'dir. Yapısal karakterizasyon için LC-MSMS analizinde negatif ESI uygulanmıştır. Kütle analizinde; 427 m/z: M, 333: m/z (M-SO₃H ve NH₂) 290 m/z: (M-SO₃H, NH₂ ve NO₂) iyonları tespit edilmiştir. (Şekil 4.14)

FT-IR analizi sonucuna göre ν (cm^{-1}) = 3302 (N-H), 3031 (C-H), 1591 (C=O), 1520, 1284 (N-O), 1209, 1170 (C-N), 1560 (C=C) gerilme bantları, N=N:1486 cm^{-1} varlığı tespit edilmiştir. (Şekil 4.15)

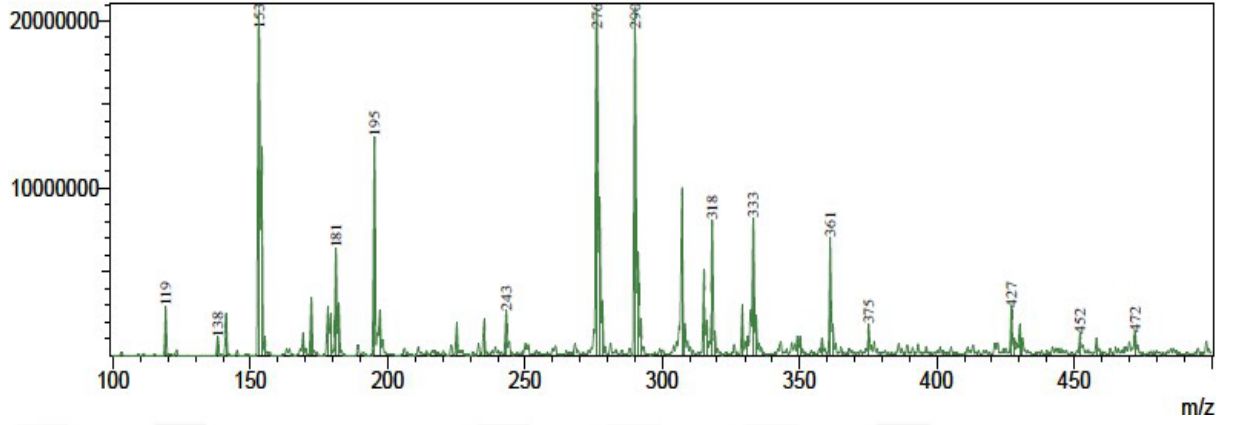


Şekil 4.12: P3A1L1 kodlu reaksiyon ürününün UV-Vis Spektrumu

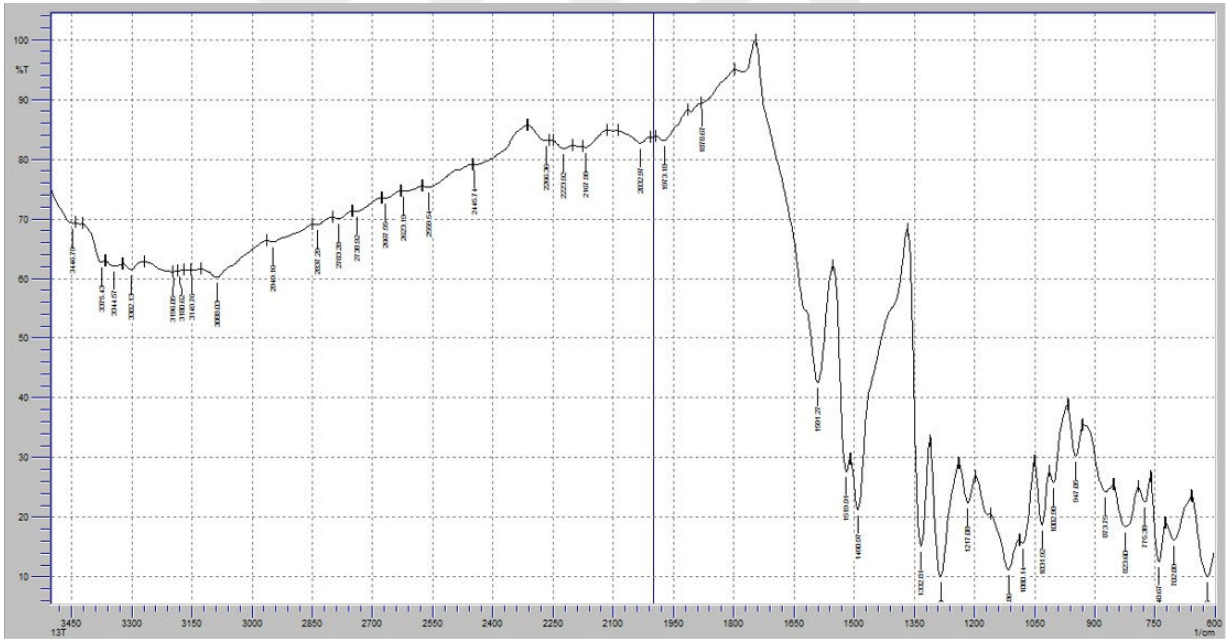


Şekil 4.13: P3A1L1 kodlu reaksiyon ürününün HPLC Kromatogramı

R.Time:0.051(Scan#:4)
 MassPeaks:46 BasePeak:153(20000000)
 Spectrum Mode:Single 0.051(4)
 BG Mode:None Polarity:Negative Segment 1 - Event 2



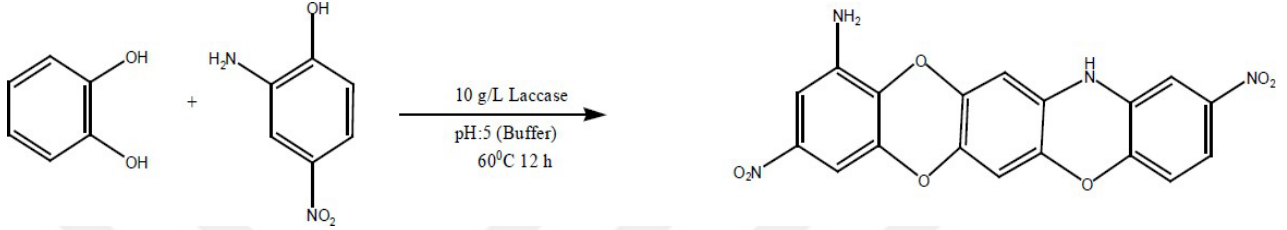
Şekil 4.14: P3A1L1 kodlu reaksiyon ürününün Kütle Spektrumu



Şekil 4.15: P3A1L1 kodlu reaksiyon ürününün ATR-FTIR Spektrumu

4.1.4 Bileşik-4 (P2P3L1)

250 ml'lik 3 boyunlu balon içerisine Sodyum Asetat Tamponu alınıp üzerine 20 mmol (3,1g) 2-amino-4-nitrofenol (P3) ve 20 mmol (2,2 g) Katekol (P2) ve 2,5 g Lakkaz (EcoFade LT100) (L1) alınarak reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyona pH 5'te oda sıcaklığında başlanılmış olup sonrasında ise 35 °C'de 2 saat devam edilmiştir. 60 °C'de 12 saat reaksiyon sonrasında zeytin yeşili renkli reaksiyon ortamında çözünür, stabil renk elde edilmiştir.



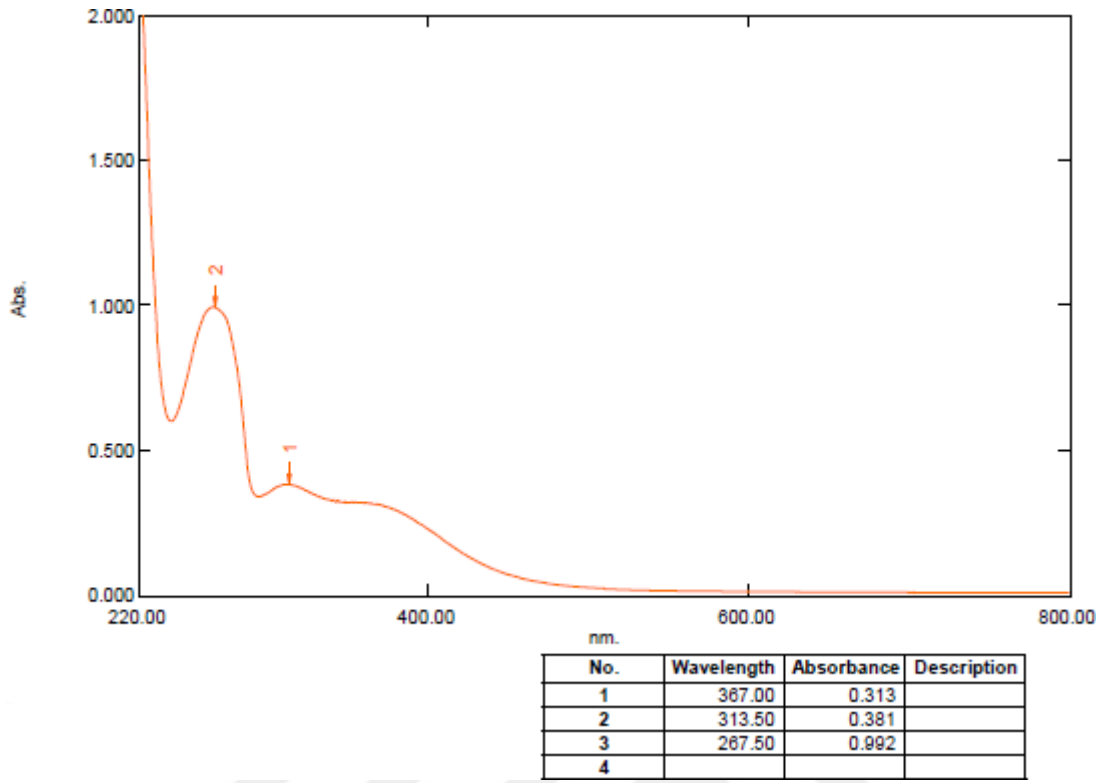
Şekil 4.16: 2-amino-4-nitrofenol (P3) ile Katekol (P2) reaksiyonu

