



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ENZİMLER ile BOYARMADDE SENTEZLERİ,
SENTEZLENEN BİO-BOYARMADDELERİN
KARAKTERİZASYONLARI VE BOYARMADDE
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMELERİ**

İsmail YAKIN

Kimya Anabilim Dalı

Organik Kimya Programı

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Adem ÇINARLI

Mayıs, 2015

İSTANBUL

Bu çalışma 01./07/ 2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı Organik Kimya programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi:



İmza

Yard. Doç. Dr. Adem ÇINARLI (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



İmza

Prof. Dr. Süleyman TANYOLAÇ
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



İmza

Prof. Dr. F. Serpil GÖKSEL
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



İmza

Prof. Dr. Çiğdem SAYIL
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



İmza

Doç. Dr. Bahattin YALÇIN
Marmara Üniversitesi
Fen-Edebiyat Fakültesi

Bu alışma İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliđinin 50206 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans çalışmam süresince, onlardan esirgediğim zamana rağmen bana karşı daima anlayışlı olan sevgili eşim Belma ve oğlum Kerem'e, çalışmalarımda bana yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç Dr. Adem ÇINARLI ve Yrd. Doç Dr. Demet GÜRBÜZ'e, deneysel çalışmalarım sırasında laboratuvar altyapısı ve bilgisini esirgemeyen Setaş Kimya Sanayi A.Ş Genel Müdürü Dr. Mehmet Emre ŞENER'e, tüm içtenliğimle teşekkürü borç biliyorum.

Mayıs, 2015

İsmail YAKIN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	ix
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	x
SUMMARY.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR	3
2.1. BOYARMADDE TARİHÇESİ VE ENDÜSTRİYEL BOYA ÜRETİMİ	3
2.2. BOYARMADDE SINIFLARI.....	5
2.3. AZO BOYARMADDELER	5
2.4. AZO BOYARMADDE SENTEZLERİ	6
2.5. YEŞİL KİMYA VE BİO-SENTEZLER.....	7
2.6. LAKKAZ	9
2.7. LAKKAZ İLE BİO-BOYA SENTEZLERİ.....	12
2.8. LAKKAZ REAKSİYONLARINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER.....	15
2.9. LİTERATÜR ÖZETİ	15
3. MALZEME VE YÖNTEM	18
3.1. KULLANILAN CİHAZ VE YARDIMCI GEREÇLER	18
3.2. BAŞLANGIÇ MADDELERİ	19
3.3. LAKKAZ TÜRLERİ	22
3.4. REAKSİYON KOŞULLARI.....	22
3.5. MADDELERİN SENTEZLERİ	23
3.5.1. Bileşik 1 Sentezi (R1)	23
3.5.2. Bileşik 2 Sentezi (R2)	24
3.5.3. Bileşik 3 Sentezi (R3)	24
3.5.4. Bileşik 4 Sentezi (R4)	25
3.5.5. Bileşik 5 Sentezi (R5)	25

3.5.6. Bileşik 6 Sentezi (R6)	26
3.5.7. Bileşik 7 Sentezi (R7)	27
3.5.8. Bileşik 8 Sentezi (R8)	27
3.5.9. Bileşik 9 Sentezi (R9)	28
3.5.10. Bileşik 10 Sentezi (R10)	28
3.5.11. Bileşik 11 Sentezi (R11)	29
3.5.12. Bileşik 12 Sentezi (R12)	29
3.5.13. Bileşik 13 Sentezi (R13)	30
3.5.14. Bileşik 14 Sentezi (R14)	31
3.5.15. Bileşik 15 Sentezi (R15)	31
3.5.16. Bileşik 16 Sentezi (R16)	32
4. BULGULAR	33
4.1. BİLEŞİK 1	33
4.2. BİLEŞİK 2	34
4.3 BİLEŞİK 3	35
4.4. BİLEŞİK 4	36
4.5. BİLEŞİK 5	37
4.6. BİLEŞİK 6	38
4.7. BİLEŞİK 7	39
4.8. BİLEŞİK 8	40
4.9. BİLEŞİK 9	41
4.10. BİLEŞİK 10	42
4.11. BİLEŞİK 11	43
4.12. BİLEŞİK 12	44
4.13. BİLEŞİK 13	45
4.14. BİLEŞİK 14	46
4.15. BİLEŞİK 15	47
4.16. BİLEŞİK 16	48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	49
5.1. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ	49
5.2. TARTIŞMA	53
KAYNAKLAR.....	54
EKLER	57
EK 1. UV-VİSİBLE SPEKTROFOTOMETRE İLE YAPI KONTROLÜ	57

EK 2. FT-IR SPEKTROFOTOMETRE İLE YAPI KONTROLÜ	65
EK 3. HPLC İLE YAPI KONTROLÜ	81
EK 4. MULTİFİBER BOYAMA SONUÇLARI.....	109
EK 5. YIKAMA HASLIĞI SONUÇLARI	110
EK 5.1 Naylon Boyama (ISO 105 C06 A2S, 40 °C, 30 dakika).....	110
EK 5.2 Yün Boyama (ISO 105 C06 A2S, 40 °C, 30 dakika)	112
EK 6. IŞIK HASLIĞI SONUÇLARI.....	114
ÖZGEÇMİŞ.....	115

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Azo boyarmadde yapısı.....	5
Şekil 2.2: Azo boyarmadde sentez mekanizması.....	7
Şekil 2.3: Lakkazın yapısı.....	9
Şekil 2.4: Lakkaz enziminin etki mekanizması.....	10
Şekil 2.5: Fungal lakkaz enzimlerinin katalitik mekanizması.....	14
Şekil 2.6: Siringik asit polimerizasyonu.....	16
Şekil 2.7: LAR1 sentezi.....	17
Şekil 3.1: Resorsinol (D1), Parafenilfenol (D2), Metafenilendiamine (D3).....	20
Şekil 3.2: Metanilik Asit (D4), Sülfö Tobiasasit (D5).....	20
Şekil 3.3: H Asit (D6), Meta Amino asetanilit (D7).....	21
Şekil 3.4: Para Amino Naftalin Sülfonik Asit (D8), DASDA (D9).....	21
Şekil 3.5: Para Nitro Toluene Orto Sülfonik Asit (D10), Anilin 2,5 Disülfonik Asit (D11), 2-Amino 5-Nitrotiyazol (D12).....	21
Şekil 3.6: 4-Amino-1-Naftalin Sülfonik Asit (D13), 3-Amino, 5-Nitro Benzothiazol (D14), Anilin (D15).....	22
Şekil 3.7: 2-Amino-6-Metoksi benzotiyazol (D16), Sodyum Sülfanilat (D17), Para Nitro Anilin (D18).....	22
Şekil 5.1: Sentez reaksiyonlarının aşamalarına dair görünüm.....	50
Şekil 5.2: 3-hidroksiantranilik asitten fenoksazin bazlı kırmızı boya sentezi	51
Şekil 5.1: Sentez reaksiyonlarının aşamalarına dair görünüm.....	50
Şekil 5.2: 3-hidroksiantranilik asitten fenoksazin bazlı kırmızı boya sentezi	51
Şekil EK.1.1: Bileşik 1 UV-Vis spektrumu	57
Şekil EK.1.2: Bileşik 2 UV-Vis spektrumu	57

Şekil EK.1.3: Bileşik 3 UV-Vis spektrumu	58
Şekil EK.1.4: Bileşik 4 UV-Vis spektrumu	58
Şekil EK.1.5: Bileşik 5 UV-Vis spektrumu	59
Şekil EK.1.6: Bileşik 6 UV-Vis spektrumu	59
Şekil EK.1.7: Bileşik 7 UV-Vis spektrumu	60
Şekil EK.1.8: Bileşik 8 UV-Vis spektrumu	60
Şekil EK.1.9: Bileşik 9 UV-Vis spektrumu	61
Şekil EK.1.10: Bileşik 10 UV-Vis spektrumu	61
Şekil EK.1.11: Bileşik 11 UV-Vis spektrumu	62
Şekil EK.1.12: Bileşik 12 UV-Vis spektrumu	62
Şekil EK.1.1: Bileşik 13 UV-Vis spektrumu	63
Şekil EK.1.1: Bileşik 14 UV-Vis spektrumu	63
Şekil EK.1.1: Bileşik 15 UV-Vis spektrumu	64
Şekil EK.1.1: Bileşik 16 UV-Vis spektrumu	64
Şekil EK.2.1: Bileşik 1 FT-IR spektrumu.....	65
Şekil EK.2.2: Bileşik 2 FT-IR spektrumu.....	66
Şekil EK.2.3: Bileşik 3 FT-IR spektrumu.....	67
Şekil EK.2.4: Bileşik 4 FT-IR spektrumu.....	68
Şekil EK.2.5: Bileşik 5 FT-IR spektrumu.....	69
Şekil EK.2.6: Bileşik 6 FT-IR spektrumu.....	70
Şekil EK.2.7: Bileşik 7 FT-IR spektrumu.....	71
Şekil EK.2.8: Bileşik 8 FT-IR spektrumu.....	72
Şekil EK.2.9: Bileşik 9 FT-IR spektrumu.....	73
Şekil EK.2.10: Bileşik 10 FT-IR spektrumu.....	74
Şekil EK.2.11: Bileşik 11 FT-IR spektrumu.....	75
Şekil EK.2.12: Bileşik 12 FT-IR spektrumu.....	76
Şekil EK.2.13: Bileşik 13 FT-IR spektrumu.....	77

Şekil EK.2.14: Bileşik 14 FT-IR spektrumu.....	78
Şekil EK.2.15: Bileşik 15 FT-IR spektrumu.....	79
Şekil EK.2.16: Bileşik 16 FT-IR spektrumu.....	80
Şekil EK.3.1: Bileşik 1 HPLC kromatogramı.....	81
Şekil EK.3.2: Parafenilfenol HPLC kromatogramı.....	82
Şekil EK.3.3: Resorsinol HPLC kromatogramı.....	83
Şekil EK.3.4: Bileşik 2 HPLC kromatogramı.....	84
Şekil EK.3.5: Metafenilendiamin HPLC kromatogra	85
Şekil EK.3.6: Bileşik 3 HPLC kromatogramı.....	86
Şekil EK.3.7: Metanilik asit HPLC kromatogramı.....	87
Şekil EK.3.8: Bileşik 4 HPLC kromatogramı.....	88
Şekil EK.3.9: H asit HPLC kromatogramı.....	89
Şekil EK.3.10: Bileşik 5 HPLC kromatogramı.....	90
Şekil EK.3.11: 4-Amino naftalin sülfonik asit HPLC kromatogramı.....	91
Şekil EK.3.12: Bileşik 6 HPLC kromatogramı.....	92
Şekil EK.3.13: DASDA HPLC kromatogramı.....	93
Şekil EK.3.14: Bileşik 7 HPLC kromatogramı.....	94
Şekil EK.3.15: Bileşik 8 HPLC kromatogramı.....	95
Şekil EK.3.16: p-toluidin o-sülfonik asit HPLC kromatogramı.....	96
Şekil EK.3.17: Bileşik 9 HPLC kromatogramı.....	97
Şekil EK.3.18: 3-amino 5-nitro benzotiyazol HPLC kromatogramı.....	98
Şekil EK.3.19: Bileşik 10 HPLC kromatogramı.....	99
Şekil EK.3.20: 2-amino 6-metoksi benzotiyazol HPLC kromatogramı.....	100
Şekil EK.3.21: Bileşik 11 HPLC kromatogramı.....	101
Şekil EK.3.22: Bileşik 12 HPLC kromatogramı.....	102
Şekil EK.3.23: Bileşik 13 HPLC kromatogramı.....	103
Şekil EK.3.24: Sodyum sülfanilat HPLC kromatogramı.....	104

Şekil EK.3.25: Bileşik 15 HPLC kromatogramı.....	105
Şekil EK.3.26: p-nitro anilin HPLC kromatogramı.....	106
Şekil EK.3.27: Bileşik 15 HPLC kromatogramı.....	107
Şekil EK.3.28: Bileşik 16 HPLC kromatogramı.....	108

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 3.1: Hammadde-reaksiyon eşleştirilmeleri.....	23
Tablo 4.1: Bileşik 1'in analiz sonuçları.....	33
Tablo 4.2: Bileşik 2'nin analiz sonuçları	34
Tablo 4.3 Bileşik 3'ün analiz sonuçları	35
Tablo 4.4: Bileşik 4'ün analiz sonuçları	36
Tablo 4.5: Bileşik 5'in analiz sonuçları	37
Tablo 4.6: Bileşik 6'nın analiz sonuçları	38
Tablo 4.7: Bileşik 7'nin analiz sonuçları	39
Tablo 4.8: Bileşik 8'in analiz sonuçları	40
Tablo 4.9: Bileşik 9'un analiz sonuçları	41
Tablo 4.10: Bileşik 10'nun analiz sonuçları	42
Tablo 4.11: Bileşik 11'in analiz sonuçları	43
Tablo 4.12: Bileşik 12'nin analiz sonuçları	44
Tablo 4.13: Bileşik 13'ün analiz sonuçları	45
Tablo 4.14: Bileşik 14'ün analiz sonuçları	46
Tablo 4.15: Bileşik 15'in analiz sonuçları	47
Tablo 4.16: Bileşik 16'nın analiz sonuçları	48
Tablo 5.1: Haslık sonuçlarının toplu gösterimi	48

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
λ_{\max}	: maksimum dalga boyu
$^{\circ}\text{C}$: Santigrad derece
cm^{-1}	: frekans,dalga sayısı

Kısaltmalar	Açıklama
Ftr	: Fourier Transform Infra Red
Hplc	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
Uv-Vis	: Ultraviyole-Görünür Bölge
Dasda	: 3,3'-Diaminostilbendisül fonikasit
Lms	: Lakkaz Aracılı Sistemler
Enz	: Enzim
Med	: Ortam
Ox	: Oksidasyon
Red	: Redüksiyon
Kda	: Kilodalton
Abts	: [2,2'-Azino-Bis-(3-Etilbenzothiazoline-6-Sulfonik Asit)]
Hbt	: 1-Hidroksibenzotriazole
Vla	: Violurikasit
Nha	: N-Hidroksiasetanilid
Rt	: Alkonma Zamanı

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ENZİMLER ile BOYARMADDE SENTEZLERİ, SENTEZLENEN BİO-BOYARMADDELERİN KARAKTERİZASYONLARI ve BOYARMADDE ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMELERİ

İsmail YAKIN

İstanbul Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Adem ÇINARLI

Günümüzde endüstriyel olarak kullanılan tüm boyarmaddeler, petrokimyasal hammaddelerden yola çıkılarak çeşitli reaksiyonlar uyarınca üretilmektedir. Tekstil endüstrisinde çeşitli proseslerde kullanılan 100.000'nin üzerindeki boyarmaddenin neredeyse % 70'i kromofor grup olarak diazo grubu ihtiva eden boyalardır.

Azo boyaların üretim metotları incelendiğinde, hala klasik diazolama reaksiyonu üzerinden gittiği yüksek oranda asit, alkali, sodyum nitrit ve enerjiye ihtiyaç duyulduğu, oluşan atıklar ve tuz neticesinde çevresel olmayan bir üretim şeklidir.

Oksidatif enzimlerin organik kimyada gerçekleşen bazı reaksiyonları gerçekleştirebilmeleri özellikle boyarmadde kimyası açısından farklı bakış açısı doğmasına neden olmuştur.

Oksidoredüktazlar ve özellikle lakkaz (benzendiol: oksijen oksidoredüktaz) mavi bakır içeren proteinlerden oluşmaktadır. Polimerik lignin, aromatik aminler, benzentioller gibi aromatik maddeleri içeren fenolik ve fenolik olmayan pek çok farklı yapının oksidasyonunu katalizler. Lakkaz enzimi fenolik substratların oksidasyonunu ve aynı anda gerçekleşen moleküler oksijenin suya indirgenmesi reaksiyonunu gerçekleştirir. Reaksiyon sonucunda ortaya çıkan çeşitli rezonans yapılarındaki serbest radikaller ya diğer moleküllerle eşleşip kovalent bağ oluşturur, ya da polimerleşebilir. Lakkazlar katalizledikleri reaksiyonu hem hızlandırdıkları, hem de yan ürüne sebep olmadıkları için kimyasal oksidasyon katalizörlerine alternatif yeşil katalizördür.

Çalışmanın temel yaklaşımı, oksidatif enzimlerle ve özellikle lakkaz kullanarak boyarmadde sentezidir. Tez kapsamında boyarmadde sentezinde kullanılacak farklı kaynaklı lakkazların enzim özellikleri incelenmiş ve sonrasında benzen, naftalin ve fenol türevi boyarmadde öncül maddeleri ile reaksiyona girme koşulları ve bu koşulların optimizasyonları denenmiştir.

Elde edilen bileşiklerin tanımlanması FTIR, HPLC ve UV-Vis. spektrofotometrisi ile yapılmış; renk şiddeti, hangi tür elyafi boyadığı ve boyanmış elyaf için standart haslık testleri de yapılarak boyarmadde özellikleri incelenmiştir.

Mays 2015, 132 Sayfa.

Anahtar kelimeler: Bio-boyarmadde, enzimatik sentez, lakkaz.

SUMMARY

M.Sc. THESIS

DYESTUFF SYNTHESIS BY ENZYMES, CHARACTERIZATION OF THE SYNTHESIZED BIO-DYESTUFFS AND DETERMINATION OF DYESTUFF PROPERTIES

İsmail YAKIN

İstanbul University

Graduate School of Science and Engineering

Chemistry Department

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Adem ÇINARLI

Nowadays, all industrially used dyes are manufactured on the basis of petrochemical raw materials in accordance with the various reactions. Almost 70% over of 100.000 dyes used in various processes in the textile industry are containing diazo group as chromophor.

Azo dyes are still going on by classical diazo method that requires highly acid, alkali, sodium nitrite, and energy by the way due to waste and salt formation is known as non-ecological production method.

The ability of oxidative enzymes to perform many reaction in organic chemistry, particularly in terms of dye chemistry, led the emergence of different perspectives.

Oxidoreductases and particularly laccase (benzenediol: oxygene oxidoreductase) consists of blue copper containing proteins. They are able to catalize many of phenolic and non-phenolic different structures that contain aromatic substances such as polymeric lignin, aromatic amines, benzenethiol ect.

Laccase catalyzes the oxidation of phenolic substrates and the reduction reaction to convert simultaneously formed oxygen to water. The resultant free radicals they have various resonance structures could both covalently bond with another molecule or could polymerize. Laccases are alternative green catalysts instead of oxidation catalysts by accelerating the reactions and avoid by-product formations.

The main objective of the study is the synthesis of colourants using oxidative enzymes especially laccase. The enzyme activity of different wild laccases that could be used for dye synthesis have been investigated within the scope of the thesis. The reaction conditions and optimizations were examined for precursors like benzene, naphthalene and phenol derivatives.

The resulting compounds have been defined by FTIR, HPLC and UV-Vis analysis systems. Color intensity and dyeing properties (multifiber test and dye fastness test) were assayed.

May 2015, 132 pages.

Keywords: Bio-dyestuff, enzymatic synthesis, laccase.

1. GİRİŞ

Tekstil endüstrisi boyarmadde üretiminin 2/3'ünü kullanmaktadır ve tekstil ürünlerinin işlenmesini sağlayan yaş işlemler esnasında büyük hacimlerde su ve kimyasal madde tüketilmektedir. Tekstil sanayinde kullanılan kimyasal ajanlar ise kimyasal kompozisyonları açısından oldukça çeşitli olup, inorganik bileşiklerden polimerlere ve organik ürünlere kadar değişmektedir. Tekstil sanayiinde kullanılan ticari boyaların çeşitliliği ise 100.000'den fazla olup, bu boyaların yıllık üretimi 700.000 tonun üzerindedir [1]. Kimyasal yapıları nedeni ile tekstil boyaları ışığa, suya ve farklı kimyasal oksitleyici ajanlara maruz kaldıklarında ise renk solmalarına karşı oldukça dirençlidirler ve sentetik orijinleri nedeniyle bu boyaların çoğunun renklerini gidermek oldukça zordur. Üstelik farklı kategorilere sahip olan tekstil boyalarının tamamını fiziksel veya kimyasal yöntemler kullanarak parçalamak veya renklerini gidermek mümkün değildir. Bazen bu boyaların parçalanma ürünleri çok daha toksik olabildiğinden, tekstil boyası içeren atıkların muamelesinde fiziko-kimyasal yöntemler yerine enzimatik yöntemler tercih edilmektedirler [2].

Özellikle gelişmiş ülkeler başta olmak üzere, son zamanlarda endüstriyel atıklardaki boyaların giderilmesi konusundaki yasal zorunluluklar her geçen gün daha zorlayıcı olmaktadır. Bazı boyaların ise benzidin ve diğer aromatik bileşikler gibi bilinen kanserojenlerden elde edilmesi nedeniyle, bu konudaki kaygılar giderek artmaktadır. Boya içeren atık suların arıtılmasında kullanılan geçerli metotların çoğu ise etkili olmadığı gibi ekonomik de değildirler. Tekstil boyalarının enzimatik olarak parçalanmasını veya renk giderilmesini sağlayan yaklaşımlar ise genellikle lakkaz gibi ligninolitik enzimlere dayanmaktadır. Lakkaz enzimlerinin diğer enzimlerine göre daha kullanılabilir olmaları ve aromatik bileşiklerin oksidasyonlarını çok daha az özgüllükte sağlamaları nedeniyle lakkazlar çok fazla çeşitlilikteki bileşiklerin parçalanmasında kullanılabilecek bir potansiyele sahiptirler. Bu nedenle, lakkaz enzimine dayalı boya giderme işlemlerinin geliştirilmesi lakkazların, günümüzde kullanılmakta olan sentetik tekstil boyaları da dâhil olmak üzere oldukça geniş bir çeşitlilikteki boyaları parçalayabilme yeteneğinden dolayı cazip bir çözüm olarak görülmektedir. Tekstil

boyalarını içeren atık suların muamelesine ilaveten, lakkaz enzimlerine dayalı arıtma sistemleri zeytinyağı fabrika atıklarındaki renkli fenolik bileşiklerin oksidasyonlarını sağlayarak bu atıkların muamelesinde de kullanılmaktadırlar. Belirtildiği gibi tekstil sanayi atık suyunun renk giderimini sağlamanın yanı sıra, dokumaların ağartılmasında da lakkazın kullanılması nedeniyle, lakkaz enzimlerinin tekstil endüstrisinde kullanımı her geçen gün artmaktadır. Lakkaz enzimlerini içeren çalışmalar ise son zamanlara kadar, özellikle beyaz-çürükçül funguslar başta olmak üzere, funguslara dayalı olarak gerçekleştirilmiş olsa da günümüzde boyaların renginin giderilmesini sağlama yeteneğinde olan aktinomiset üyesi *Streptomyces* sp. suşları ile yapılan çalışmalar da başlamış bulunmaktadır [3].

Lakkazlar canlıların bütün domainlerinde yayılmış olarak bulunan enzimler olup, bu enzimlerin fizyolojik rollerinin çok daha iyi anlaşılması için daha ileri çalışmaların yapılması ve bu enzimlerin potansiyel biyoteknolojik uygulamalarının daha ileri düzeylerde tanımlanması gerekmektedir.

Bu projede renk gidermenin ötesinde yeni molekül sentezleri için lakkaz ile biyosentez çalışmaları ve elde edilen boyarmaddelerin renk özelliklerinin belirlenmesi çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. BOYARMADDE TARİHÇESİ VE ENDÜSTRİYEL BOYA ÜRETİMİ

Tarihte ilk boyarmadde kullanımı, M.Ö. 4000 - 1000 yıllarında Lascaus ve Altamira (İspanya) da bulunan mağaralardaki resimlerde karşımıza çıkmaktadır. Buralarda bulunan ölü kemiklerinin kırmızı renkli olması çok ilgi çekicidir. Bu rengin dini bir gelenek olarak ceset üzerine sürülen demir oksitten ileri geldiği sanılmaktadır. İlk kullanılan boyalar metal oksit karışımı, killi toprak ve bazı bitki özularıdır. İnsanoğlu ilk önceleri malzemeleri renklendirmede renkli toprakları kullanmış, mağara resimlerini çanak, çömlek boyama izlemiştir, daha sonraları ise bitkisel ve hayvansal kaynaklı boyarmaddelerin kullanımları ile kumaş boyacılığı gelişmiştir. Bitkisel ve hayvansal kaynaklı doğal boyarmaddelerin, boyamacılıkta kullanımı ile ilgili ilk boyama tekniği binlerce yıl önce Mezopotamya'da uygulanmış ve Mısır'lılar tarafından geliştirilmiştir. Eski Mısır'lılar boyalara sağlamlık ve parlaklık vermek için zıncı karıştırmışlardır. Bu tip boyalara Mısır mumyalarında rastlanmıştır. Bu amaçla sarı çiçek, kök boya, indigo gibi doğal bitkilerden elde edilen boyarmaddeler; koşnil ve purpur gibi hayvansal kaynaklı boyarmaddeler ve suda çözünmeyen kurşun tuzları (sarı), bakır tuzları (yeşil ve mavi), mangan tuzları (violet) anorganik pigment boyarmadde olarak kullanılmıştır [4].

Doğal boyarmaddelerin az bulunur olması, fiyatlarının yüksekliği ve boyama verimlerinin düşük oluşu, araştırmacıları sentetik boyarmaddelere yönlendirmiştir. Doğal boyarmaddelerin yaygın kullanıldığı dönemlerde aromatik kimyasalların kaynağını kömür katranı oluşturmuştur. Kömür katranında bulunan maddelerin kimyaları hakkında da çok az bilgi bulunması ve saf madde olmaması, boyarmadde türlerinin artmasını engellemiştir.

William Henry PERKIN, toludin ile kirlenmiş anilinden kinin sentezi yaparken ilk sentetik boyarmadde olan mauve'yi 1856 yılında keşfetmesi ile sentetik boyarmaddelerin sentezlenmesine başlanılmıştır. İngiltere'de kimyager W. H. Perkin tarafından tesadüfen mor renk veren bir boyarmaddeyi keşfetmiştir. W. H. Perkin,

malarya hastalığına karşı ilaç maddesi olan kinin maddesini sentezlemek için anilini potasyum dikromat kullanarak, seyreltik sülfürik asidin bulunduğu ortamda, oksitlenme ürünlerinden, kinin yerine siyah bir çökelti ile mor renkli bir çözelti oluştuğunu görmüştür. Bu sulu çözeltinin ipek liflerini mordansız olarak o zamana kadar görülmemiş canlılıkta mor renge boyadığı gözlenmiştir. Perkin' in ilk sentezlediği boyarmaddeler kömür katranı ya da anilinden elde edildiğinden, bütün boyarmaddelere ilk zamanlar "anilin boyarmaddeler" olarak tanımlanmıştır. Bir azin boyarmaddesi olan Mauve' in Perkin tarafından bulunması büyük bir etki yaratmış ve birçok kimyagerin, anilinden hareket ederek, boyarmadde üretimi ile ilgili araştırmalara yönelmesine yol açmıştır. Perkin' in keşfinden sonra ikinci en önemli keşif, Ratti ve Stefen tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar, yapısında diklortriazin grubu olan boyarmaddelerin selüloz ile bazik ortamda reaksiyona girebildiğini, bu şekilde boyanın kovalent bağlarla selüloza bağlandığını ve pamuğun daha dayanıklı boyanmasını sağladığını belirlemişlerdir. 1860'lı yıllarda P. Griess, primer aromatik aminlerin diazolama çalışmaları sonucunda ilk azo boyarmaddesini bulmuştur. 1863 yılında ilk bazik azo boyarmaddesi olan Bismarckbraun ise Martius tarafından keşfedilmiştir. 1869 yılında kök boyanın önemli boyarmaddesi olan Alizarin boyarmaddesi Graebe ve Liebermann tarafından Almanya'da ve aynı anlarda Perkin tarafından İngiltere'de bulunmuştur. Boyarmaddelerinin keşfi, boyarmadde ticaretinde büyük bir patlamaya neden olmuştur. 1870 yılında Baeyer indigo boyarmaddesini bulmuştur. 1873 yılında Croissart ve Bretonniere tarafından ilk kükürt boyarmaddesi bulunmuştur. 1876 yılında Witt, Chrysoidin bazik boyarmaddesini sentezleyerek, ilk boyarmadde teorisini de ortaya koymuştur. 1894 yılından sonra Alman boya endüstrisi sistematik araştırmalara girerek 1897 yılında endüstriyel olarak, indigo boyarmaddesini üretmeye başlamıştır. Bu gelişmeler günümüze kadar sürmüş olup ve hala devam etmektedir [5].

Çağımızda yeni boyarmadde sentezleri yapılmakta ve bunlar teknolojik proseslerle üretilmektedir. Bitkisel kaynaklı boyarmaddelerin üretimi ve tüketimi, çağımızda hemen hemen ortadan kalkmış olmasına karşın, mineral yapılı pigment boyarmaddeler hala yağlı boya, vernik ve kağıt boyamacılığında kullanılmaktadırlar.

2.2. BOYARMADDE SINIFLARI

Değişik parametrelere göre sınıflandırmak mümkün olmakla birlikte boyama özelliklerine ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmaları yaygındır. Boyama özelliklerine göre; hangi yöntemle elyafi boyadığı esasına dayanır. Bazık, asit, direkt, mordan, reaktif, küpe, inkişaf, metal kompleks, dispers ve pigment olarak sınıflandırılabilir.

Boyarmaddeleri yapısal olarak sınıflandırırken, molekülün temel yapısı esas alınabildiği gibi, molekülün kromojen ve renk verici özellikteki kısmı da esas kabul edilebilir. Azo boyarmaddeleri, nitro ve nitrozo boyarmaddeleri, polimetin boyarmaddeleri, arilmetin boyarmaddeleri, aza (18) annulen boyarmaddeleri, karbonil boyarmaddeleri ve kükürt boyarmaddeleri kimyasal yapılarına göre boyarmaddelerin sınıflandırılmasıdır [4].

2.3. AZO BOYARMADDELER

Organik boyarmaddelerin en önemli sınıfını azo boyarmaddeleri oluşturmaktadır. Küpe ve kükürt boyarmaddeleri dışındaki diğer tüm boyarmaddelerin yapısında azo grubuna rastlanır. Bunlar yapılarındaki kromofor grup olan azo grubu ile karakterize edilir. Bu gruptaki azot atomları, sp^2 hibritleşmesi ile karbon atomlarına bağlanır. Azo grubuna bağlanan karbon atomlarından biri aromatik (benzen, naftalen ve türevleri) veya heterosiklik halka, diğeri ise enolleşebilen alifatik zincire bağlı bir grup olabilir. Bu nedenle molekülde en az bir aril grubu bulunur.

Alifatik grup içeren azo boyarmaddelerinin renk şiddetleri düşüktür. Renk tonları geniş bir spektruma sahiptir. Haslık özellikleri de değişiktir. Doğal boyarmaddelerin hiçbirinde azo grubuna rastlanmaz. Bu sınıf boyarmaddelerin hepsi sentetik olarak elde edilebilir.



Şekil 2.1: Azo boyarmadde yapısı

Moleküldeki azo grubuna göre mono-, bis-, tris-, tetrakis- ... azo boyarmaddeleri olarak tanımlanırlar. Azo grubunu üç veya daha fazla içerenlere poliazo boyarmaddesi de denir.

2.4. AZO BOYARMAADDE SENTEZLERİ

Azo boyarmaddelerinin üretimlerinde başlıca iki ayrı yöntem uygulanabilmektedir. Bunlardan biri azo grubunun oluşturulmasına dayanan, diğeri ise azo grubu bulunan bileşiklerle yapılan sentezlerdir. Azo grubunun oluşturulmasına dayanan sentez yöntemleri: Kenetlenme reaksiyonu, aminlere nitro bileşiklerinin katılması, nitro bileşiklerinin indirgenmesi ve amino bileşiklerinin oksidasyonu şeklinde sıralanabilir.

Azo grubu içeren bileşiklerle yapılan sentez yöntemleri: Korunmuş amino gruplarının açılması, amino azo bileşiklerinin açılması, fenolik hidroksi gruplarının açılması veya alkillenmesi ve metal kompleks oluşturulmasıdır.

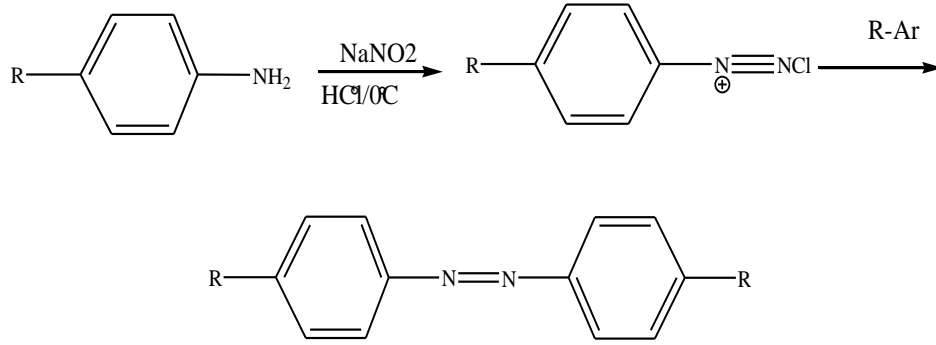
Azo boyarmadde sentez yöntemlerinden en önemlisi kenetlenme reaksiyonudur. Bunun dışındaki yöntemlere ancak azo kenetlenmesinin yapılamadığı durumlarda başvurulur.

Azo Kenetlenmesi: Azo grubunu oluşturmak için yapılan kenetlenme reaksiyonuna azo kenetlenmesi de denilir. Bu reaksiyon, aromatik primer aminden oluşmuş bir diazonyum tuzu ile -OH, -NH₂, -NH(R) gibi bir süstitüent taşıyan aromatik yapıdaki kenetleme bileşenin karşılıklı etkileşimi sonucu oluşur. Yukarıdaki tanımlamaya göre sentez, diazolanırma ve kenetlenme olmak üzere iki aşamada gerçekleşir.

Diazolanırma reaksiyonu: Diazolanırma başlangıç maddesi, aromatik yapıda bir primer amindir. Bu madde, NaNO₂ ile anorganik asidi 0°C de sulu çözelti içinde reaksiyona sokularak diazonyum tuzu elde edilir.

Kenetlenme reaksiyonu: Bütün azo boyarmaddeleri bir diazo bileşigi ve bir kenetlenme bileşeninden azo-kenetlenmesi reaksiyonu ile meydana gelir. Diazolanırma sırasında oluşan diazonyum tuzları, bir elektrofilik süstitüent olarak hareket eder. Kenetlenme bileşeni ise bir nükleofil substrattır. Reaksiyon S_N2 mekanizmasına göre yürür. Diazo kenetlenme reaksiyonunun mekanizmasını bir aromatik süstitüsyon reaksiyonuna da benzetebiliriz. Diazonyum iyonları oldukça zayıf elektrolitik reaktifler olduklarından ancak -OH, -NH₂, -NHR vb gibi elektron-donör süstitüentler taşıyan aromatik

bileşikler ile reaksiyon verirler. Bu tür bileşikler kenetleme bileşeni olarak kullanılırlar [6].



Şekil 2.2: Azo boyarmadde sentez mekanizması

2.5. YEŞİL KİMYA VE BİO-SENTEZLER

Yeryüzündeki kirlilik kaynakları içinde en büyük paya sahip sektörlerden en önde geleni, Kimya Sektörüdür. 1990'ların başlarında kimya, kimya teknolojisindeki ve çevre kirliliğinin önlenmesi konusunda ABD hükümeti, sanayi ve akademi dünyası arasındaki işbirliğinin sonucu olarak yeşil kimya çerçevesinde pratik yollar aranmıştır [7]. Yeşil kimya; kimyasal ürünlerin ve proseslerdeki çevre ve insan sağlığına zararlı maddelerin kullanımını veya üretimini ortadan kaldırmak ve oluşumunu engelleyici, önleyici yöntemlerin bulunması, planlanması ve geliştirilmesi amaçlı bir yaklaşım olarak tanımlanmaktadır. Yeşil Kimya esas hedef olarak, kimyasal ürünler ve süreçlerin ekosisteme zararlarının en aza indirilmesi ve bu yolda kimyasal maddelerin zararlı etkilerinin farkında olunmasını sağlarken sürdürülebilir bir çevre bilincinin aşılması ve toplumun belirli basamaklarına ulaştırılmasını sağlar. Günümüzde yeşil kimya araştırmaları toksik ve tehlikeli materyallerin kullanımını azaltan veya elimine eden teknolojilere yoğunlaşmıştır [8]. Avrupa Birliğinde 1 Haziran 2007 de yürürlüğe giren (REACH- Registration, Evaluation, Authorization and restrictions of Chemical Substances) yeni kanun bunun en somut örneğidir. Bu kanun ile kimyasalların kayıt altına alınması, çevre ve insan sağlığı üzerindeki muhtemel riskleri, kullanımları ve sınırlandırmaları bir veri tabanı şeklinde toplanması hedeflenmektedir.

Biyosentetik ajan olarak lakkaz enzimleri, hem fenolik hem de fenolik-olmayan ligninle ilişkili bileşikleri okside edebildiği gibi biyolojik yıkıma dirençli olan çevre kirleticilerini de oksitleyebilmektedirler. Buna ilaveten, elektron alıcısı olarak moleküler oksijeni kullanmaları ve zararlı olan hidrojen peroksit gereksinim duymamaları gibi nedenlerle, lakkaz enzimleri son zamanlarda oldukça ilgi çekici bir araştırma alanı oluşturmaktadırlar. Lakkaz enzimlerinin sahip olduğu bu oksidasyon yeteneği bazı endüstriyel ve biyoteknolojik süreçlerde bu enzimlerin oldukça kullanışlı olarak uygulanmasına yol açmaktadır. Bu tip endüstriyel ve biyoteknolojik uygulamaların çoğunluğunu ise kâğıt ve kâğıt hamuru endüstrisi, tekstil ve petrokimya endüstrilerinden kaynaklanan atık suların detoksifikasyonu ve çeşitli biyosensörler olarak kullanımı oluşturmaktadır. Lakkazlar aynı zamanda anti-kanser ilaçların üretimi için katalist olarak ve hatta kozmetik ürünlerinde katkı maddesi olarak dahi kullanılmaktadırlar. Buna ilaveten lakkaz enzimleri, herbisidler, pestisidler ve muayyen patlayıcılar gibi ksenobiyotik bileşiklerle kirlenmiş topraklardan ve sulardan bu tip kirleticileri uzaklaştırma ve polimerik ürünler oluşturma kapasiteleri nedeniyle, biyo-iyileştirme (biyoremediasyon) ajanları olarak da kullanılabilirler.

Çeşitli endüstri dalları için oksidasyon reaksiyonları zorunlu olsa da, geleneksel oksidasyon teknolojilerinin çoğu şu sorunlarla karşı karşıyadır: özgül olmayan veya istenmeyen yan reaksiyonların oluşabilmesi ve çevre açısından tehlikeli olan kimyasalların kullanılması veya oluşması. Bu sorunlar ise araştırmacıları enzimatik oksidasyon gibi biyolojik sistemlere dayalı olan yeni oksidasyon teknolojilerinin araştırılmasına sevk etmiştir. Biyolojik sistemlere dayalı oksidasyon sistemlerinin kimyasal oksidasyonlara göre bazı avantajları bulunmaktadır: enzimler oldukça özgüldürler, biyolojik olarak parçalanabilir olduklarından ekolojik açıdan sorun oluşturmazlar ve enzimatik reaksiyonlar kimyasal reaksiyonlara göre daha ılımlı koşullarda gerçekleşirler.

Enzimatik oksidasyon teknikleri, tekstil, gıda, odun işleme, farmasötik ve kimya gibi oldukça farklı endüstriyel alanlar için potansiyel bir uygulama alanına sahiptirler. Elektron alıcısı olarak moleküler oksijen üzerinde geri dönüşen enzimler en çok ilgi çeken enzimlerdir. Bu nedenle, yukarıda bahsedilmiş olan amaçlar için lakkaz enzimi özellikle umut vaad etmektedir. Lakkaz enzimleri, orto- ve para-difenollerin,

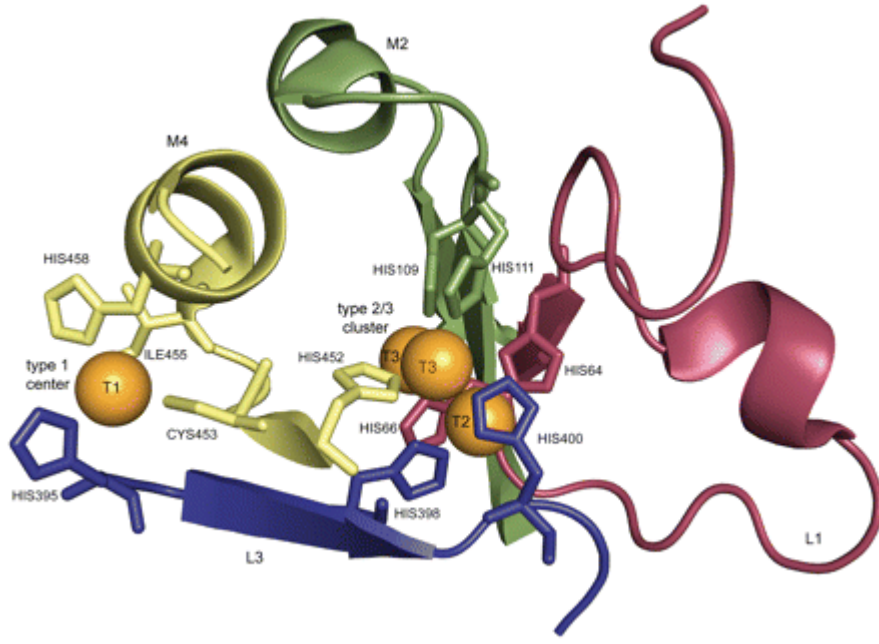
aminofenollerin, polifenollerin, poliaminlerin, aromatik aminlerin, ligninlerin ve aril diaminlerin oksidasyonunu katalizlemekle birlikte, moleküler dioksijenin suya indirgenmesi ile birleştirilerek bazı inorganik iyonların oksidasyonlarını da katalizlemektedirler.

Lakkaz mediatör sistemler (LMS) (lakkaz aracılıklı sistemler) ise kağıt hamurunun delignifikasyonu ve beyazlatılması, organik kirleticilerin oksidasyonu, çaylardaki drogların ve fenollerin analizi gibi biyosensörlerin veya biyo-yakıt hücrelerinin geliştirilmesi, polimer sentezi, tekstil boyalarının renk-giderimi, biyoremidasyon, fungisidaller, meyve sularının ve şarapların berraklaştırılması gibi çok sayıdaki sürece uygulanmıştır. LMS'nin tekstil boyalarının renklerini daha iyi giderdiği hatta lakkaz aracılığı ile parçalanmaya karşı dirençli olan bazı tekstil boyalarının dahi renk giderimlerinin gerçekleştirildiğini belirlenmiştir [9].

2.6. LAKKAZ

Lakkazlar (E.C. 1.10.3.2; benzenediol, p-difenol: oksijen oksidoredüktaz), oldukça geniş bir çeşitliliğe sahip difenolik bileşiklerin oksidasyonlarını katalizlemektedirler. Lakkaz enzimleri spektroskopik olarak farklı olan 3 tip bakır iyonuna (Tip1, Tip 2 ve Tip 3) sahip olmaları nedeniyle bu enzimler, çoklu-bakır içeren mavi proteinler sınıfına dâhil edilmektedirler [10].

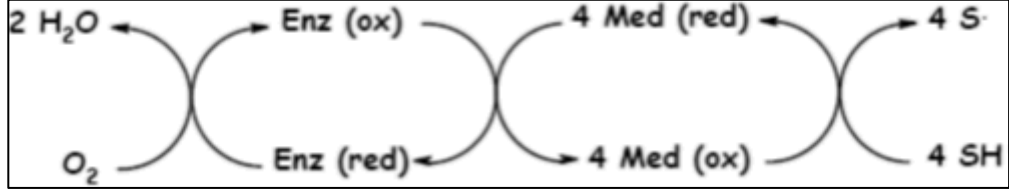
Lakkaz enzimlerinin UV-Vis spektrumları ise 330 ile 340 nm arasında bir omuz oluşturacak şekilde 600 nm civarında maksimum pik vermektedirler [11].