Gerçekleşen reaksiyonların kontrolü için yapılan UV-Vis analizinde elde edilen spektrumların tepe noktaları $\lambda_{\text{max}} = 313 \text{ nm}$ tespit edilmiştir. (Şekil 4.17)

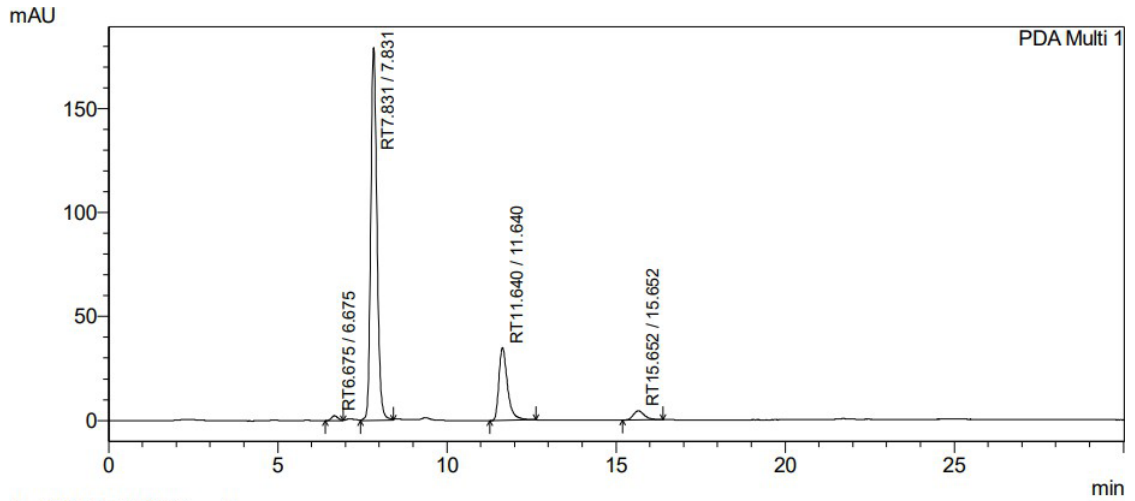
HPLC ile saflık/purity kontrolü yapılmıştır. Elde edilen ürünün saflığı %20,3 (Rt: 11.64 dk) olarak tespit edilmiştir. (Şekil 4.18)

Reaksiyon sonucunda elde edilen ürüne dair beklenen $\text{C}_{18}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_7$ formülüne sahip bileşik 5,6- dioksobenzo (2'-amino-4'-nitro)-10H-fenoksazin-2-nitro olup beklenen moleküler pik 394 m/z'dir. Yapısal karakterizasyon için negatif ESI uygulanmıştır. Analiz sonucunda 5,6-dioksobenzo(2'-amino-4'-nitro)-10H-fenoksazin-2-nitro yapısına dair moleküler pik 394 m/z'dir. M/S analizinde 393 m/z: M-1, 307 m/z: M-OH ve M-NO₂ iyonları tespit edilmiştir. (Şekil 4.19)

FT-IR analizi sonucuna göre ν (cm⁻¹) = 3321 (N-H), 3037 (C-H), 1585 (C=O), 1517, 1280 (N-O), 1145 (C-N), 1585 (C=C) gerilme bantları varlığı tespit edilmiştir. (Şekil 4.20)



Şekil 4.17: P2P3L1 kodlu ürünün UV-Vis Spektrumu



1 PDA Multi 1/377nm 4nm

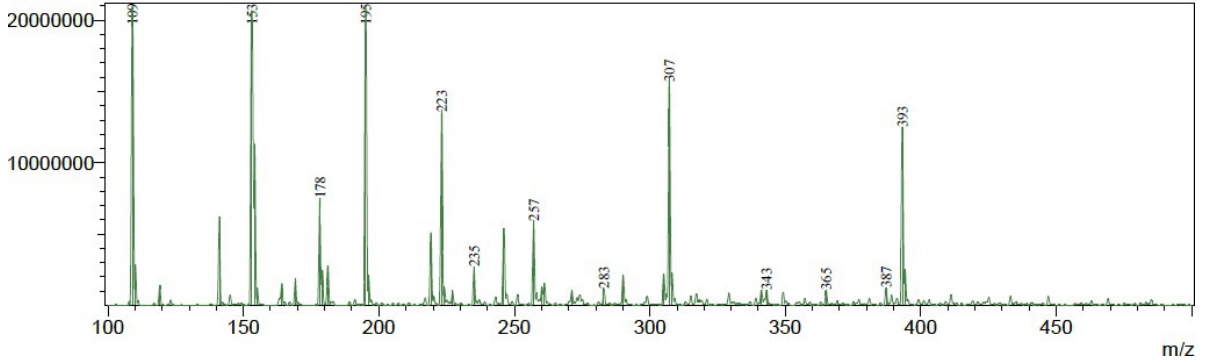
PeakTable

PDA Ch1 377nm 4nm

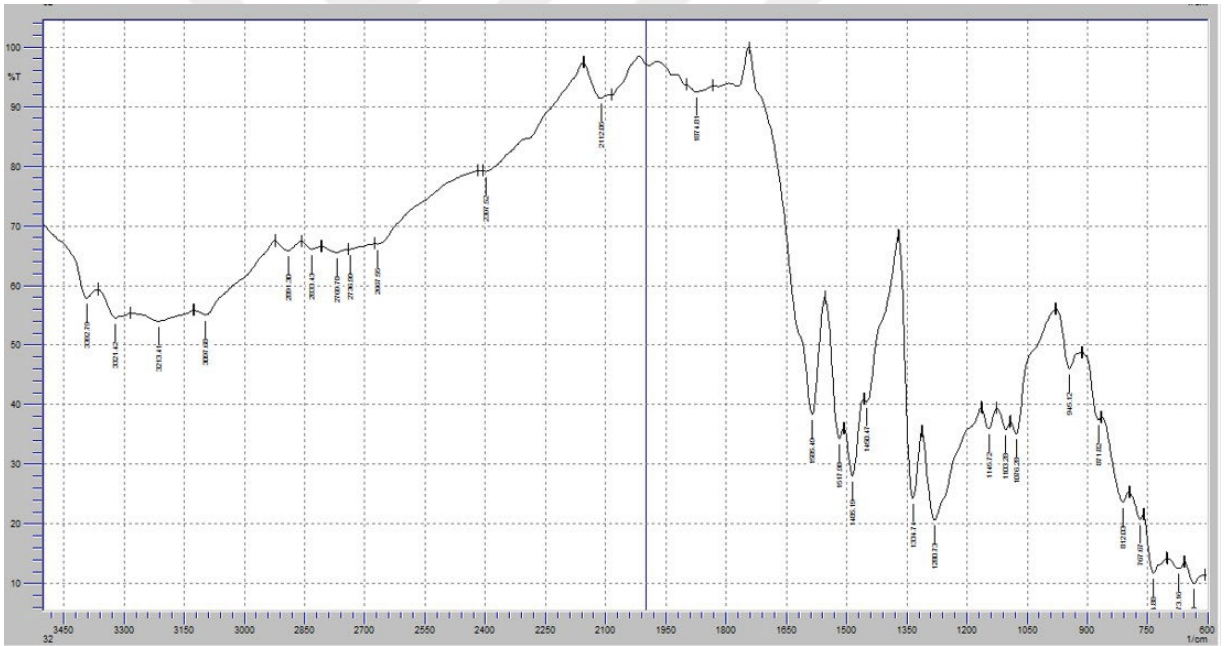
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %	Conc.
1	RT6.675	6.675	33578	1.105	0.000
2	RT7.831	7.831	2287016	75.264	0.000
3	RT11.640	11.640	617229	20.312	0.000
4	RT15.652	15.652	100855	3.319	0.000
Total			3038678	100.000	

Şekil 4.18: P2P3L1 kodlu reaksiyon ürününün HPLC Kromatogramı

R.Time:0.051(Scan#:4)
 MassPeaks:35 BasePeak:109(20000000)
 Spectrum Mode:Single 0.051(4)
 BG Mode:None Polarity:Negative Segment 1 - Event 2



Şekil 4.19: P2P3L1 kodlu reaksiyon ürününün Kütle Spektrumu

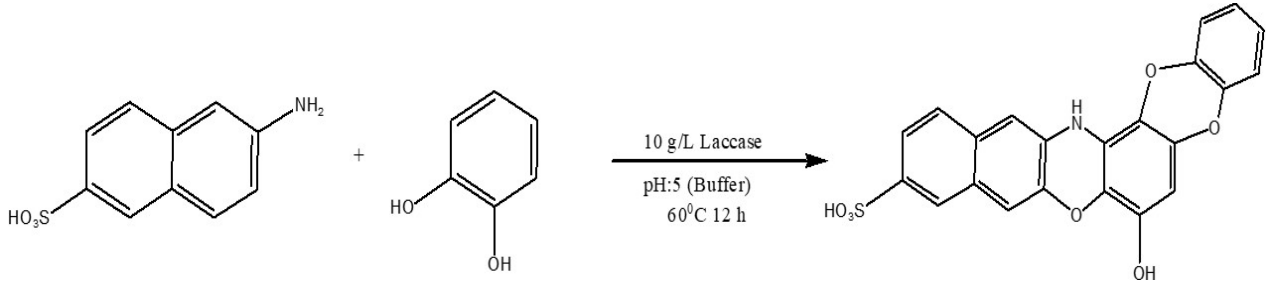


Şekil 4.20: P2P3L1 kodlu ürünün ATR-FTIR Spektrumu

4.1.5 Bileşik-5 (P2A4L1)

250 ml'lik 3 boyunlu balon içerisine Sodyum Asetat Tamponu alınıp üzerine 15 mmol (1,65 g) Katekol (P2) ve 15 mmol (3,35 g) 6-aminonaftalin-2-sülfonikası (A4) ve 2,5 g Lakkaz (EcoFade LT100) (L1) alınarak reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyona pH 5'te oda sıcaklığında

başlanılmış olup sonrasında ise 35 °C’de 2 saat devam edilmiştir. 60 °C’de 12 saat reaksiyon sonrasında sarımsı kahve renkli reaksiyon ortamında çözünür, stabil renk elde edilmiştir.