Şekil 2.3: Lakkazın yapısı

Çoklu bakır içeren bir protein olan lakkaz, radikal katalizli reaksiyon mekanizması ile aromatik ve aromatik olmayan farklı bileşiklerin oksidasyonu için moleküler oksijeni kullanmaktadır. Kullanılan moleküler oksijenin ise suya indirgenmesi sağlanarak, fenolik bileşiklerin oksidasyonu katalizlenmektedir. Lakkazlar, peroksidazlar ve tirozinazlar ile doğada oldukça yaygın olarak bulunan fenol oksitleyici enzimlerin büyük bir grubunu oluşturmaktadırlar. Reaksiyon tiplerine bağlı olarak bu enzimler, elektronları bir substrattan başka bir akseptöre transfer eden oksidoredüktaz enzimleridirler. Bu enzimlerin katalizlediği reaksiyonlarda rol alan elektron akseptörü ise lakkaz ve tirozinaz için atmosferik O_2 iken, peroksidaz için H_2O_2 'dir. Lakkaz enzimleri düşük substrat özgüllükleri ile karakterize edilmekte olup, difenoller, polifenoller, farklı süstitüye fenoller, diaminler, aromatik aminler ve hatta iyodin gibi inorganik bileşikler de dahil olmak üzere çok fazla çeşitlilikteki substratları okside etmektedirler. Lakkaz enzimlerin indüksiyon mekanizmaları, fiziko kimyasal özellikleri (örneğin, izoelektrik noktaları ve karbonhidrat içerikleri) ve biyokimyasal özellikleri değişse de lakkaz enzimlerinin bakır-bağlama bölgeleri (domainleri) sıkı bir şekilde korunmuştur. Lakkaz enzimlerinin katalitik merkezleri ise yapısal ve fonksiyonel olarak ayrı olan 3 bakır merkezi içermektedir. Bu merkezlerden “mavi bakır” olarak adlandırılan Tip1 bakır atomunun bulunduğu merkez ise mononükleer merkez olup, substrat oksidasyonu burada gerçekleşmektedir. Tip 2 ve Tip 3 bakır atomlarının her

ikisi ise trinükleer bir merkez oluşturmakta olup, oksijenin suya indirgenmesi bu merkezde gerçekleşmektedir.



Şekil 2.4: Lakkaz enziminin etki mekanizması

Lakkazların rapor edilen redoks potansiyelleri fenolik olmayan bileşiklerin redoks potansiyellerinden daha düşüktür. Bu nedenle de lakkazlar normalde bu tip maddeleri oksitleyemezler. Buna rağmen, elektron transfer araçları (redoks araçları veya “mediatör”) olarak rol alan küçük moleküllerin varlığında ise lakkazların fenolik olmayan bileşikleri de oksitlediği gösterilmiştir [12, 13]. Elektron transfer araçları ise substrat ile lakkaz arasında elektron taşıyıcı gibi davranan küçük moleküller olup, bu küçük moleküller kütleli bileşikler enzimatik oksidasyonla kararlı radikallere dönüştürülürler. Kararlı radikallere dönüştürülen bu küçük moleküller ise redoks-aracıları olarak davranırlar ve prensipte lakkaz enzimlerinin substratı olmayan diğer bileşikleri oksitlerler. Lakkaz enzimleri için ilk redoks aracı olarak ABTS'nin [2,2'-azino-bis-(3-etilbenzothiazoline-6-sulfonik asit)] tanımlanmasından, son zamanlardaki –NOH-tipi sentetik redoks-aracılarının (HBT: 1-hidroksibenzotriazole; VLA: violurik asit ve NHA: N-hidroksiasetanilide) ve fenol aromatik türevlerinin (ferrosiyamid) kullanılmasına kadar olan süreçte, lakkaz enzimleri ile fenolik olmayan bileşiklerin oksidasyon mekanizmaları hakkında çok sayıda çalışma bulunmaktadır [14]. Bu bulgular ise lakkaz enzimleri tarafından oksitlenen bileşiklerin çeşitliliğinin daha da genişlemesine yol açmıştır. Doğal olarak bulunan redoks araçlarının kullanılması ise hem çevresel hem de ekonomik açıdan avantajlar sunmaktadır [15].

Lakkaz enzimlerinin moleküler yapısı genellikle funguslardan izole edilen enzimlerle yapılan çalışmalarla aydınlatılmıştır. Fungal lakkazlar, multimerik kompleksler oluşturacak şekilde oligomerize olan izoenzimlerden meydana gelmektedirler.

Monomerlerin moleküler kütleleri ise 50-110 kDa arasında değişmektedir. Lakkaz enzimlerinin önemli bir özelliği ise protein kısma kovalent olarak bağlanmış olan ve proteinin toplam kütesinin % 10-45'ini oluşturan bir karbonhidrat kısmının da bulunmasıdır. Karbonhidrat kısım enzimin yüksek kararlılık göstermesine katkıda bulunmaktadır.

Lakkaz enzimleri hem ökaryotlar hem de prokaryotlar şeklinde bulunabilmektedir. Ökaryot lakkaz enzimleri doğada oldukça yaygın olarak bulunmaktadırlar. Şimdiye kadar karakterizasyonu yapılmış olan lakkaz enzimlerinin büyük bir çoğunluğunun kaynağını ise genellikle iyi bir lignin parçalayıcısı olan beyaz-çürükçül funguslar oluşturmaktadırlar. İyi bilinen lakkaz üreticileri arasında *Podospora anserina*, *T. versicolor*, *Polyporus ostreatus* (yeni adı, *Trametes cubensis*), *Neurospora crassa*, *A. bisporus*, *Botrytis cinerea*, *Pleurotus ostreatus*, *Phlebia radiata*, *Coriolus (Trametes) polyporus*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Chaetomium thermophilum* ve *Coprinus cinereus* gibi çok sayıda fungus bulunmaktadır [16, 17, 18, 19, 20].

Mavi bakır-içeren proteinler (mavi oksidazlar) prokaryotlar ve ökaryotlar arasında yaygın olmakla birlikte, lakkaz-benzeri enzimler 20-25 yıl öncesine kadar sadece ökaryotik organizmalarda (funguslar, bitkiler ve bazı böcekler) tanımlanmıştır. Bununla birlikte, lakkaz geninin ilk defa *A. Lipoferum* genomunda bulunduğu gösterilmesi üzerine gerçekleştirilen genomik veri bankalarının taranması sonucunda, lakkaz genlerinin diğer prokaryotlar arasında da dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Bu genlerin ürünleri olan proteinler ise genellikle hücre pigmentasyonunda, fenolik bileşiklerin oksidasyonunda ve metal oksidasyonlarında rol almaktadırlar [21].

2.7. LAKKAZ İLE BİO-BOYA SENTEZLERİ

Lakkaz enzimleri tarafından oksitlenen substratların listesi oldukça fazladır: metokis- veya amino-monofenoller ve aromatik diaminler, ABTS [2,2'-azino-bis-(3-etilbenzothiazoline-6-sulfonik asit)], 1-naftol, hidroksiindoller ve şiringaldazin gibi fenolik-olmayan bileşikler, lakkazlar için substrat olarak kullanılmaktadırlar. Daha da ötesi, normalde kendi başlarına iken lakkazların substratı olmayan bazı bileşiklerin de ABTS varlığında lakkazlar tarafından okside edildikleri bilinmektedir [12,13]. Fungal ve bitkisel kaynaklı lakkazlar üzerine etkisi olan substratlar ve inhibitörle ilgili olarak oldukça fazla sayıda çalışma bulunmasına rağmen, bakteriyel kaynaklı lakkazlar üzerine

yapılan aktivite çalışmalarının sayısı ise oldukça azdır. Faure ve ark. ise [22] ticari fungal lakkaz (*Pyricularia oryzae* kaynaklı) ve kateşol oksidaz (*Agaricus bisporus* kaynaklı) ile *Azospirillum lipoferum* kaynaklı bakteriyel lakkazı, birkaç substrat ve fenol oksidaz inhibitörleri kullanarak karşılaştırmışlardır. Yapılan bu çalışmada lakkaz enzimleri için substrat olarak 5 sınıf kimyasal bileşik araştırılmıştır:

- 1- L-tirozin ve p-kumarik asit ve o-hidroksifenilasetik veya salisilik asit gibi substitüye monofenoller.
- 2- o-Difenoller (kateşol, pirogallol, guaikol, protokateşik asit, gallik asit ve kafeik asit), L-3,4-dihidroksifenilalanin ve hem lakkaz hem de kateşol oksidaz tarafından oksitlenebilen o-aminofenol.
- 3- p-Difenol ve p-fenol oksidazlar (p-PO) için tipik substrat olan hidrokinon, p-kresol, p-aminofenol ve p-fenilendiamin gibi p-pozisyonlu aromatik bileşikler.
- 4- Resorsinol, orsinol, 4-heksilresorsinol ve 5-pentadesilresorsinol gibi m-difenoller.
- 5- Şiringaldazine, 1-naftol, ABTS ve 4- ve 5-hidroksindoleler gibi diğer lakkaz substratları.

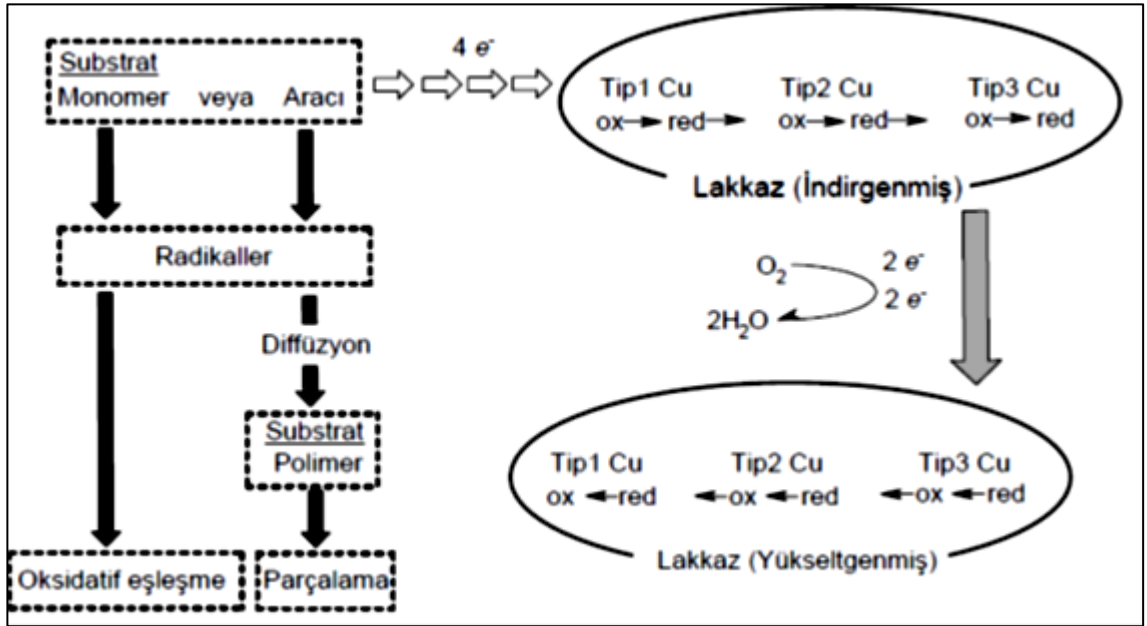
Lakkaz enzimlerinde bulunan farklı bakır merkezleri, indirgenmiş bir substrattan aldıkları elektronları, toksik peroksit ara ürünlerinin oluşmasına yol açmadan, atmosferik moleküler oksijene aktarırlar. Bu reaksiyon ise Tip1 bakır tarafından katalizlenen substratın dört monoelektronik oksidasyonu ile başlanmaktadır. Elektronlar ise daha sonra, moleküler oksijenin indirgendiği ve suyun serbest bırakıldığı trinükleer kümeye transfer edilirler. Substratların oksidasyonu ise reaktif radikallerin oluşmasına yol açmaktadır.

Monomerlerin çapraz-bağlanması: Guaikol, pirogallol, p-kresol, 2,6- dimetoksifenol gibi fenolik bileşiklerin ve aromatik anilinlerin lakkaz ile enzimatik oksidasyonu, radikallerin oluşmasına yol açar. Oluşan radikaller ise birbiri ile tepkimeye girerek C-C, C-O ve C-N bağları aracılığı ile kovalent olarak bağlanarak dimerleri, oligomerleri veya polimerleri oluştururlar.

Polimerlerin parçalanması: Lakkaz, lignin veya humik asit gibi kompleks doğal polimerlerin parçalanmasında rol almaktadır. Üretilen reaktif radikaller, kovalent

bağların (özellikle alkil-aril) kırılmasına ve monomerlerin serbest bırakılmasına yol açarlar.

Aromatik halkaların kırılması: Literatürde, aromatik halkaların lakkaz aracılığı ile kırıldığı rapor edilmektedir. Bu reaksiyon ise nitro aromatikler ve sentetik boyarmaddeler gibi ksenobiyotik bileşiklerin parçalanması açısından biyoteknolojik olarak oldukça ilgi çekmektedir.



Şekil 2.5: Fungal lakkaz enzimlerinin katalitik mekanizması.

Lakkaz enzimi, Tip1 bakır aracılığı ile her defasında 1 elektron transferiyle dört-basamakta substrat moleküllerini oksitler. Lakkaz molekülünün yeniden oksidasyonu (yükseltgenmesi) ise diamanyetik Tip3 bakır çifti tarafından iki basamaklı olarak dört elektronun, moleküler oksijene (O_2) transferi ile sağlanır. Monomerlerin oksidasyonu sonucunda oluşan reaktif radikaller ise enzimatik-olmayan eşleşme reaksiyonlarına katılırlar. Polimerlerin parçalanması düşük moleküler kütleli aracı (redoks aracılığı) bileşikler tarafından katalizlenir. Bu aracı moleküllerin lakkaz tarafından aktivasyonu gerçekleştirildikten sonra, bu araçlar aktif enzim bölgesinden polimerlerin hedef bölgelerine diffüze edilirler.

2.8. LAKKAZ REAKSİYONLARINI ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Lakkaz ile gerçekleşen reaksiyonlara etki eden faktörler; Lakkaz enzimlerinin optimal aktivite pH'ları, reaksiyon ortam sıcaklıkları ve bu sıcaklıklara bağlı lakkaz termostabiliteyi, enzim-substrat konsantrasyonları, ortamdaki oksijen konsantrasyonu, reaksiyon zamanı ve karıştırma hızı olarak sıralanabilir.

pH: Lakkaz enzimleri için önemli bir parametre olması bu enzimlerin aktivitelerinin pH'a bağımlı olmasındandır. Fenolik substratlar için lakkaz enzimlerinin pH bağımlılıkları çan eğrisi şeklindedir. Bunun nedeni ise pH'daki artışın, fenolik bileşiklerin pH'ya bağlı olarak fenol-fenolat dönüşümleri nedeniyle redüksiyon potansiyelindeki bir düşüşe bağlanırken, aktivitenin pH ile olan yarışmacı körelmesi ise trinükleer kümedeki hidroksid inhibisyonuna bağlanmıştır. Çan eğrisi şeklindeki eğrinin maksimum noktası ise genellikle asidik pH'larda meydana gelmektedir, fakat maksimum aktivitenin pH 9-10 gibi bazı bölgelerde meydana geldiği lakkaz enzimleri de bulunmaktadır. Lakkaz enzimlerinin yüksek pH'larda aktivite göstermesi yada gösterecek şekilde genetik modifikasyona tabi tutulmaları bu enzimlerin endüstriyel uygulamaları açısından önemlidir.

Sıcaklık: Yapılan çalışmalarda farklı kültürlerden elde edilen lakkazların katalizlediği reaksiyonlarda maksimum performansın 30-45 °C'lerde gösterdiği 45 °C'den sonra ise reaksiyon hızlarında ciddi düşüşler gözlenmektedir. Burada lakkazların protein yapısında olması ve yüksek sıcaklıklarda denatüre olması etkindir.

Oksijen Konsantrasyonu: Lakkazlar oksido-redüktaz olmaları nedeniyle reaksiyon hızı üzerinde ortamda bulunan çözülmüş oksijen miktarı doğrudan etkilidir.

Karıştırma Hızı: Moleküllerin reaksiyona girmesi için aşılması gerekli aktivasyon enerjisini düşürülmesi dolayısıyla lakkazın daha hızlı reaksiyona girmesi anlamına geldiği için önemlidir.

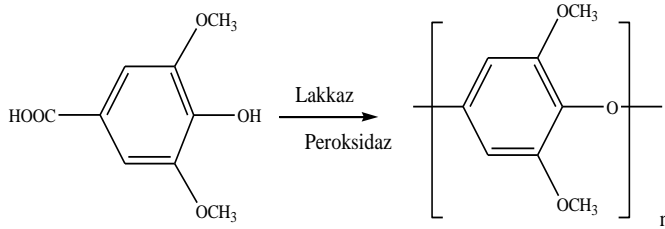
2.9. LİTERATÜR ÖZETİ

Lakkaz enzimleri, sentetik kimyanın da oldukça ilgisini çekmektedir. Lakkazlar hücre dışı, bakır içeren, elektron alıcısı olarak moleküler oksijeni kullanmak suretiyle çeşitli fenolik bileşiklerin oksidasyonunu katalizleyen polifenol oksidaz grubu bir enzimdir [23]. Diğer peroksidaz grubu enzimler oksitleyici olarak toksik ve inhibisyon etkileri

olan hidrojen peroksit gereksinim duyarken, lakkaz enzimi sadece çözülmüş oksijeni kullanır.

Enzimatik yollarla boyarmadde üretimi konusunda ilk adımları, Akkara J.A., Salapu P., Kaplan D.L., 1992 yılında peroksidaz katalizörlüğünde polyanilin sentezi çalışmaları ile gerçekleştirmiştir [24].

Ikeda, R., Sugihara, J., Uyama H., Kobayashi, S., 1996 yılında lakkaz ve peroksidaz katalizörlüğünde Siringik asit polimerizasyonunu gerçekleştirmiştir [25].



Şekil 2.6: Siringik asit polimerizasyonu

Setti L. Giuliani S., Spinozzi G., Pifferi PG. 1999 yılında 3-metil 2-benzotiyazolinon hidrazon (MBTH) ve metoksifenol'ün lakkaz katalizörlüğünde kırmızı boya sentezi çalışmasını yayınlamıştır [26].

Mustafa R., Muniglia L., Rovel B., Girardin M., 2005 yılında ferulik asit ve diğer fenolik-polyfenolik bileşikleri kullanarak sarı renkli ürün eldesi için *Pyricularia oryzae* kültürü lakkazı kullanmıştır [27].

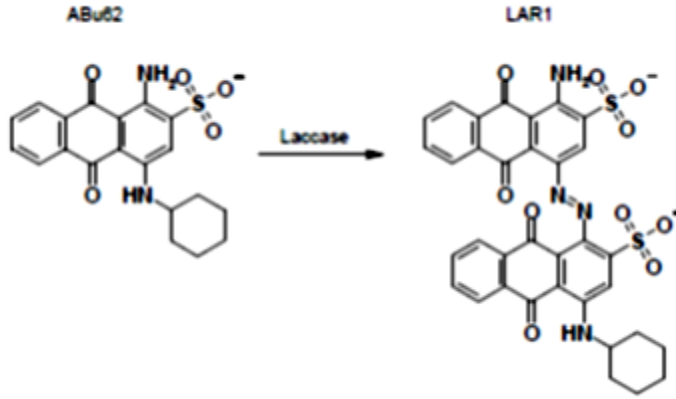
Mikolasch, A., ise 2002 yılında lakkaz kullanarak N-amin türevleri ile 3-(3,4-dihidroksifenil)-propionik asit reaksiyonlarını gerçekleştirmiştir [28].

Intra, A., 2005 yılında tetrahydro-2-naphthol türevlerini lakkaz kullanarak elde etmiştir [29].

Camarero, S., Canas, A.I., Nousiainen, P., Record, E., Lomancolo., A., Martinez., M.J., and Martinez, A.T., 2008 yılında gallik asit, siringik asit, ferulik asit, kateşin, kateşol

gibi fenolik bileşiklerin lakkaz ve p-hidroksisinamik asit mediatörlüğünde boyarmadde çalışmaları yapmışlardır [30].

2004-2008 yılları arasında S. Vanhulle, R. Karaaslan, M. E. Şener ve arkadaşları avrupa birliği 6. Çerçeve destekli SOPHIED projesi kapsamında (FP6-NMP2-CT-2004-505899) farklı kaynaklı lakkazların eldesi, immobilizasyonu ve boyarmadde sentezleri konularında çalışmışlardır. Özellikle antrakininon bazlı Acid Blue 62 boyasının dimerleşmesi ile Acid Red 1(LAR1) boyası ve 3-hidroksiantranilik asitten fenoksazin bazlı kırmızı boya elde edilmiştir. [31, 32, 33, 34, 35].



Şekil 2.7: LAR1 sentezi.

2010-2013 yılları arasında R. Pogni, R. Basosi, E. Fatarella, R. Karaaslan, M. E. Şener ve arkadaşları Avrupa birliği 7. Çerçeve destekli BISCOL projesinde (ECO/09/256112/SI2.567273) lakkaz ve ferulik asit mediatörü ile 4-nitro-1-naftilamin ve 4-amino-5-hidroksinaftalin-2,7-disulfonik asitten sarı, 2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sulfonik asit) diamonyum tuzu ve 4-amino-1-naftalinsulfonik asitten kırmızı ve 3-Methyl-2-benzotiyazolinon hidrazon hidroklorit hidrat ve 4-Amino-5-hidroksinaftalin-2,7-disulfonik asitten mavi boya sentezlenmiştir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. KULLANILAN CİHAZ VE YARDIMCI GEREÇLER

Analitik Terazî: Precisa XB 220A (İsviçre)

Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı: Velp Scientific (İtalya)

Vakum Pompası: Buchi (İsviçre)

PH Metre: WTW pH 3110 (İsviçre)

UV-Vis Spektrofotometre: HP-8453 (USA)

FT-IR Spektrofotometre: Shimadzu IR-Prestige 21 (Japonya)

Numune Boyama Makinası: Werner Mathis (İsviçre)

Yıkama Haslığı Cihazı: Werner Mathis (İsviçre)

Işık Haslığı Cihazı: Atlas Xenotest 150+ (Almanya)

Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi: Shimadzu LC20A (Japonya)

Reflektans Ölçümlü Spektrofotometre: Datacolor 650 (USA)

3.2. BAŞLANGIÇ MADDELERİ

Tez kapsamında hidroksi (-OH) ve amin (-NH₂) içeren aromatik halkalı yapıya sahip ve endüstriyel olarak üretimi olan hammaddeler seçilmiştir. Tüm kimyasallar Setaş Kimya Sanayi A.Ş tarafından sağlanmıştır.

Resorsinol (D1): Cas: 108-46-2. Molekül Ağırlığı: 110,1 g/mol.

p-fenilfenol (D2): Cas: 92-69-3. Molekül Ağırlığı: 170,21 g/mol.

m-fenilendiamin (D3): Cas:108-45-2. Molekül Ağırlığı: 108,1 g/mol.

Metanilik asit (D4): Cas: 121-47-1. Molekül Ağırlığı: 173,19 g/mol.

Sülfo tobias asit (D5): Cas: 117-62-4. Molekül Ağırlığı: 303 g/mol.

H asit (D6) : Cas:90-20-0. Molekül Ağırlığı: 319,3 g/mol.

m-Amino asetanilit (D7): Cas:621-35-2. Molekül Ağırlığı: 186,6 g/mol.

p-Amino naftalin sülfonik asit (D8): Cas:84-86-6. Molekül Ağırlığı: 223,25 g/mol.

Dasda (D9): Cas:81-11-8. Molekül Ağırlığı: 370,4 g/mol.

p-Nitro toluene orto sülfonik Asit (D10): Cas:121-03-9. Molekül Ağırlığı: 217 g/mol.

Anilin 2,5-Disülfonik asit (D11): Cas:98-44-2. Molekül Ağırlığı: 253 g/mol.

2-Amino 5-Nitrotiyazol (D12): Cas:121-66-4. Molekül Ağırlığı: 145,1 g/mol.

4-Amino-1-Naftalin sülfonik asit sodyum (D13): Cas:123333-48-2. Molekül Ağırlığı: 245,23 g/mol.

3-Amino-5-Nitro benzotiyazol (D14): Cas:84387-89-3. Molekül Ağırlığı: 195,2 g/mol.

Anilin (D15) : Cas:62-53-3. Molekül Ağırlığı: 93,13 g/mol.

2-Amino-6-Metoksi benzotiyazol (D16): Cas:1747-60-0. Molekül Ağırlığı: 180,2 g/mol.

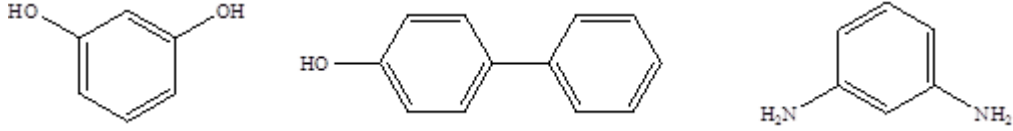
Sodyum sülfanilat (D17): Cas:515-74-2. Molekül Ağırlığı: 231,2 g/mol.

p-Nitro anilin (D18): Cas:100-01-6. Molekül Ağırlığı: 138,12 g/mol.

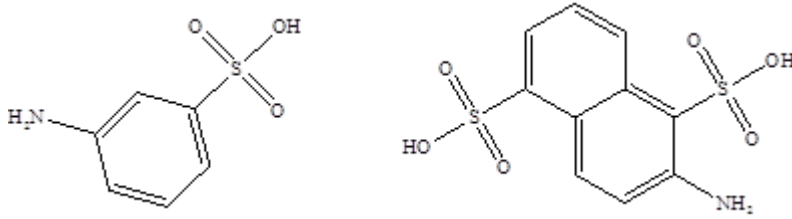
Sodyum asetat: Cas:127-09-3. Molekül Ağırlığı: 82 g/mol.

Asetik asit: Cas:64-19-7. Molekül Ağırlığı: 60 g/mol.

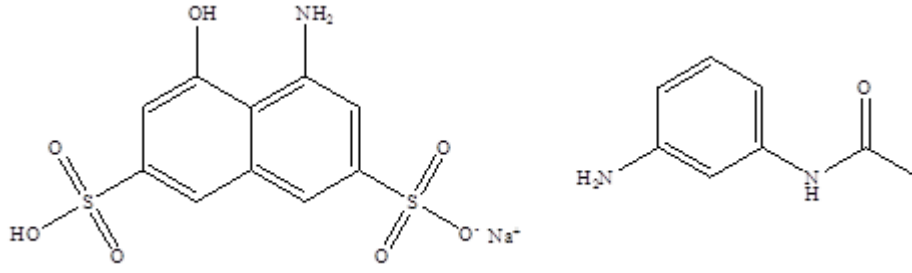
Sodyum hidroksit: Cas:1310-73-2. Molekül Ağırlığı: 40 g/mol.



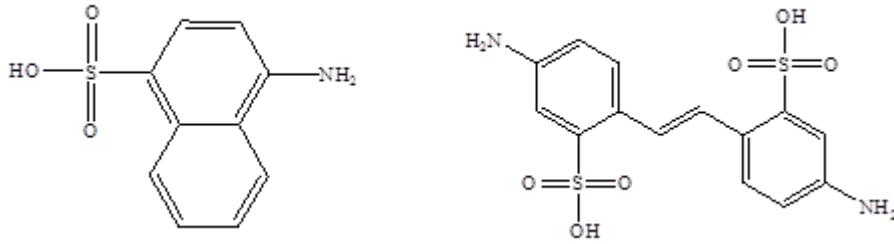
Şekil 3.1: Resorsinol (D1), p-fenilfenol (D2), m-fenilendiamin (D3).



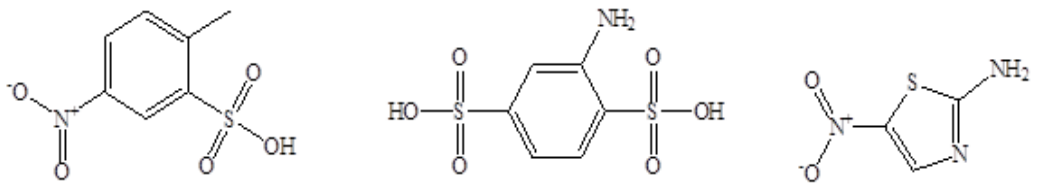
Şekil 3.2: Metanilikasit (D4), Sülfo tobias asit (D5).



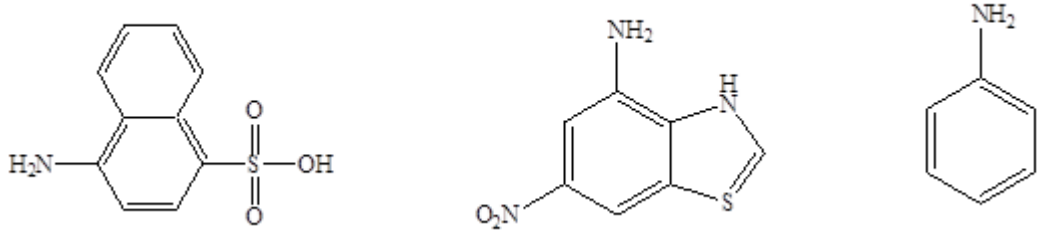
Şekil 3.3: H asit (D6), Metaaminoasetanilit (D7).



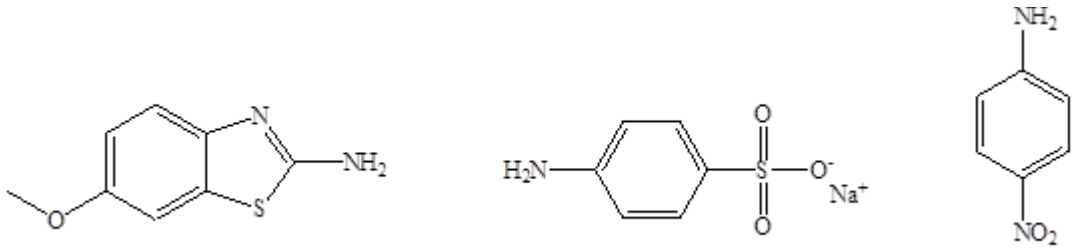
Şekil 3.4: p-Amino naftalin sülfonikasit (D8), DASDA (D9).



Şekil 3.5: p-Nitro toluene o-Sülfonikasit (D10), Anilin 2,5-Disülfonikasit (D11), 2-Amino 5-Nitrotiyazol (D12).



Şekil 3.6: 4-Amino 1-Naftalin Sülfonikasit (D13), 3-Amino 5-Nitro benzotiyazol (D14), Anilin (D15).



Şekil 3.7: 2-Amino 6-metoksi benzotiyazol (D16), Sodyum sülfanilat (D17), p-nitro anilin (D18).

3.3. LAKKAZ TÜRLERİ

Tez kapsamında Novozymes firması tarafından *Aspergillus oryzae* kültüründen fermentasyon yolu ile üretilen 800 LAMU/g aktiviteye sahip Novoprime Base 268 ticari isimli lakkaz ile Genencor firması tarafından fungal yolla üretilen 5700 GLacU/g aktiviteye sahip Primagreen Ecofade LT100 ticari isimli lakkazlar kullanılmıştır.

3.4. REAKSİYON KOŞULLARI

D1, D2, D3, D4, D5, D6, D7, D8, D9, D10, D11, D12, D13, D14, D15, D16, D17, D18 hammaddeleri aşağıdaki tablodaki gibi eşleştirilerek pH = 5,5'ta (1 mmol Asetat tampon ile), 30-35 °C aralığında, Novoprime Base 268 ve Primagreen Ecofade LT100 ticari enzimleri kullanılarak 8 saat boyunca reaksiyona sokulmuştur. Hedeflenen

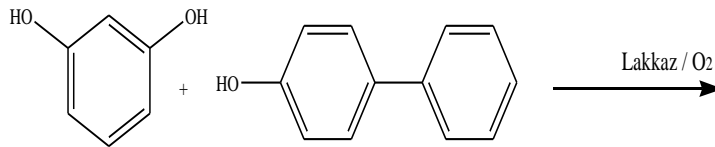
reaksiyonlar başlangıç maddeleri ile dimer yada polimer yapısında renkli bileşik eldesidir.

	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D9
D1		R1	R2	R3				R5	R7
D5									
D6						R4			R6
D7									
D8								R12	
D10						R8			
D11									
D12	R16								
D14						R9			
D15									
D16						R10		R15	R11
D17	R13								
D18	R14								

Tablo 3.1: Hammadde-reaksiyon eşleştirilmeleri

3.5. MADDELERİN SENTEZLERİ

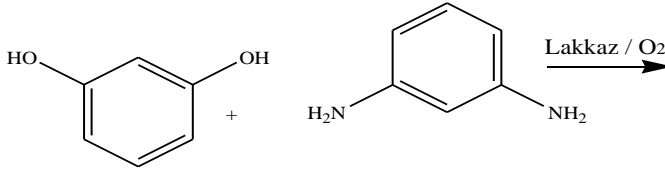
3.5.1. Bileşik 1 Sentezi (R1)



1,1 gram resorsinol (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü.

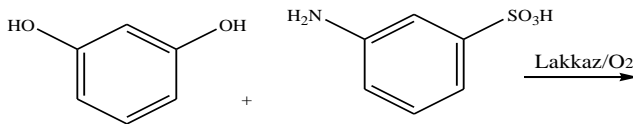
Aynı şekilde 1,7 gram parafenilfenol (0,01 mol) de çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcı manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

3.5.2. Bileşik 2 Sentezi (R2)



1,1 gram resorsinol (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde 1,08 gram metafenilendiamin (0,01 mol) de çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcı manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

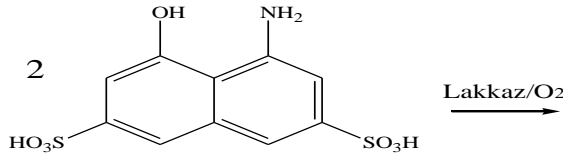
3.5.3. Bileşik 3 Sentezi (R3)



1,1 gram resorsinol (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde 1,73 gram metanilik asit (0,01 mol) de çözüldü. Her iki çözünen madde

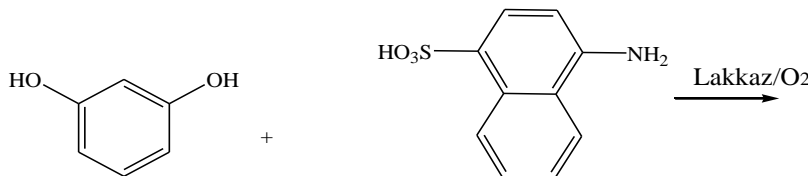
500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcı manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

3.5.4. Bileşik 4 Sentezi (R4)



3,19 gram H asit (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde 3,19 gram H asit (0,01 mol) de çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcı manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

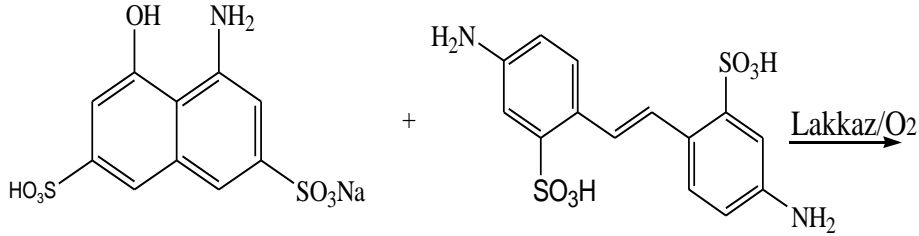
3.5.5. Bileşik 5 Sentezi (R5)



1,1 gram resorsinol (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde 2,23 gram 4-amino naftalin sulfonik asit (0,01 mol) de çözüldü. Her iki

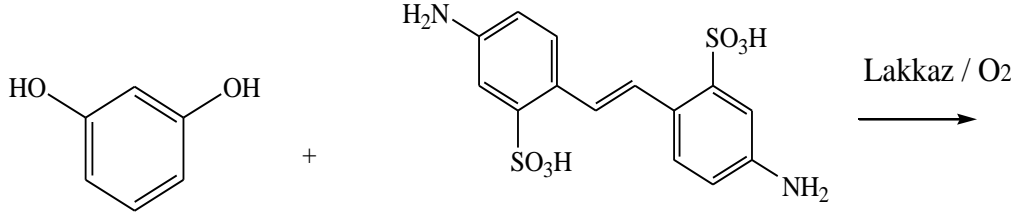
çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcıli manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

3.5.6. Bileşik 6 Sentezi (R6)



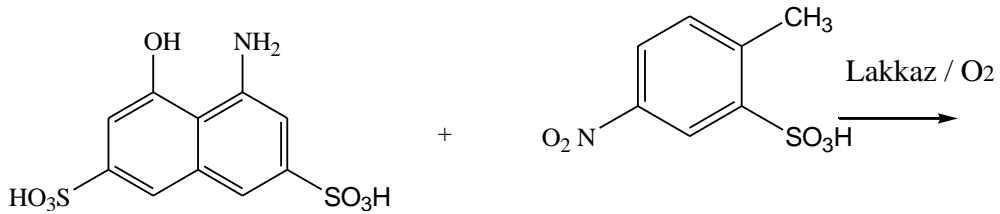
3,19 gram H asit (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde 3,70 gram DASDA (0,01 mol) da çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcıli manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

3.5.7. Bileşik 7 Sentezi (R7)



1,1 gram resorsinol (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde 3,70 gram DASDA (0,01 mol) da çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcıli manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

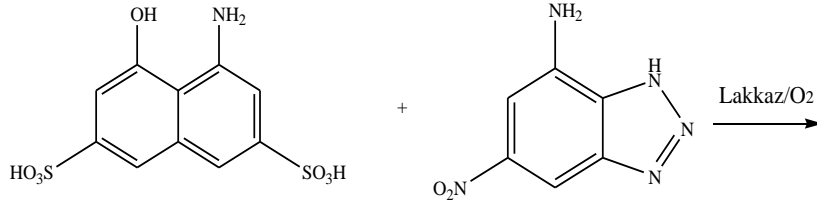
3.5.8. Bileşik 8 Sentezi (R8)



3,19 gram H asit (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde 2,17 gram Para Nitro Toluene Orto Sülfonik Asit (0,01 mol) te çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcıli manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon

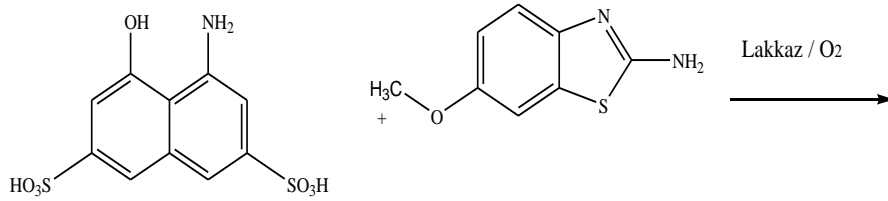
süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

3.5.9. Bileşik 9 Sentezi (R9)



3,19 gram H asit (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde 1,95 gram 3-Amino-5-Nitro Benzotiyazol (0,01 mol) de çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtcılı manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

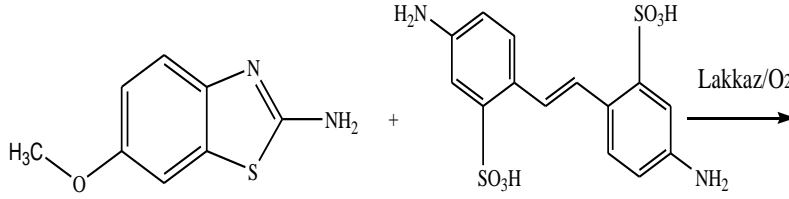
3.5.10. Bileşik 10 Sentezi (R10)



3,19 gram H asit (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde 1,80 gram 2-Amino-6-Metoksi benzotiyazol (0,01 mol) de çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtcılı manyetik karıştırıcı

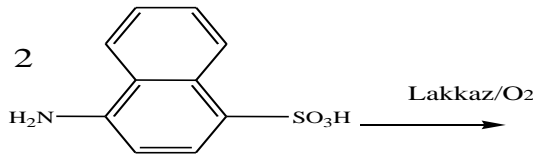
üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

3.5.11. Bileşik 11 Sentezi (R11)



1,8 gram 2-Amino-6-Metoksi benzotiyazol (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. 3,70 gram DASDA (0,01 mol) da aynı şekilde çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcı manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

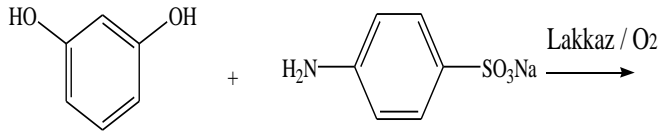
3.5.12. Bileşik 12 Sentezi (R12)



2,23 gram 4-amino naftalin sulfonik asit (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde diğer 2,23 gram 4-amino naftalin sulfonik asit (0,01 mol) de çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere

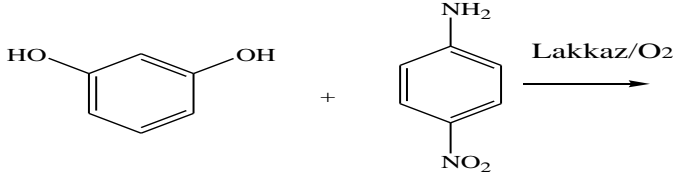
aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcıli manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

3.5.13. Bileşik 13 Sentezi (R13)



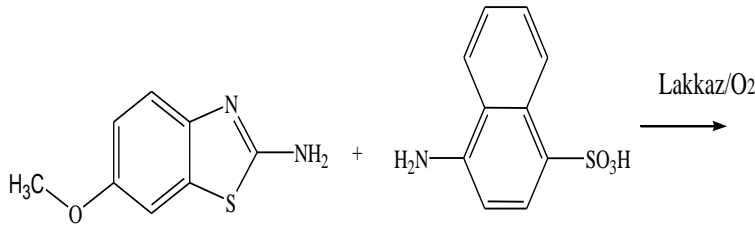
1,1 gram resorsinol (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde 2,31 gram Sodyum Sülfanilat (0,01 mol) ta çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcıli manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

3.5.14. Bileşik 14 Sentezi (R14)



1,1 gram resorsinol (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde 1,38 gram para nitro aniline (0,01 mol) ta çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcı manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

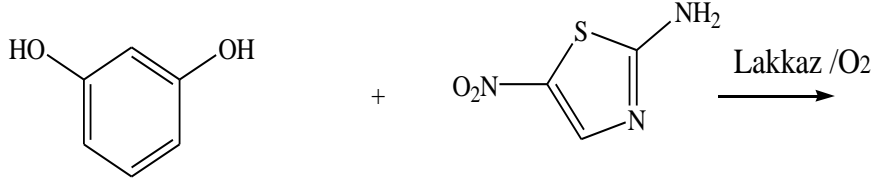
3.5.15. Bileşik 15 Sentezi (R15)



1,8 gram 2-Amino-6-Metoksi benzotiyazol (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. 2,23 gram 4-amino naftalin sulfonik asit (0,01 mol) da aynı şekilde çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıtıcı manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı.

Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

3.5.16. Bileşik 16 Sentezi (R16)

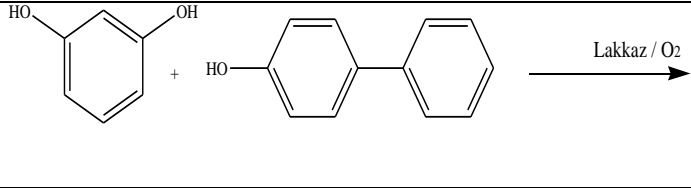
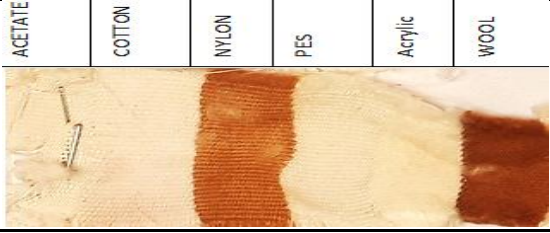
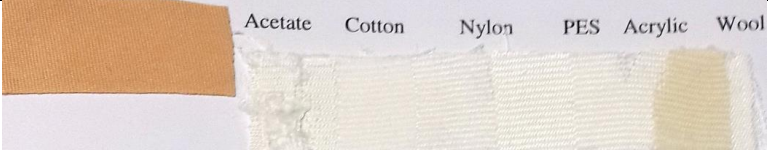
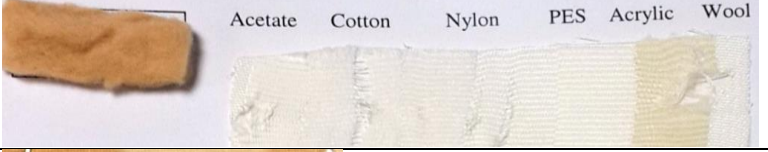



1,1 gram resorsinol (0,01 mol) içerisinde magnet bulunan balona tartıldı ve 100 ml 1mmol/L Sodyum asetat tamponunda (pH:5,5) tamamen şeffaf olana dek çözüldü. Aynı şekilde 1,45 gram 2-Amino 5-Nitrotiyazol (0,01 mol) ta çözüldü. Her iki çözünen madde 500 ml lik geniş ağızlı erlenmayere aktarılarak pH'nın 5,5 olması sağlandı. pH ayarı için gerekli durumlarda Asetik asit yada Sodyum hidroksit kullanıldı. 1,0 gram lakkaz enzimi ilave edilerek reaksiyon başlatıldı. Isıticılı manyetik karıştırıcı üzerinde sıcaklık 30-35 °C aralığında 8 saat boyunca reaksiyona devam edildi. Reaksiyon süresince her saat başında pH ve sıcaklık kontrolü yapıldı. Ayrıca reaksiyon süresince laboratuvar tipi vakum pompasının hava üfleme kısmı hortum vasıtası ile reaksiyon ortamına bağlanarak 50 litre/ saat seviyesinde hava verilmiştir.