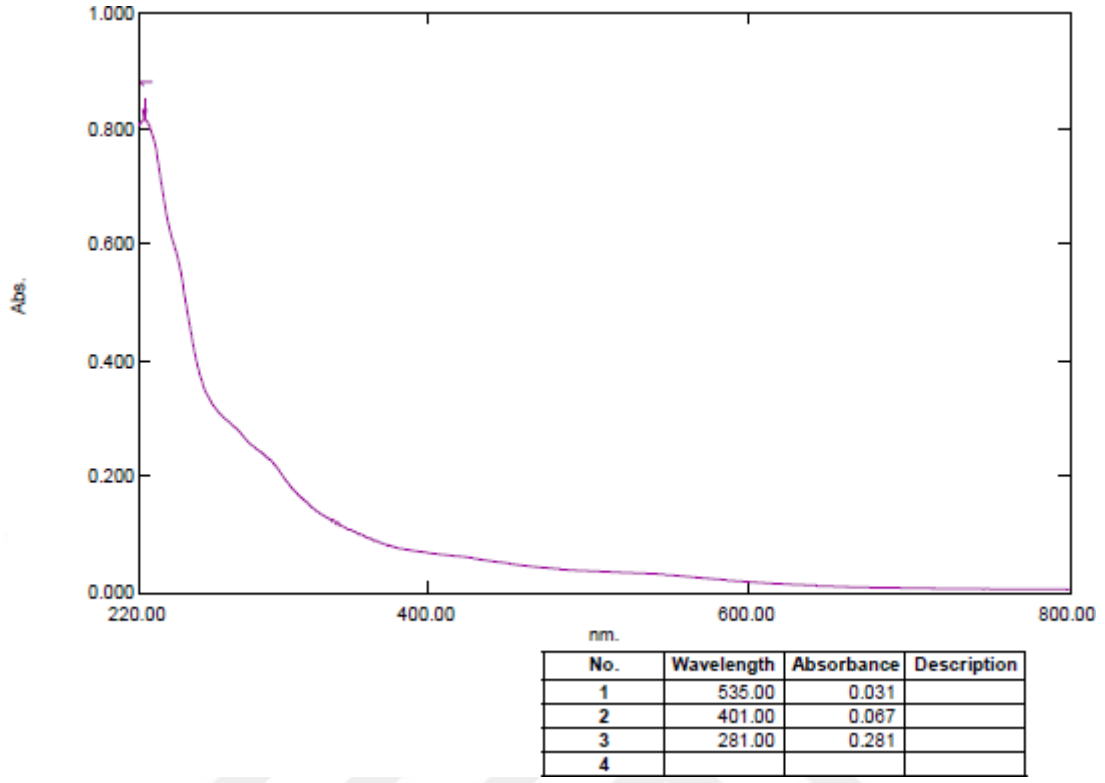
Şekil 4.21: Katekol (P2) ile 6-aminonaftalin-2-sülfonikasit (A4) reaksiyonu

Gerçekleşen reaksiyonların kontrolü için yapılan UV-Vis analizinde elde edilen spektrumların tepe noktaları $\lambda_{1max} = 401$ nm ve $\lambda_{2max} = 535$ nm tespit edilmiştir. (Şekil 4.22)

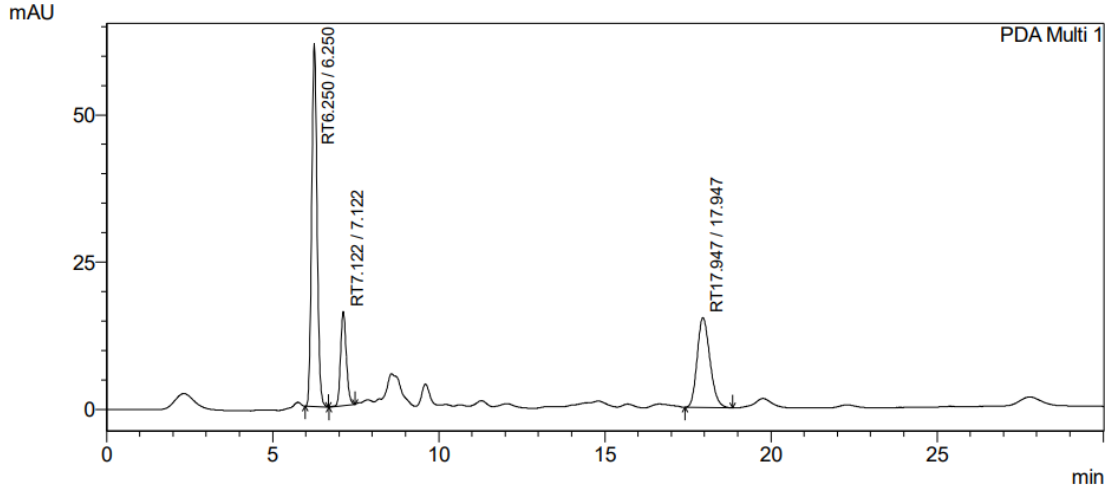
HPLC ile saflık/purity kontrolü yapılmıştır. Elde edilen ürünün saflığı %31,64 (Rt: 17.94 dk) olarak tespit edilmiştir. (Şekil 4.23)

Reaksiyon sonucunda elde edilen ürüne dair beklenen $C_{22}H_{13}NO_7S$ formülüne sahip bileşik 10,11-dioksobenzo-8-hidroksi-benzoksazin-4-sülfonikasit olup beklenen moleküler pik 435 m/z’dir. Yapısal karakterizasyon için pozitif ESI uygulanmıştır. Analiz sonucunda 10,11-dioksobenzo-8-hidroksi-benzoksazin-4-sülfonikasit yapısına dair moleküler pik 435 m/z’dir. M/S analizinde 437 m/z: M^{+2} , iyonları tespit edilmiştir. (Şekil 4.24)

FT-IR analizi sonucuna göre ν (cm⁻¹) = 3346 (O-H), 2566 (C-H), 1627 (C=O), 1176 (C-N), 1473 (C=C) gerilme bantları, varlığı tespit edilmiştir. (Şekil 4.25)



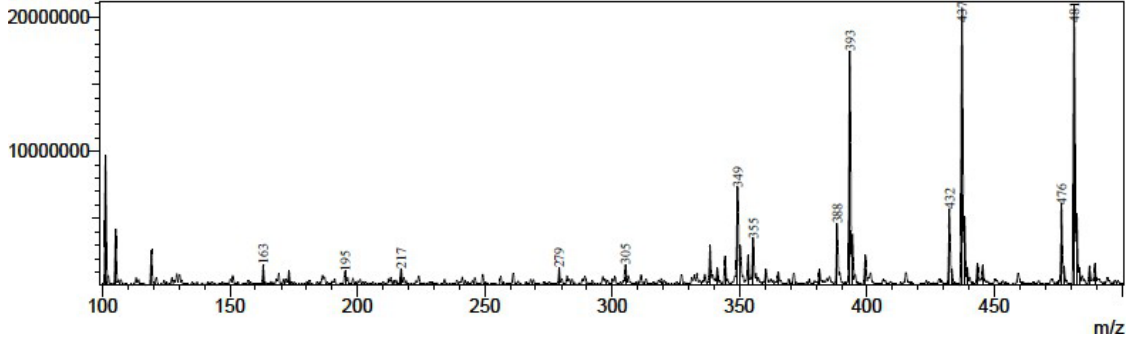
Şekil 4.22: P2A4L1 kodlu ürünün UV-Vis Spektrumu



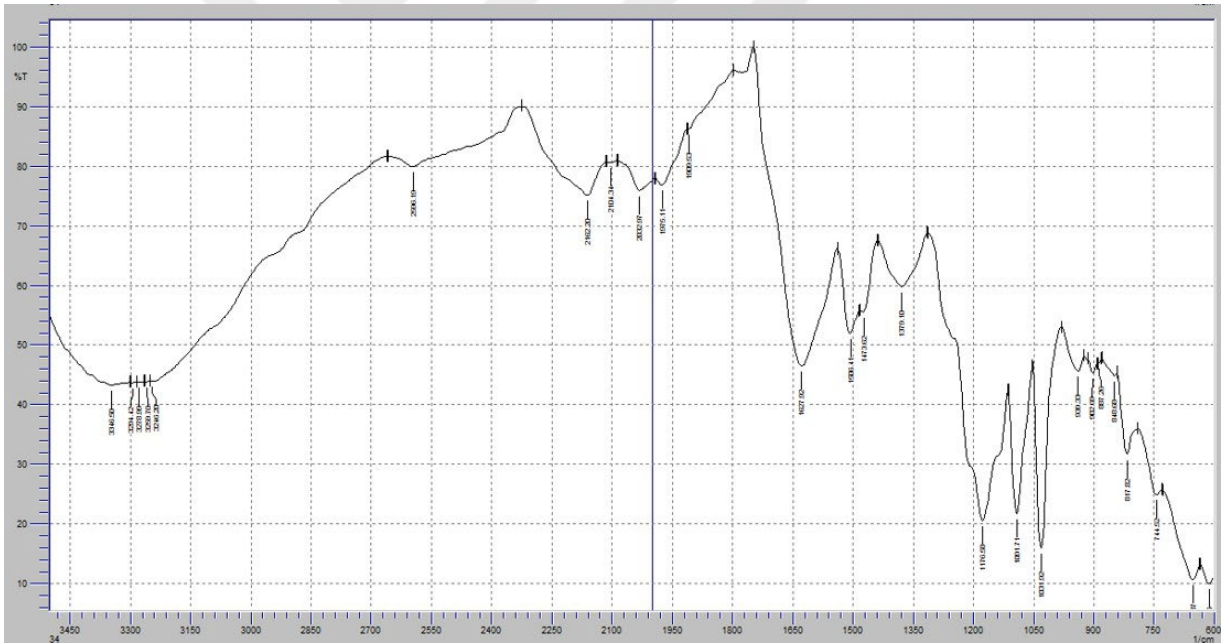
PeakTable					
PDA Ch1 287nm 4nm					
Peak#	Name	Ret. Time	Area	Area %	Conc.
1	RT6.250	6.250	692903	53.623	0.000
2	RT7.122	7.122	190419	14.736	0.000
3	RT17.947	17.947	408846	31.640	0.000
Total			1292167	100.000	