4. BULGULAR

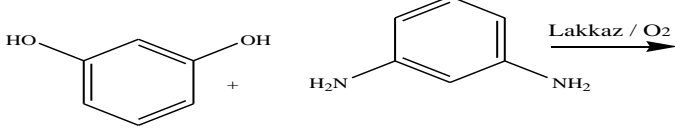

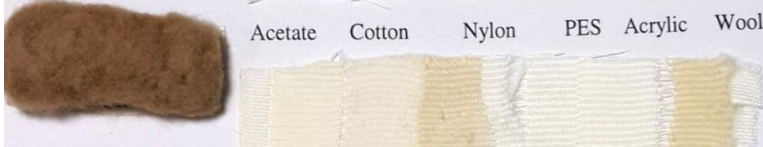

4.1. BİLEŞİK 1

Tablo 4.1: Bileşik 1'in analiz sonuçları

Reaksiyon	
UV	$\lambda_{1\max} = 448 \text{ nm}$ $\lambda_{2\max} = 472 \text{ nm}$
HPLC	RT (Resorsinol) = 1.717 dakika RT (Parafenilfenol) = 8.213 dakika RT (Bileşik 1) = 2.901 dakika
Multifiber Boyama Kontrolü	
Elyaf Boyama	Açık kahve ve sarı tonda.
Yıkama Haslığı-Naylon	
Yıkama Haslığı-Yün	
Işık Haslığı	

4.2. BİLEŞİK 2

Tablo 4.2: Bileşik 2'nin analiz sonuçları

Reaksiyon						
UV	$\lambda_{\max} = 291 \text{ nm}$					
HPLC	RT (Resorsinol) = 1.739 dakika RT (Metafenilendiamin) = 1.525 dakika RT (Bileşik 2) = 2.827 dakika					
Multifiber Boyama Kontrolü	ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL
Elyaf Boyama	Koyu kahve tonlarında.					
Yıkama Hashığı-Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Yıkama Hashığı-Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Işık Hashığı ISO 105 B02, Grade:4						





















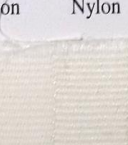
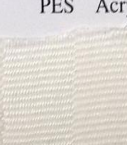

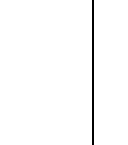


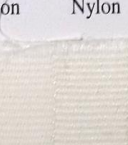
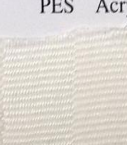

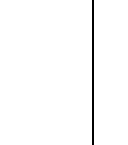


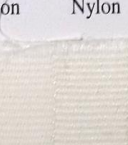
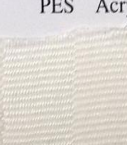

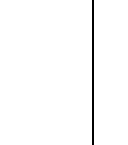

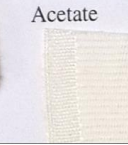
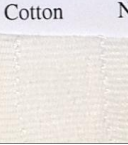
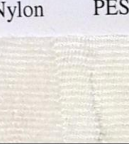



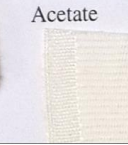
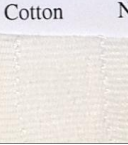
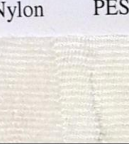



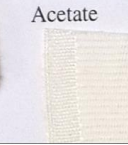
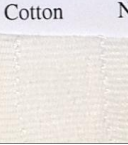
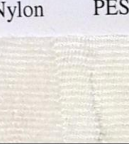


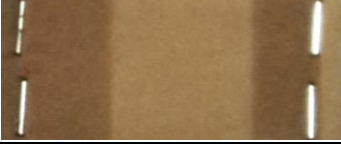
4.3. BİLEŞİK 3

Tablo 4.3: Bileşik 3'ün analiz sonuçları

Reaksiyon						
UV	$\lambda_{\max} = 382 \text{ nm}$					
HPLC	RT (Resorsinol) = 1.739 dakika RT (Metanilik Asit) = 1.163 dakika RT (Bileşik 3) = 2.880 dakika					
Multifiber Boyama Kontrolü	ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL
Elyaf Boyama	Kahve tonlarında.					
Yıkama Haslığı-Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Yıkama Haslığı-Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4						

4.4. BİLEŞİK 4

Tablo 4.4: Bileşik 4'ün analiz sonuçları

Reaksiyon	$ \begin{array}{c} \text{OH} \\ \\ \text{2} \quad \text{NH}_2 \\ \text{HO}_3\text{S} \quad \text{SO}_3\text{H} \\ \xrightarrow{\text{Lakkaz/O}_2} \end{array} $												
UV	$\lambda_{1\text{max}} = 349 \text{ nm}$ $\lambda_{2\text{max}} = 474 \text{ nm}$												
HPLC	RT (H Asit) = 1.077 dakika RT (Bileşik 4) = 1.685 dakika												
Multifiber Boyama Kontrolü	<table border="1"> <thead> <tr> <th>ACETATE</th> <th>COTTON</th> <th>NYLON</th> <th>PES</th> <th>Acrylic</th> <th>WOOL</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL						
ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL								
													
Elyaf Boyama	Kahve tonlarında.												
Yıkama Haslığı- Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Acetate</th> <th>Cotton</th> <th>Nylon</th> <th>PES</th> <th>Acrylic</th> <th>Wool</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool						
Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool								
													
Yıkama Haslığı-Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Acetate</th> <th>Cotton</th> <th>Nylon</th> <th>PES</th> <th>Acrylic</th> <th>Wool</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool						
Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool								
													
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4													

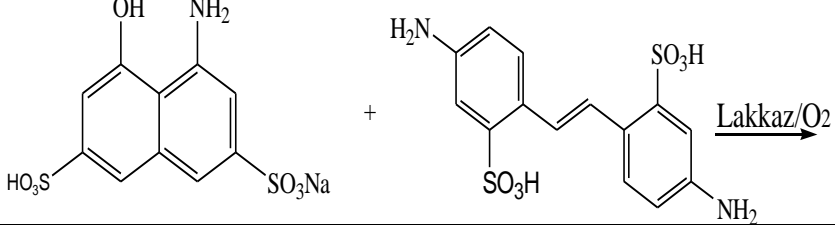

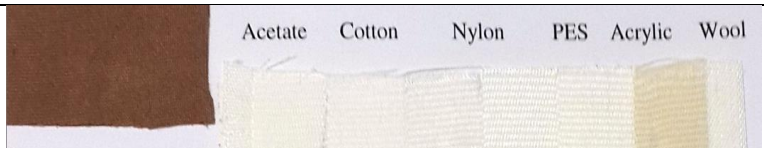
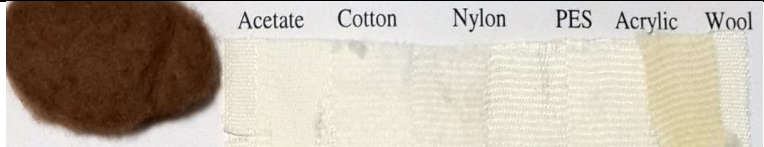

4.5. BİLEŞİK 5

Tablo 4.5: Bileşik 5'in analiz sonuçları

Reaksiyon						
UV	$\lambda_{1max} = 280 \text{ nm}$ $\lambda_{2max} = 487 \text{ nm}$					
HPLC	RT (Resorsinol) = 1.739 dakika RT (p-amino Naftalin Sülfonik Asit) = 1.173 dakika RT (Bileşik 5) = 2.880 dakika					
Multifiber Boyama Kontrolü	ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL
Elyaf Boyama	Koyu kahve tonlarında.					
Yıkama Haslığı-Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Yıkama Haslığı-Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4						

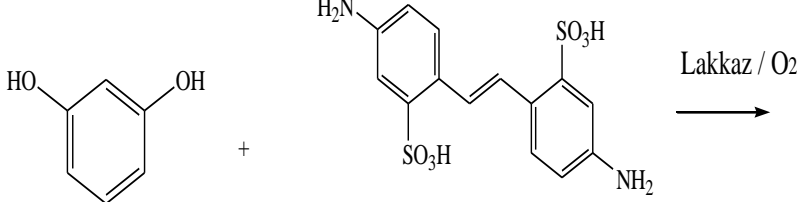
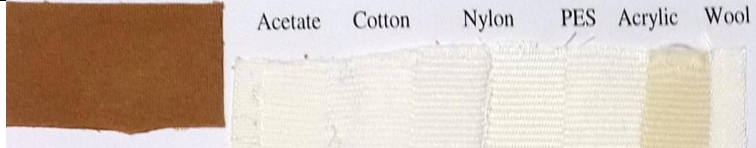
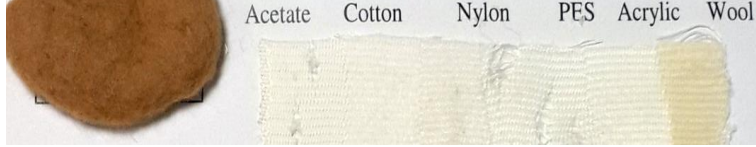

4.6. BİLEŞİK 6

Tablo 4.6: Bileşik 6'nın analiz sonuçları

Reaksiyon	
UV	$\lambda_{\max} = 475 \text{ nm}$
HPLC	RT (DASDA) = 1.077 dakika RT (H Asit) = 1.077 dakika RT (Bileşik 6) = 2.976 dakika
Multifiber Boyama Kontrolü	
Elyaf Boyama	Kahve tonlarında.
Yıkama Haslığı- Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)	
Yıkama Haslığı- Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)	
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4	

4.7. BİLEŞİK 7

Tablo 4.7: Bileşik 7'nin analiz sonuçları

Reaksiyon						
UV	$\lambda_{1\max} = 330 \text{ nm}$ $\lambda_{2\max} = 430 \text{ nm}$					
HPLC	RT (Resorsinol) = 1.739 dakika RT (DASDA) = 1.077 dakika RT (Bileşik 7) = 2.88 dakika					
Multifiber Boyama Kontrolü	ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL
Elyaf Boyama	Kahve tonlarında.					
Yıkama Haslıği-Naylon						
Yıkama Haslıği-Yün						
Işık Haslıği						

4.8. BİLEŞİK 8

Tablo 4.8: Bileşik 8'in analiz sonuçları

Reaksiyon	
UV	$\lambda_{\max} = 466 \text{ nm}$
HPLC	RT (H asit) = 1.077 dakika RT (p-toluidine o-Sülfonik Asit) = 1.216 dakika RT (Bileşik 8) = 2.50 dakika
Multifiber Boyama Kontrolü	
Elyaf Boyama	Kahve tonlarında.
Yıkama Haslığı- Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)	
Yıkama Haslığı-Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)	
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4	

4.9. BİLEŞİK 9

Tablo 4.9: Bileşik 9'un analiz sonuçları

Reaksiyon						
UV	$\lambda_{\max} = 470 \text{ nm}$					
HPLC	RT (H asit) = 1.067 dakika RT (3-amino,5-nitro benzotriazol) = 2.667 dakika RT (Bileşik 9) = 2.848 dakika					
Multifiber Boyama Kontrolü	ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL
Elyaf Boyama	Açık kahve tonlarında.					
Yıkama Haslığı- Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Yıkama Haslığı- Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4						

4.10. BİLEŞİK 10

Tablo 4.10: Bileşik 10'un analiz sonuçları

Reaksiyon	
UV	$\lambda_{max} = 472 \text{ nm}$
HPLC	RT (H asit) = 1.077 dakika RT (2-amino,6-metoksi,benzotiyazol) = 2.112 dakika RT (Bileşik 10) = 3.264 dakika
Multifiber Boyama Kontrolü	
Elyaf Boyama	Açık kahve tonlarında.
Yıkama Haslığı- Naylon	
Yıkama Haslığı- Yün	
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4	

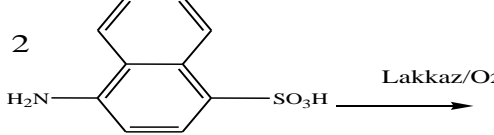



















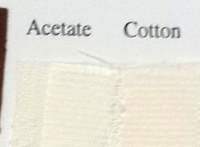
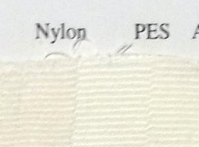
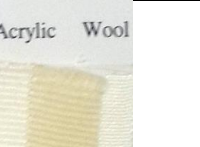
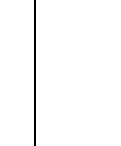


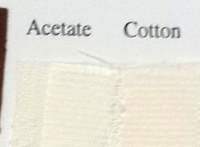
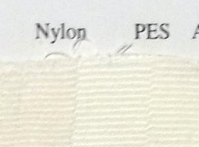
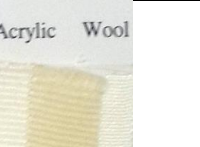
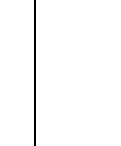


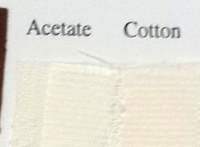
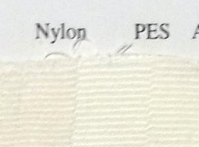
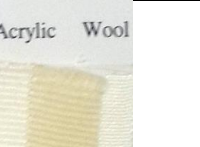
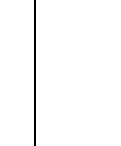


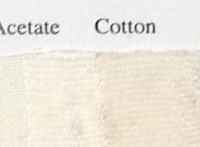
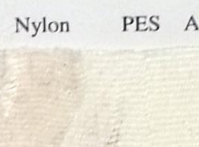
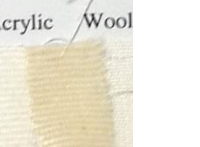
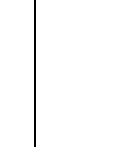


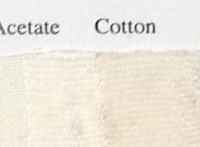
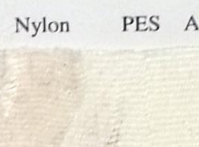
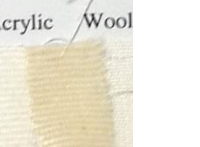
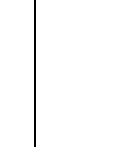


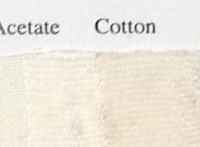
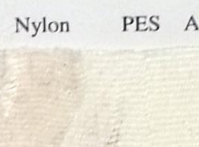
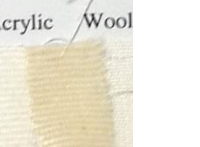
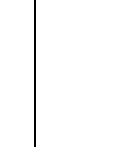


4.11. BİLEŞİK 11

Tablo 4.11: Bileşik 11'in analiz sonuçları

Reaksiyon						
UV	$\lambda_{\max} = 472 \text{ nm}$					
HPLC	RT (DASDA) = 1.077 dakika RT (2-amino,6-metoksi,benzotiyazo) = 2.112 dakika RT (Bileşik 11) = 3.264 dakika					
Multifiber Boyama Kontrolü	ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL
Elyaf Boyama	Açık kahve tonlarında.					
Yıkama Haslığı-Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Yıkama Haslığı-Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4						

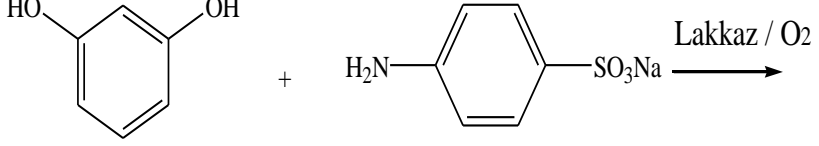
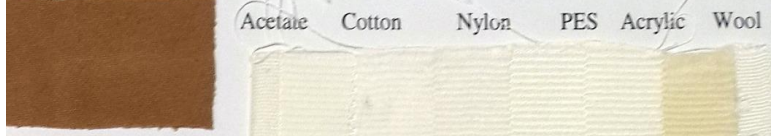
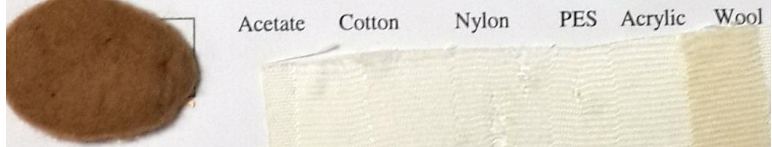

4.12. BİLEŞİK 12

Tablo 4.12: Bileşik 12'nin analiz sonuçları

Reaksiyon	<p>2</p> 												
UV	$\lambda_{1max} = 330 \text{ nm}$ $\lambda_{2max} = 472 \text{ nm}$												
HPLC	RT (4-amino naftalin sülfonik asit) = 1.717 dakika RT (Bileşik 12) = 2.859 dakika												
Multifiber Boyama Kontrolü	<table border="1"> <thead> <tr> <th>ACETATE</th> <th>COTTON</th> <th>NYLON</th> <th>PES</th> <th>Acrylic</th> <th>WOOL</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL						
ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL								
													
Elyaf Boyama	Koyu kahve,siyah tonlarında.												
Yıkama Haslığı- Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Acetate</th> <th>Cotton</th> <th>Nylon</th> <th>PES</th> <th>Acrylic</th> <th>Wool</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool						
Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool								
													
Yıkama Haslığı- Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Acetate</th> <th>Cotton</th> <th>Nylon</th> <th>PES</th> <th>Acrylic</th> <th>Wool</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool						
Acetate	Cotton	Nylon	PES	Acrylic	Wool								
													
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4													

4.13. BİLEŞİK 13

Tablo 4.13: Bileşik 13'ün analiz sonuçları

Reaksiyon						
UV	$\lambda_{\max} = 509 \text{ nm}$					
HPLC	RT (Sodyum sülfanilat) = 1.141 dakika RT (Resorsinol) = 1.739 dakika RT (Bileşik 13) = 3.0 dakika					
Multifiber Boyama Kontrolü	ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL
Elyaf Boyama	Koyu kahve tonlarında.					
Yıkama Haslığı- Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Yıkama Haslığı- Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4						

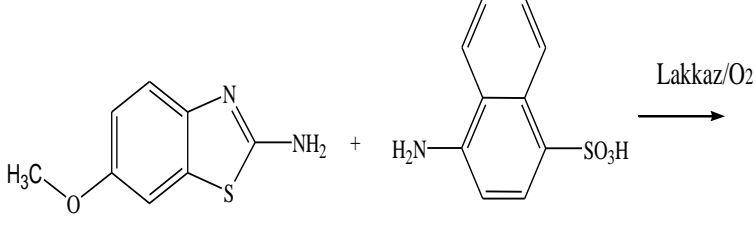

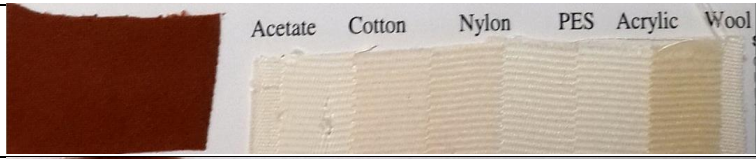
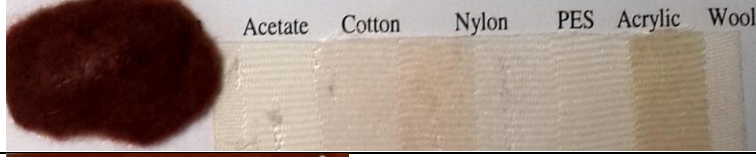

4.14. BİLEŞİK 14

Tablo 4.14: Bileşik 14'ün analiz sonuçları

Reaksiyon						
UV	$\lambda_{1max} = 361 \text{ nm}$ $\lambda_{2max} = 488 \text{ nm}$					
HPLC	RT (p-nitro anilin) = 3.584 dakika RT (Resorsinol) = 1.739 dakika RT (Bileşik 14) = 2.901 dakika					
Multifiber Boyama Kontrolü	ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL
Elyaf Boyama	Kahve tonlarında.					
Yıkama Haslığı- Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Yıkama Haslığı- Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4						

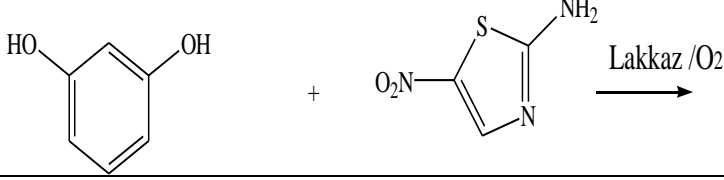


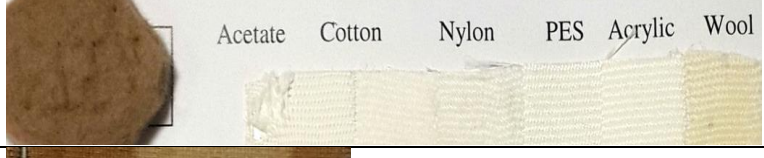

4.15. BİLEŞİK 15

Tablo 4.15: Bileşik 15'in analiz sonuçları

Reaksiyon						
UV	$\lambda_{1max} = 376 \text{ nm}$ $\lambda_{2max} = 479 \text{ nm}$					
HPLC	RT (2-amino,6-metoksi,benzotiyazol) = 2.112 dakika RT (4-amino naftalin sülfonik asit) = 1.717 dakika RT (Bileşik 15) = 7.808 dakika					
Multifiber Boyama Kontrolü	ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL
Elyaf Boyama						
Yıkama Haslığı- Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Yıkama Haslığı- Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4						

4.16. BİLEŞİK 16

Tablo 4.16: Bileşik 16'nın analiz sonuçları

Reaksiyon						
UV	$\lambda_{1max} = 279 \text{ nm}$ $\lambda_{2max} = 432 \text{ nm}$					
HPLC	RT (2-amino 5-nitro tiyazol) = 2.667 dakika RT (Resorsinol) = 1.739 dakika RT (Bileşik 16) = 3.733 dakika					
Multifiber Boyama Kontrolü	ACETATE	COTTON	NYLON	PES	Acrylic	WOOL
Elyaf Boyama						
Yıkama Haslığı- Naylon ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Yıkama Haslığı- Yün ISO 105 C06 A2S (40 °C – 30 dakika)						
Işık Haslığı ISO 105 B02, Grade:4						

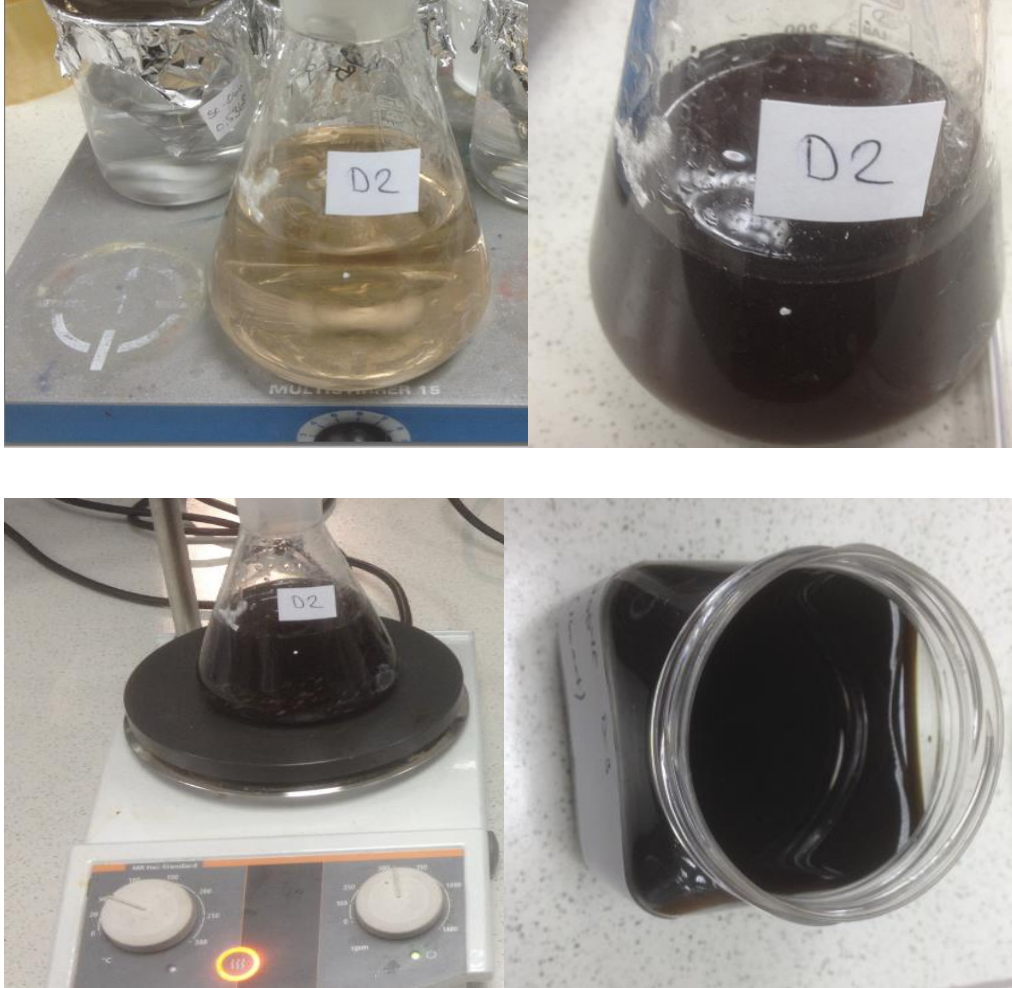
5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Günümüz koşullarında doğal kaynakların hızla tükenmeye başlaması, buna paralel olarak hammadde ve enerji maliyetlerinin giderek artması, tüm üretim yapan sektörleri yeni ve sürdürülebilir kaynak arayışına itmiştir. Geline nokta dünyada yılda 6 milyar ton kimyasal tüketilmekte ve bu rakamın 34 milyon tonunu boyalar oluşturmaktadır [36]. Kullanılan boyaların büyük çoğunluğunun azo kromoforlu olması, azo boyarmaddelerin üretim metotlarının klasik diazolama reaksiyonu üzerinden gitmesi ve yüksek oranda enerji tüketip, atık oluşturduğu göz önünde bulundurulduğunda çevresel boyutta ekolojik boya üretim metodlarına ciddi anlamda ihtiyaç vardır.

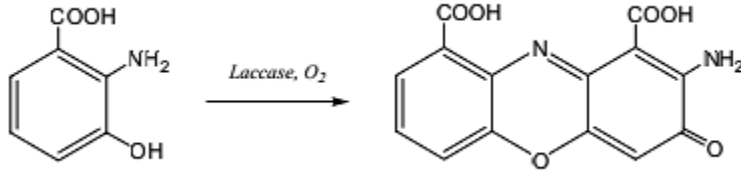
Çalışmanın temel yaklaşımı, oksidatif enzim olan lakkaz kullanarak boyarmadde sentezidir. Tez kapsamında Novozymes firması tarafından *Aspergillus oryzae* kültüründen fermentasyon yolu ile üretilen 800 LAMU/g aktiviteye sahip Novoprime Base 268 ticari isimli lakkaz ile Genencor firması tarafından fungal yolla üretilen 5700 GLacU/g aktiviteye sahip Primagreen Ecofade LT100 isimli ticari lakkazlar kullanılarak azo boyarmadde sentezlerinde sıklıkla kullanılan ve endüstriyel boyutta üretimi olan fenolik bileşikler (resorsinol) ve sülfolanmış benzen ve naftalin bileşiklerinin pH 5,5'ta 30-35 °C aralığındaki reaksiyonları çalışılmıştır. Hedeflenen reaksiyonlar başlangıç maddeleri ile dimer yada polimer yapısında renkli bileşik eldesidir.

Seçilen 18 başlangıç maddesi ile 40'ın üzerinde reaksiyon denenmiş olup bu reaksiyonlarda boyarmadde özellikleri öne çıkan 16 bileşik renk ve boyarmadde özelliklerinin belirlenmesi için testler yapılmış ayrıca HPLC, UV ve IR cihazları ile de oluşan yapılar incelenmiştir.



Şekil 5.1: Sentez reaksiyonlarının aşamalarına dair görünüm

Lakkazın boyarmadde sentezlerinde kullanımları hakkındaki literatür bilgisi günümüzden en fazla 10 yıl kadar öteye gitmektedir. Bilinen reaksiyon mekanizması ise hidroksi gruplarını yükseltgeyerek radikaller oluşturması ve bu radikallerin ortamdaki kimyasallarla etkileşimleri ile görünür bölgede absorpsiyon yapan kimyasal yapıların oluştuğu şeklindedir [27], [29], [30], [31], [32], [33], [34].



Şekil 5.2: 3-hidroksiantranilik asitten fenoksazin bazlı kırmızı boya sentezi.

Tez kapsamında çalışılan tüm reaksiyonlarda elde edilen bileşiklerin (Bileşik 1, Bileşik 2, Bileşik 3, Bileşik 4, Bileşik 5, Bileşik 6, Bileşik 7, Bileşik 8, Bileşik 9, Bileşik 10, Bileşik 11, Bileşik 12, Bileşik 13, Bileşik 14, Bileşik 15 ve Bileşik 16) hepsinde renklenme yani boyarmadde oluşumu gözlenmiştir. Boyarmadde sınıfının belirlenmesi için yapılan “multifiber boyama testinde” ise Yün ve Naylonun boyandığı yani tüm bileşiklerin “Asit Boya” karakteristiğinde olduğu anlaşılmıştır.

Boyarmaddelerin renk özelliklerinin belirlenmesi için yapılan elyaf boyama testlerinde naylon boyamada Bileşik 5, Bileşik 12 ve Bileşik 15’in renk derinliği, yün boyamada Bileşik 4, Bileşik 5, Bileşik 8, Bileşik 12 ve Bileşik 15’in renk derinliği; ISO 105 B02’ye göre yapılan ışık haslığı testlerinde Bileşik 2, Bileşik 8, Bileşik 9, Bileşik 11 ve Bileşik 15’in ışık haslığı olumlu yönde ön plana çıkarken, ISO 105 C06 A2501’e göre yapılan yıkama haslığı testlerinde ise Bileşik 2 ve Bileşik 15’in dışındaki tüm yıkama haslıkları tatmin edici düzeyde bulunmuştur.

Tablo 5.1: Haslık sonuçlarının topluca gösterimi.

Bileşik Adı	Işık Haslığı (Grade 4)	Yıkama Haslığı – Naylon (Grade 5)	Yıkama Haslığı – Yün (Grade 5)
Bileşik 1	2	4 / 5	4
Bileşik 2	2 / 3	4	3
Bileşik 3	2	4 / 5	4 / 5
Bileşik 4	2	4 / 5	4 / 5

Bileşik 5	2	4 / 5	4 / 5
Bileşik 6	2	4 / 5	4 / 5
Bileşik 7	2	4 / 5	4 / 5
Bileşik 8	2 / 3	4 / 5	4 / 5
Bileşik 9	2 / 3	4 / 5	4 / 5
Bileşik 10	2	4 / 5	4 / 5
Bileşik 11	2 / 3	4 / 5	4 / 5
Bileşik 12	2	4 / 5	4
Bileşik 13	2	4 / 5	4 / 5
Bileşik 14	2	4	4 / 5
Bileşik 15	3	3 / 4	3 / 4
Bileşik 16	2	4 / 5	4 / 5

Tez kapsamında çalışılan tüm reaksiyonlardan elde edilen bileşiklerin (Bileşik 1, Bileşik 2, Bileşik 3, Bileşik 4, Bileşik 5, Bileşik 6, Bileşik 7, Bileşik 8, Bileşik 9, Bileşik 10, Bileşik 11, Bileşik 12, Bileşik 13, Bileşik 14, Bileşik 15 ve Bileşik 16) analitik cihazlar ile yapılan (HPLC, FTIR ve UV-Vis.) incelemelerinden elde edilen spektrum ve kromatogramlar incelendiğinde (bknz Ek-1, Ek-2, Ek-3) ise HPLC kromatogramlarında reaksiyona giren hammaddelerden farklı alıkonma zamanlarında (RT) piklerin görülmesi yeni madde oluşumuna; UV-Vis. Spektrumlarında $\lambda = 330-500$ nm aralığında görülen tepe noktaları sarı-kahverengi tonlarındaki boyarmadde oluşumuna işaret etmektedir. İlgili maddelere ait FTIR spektrumları incelendiğinde ise ilk göze çarpan fenolik maddelerdeki $3200-3500 \text{ cm}^{-1}$ bandında beklenen gerilmelerinin gözlenmemesi buna karşılık olarak başlangıç maddelerinde olmayan ama lakkaz vastası

ile hidroksil (-OH) gruplarının yükseltgenmesi ile oluřtuđu dűřünűlen $1750-1580\text{ cm}^{-1}$ (C=O gerilmesi) ve 1145 cm^{-1} (C-O eđilmesi) piklerin gűrűlmesidir.

5.2. TARTIŞMA

Tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmalarda elde edilen sonuçlar bűtűnűyle değerlendirildiğinde enzimlerle boyarmadde űretiminin gerçekleştirebilecek olması heyecan vericidir. Bununla birlikte űncelikli olarak lakkaz reaksiyonlarının etki mekanizmalarının aydınlatılması, reaksiyon verimlerinin arttırılabilmesi için ideal reaksiyon Őartlarının belirlenmesi (pH, sıcaklık, konsantrasyon) , reaksiyon sonucunda elde edilen boyarmaddelerin başlangıç maddelerinden izole edilmesi için saflaştırma metodlarının geliştirilmesi (ters ozmoz ya da kolon kromatografisi gibi) , izole edilebilen enzimatik boyarmaddeler űzerinden yapı karakterizasyon testlerinin yapılması (NMR, MS, FTIR) , boyarmadde űzellikleri konusunda da ışık haslıklarının arttırılması, pamuk ve polyester elyafı boyayabilen boyarmaddelerin eldesi için derinlemesine çalışmalar yapılmalıdır.

Enzimlerle boyarmadde eldesi konusuna doktora kapsamında da devam edilmesi planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

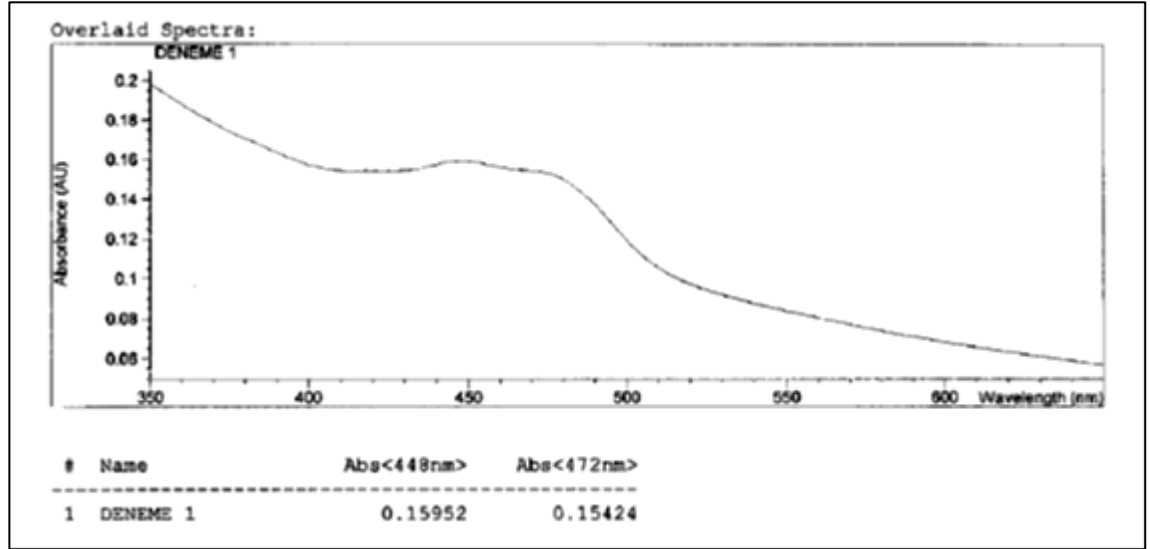
- [1]. Sanayi Genel Müdürlüğü, *Tekstil, Hazır Giyim, Deri ve Deri Ürünleri Sektörleri Raporu*, 2013
- [2]. Kurbanova, R., Mirzaoğlu, R., Ahmedova, G., Şeker, R., Özcan, E., 1998, *Boya ve Tekstil Kimyası ve Teknolojisi Ders Kitabı*, S.U. Fen-Edebiyat Fak. Yayınları, ISBN 975-448-132-6, No: 34, Konya.
- [3]. Tuncer, M., 2010, Lakkaz, Kısım: 2, *Potansiyel Endüstriyel ve Biyoteknolojik Uygulamaları, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 65-103.
- [4]. Başer, İ., İnanıcı Y., 1990, *Boyarmadde Kimyası*, Marmara Üniversitesi Yayın No: 482, İstanbul.
- [5]. Enez, N., 1987, *Doğal Boyamacılık*, Marmara Üniversitesi Yayın No: 449, İstanbul.
- [6]. Hunger, K., 2003, *Industrial Dyes; Chemistry, Properties, Applications*, Wiley-Vch, Weinheim.
- [7]. Topal, G., Çakmak, R., Çakmak, M., A. 2012, New Concept in Chemistry Teaching: Green Chemistry, *The Journal of Academic Social Science Studies*, Volume 5 Issue 8, p. 359-371.
- [8]. Gerçek, Z., 2012, Kimyanın Yeni Rengi: Yeşil Kimya, *Yükseköğretim ve Bilim Dergisi/Journal of Higher Education and Science* Cilt 2, Sayı 1, Sayfa 50-53.
- [9]. Tuncer, M., 2010, Lakkaz, Kısım:1, Yapısı, katalitik özellikleri ve dağılımları, *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19-63.
- [10]. Mayer, A.M., 1987, Polyphenol oxidases in plants-recent progress, *Phytochemistry*, 11-20.
- [11]. Solomon, E.I., Sundaram, U.M., Machonkin, T.E., 1996, Multicopper oxidases and oxygenases, *Chem. Rev.*, 96, 2563-2605.
- [12]. Bourbonnais, R., Paice, M.G., 1990, Oxidation of non-phenolic substrates: an expanded role of laccase in lignin biodegradation, *FEBS Lett.*, 267 99-102.
- [13]. Call, H.-P., Mücke, I., 1997, History, overview and applications of mediated ligninolytic systems, especially laccase-mediator-systems (Lignozymprocess), *J. Biotechnol.*, 53 163-202.

- [14]. Baiocco, P., Barreca, A.M., Fabbrini, M., Gali, C., Gentili, P., 2003, Promoting laccase activity towards non-phenolic substrates: a mechanistic investigation with some laccase-mediator systems, *Org. Biomol. Chem.*, 1 191–197.
- [15]. Camarero, S., Ibarra, D., Martinez, M.J., Martinez, A.T., 2005, Lignin-derived compounds as efficient laccase mediators for decolorization of different types of recalcitrant dyes, *Appl. Environ. Microbiol.*, 71 1775–1784.
- [16]. Niku-Paavola, K.E., Salola, P., Raunio, V., 1988, Lignolytic enzymes of the white rot fungus *Phlebia radiata*, *J. Biochem.*, 254 877–884.
- [17]. Rogalski, J., Lundell, T., Leonowicz, A., Hatakka, A., 1991, Production of laccase, lignin peroxidase and manganese-dependent peroxidase by various strains of *Trametes versicolor* depending on culture condition, *Acta Microbiol. Pol.*, 40 221–234.
- [18]. Eggert, C., Temp, U., Dean, J.F.D., Eriksson, K.E.L., 1996 The lignolytic system of white rot fungus *Pycnocarpus cinnabarinus*: purification and characterization of the laccase, *Appl. Environ. Microbiol.*, 62 1151–1158.
- [19]. Chefetz, B., Chen, Y., Hadaar, Y., 1998, Purification and characterization of laccase from *Chaetomium thermophilum* and its role in humification, *Appl. Environ. Microbiol.*, 64 3175–3179.
- [20]. Schneider, P., Caspersen, M.B., Mondorf, K., Halkier, T., Skov, L.K., Ostergaard, P.R., Brown, K.M., Brown, S.H., Xu, F., 1999, Characterization of a *Coprinus cinereus* laccase, *Enzyme Microbiol. Technol.*, 25 502–508.
- [21]. Givaudan, A., Effosse, A., Faure, D., Potier, P., Bouillant, M.L., Bally, R., 1993, Polyphenol oxidase in *Azospirillum lipoferum* isolated from rice rhizosphere: evidence for laccase activity in nonmotile strains of *Azospirillum lipoferum*, *FEMS Microbiol. Lett.*, 108 205–210.
- [22]. Faure, D., Bouillant, M.-L., Bally, R., 1995, Comparative study of substrates and inhibitors of *Azospirillum lipoferum* and *Pyricularia oryzae* laccase, *Appl. Environ. Microbiol.*, 61 1144–1146.
- [23]. Gianfreda, L., Xu, F. ve Bollag, J., (1999). Laccase: A useful Group of oxidoreductive enzymes. *Biorem. J.* 3, 1-25.
- [24]. 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, pp. 855-858.
- [25]. Ikeda, R., Sugihara, J., Uyama, H., Kobayashi, S., 1996, *Macromolecules*, 29, 8702.
- [26]. Setti L., Giuliani S., Spinuzzi G., Pifferi PG., (1999) , Laccase catalyzed oxidative coupling of 3-methyl 2-benzothiazolinone hydrazone and methoxyphenols, *Enzyme Microb. Tech.* 25: 285-289.

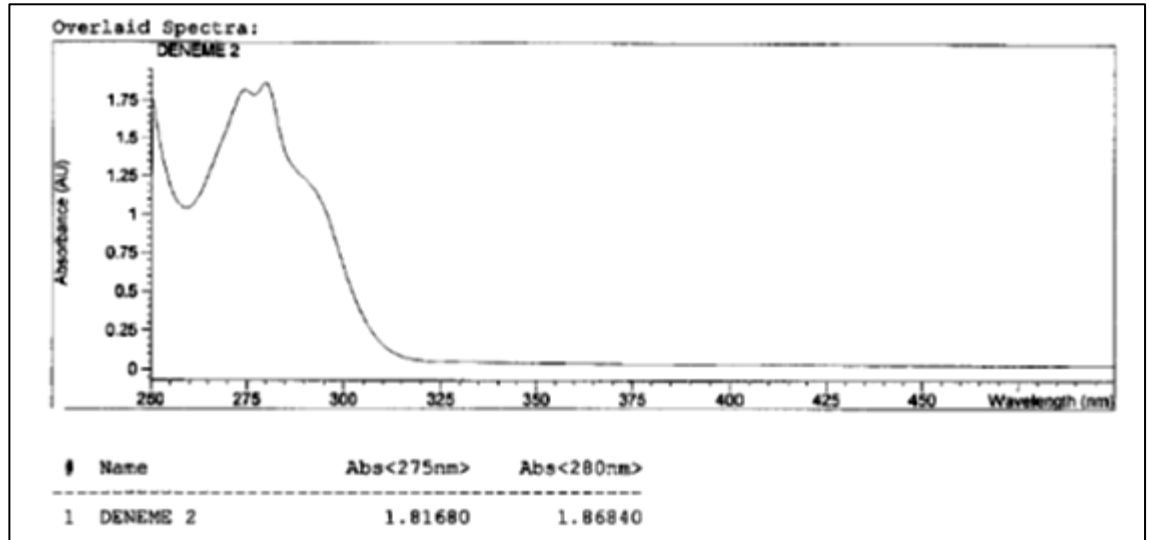
- [27]. Mustafa R., Muniglia L., Rovel B., Girardin M., (2005), Phenolic colorants obtained by enzymatic synthesis using a fungal laccase in a hydroorganic biphasic system, *Food Res. Int.* 38: 995-1000.
- [28]. Mikolasch, A., (2002) Synthesis of 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-propionic acid derivatives by N-coupling of amines using laccase, *Tetrahedron* 58, 7589–7593.
- [29]. Intra, A., (2005), Significant and unexpected solvent influence on the selectivity of laccase-catalyzed coupling of tetrahydro-2-naphthol derivatives, *Adv. Synth. Catal.* 347, 973–977.
- [30]. Camarero, S., Canas, A.I., Nousiainen, P., Record, E., Lomancolo., A., Martinez., M.J., and Martinez, A.T., (2008) p-Hydroxycinnamic acids as natural mediators for laccase oxidation of recalcitrant compounds. *Environ Sci Technol* 42: 6703–6709.
- [31]. Enaud E., M. Trovaslet., F. Bruyneel., L. Billottet., R. Karaaslan., P. Coppens., A. Casas, I.J. Jaeger, C. Hafner, R.C.A. Onderwater, A.M. Corbisier, J. Marchand-Brynaert and S. Vanhulle, 2008, *submitted to Dyes and Pigments*.
- [32]. Trovaslet M., Enaud E., Y. Guiavarc'h, A.M. Corbisier and S. Vanhulle., 2007, *Enzyme Microb. Technol.* 41, 368.
- [33]. Vanhulle S., E. Enaud, M. Trovaslet, N. Nouaimeh, C.M. Bols, T. Keshavarz, T. Tron, G. Sannia and A.M. Corbisier, 2007a, *Enzyme Microb. Technol.* 40, 1723.
- [34]. Vanhulle S., M. Trovaslet, E. Enaud, M. Lucas, S. Taghavi, D. van der Lelie, B. Van Aken, M. Foret, R.C.A. Onderwater, D. Wesenberg, S.N. Agathos, Y.J. Schneider and A.M. Corbisier, 2007b, *Environ. Sci. Technol.* doi : 10.1021/es071300k.
- [35]. Vanhulle S., E. Enaud, M. Trovaslet, L. Billottet, L. Kneipe, J.L. Habib Jiwan, A.M. Corbisier and J. Marchand-Brynaert, 2008, *Chemosphere* 70(6), 1097.
- [36]. İstanbul Sanayi Odası, 2015, *Kimyasallar ve Kimyasal Ürünler İmalatı 2014 Sektör Raporu*, Sayfa 38-39.