Şekil 4.23: P2A4L1 kodlu reaksiyon ürününün HPLC Kromatogramı

R.Time:0.034(Scan#:3)
 MassPeaks:37 BasePeak:437(20000000)
 Spectrum Mode:Single 0.034(3)
 BG Mode:None Polarity:Positive Segment 1 - Event 1



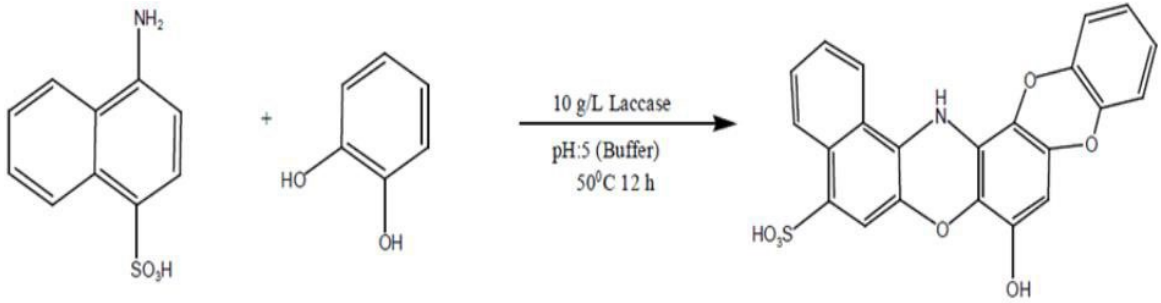
Şekil 4.24: P2A4L1 kodlu reaksiyon ürünü ürünü Kütle Spektrumu



Şekil 4.25: P2A4L1 kodlu ürünün ATR-FTIR Spektrumu

4.1.6 Bileşik-6 (P2A5L1)

250 ml'lik 3 boyunlu balon içerisine Sodyum Asetat Tamponu alınıp üzerine 15 mmol (1,65 g) Katekol (P2) ve 15 mmol (3,35 g) 4-amino-1-naftalinsülfonikası (A5) ve 2,5 g Lakkaz (EcoFade LT100) (L1) alınarak reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyona pH 5'te oda sıcaklığında başlanılmış olup sonrasında ise 40 °C'de 2 saat devam edilmiştir. 50 °C'de 12 saat reaksiyon sonrasında koyu-kahverengi renkli reaksiyon ortamında çözünür, stabil renk elde edilmiştir.



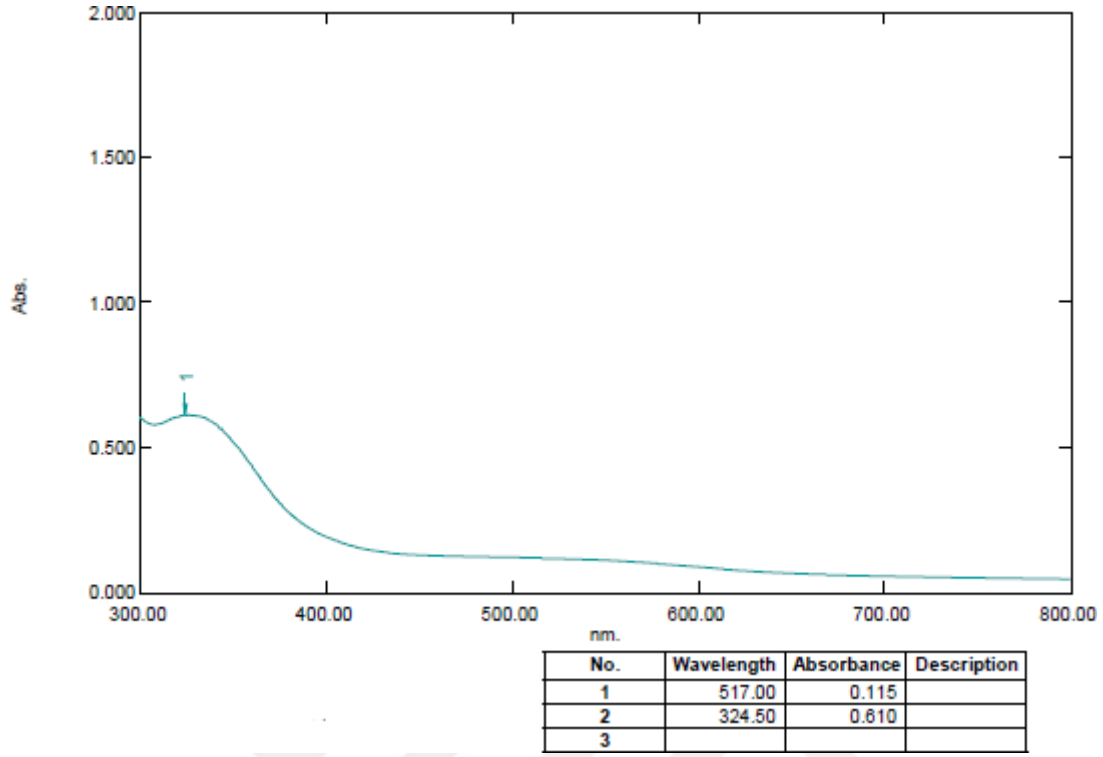
Şekil 4.26: Katekol (P2) ile 4-amino-1-naftalinsülfonikasit (A5) reaksiyonu

Gerçekleşen reaksiyonların kontrolü için UV-Vis analizleri gerçekleştirilmiştir. İlgili analizde elde edilen spektrumların tepe noktaları $\lambda_{1\text{max}} = 517 \text{ nm}$ tespit edilmiştir. (Şekil 4.27)

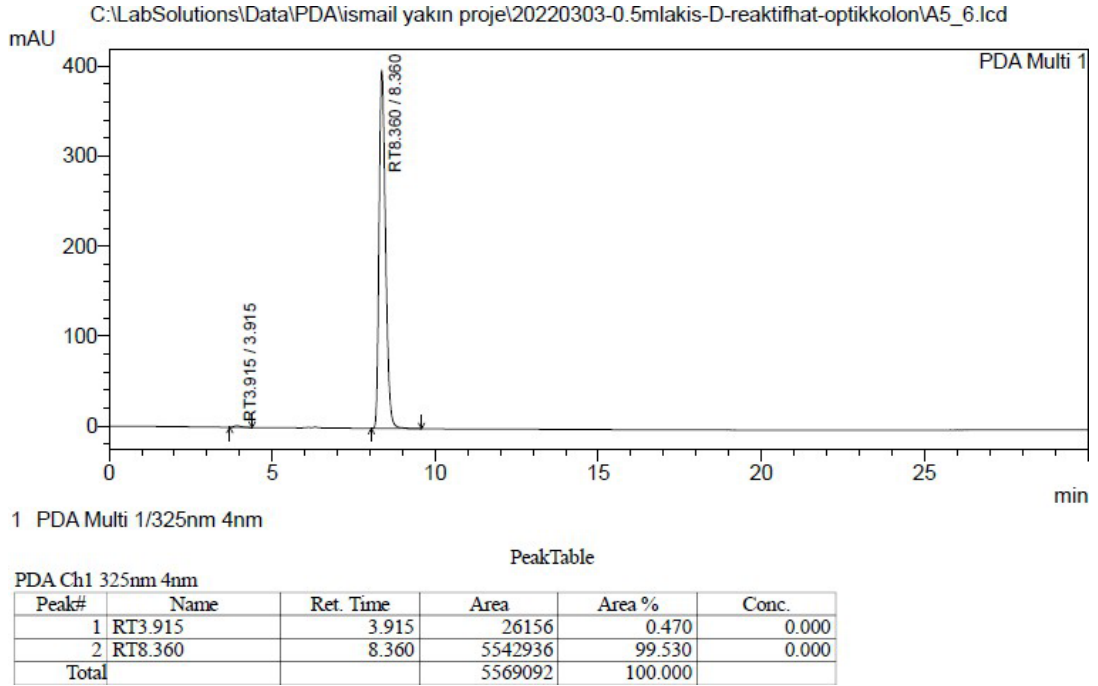
HPLC ile saflık/purity kontrolü yapılmıştır. Elde edilen ürünün saflığı %99,53 (R_t : 8.36 dk) olarak tespit edilmiştir. (Şekil 4.28)

Reaksiyon sonucunda elde edilen ürüne dair beklenen $C_{22}H_{13}NO_7S$ formülüne sahip bileşik 10,11-dioksobenzo-8-hidroksi-benzoksazin-5-sülfonikasit olup beklenen moleküler pik 435 m/z'dir. Yapısal karakterizasyon için pozitif ESI uygulanmıştır. Analiz sonucunda 10,11-dioksobenzo-8-hidroksi-benzoksazin-5-sülfonikasit yapısına dair moleküler pik 435 m/z'dir. M/S analizinde 437 m/z: M^{+2} , iyonları tespit edilmiştir. (Şekil 4.29)

FT-IR analizi sonucuna göre $\nu \text{ (cm}^{-1}\text{)} = 3213 \text{ (O-H)}, 3031 \text{ (C-H)}, 1697 \text{ (C=O)}, 1093 \text{ (C-N)}, 1456 \text{ (C=C)}$ gerilme bantları, varlığı tespit edilmiştir. (Şekil 4.30)