EKLER

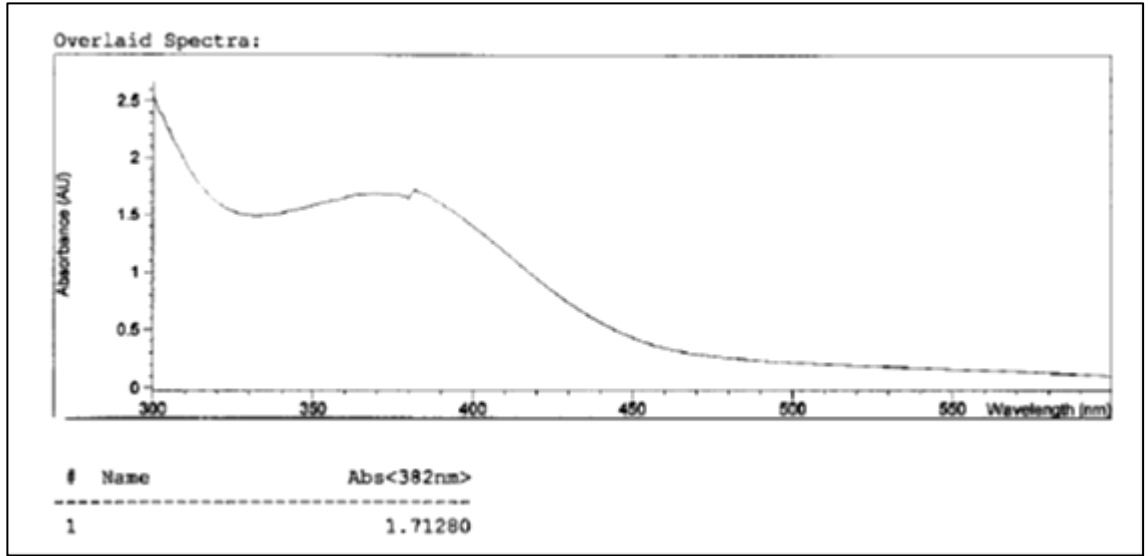
EK 1. UV-VİSİBLE SPEKTROFOTOMETRE İLE YAPI KONTROLÜ



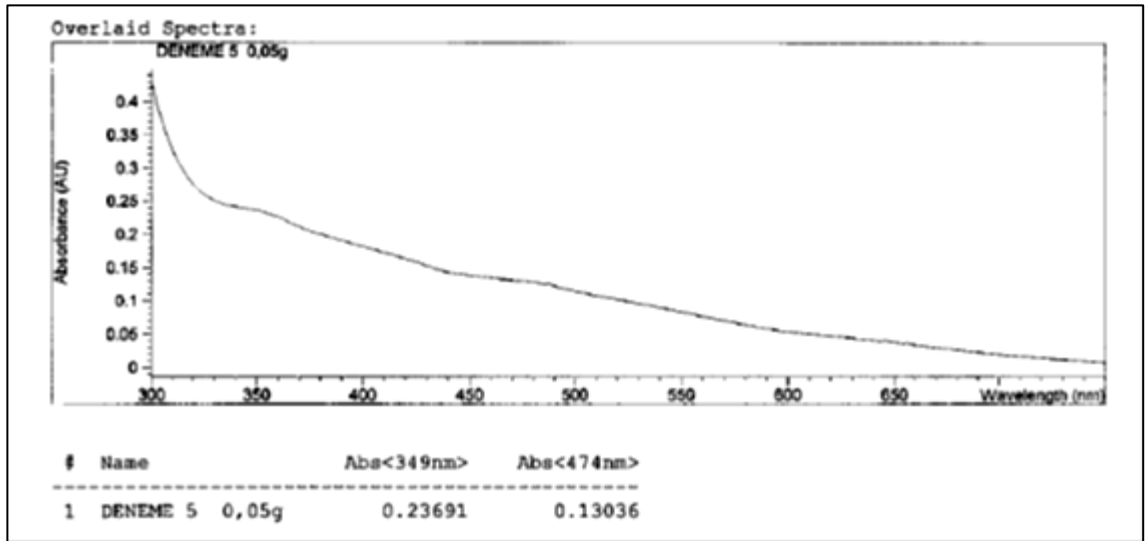
Şekil EK.1.1: Bileşik 1 UV-Vis spektrumu.



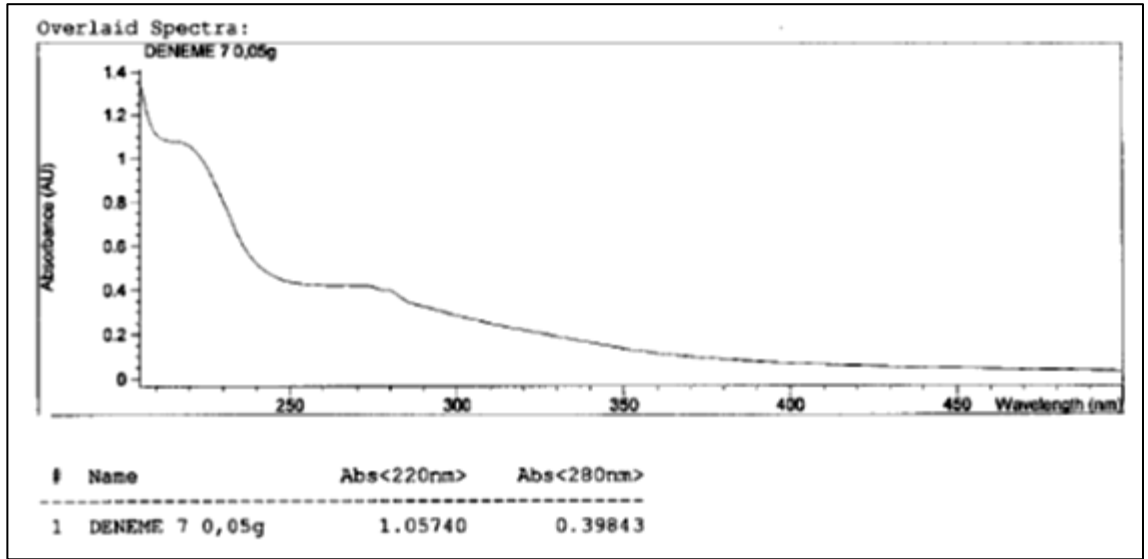
Şekil EK.1.2: Bileşik 2 UV-Vis spektrumu.



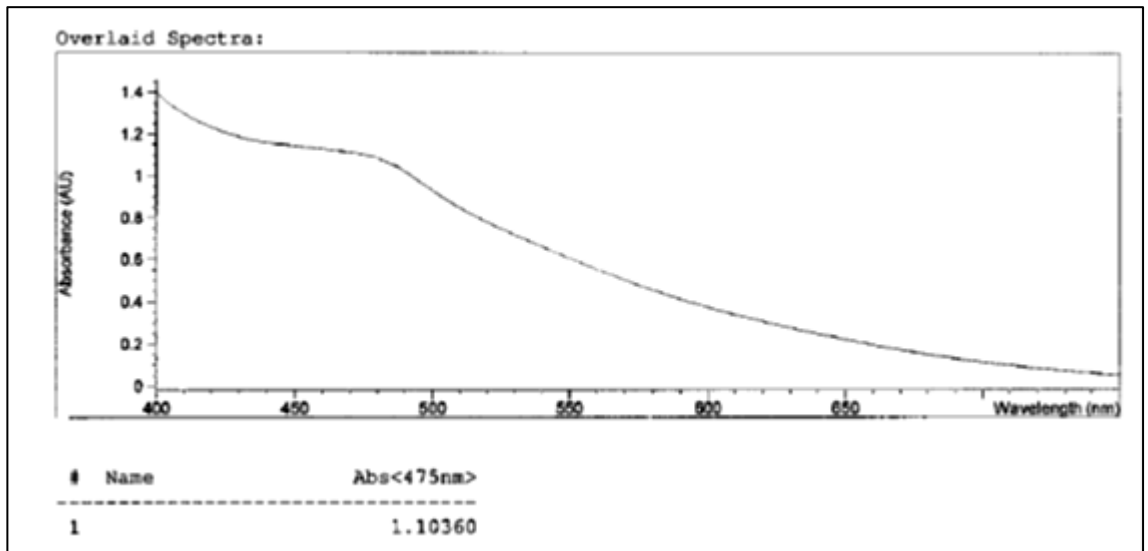
Şekil EK.1.3: Bileşik 3 UV-Vis spektrumu.



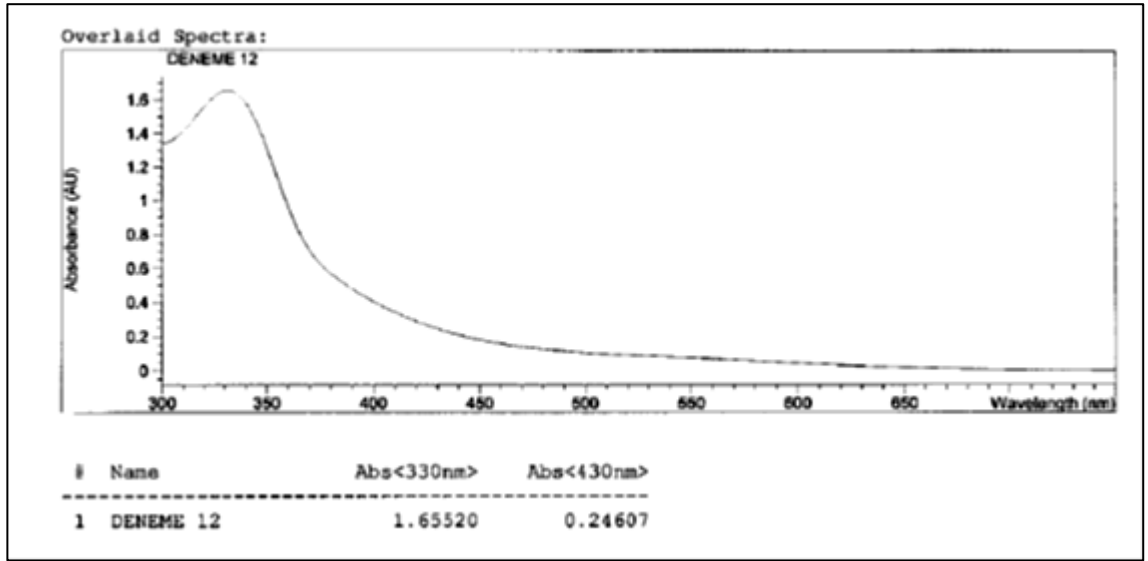
Şekil EK.1.4: Bileşik 4 UV-Vis spektrumu.



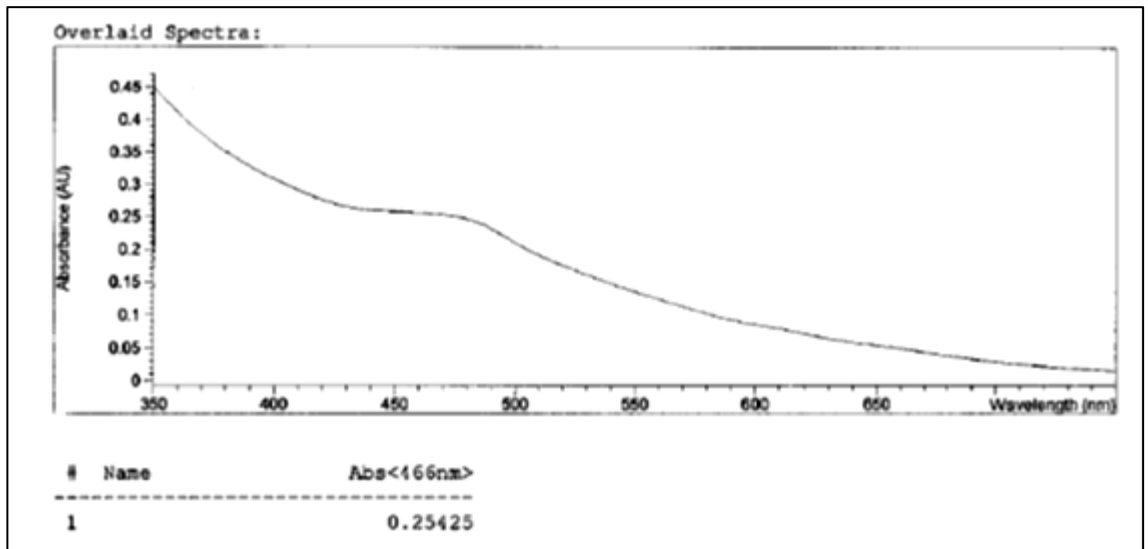
Şekil EK.1.5: Bileşik 5 UV-Vis spektrumu.



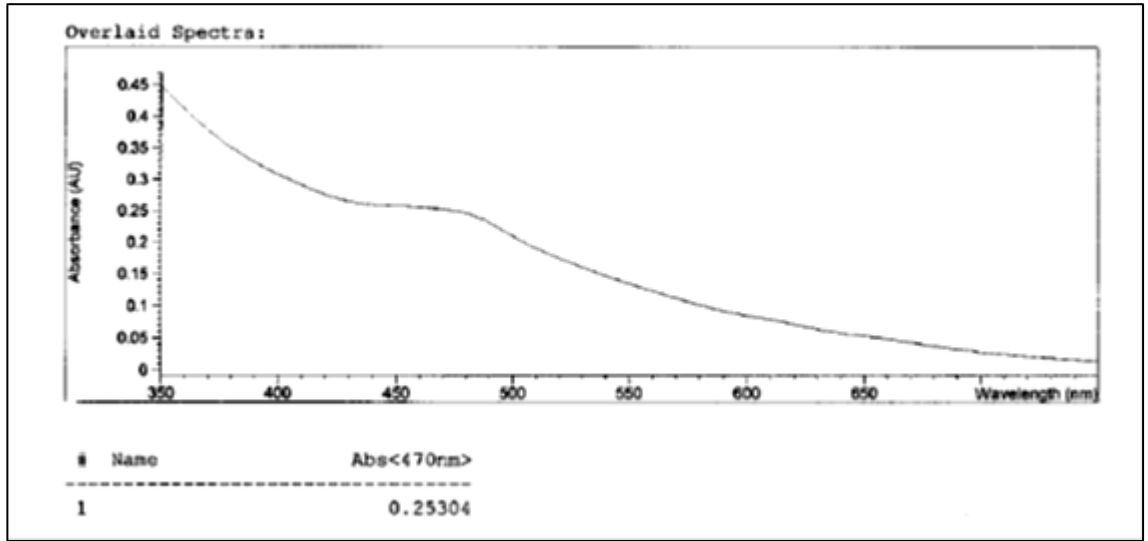
Şekil EK.1.6: Bileşik 6 UV-Vis spektrumu



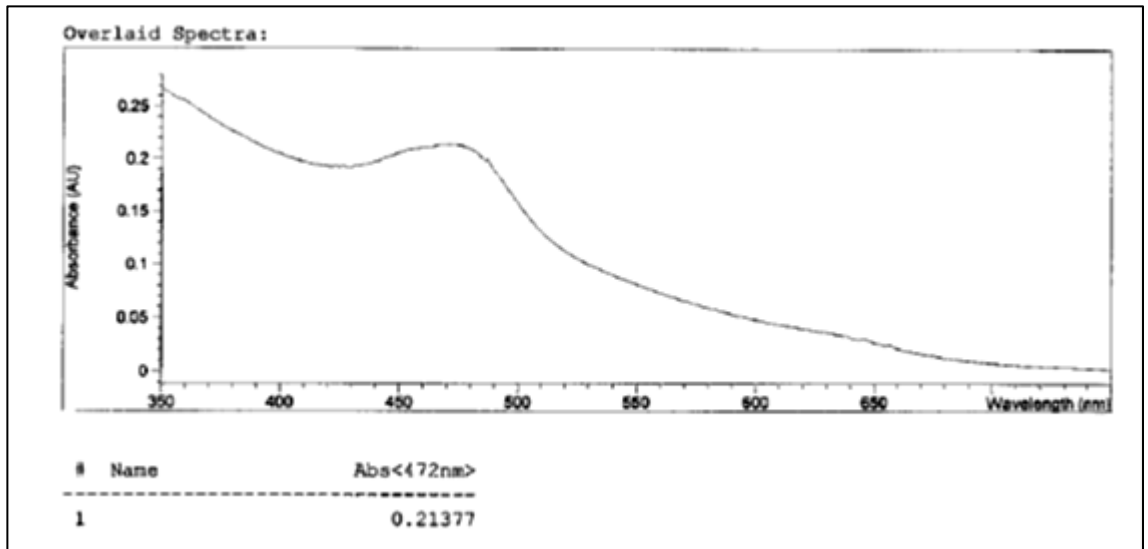
Şekil EK.1.7: Bileşik 7 UV-Vis spektrumu.



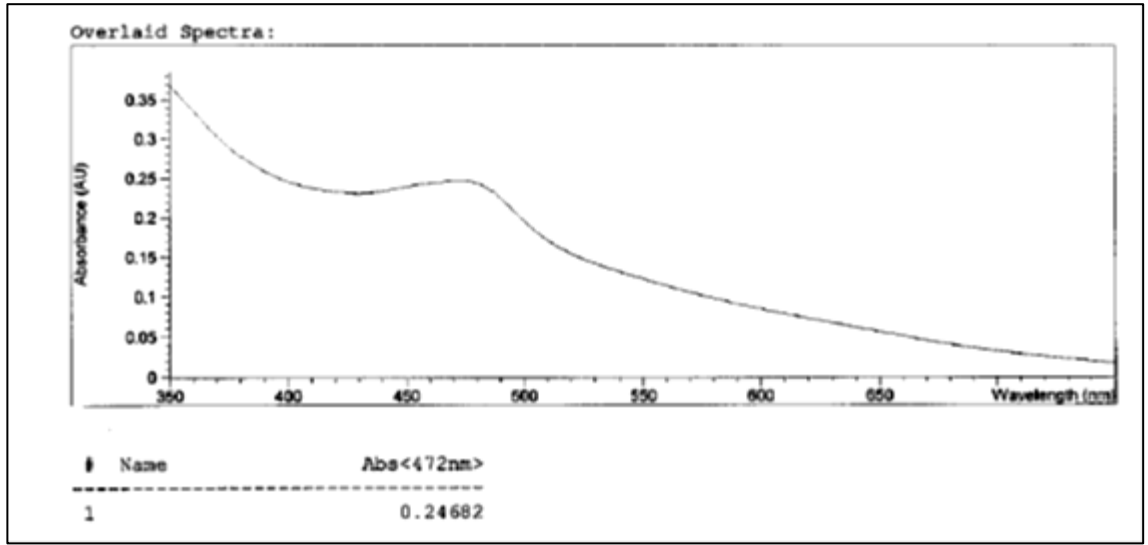
Şekil EK.1.8: Bileşik 8 UV-Vis spektrumu.



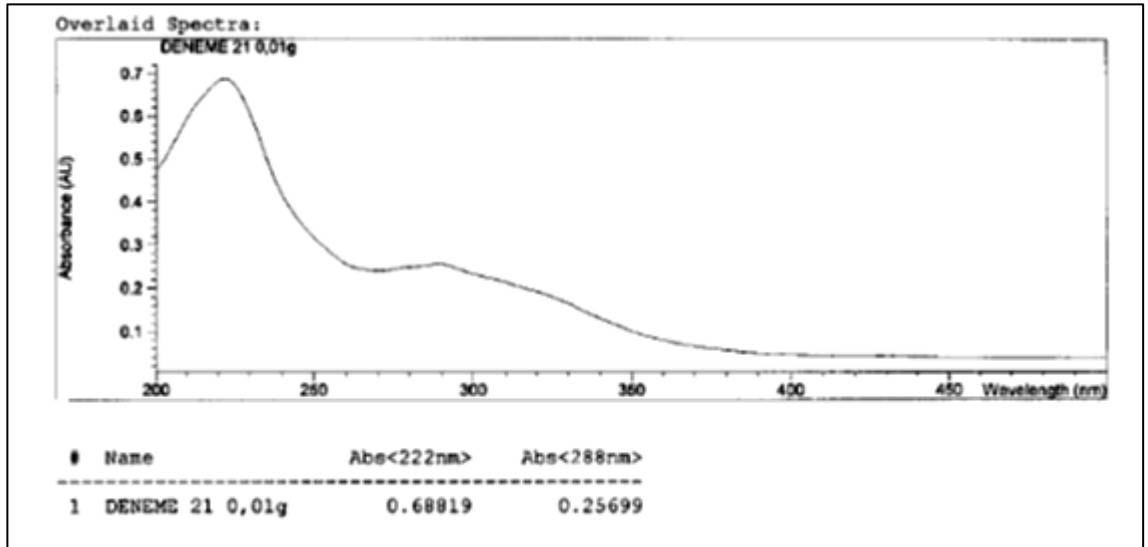
Şekil EK.1.9: Bileşik 9 UV-Vis spektrumu.



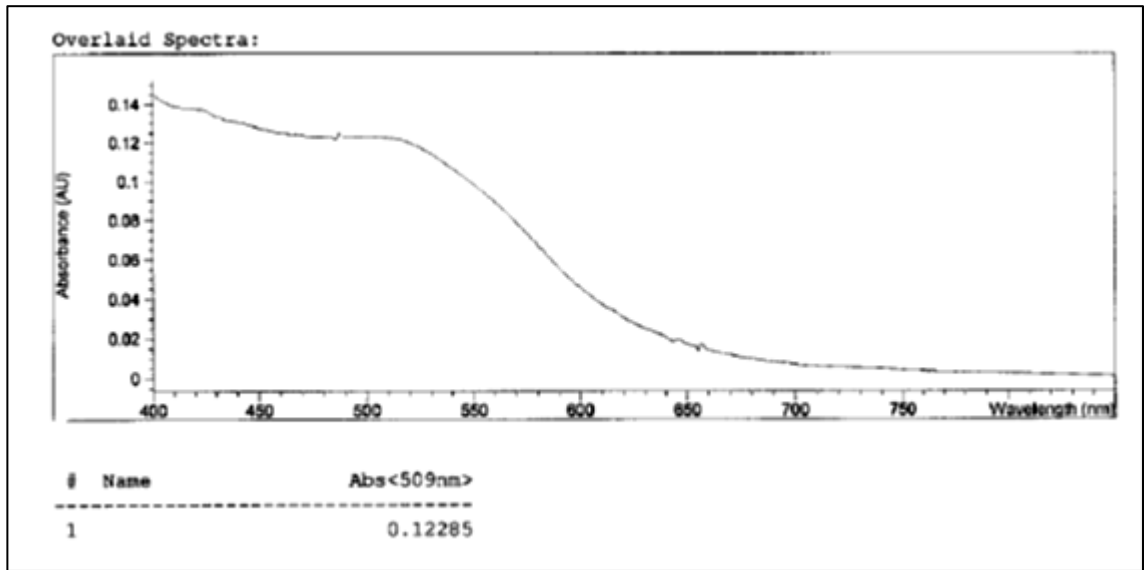
Şekil EK.1.10: Bileşik 10 UV-Vis spektrumu.