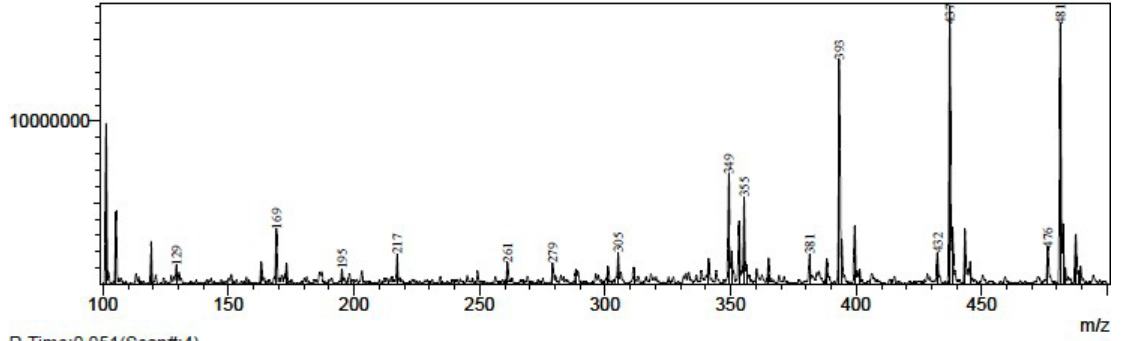


Şekil 4.27: P2A5L1 kodlu ürünün UV-Vis Spektrumu

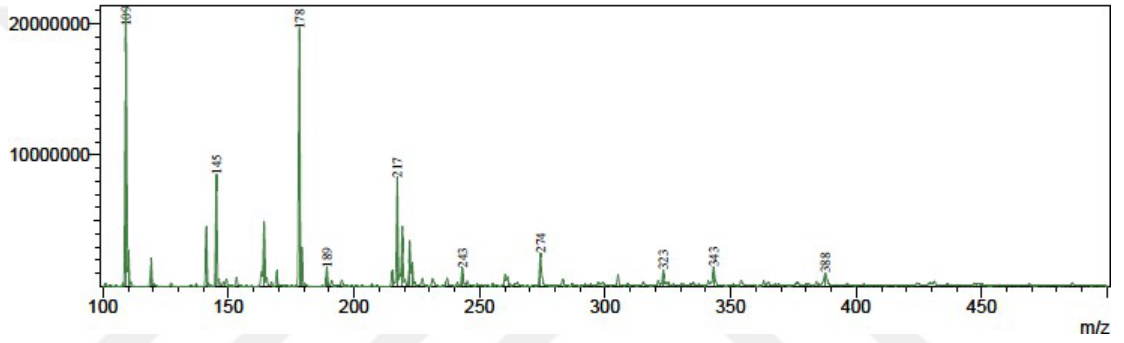


Şekil 4.28: P2A5L1 kodlu reaksiyon ürününün HPLC Kromatogramı

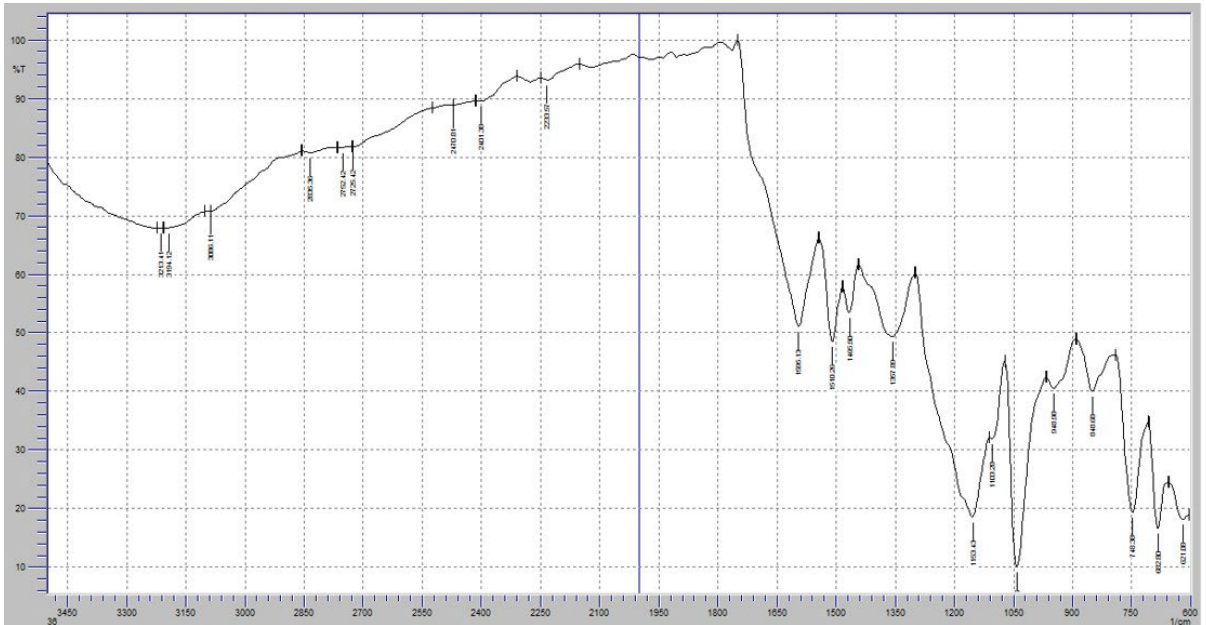
R.Time:0.034(Scan#:3)
 MassPeaks:41 BasePeak:437(17009469)
 Spectrum Mode:Single 0.034(3)
 BG Mode:None Polarity:Positive Segment 1 - Event 1



R.Time:0.051(Scan#:4)
 MassPeaks:20 BasePeak:109(20000000)
 Spectrum Mode:Single 0.051(4)
 BG Mode:None Polarity:Negative Segment 1 - Event 2



Şekil 4.29: P2A5L1 kodlu reaksiyon ürünü ürün Kütle Spektrumu



Şekil 4.30: P2A5L1 kodlu ürünün ATR-FTIR Spektrumu

4.2 SENTEZLENEN BİLEŞİKLERİN RENK ÖZELLİKLERİ

Boyama çalışmaları, laboratuvar tipi (Ataç HT) tüplü boyama makinasında çekirme (exhaust) boyama esasına göre yapılmıştır. Boyama çalışması %100 poliamid örme 70 denye naylon gipeli interlok (kumaşın ön ve arka yüzeyinde 150 denye naylon filament, orta kısmında 70 denye naylon gipe kullanılmıştır.) boyamaya hazır kumaş (300 g/m²) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.1: Reaksiyon Ürünleri Boyama ve Renk Ölçüm Çalışmaları

Deneme Kodu	Renk	L*	a*	b*	c*	h °
P2A4L1		67,2	7,95	15,22	17,18	62,41
P2A5L1		56,81	9,14	13,01	15,9	54,92
P3A2L1		65,32	7,89	27,57	28,68	74,03
P1A1L1		84,09	4,95	47,59	47,85	84,06
P3A1L1		68,24	4,08	44,48	44,67	84,76
P2P3L1		62,79	2,28	34,81	34,88	86,26

TEST	ASİDİK TER HASLIĞI	- ISO 105 E04 (37°C 4 saat)					
TEST	PERSPIRATION FASTNESS ACID	- ISO 105 E04 (37°C 4 h.)					
Nitelik Adı	Gri Skala'ya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)						
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)						
		Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool
	Kirletme / Staining	4/5	4	2	4/5	4/5	2
	Renk Değişimi/ Crane Of Shade	3/4					
							
TEST	ALKALİ TER HASLIĞI	- ISO 105 E04 (37°C 4 saat)					
TEST	PERSPIRATION FASTNESS ALKALINE	- ISO 105 E04 (37°C 4 h.)					
Nitelik Adı	Gri Skala'ya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)						
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)						
		Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool
	Kirletme / Staining	4	3/4	2	4	4	2
	Renk Değişimi/ Crane Of Shade	3/4					
							

Şekil 4.31: P1A1L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri

P3A2L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri Şekil 4.32’de verilmiştir.

Numune Sample	Smarter Gold Yellow P3A2L1
TEST	İŞIK HASLIĞI - ISO 105 B02 (Grade 4)
TEST	LIGHT FASTNESS - ISO 105 B02 (Grade 4)
Nitelik Adı	Mavi Yün Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)
Property	Evaluation Of Color Change According To Blue Wool Scale
Numune/Sample	
	
Değerlendirme/ Evaluation :	3
TEST	YIKAMA HASLIĞI - ISO 105 C06 A2S (40°C 30 dk.)
TEST	WASHING FASTNESS - ISO 105 C06 A2S (40°C 30 min)
Nitelik Adı	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)
	Acetate Cotton Nylon PES Acrylic Wool
Kirlenme / Staining	4/5 4/5 4/5 4/5 4/5 4/5
Renk Değişimi/ Crane Of Shade	3
	
TEST	SU HASLIĞI - ISO 105 E01 (37°C 4 saat)
TEST	WATER FASTNESS - ISO 105 E01 (37°C 4 h.)
Nitelik Adı	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)
	Acetate Cotton Nylon PES Acrylic Wool
Kirlenme / Staining	4/5 4/5 3/4 4/5 4/5 4/5
Renk Değişimi/ Crane Of Shade	4
	
TEST	ASİDİK TER HASLIĞI - ISO 105 E04 (37°C 4 saat)
TEST	PERSPIRATION FASTNESS ACID - ISO 105 E04 (37°C 4 h.)
Nitelik Adı	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)
	Acetate Cotton Nylon PES Acrylic Wool
Kirlenme / Staining	4/5 4/5 3/4 4/5 4/5 4/5
Renk Değişimi/ Crane Of Shade	4
	
TEST	ALKALİ TER HASLIĞI - ISO 105 E04 (37°C 4 saat)
TEST	PERSPIRATION FASTNESS ALKALINE - ISO 105 E04 (37°C 4 h.)
Nitelik Adı	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)
	Acetate Cotton Nylon PES Acrylic Wool
Kirlenme / Staining	4/5 4 3/4 4/5 4/5 4/5
Renk Değişimi/ Crane Of Shade	4
	

Şekil 4.32: P3A2L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri

TEST	ASİDİK TER HASLIĞI	- ISO 105 E04 (37°C 4 saat)					
TEST	PERSPIRATION FASTNESS ACID	- ISO 105 E04 (37°C 4 h.)					
Nitelik Adı	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)						
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)						
		Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool
	Kirlenme / Staining	3	3	1/2	4	4	1/2
	Renk Değişimi/ Crane Of Shade	3					
							
TEST	ALKALİ TER HASLIĞI	- ISO 105 E04 (37°C 4 saat)					
TEST	PERSPIRATION FASTNESS ALKALINE	- ISO 105 E04 (37°C 4 h.)					
Nitelik Adı	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)						
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)						
		Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool
	Kirlenme / Staining	3	2/3	1/2	3/4	3/4	1/2
	Renk Değişimi/ Crane Of Shade	4/5					
							

Şekil 4.33: P3A1L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri

P2P3L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri Şekil 4.34'te verilmiştir

Numune
Sample

Smarter Olive Green P2P3L1

TEST

IŞIK HASLIĞI - ISO 105 B02 (Grade 4)

TEST

LIGHT FASTNESS - ISO 105 B02 (Grade 4)

Nitelik Adı

Mavi Yün Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)

Property

Evaluation Of Color Change According To Blue Wool Scale

Numune/Sample



Değerlendirme/ Evaluation : 2/3

TEST

YIKAMA HASLIĞI - ISO 105 C06 A2S (40°C 30 dk.)

TEST

WASHING FASTNESS - ISO 105 C06 A2S (40°C 30 min)

Nitelik Adı

Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)

Property

Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)

Acetate

Cotton

Nylon

PES

Acrylic

Wool

Kirlenme /
Staining

4/5

4/5

4/5

4/5

4/5

4/5

Renk Değişimi/
Crane Of Shade

2





TEST

SU HASLIĞI - ISO 105 E01 (37°C 4 saat)

TEST

WATER FASTNESS - ISO 105 E01 (37°C 4 h.)

Nitelik Adı

Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)

Property

Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)

Acetate

Cotton

Nylon

PES

Acrylic

Wool

Kirlenme /
Staining

2

3/4

1

4

4

1

Renk Değişimi/
Crane Of Shade

3/4







Numune
Sample

Smarter Olive Green P2P3L1

TEST

ASİDİK TER HASLIĞI - ISO 105 E04 (37°C 4 saat)

TEST

PERSPIRATION FASTNESS ACID - ISO 105 E04 (37°C 4 h.)

Nitelik Adı

Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)

Property

Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)

Acetate

Cotton

Nylon

PES

Acrylic

Wool

Kirlenme /
Staining

2

3/4

1

4

4

1

Renk Değişimi/
Crane Of Shade

3/4






TEST

ALKALİ TER HASLIĞI - ISO 105 E04 (37°C 4 saat)

TEST

PERSPIRATION FASTNESS ALKALINE - ISO 105 E04 (37°C 4 h.)

Nitelik Adı

Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)

Property

Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)

Acetate

Cotton

Nylon

PES

Acrylic

Wool

Kirlenme /
Staining

2

2

1

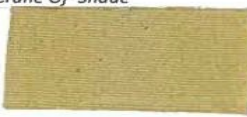
4

3/4

1

Renk Değişimi/
Crane Of Shade

3/4






Şekil 4.34: P2P3L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri

P2A4L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri Şekil 4.35'te verilmiştir.

Numune <i>Sample</i>	Smarter Tan P2A4L1
TEST <i>TEST</i>	IŞIK HASLIĞI - ISO 105 B02 (Grade 4) LIGHT FASTNESS - ISO 105 B02 (Grade 4)
Nitelik Adı <i>Property</i>	Mavi Yün Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5) Evaluation Of Color Change According To Blue Wool Scale

Numune/Sample



Değerlendirme/ Evaluation : 1

TEST <i>TEST</i>	YIKAMA HASLIĞI - ISO 105 C06 A2S (40°C 30 dk.) WASHING FASTNESS - ISO 105 C06 A2S (40°C 30 min)
Nitelik Adı <i>Property</i>	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5) Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)
	Acetate Cotton Nylon PES Acrylic Wool
Kirletme / <i>Staining</i>	4/5 4/5 4/5 4/5 4/5 4/5
Renk Değişimi/ <i>Crane Of Shade</i>	4/5



TEST <i>TEST</i>	SU HASLIĞI - ISO 105 E01 (37°C 4 saat) WATER FASTNESS - ISO 105 E01 (37°C 4 h.)
Nitelik Adı <i>Property</i>	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5) Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)
	Acetate Cotton Nylon PES Acrylic Wool
Kirletme / <i>Staining</i>	4/5 4/5 4/5 4/5 4/5 4/5
Renk Değişimi/ <i>Crane Of Shade</i>	4/5



TEST	ASİDİK TER HASLIĞI	- ISO 105 E04 (37°C 4 saat)					
TEST	PERSPIRATION FASTNESS ACID	- ISO 105 E04 (37°C 4 h.)					
Nitelik Adı	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)						
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)						
		Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool
	Kirletme / Staining	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
	Renk Değişimi/ Crane Of Shade	4/5					



TEST	ALKALİ TER HASLIĞI	- ISO 105 E04 (37°C 4 saat)					
TEST	PERSPIRATION FASTNESS ALKALINE	- ISO 105 E04 (37°C 4 h.)					
Nitelik Adı	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)						
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)						
		Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool
	Kirletme / Staining	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
	Renk Değişimi/ Crane Of Shade	4/5					



Şekil 4.35: P2A4L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri

P2A5L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri Şekil 4.36’da verilmiştir.

Numune Smarter Brown P2A5L1
Sample

TEST	IŞIK HASLIĞI - ISO 105 B02 (Grade 4)		
TEST	LIGHT FASTNESS - ISO 105 B02 (Grade 4)		
Nitelik Adı Mavi Yün Scalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)			
Property Evaluation Of Color Change According To Blue Wool Scale			
Numune/Sample			



Değerlendirme/ Evaluation : 1/2

TEST	YIKAMA HASLIĞI - ISO 105 C06 A25 (40°C 30 dk.)						
TEST	WASHING FASTNESS - ISO 105 C06 A25 (40°C 30 min)						
Nitelik Adı	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)						
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)						
		Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool
Kirlenme / Staining		4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
Renk Değişimi/ Crane Of Shade		4/5					



TEST	SU HASLIĞI	- ISO 105 E01	(37°C 4 saat)				
TEST	WATER FASTNESS	- ISO 105 E01	(37°C 4 h.)				
Nitelik Adı	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)						
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)						
		Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool
	Kirlenme / Staining	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
	Renk Değişimi/ Crane Of Shade	4/5					



TEST	ASİDİK TER HASLIĞI	- ISO 105 E04 (37°C 4 saat)					
TEST	PERSPIRATION FASTNESS ACID	- ISO 105 E04 (37°C 4 h.)					
Nitelik Adı	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)						
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)						
		Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool
	Kirlenme / Staining	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5
	Renk Değişimi/ Crane Of Shade	4/5					



TEST	ALKALİ TER HASLIĞI	- ISO 105 E04	(37°C	4 saat)				
TEST	PERSPIRATION FASTNESS ALKALINE	- ISO 105 E04	(37°C	4 h.)				
Nitelik Adı	Gri Skalaya Göre Renk Değişiminin Değerlendirilmesi (1-5)							
Property	Color Change Has Been Made Based On The Gray Scale (1-5)							
		Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool	
	Kirletme / Staining	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	
	Renk Değişimi/ Crane Of Shade	4/5						



Şekil 4.36: P2A5L1 kodlu çalışma için yapılan haslık testleri

5 TARTIŞMA

Mevcut boyarmaddelerin bilindik metodlarla sentezlerinde, diazonyum aşamasında 0-5 °C’lık düşük sıcaklık için yüksek enerji, pH=1-2’lik asidik ortam için yüksek tonajlarda asit kullanımı ve diazo kaynağı olarak NaNO₂ gibi çevreye zararlı kimyasalların kullanımı gerekliken, kenetlenme ya da sıcak kenetlenme aşamalarında da yüksek sıcaklık 80-150 °C ve nötralizasyon için de yüksek tonajlarda alkali kullanımı konusudur. Buna karşılık olarak tez kapsamında optimize edilerek geliştirilen enzimatik boyarmadde sentez prosesinde, nötral pH (5.0-7.5) aralığında, 0-5 °C gibi düşük ve 80-150 °C gibi yüksek sıcaklıklara gereksinim duyulmadan ve diazo reaksiyonu olmaksızın lakkaz gibi doğal katalizörler ile boyarmaddeler geliştirilmiştir.

Lakkaz enzimiyle katalizlenen boyarmadde sentezleri için Dupont firması tarafından üretilen fungal orjinli lakkaz olan EcoFade LT100 kullanılmıştır. Lakkaz enziminin aktivitesinin en yüksek olduğu pH=5’te Resorsinol, Katekol, 2-amino-4-nitrofenol ve 2-hidroksi-3,5- dinitrobenzoikasit gibi fenolik başlangıç maddeleri ile 4’-Aminoazobenzen-4-sülfonikasit, 7,7’-(Karbonilbis(azanedi))bis(4-hidroksinaftalin-2-sülfonikasit), 6-amino-naftalin-2- sülfonikasit, 4-amino-1-naftalinsülfonikasit gibi aromatik amin yapısındaki başlangıç maddeleri birlikte kullanılarak boyarmadde sentez çalışmaları yapılmıştır.

Bu kapsamda yürütülen tez çalışmasında farklı renk tonlarında 6 adet boyarmadde sentezlenmiştir. Sentezlenen boyarmadde özellikli bileşiklerinin karakterize edilmeleri için UV-Vis, HPLC, FTIR ve LC-MSMS analitik ve spektroskopik yöntemler kullanılmıştır. Elde edilen sentez ürünlerin renk özelliklerinin belirlenmesi için de boyarmaddenin etki ettiği lif türlerinin belirlenip, belirlenen lifler için boyanabilirlik çalışmalarının yapılmış ve elde edilen boyanmış kumaşlar için haslık testleri gerçekleştirilmiştir.

Bileşik-1 (P1A1L1); Resorsinol (P1) ve 4’-Aminoazobenzen-4-sülfonikasit (A1) kullanılarak elde edilmiş parlak sarı renkli boyarmadde dir. UV-Vis analizinde elde edilen spektrumların tepe noktaları $\lambda_1 \text{ max}=384 \text{ nm}$ ve $\lambda_2 \text{ max}=246 \text{ nm}$ ’dir. HPLC ile yapılan analizde elde edilen ürünün saflığı %96,8 (Rt: 10.876 dk) olarak belirlenmiştir. LC-MSMS analizinde ise C₁₈H₁₃N₃O₅S kapalı formülüne sahip 7-(aminoazobenzen-4’-sülfonikasit)-10H-fenoksazin-3-hidroksi yapısını doğrular nitelikte 387:M-4, 305:M-SO₃H, 276:4-aminoazobenzen iyonları tespit edilmiştir. FT-IR analizi sonucuna göre $\nu \text{ (cm}^{-1}\text{)} = 3350 \text{ (O-H)}$, 2930 (C-H), 1624, 1605 (C=O), 1209, 1170 (C-N), 1560 (C=C) gerilme bantları, N=N:1486 ve Ar: 2930 varlığı tespit edilmiştir.

Bileşik-2 (P3A2L1); 2-amino-4-nitrofenol (P3) ve 7,7'-(Karbonilbis(azanedil))bis(4-hidroksinaftalen-2-sülfonikası) (A2) kullanılarak elde edilmiş gold-sarı renkli boyarmaddedir. UV-Vis Spektrumunda elde edilen spektrumların tepe noktası $\lambda_{\text{max}}=387$ nm tespit edilmiştir. HPLC kontrolünde elde edilen ürünün saflığı %65,87 olarak (Rt: 14.158 dk) belirlenmiştir. LC-MSMS analizinde ise C₂₂H₁₃N₅O₁₀S kapalı formülüne sahip bileşik için beklenen moleküler pik 539 m/z'dir. M/S analizinde 528: M-11 iyonları tespit edilmiştir. FT-IR analizi sonucuna göre ν (cm⁻¹) = 3357 (O-H), 2931 (C-H), 1624, 1606 (C=O), 1172 (C-N), 1496 (C=C) gerilme bantları, varlığı tespit edilmiştir.

Bileşik-3 (P3A1L1); 2-amino-4-nitrofenol (P3) ve 4'-Aminoazobenzen-4-sülfonikası kullanılarak elde edilmiş yeşilimsi sarı (fıstık yeşili) renkli boyarmaddedir. UV-Vis analizinde elde edilen spektrum tepe noktası $\lambda_{\text{max}}=384$ nm tespit edilmiştir. HPLC analizinde elde edilen ürünün saflığı %72,62 (Rt: 10.896 dk) olarak bulunmuştur. Reaksiyon sonucunda elde edilen izomer ürünlere dair beklenen C₁₈H₁₃N₅O₆S formülüne sahip bileşik 7-(aminoazobenzen-4-sülfonikası)-10H-fenoksazin-2-nitro-4-amino olup beklenen moleküler pik 427 m/z'dir. LC-MSMS analizinde 427 m/z: M, 333: m/z (M-SO₃H ve NH₂) 290 m/z: (M-SO₃H, NH₂ ve NO₂) iyonları tespit edilmiştir. FT-IR analizi sonucuna göre ν (cm⁻¹) = 3302 (N-H), 3031 (C-H), 1591 (C=O), 1520, 1284 (N-O), 1209, 1170 (C-N), 1560 (C=C) gerilme bantları, N=N:1486 varlığı tespit edilmiştir.

Bileşik-4 (P2P3L1); 2-amino-4-nitrofenol (P3) ve Katekol (P2) kullanılarak elde edilmiş zeytin yeşili renkli boyarmaddedir. UV-Vis analizinde elde edilen spektrumun tepe noktaları $\lambda_{\text{max}}=313$ nm tespit edilmiştir. HPLC ile saflık/purity kontrolünde ürünün saflığı %20,3 olarak (Rt: 11.64 dk) olarak tespit edilmiştir. Reaksiyon sonucunda elde edilen ürüne dair beklenen C₁₈H₁₀N₄O₇ kapalı formülüne sahip bileşik için 5,6-dioksobenzo (2'-amino-4'-nitro)-10H-fenoksazin-2-nitro yapısına dair beklenen moleküler pik 394 m/z'dir. LC-MSMS analizinde 393 m/z: M-1, 307 m/z: M-OH ve M-NO₂ iyonları tespit edilmiştir. FT-IR analizi sonucuna göre ν (cm⁻¹) = 3321 (N-H), 3037 (C-H), 1585 (C=O), 1517, 1280 (N-O), 1145 (C-N), 1585 (C=C) gerilme bantları varlığı tespit edilmiştir.

Bileşik-5 (P2A4L1); Katekol (P2) ve 6-aminonaftalin-2-sülfonikasıit (A4) kullanılarak elde edilmiş sarımsı kahve renkli boyarmaddedir. UV-Vis analizinde elde edilen spektrumların tepe noktaları $\lambda_{1\max}$ =401 nm ve $\lambda_{2\max}$ =535 nm olarak tespit edilmiştir. HPLC ile yapılan analizde elde edilen ürünün saflığı %31,64 olarak (Rt: 17.94 dk) bulunmuştur. Reaksiyon sonucunda elde edilen ürüne dair beklenen $C_{22}H_{13}NO_7S$ kapalı formülüne sahip bileşik 10,11-dioksobenzo-8-hidroksi-benzoksazin-4-sülfonikasıit olup beklenen moleküler pik 435 m/z'dir. LC-MSMS analizinde 437 m/z: M+2 iyonları tespit edilmiştir. FT-IR analizi sonucuna göre ν (cm⁻¹) = 3346 (O-H), 2566 (C-H), 1627 (C=O), 1176 (C-N), 1473 (C=C) gerilme bantları, varlığı tespit edilmiştir.

Bileşik-6 (P2A5L1); Katekol (P2) ve 4-amino-1-naftalinsülfonikasıit (A5) kullanılarak elde edilmiş koyu kahve renkli boyarmaddedir. UV-Vis analizleri gerçekleştirilmiştir. İlgili analizde elde edilen spektrumların tepe noktaları $\lambda_{1\max}$ =517 nm tespit edilmiştir. HPLC ile yapılan analizde elde edilen ürünün saflığı %99,53 (Rt: 8.36 dk) olarak tespit edilmiştir.

Reaksiyon sonucunda elde edilen ürüne dair $C_{22}H_{13}NO_7S$ kapalı formülüne sahip bileşik 10,11-dioksobenzo-8-hidroksi-benzoksazin-5-sülfonikasıit olup beklenen moleküler pik 435 m/z'dir. LC-MSMS analizinde 437 m/z: M+2, iyonları tespit edilmiştir. FT-IR analizi sonucuna göre ν (cm⁻¹) = 3213 (O-H), 3031 (C-H), 1697 (C=O), 1093 (C-N), 1456 (C=C) gerilme bantları, varlığı tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasında lakkaz enzimi ile sentezlenen boyarmaddeler, özellikle poliamid (nylon), yün ve pamuklu liflerden üretilen elde edilen tekstil ürünlerinin renklendirilmesi için kullanılabilecektir. Haslık (Fastness) değerlendirmesi renklerin boyandıktan sonra kumaş üzerindeki kararlılığını ve stabilitesini dolayısıyla kullanıma uygunluğunun göstergesidir. Genellikle kabul gören değerlendirme limitleri, Işık haslığı için 5 dereceli skala üzerinden minimum 2/3 diğer haslıklar için minimum 3 / 4 seviyeleridir.

Bileşik-1, Bileşik-2, Bileşik-3, Bileşik-4 ve Bileşik-5 için gerçekleştirilen haslık sonuçları Tablo:4'te özetlenmiştir. Işık haslığı değeri, genellikle boyarmaddenin kimyasal yapısıyla ilgilidir. Özellikle boyarmadde yapısında yer alan ekolojik açıdan risk teşkil eden kromofor grupları ışık haslığı değerlerini yükselten yapılardır. Lakkaz enzimi ile yapılan boyarmadde sentezi çalışmalarında diazonyum köprüsü, bifonksiyonel özellik katan vinil

sülfon ya da triklortriazin gibi reaktif gurupların toksikolojik risklerinden dolayı kullanılmadıkları için ışık haslığı değerlerinin klasik boyarmaddelere göre düşük olması beklenen bir durumdur. Bu paralelde proje çalışmalarında elde edilen ışık haslığı değerleri tatminkardır. Ayrıca yeni sentezlenen renklerin neredeyse tamamı yıkama haslığı, su haslığı, asidik ter haslığı ve alkali ter haslığı olarak kabul edilebilir niteliklerdedir.

Tablo 5.1: Reaksiyon ürünleri haslık değerlendirme tablosu

Çalışma No	Işık Haslığı ISO 105-B02	Yıkama Haslığı ISO 105-C06	Su Haslığı ISO 105-E01	Asidik Ter Haslığı ISO 105-E04	Alkali Ter Haslığı ISO 105-E04
Bileşik-1 P1A1L1	4	4/5	4/5	4/5	4/5
Bileşik-2 P3A2L1	3	4/5	4/5	4/5	4/5
Bileşik-3 P3A1L1	2/3	4/5	3	3	3
Bileşik-4 P2P3L1	2/3	4/5	4	3	3
Bileşik-5 P2A4L1	1	4/5	4/5	4/5	4/5
Bileşik-6 P2A5L1	1/2	4/5	4/5	4/5	4/5

Sentezlenen tüm bileşikler, ticari boyarmaddelerin ekolojik uygunlukları için yapılan azo boyarmaddelerin belirlenmesi, poliklorfenol içeriklerinin belirlenmesi, poliaromatik hidrokarbonların belirlenmesi ve klorlu organik taşıyıcıların belirlenmesi gibi tarama testlerinde de tüm parametrelerde %100 ekolojik kriterlere uygun olarak tespit edilmiştir.

Bu tez çalışmasında lakkaz katalizörlüğünde sentezlenen 6 yeni bileşik (Bileşik-1, Bileşik-2, Bileşik-3, Bileşik-4, Bileşik-5 ve Bileşik-6) gerek tezin kavramsal çerçeve kısmında paylaşılan literatürlerdeki çalışmalardan farklı olması ve gerekse taşıdığı boyarmadde nitelikleri ile orijinaldir. Dolayısıyla tez çalışması ile literatüre önemli derecede bir katkı sağlanmaktadır. Ayrıca ticari boyutta da değerlendirildiğinde enzimlerle boyarmadde üretilebilmesinin önü açılacak ve benzer çalışmalara kaynak oluşturabilecektir [6-12].

6 SONUÇ VE ÖNERİLER

Tezin temel amacı, çevreye zararlı kimyasal kullanılmadan, lakkaz enzimi katalizörlüğünde yenilikçi proses geliştirilerek boyarmadde nitelikli sentezlerin yapılması ve elde edilen ürünlerin boyarmadde niteliklerinin belirlenmesidir. Bu amaçla yürütülen çalışmalarda farklı orjinli lakkaz enzimleri, lakkazın katalizleyebildiği farklı sübstitüye fenolik ya da amin içerikli başlangıç maddeleri ile suda çözünebilir gruplar içeren aromatik başlangıç maddeleri kullanılmıştır.

Boyarmadde sentez çalışmalarında kullanılan kimyasallar için önemli bir seçim kriteri de endüstriyel boyutta üretilip tedarik edilebilmesi olmuştur. Dolayısıyla tez sonrası geliştirilen ürünlerin ticarileşebilirliği de ön planda tutulmuştur. Ayrıca Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'nun (Tübitak) 1512-Bireysel Girişimcilik Programı'nda alınan bütçesel destek kapsamında da ticarileşme olanakları odaklı olarak çalışılmıştır.

Tez kapsamında sentezlenen 6 adet lakkaz katalizli boyarmadde için gerçekleştirilen boyarmadde testlerinde elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde; projede elde edilen boyarmaddelerin naylon (poliamide) ve yün (wool) elyaf için ön işlem gerektirmeksizin tatminkar derecede boyama yaptığı, pamuk (cotton) elyaf için ise zayıf renklenme gerçekleştiği dolayısıyla pamuk boyama için afinite arttırıcı ajanlar kullanılarak detaylı proses geliştirilmesi gereklidir.

Tez sonucunda elde edilmiş olan sonuçlar topluca değerlendirildiğinde, sentezlenen lakkaz katalizli boyarmaddeler ve taşıdıkları renk-haslık değerleri boyarmadde ve tekstil sektörlerinde yeni bir yaklaşım oluşturacak niteliktedir. Özellikle boyanma sonrası lif üzerinde ekolojik risk oluşturacak kimyasal içermemesi gerek boyarmadde sentez aşamalarında düşük enerji tüketimi gerekse çevreye zararlı kimyasalların kullanılmaması, boyama proseslerinde tüketilen suyun düşük olması ve boyama sonrasında atık nitelikte kalan boyanın daha kolay bozunabilirliği gibi nedenlerle çevresel anlamda yenilikçi çözümler sunmaktadır.

Sentez çalışmalarındaki lakkaz gibi oksidatif enzimlerin daha aktif ve daha yüksek oksidasyon potansiyelli olarak geliştirilmesi sonrası tez kapsamında geliştirilen sentez rotaları ile yeni boyarmaddelerin de geliştirilmesi mümkün kılınacaktır.

KAYNAKLAR

- [1]. Ikeda, R., Sugihara, J., Uyama, H., Kobayashi, S., 1996, Enzymatic oxidative polymerization of 2,6-dimethylphenol, *Macromolecules*, 29, 8702.
- [2]. Setti, L., Giuliani, S., Spinozzi, G., Pifferi, PG., 1999, Laccase catalyzed oxidative coupling of 3-methyl 2-benzothiazolinone hydrazone and methoxyphenols, *Enzyme and Microbial Technology*, 25: 285-289.
- [3]. Mustafa, R., Muniglia, L., Rovel, B., Girardin, M., 2005, Phenolic colorants obtained by enzymatic synthesis using a fungal Laccase in a hydroorganic biphasic system, *Food Research International*, 38: 995-1000.
- [4]. Mikolasch, A., 2002, Synthesis of 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-propionic acid derivatives by N-coupling of amines using Laccase, *Tetrahedron*, 58, 7589–7593.
- [5]. Intra, A., 2005, Significant and unexpected solvent influence on the selectivity of Laccase-catalyzed coupling of tetrahydro-2-naphthol derivatives, *Advanced Synthesis & Catalysis*, 347, 973–977.
- [6]. Camarero, S., Canas, A.I., Nousiainen, P., Record, E., Lomancolo, A., Martinez, J., and Martinez, T., 2008, p-Hydroxycinnamic acids as natural mediators for Laccase oxidation of recalcitrant compounds, *Environmental Science Technology*, 42: 6703–6709.
- [7]. Enaud, E., M, Trovaslet., F, Bruyneel., L, Billottet., R, Karaaslan., P, Coppens., A, Casas., I, Jaeger., C. Hafner., R, Onderwater., A, Corbisier., J, Brynaert., S, Vanhulle., 2008, Laccase-catalyzed azodye synthesis, *Chemical Engineering Transactions*, 14.
- [8]. Yakin, İ., 2015, *Enzimler ile Boyarmadde Sentezleri, Sentezlenen Bio-Boyarmaddelerin Karakterizasyonları ve Boyarmadde Özelliklerinin İncelenmeleri*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- [9]. Sun, S., Xing, T., Tang, R., 2015, Enzymatic dyeing and functional finishing of textile fibers with ferulic acid, *Indian Journal of Fibre & Textile Research*, Vol. 40, 62-69.
- [10]. Atav, R., Buğdaycı, B., Yakin, İ., 2021, Laccase-catalysed simultaneous dye synthesis and cotton dyeing by using plant based precursors, *The Journal of The Textile Institute*, Vol. 113-4, 628-636.
- [11]. Atav, R., Buğdaycı, B., Bozkurt, Ö., Yıldız, A., Güneş, E., Yakin, İ., 2021, Laccase-catalyzed enzymatic dyeing of cotton fabrics, *Textile Research Journal*, Vol. 92, 17-18.
- [12]. Atav, R., Karagören, E., Soysal, S., Yakın, İ., 2024, Enzymatic coloration of polyamide fabrics and its comparison with conventional dyeing, *Coloration Technology*, Vol. 141, 94-116.

- [13]. Gianfreda, L., Xu, F., Bollag, J., 1999, Laccase: A useful Group of oxidoreductive enzymes, *Bioremediation Journal*, J.3, 1-25.
- [14]. Akkara, J.A., Salapu P., Kaplan D.L., 1992, Characterization of polyaniline synthesized by enzyme-catalyzed reactions in organic solvents, *Indian Journal of Chemistry*, Vol. 31B, 855-858.
- [15]. Solomon, E.I., Sundaram, U.M., Machonkin, T.E., 1996, Multicopper oxidases and oxygenases, *Chemical Reviews*, 96, 2563–2605.
- [16]. Sousa, A.C., Martins, L.O., Robalo, M.P., 2021, Laccases: Versatile Biocatalysts for the Synthesis of Heterocyclic Cores, *Molecules*, 26(12), 3719.
- [17]. Leutbecher, H., Constantin, M., Mika, S.; Conrad, J., Beifuss, U., 2021, A new Laccase-catalyzed domino process and its application to the efficient synthesis of 2-aryl-1H-benzimidazoles, *Tetrahedron Letters*, 52, 604–607.
- [18]. Shaw, S.D., Freeman, H.S., 2004, Dyes from enzyme-mediated oxidation of aromatic amines, *Textile Research Journal*, 74, 215–222.
- [19]. Wlizio, K., Polak, J., Jarosz-Wilkolazkaa, A., Pogni, R., Petricci, E., 2020, Novel textile dye obtained through transformation of 2-amino-3-methoxybenzoic acid by free and immobilised Laccase from a *Pleurotus ostreatus* strain, *Enzyme Microbial Technology*, 132, 109398.
- [20]. Bruyneel, F., Dive, G., Marchand-Brynaert, J., 2012, Non-symmetrically substituted phenoxazinones from Laccase-mediated oxidative cross-coupling of aminophenols: An experimental and theoretical insight, *Organic Biomolecular Chemistry*, 10, 1834–1846.
- [21]. Cannatelli, M.D., Ragauskas, A.J., 2016, Ecofriendly syntheses of phenothiazines and related structures facilitated by Laccase a comparative study, *Tetrahedron Letters*, 57, 3749–3753.
- [22]. Heinfling, A., Martinez, M.J., Martinez, M., Bergbauer U., 1998, Purification and characterization of peroxidases from the dye-decolorizing fungus *Bjerkandera adusta*, *FEMS Microbiol Letters*, 165, 43.
- [23]. Spinelli D., Martorana A., Baratto M., Basosi R., Pogni R., 2012, Synthesis of Textile Dyes by Laccase Biotransformations, *Environmental Engineering and Management Journal*, Vol. 11, 3.