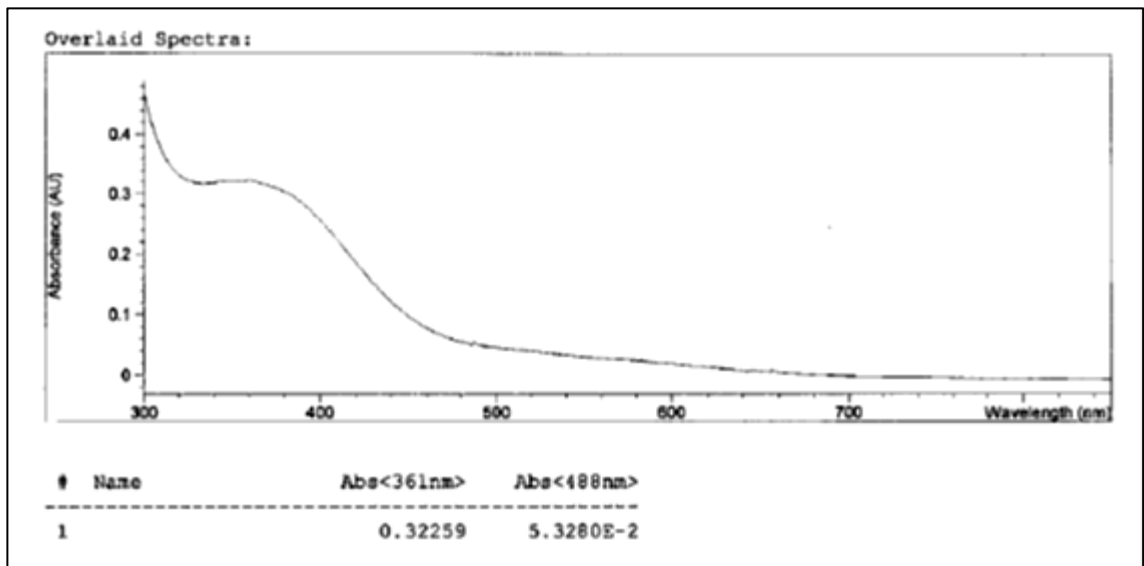
Şekil EK.1.11: Bileşik 11 UV-Vis spektrumu.



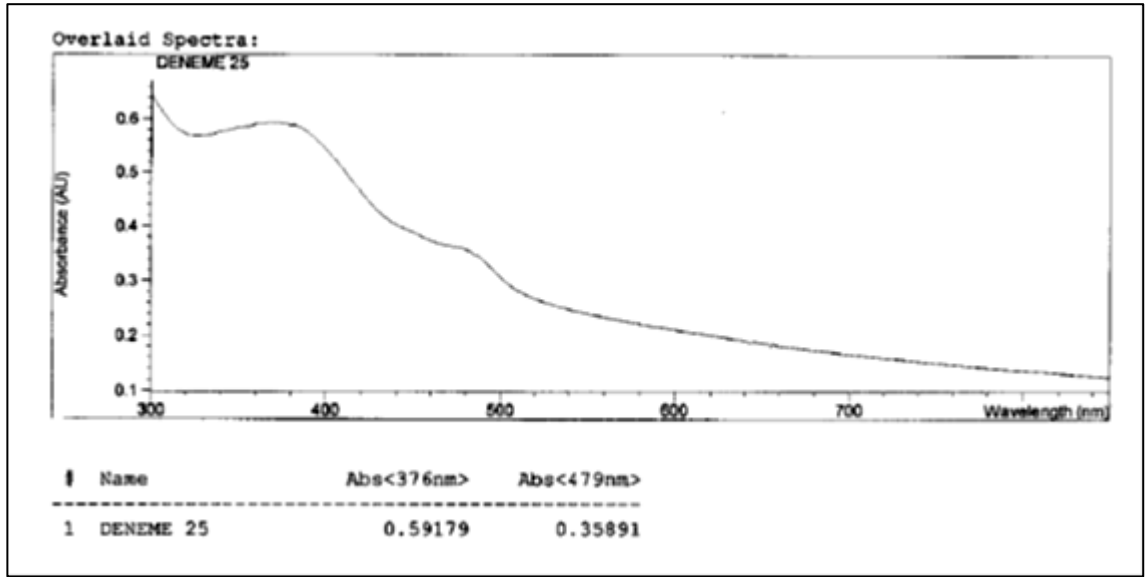
Şekil EK.1.12: Bileşik 12 UV-Vis spektrumu.



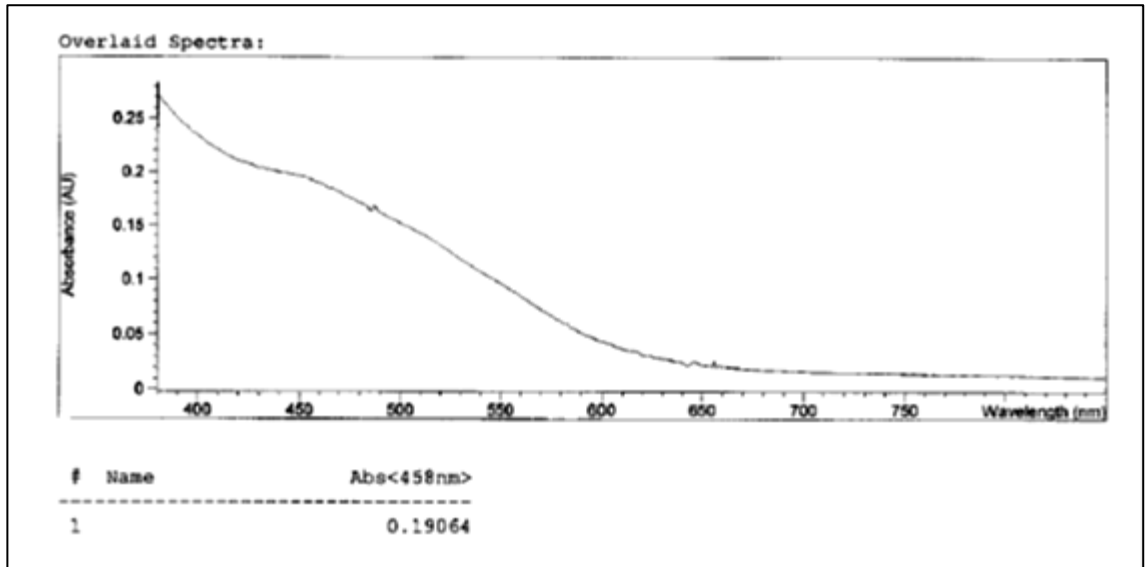
Şekil EK.1.13: Bileşik 13 UV-Vis spektrumu.



Şekil EK.1.14: Bileşik 14 UV-Vis spektrumu.

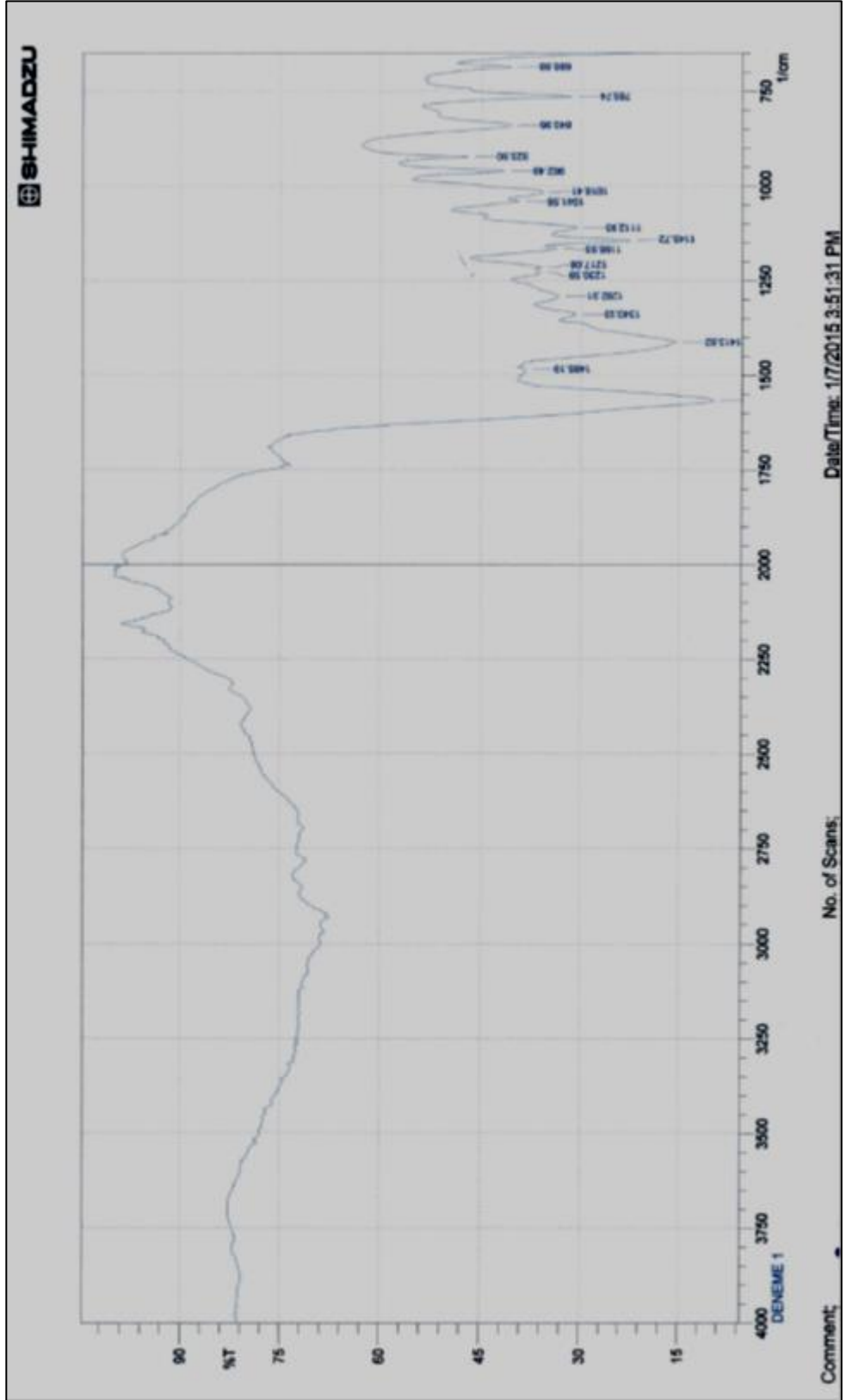


Şekil EK.1.15: Bileşik 15 UV-Vis spektrumu.

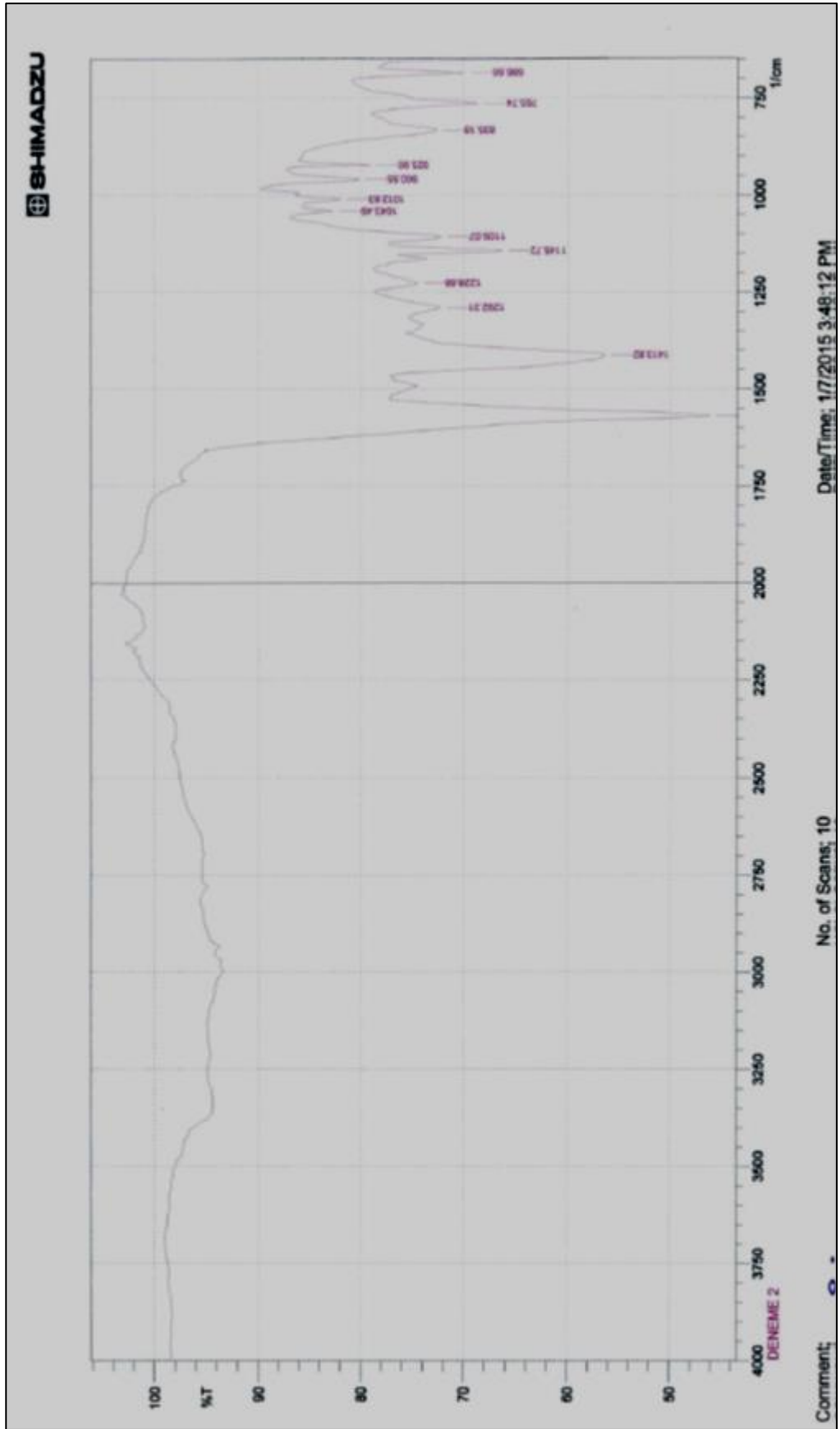


Şekil EK.1.16: Bileşik 16 UV-Vis spektrumu.

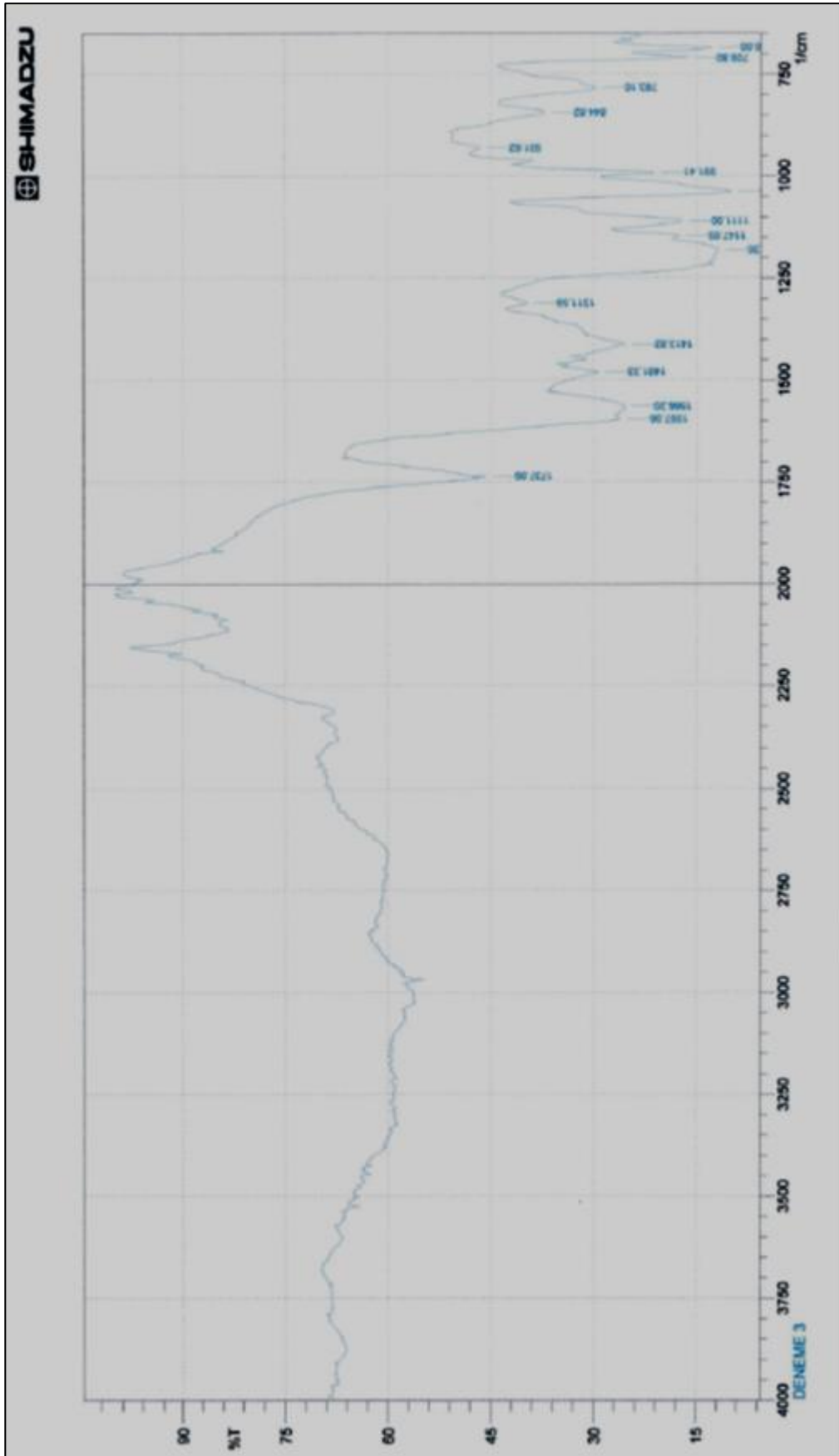
EK 2. FT-IR SPEKTROFOTOMETRE İLE YAPI KONTROLÜ



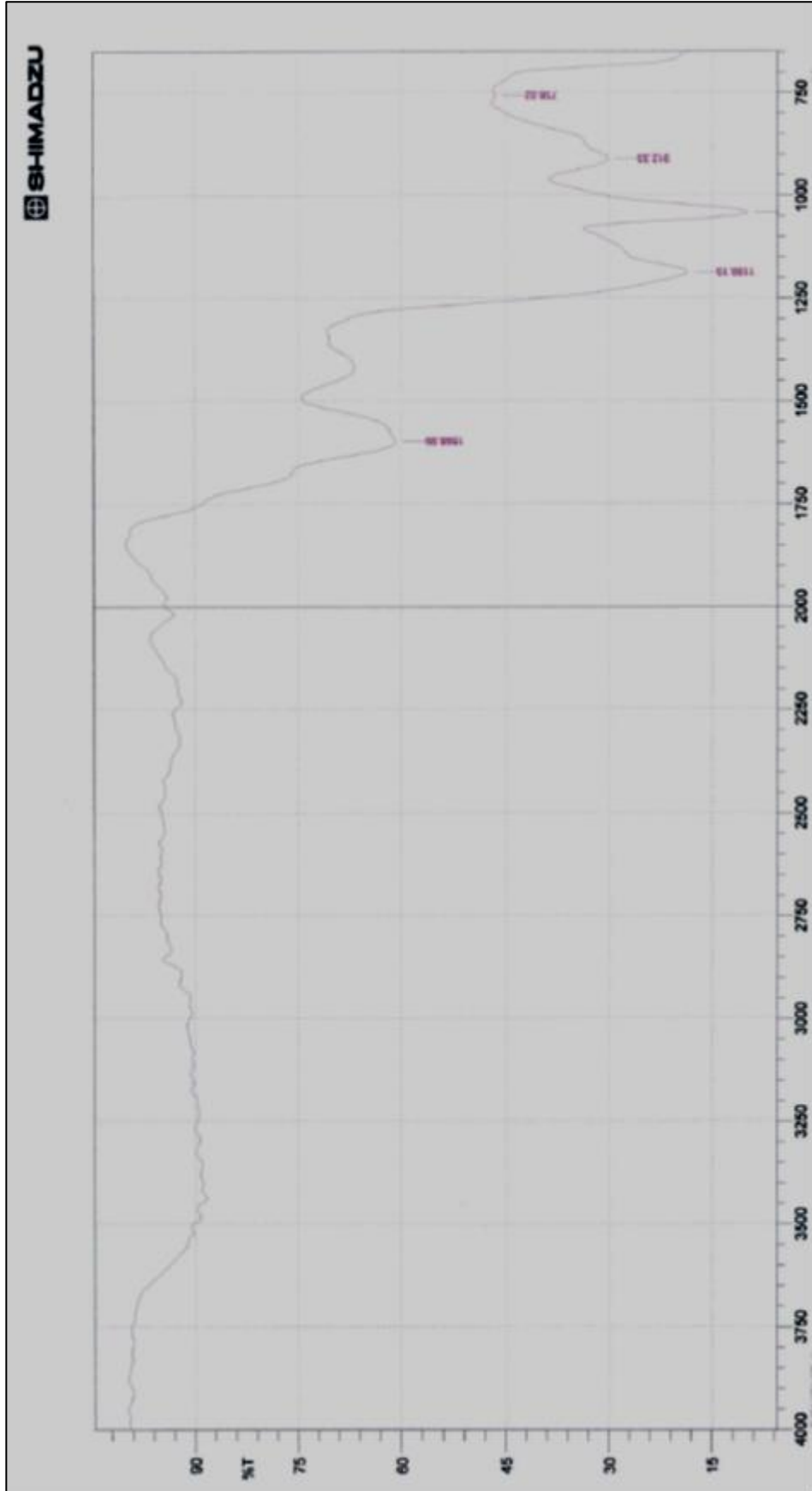
Şekil EK.2.1: Bileşik 1 FT-IR spektrumu.



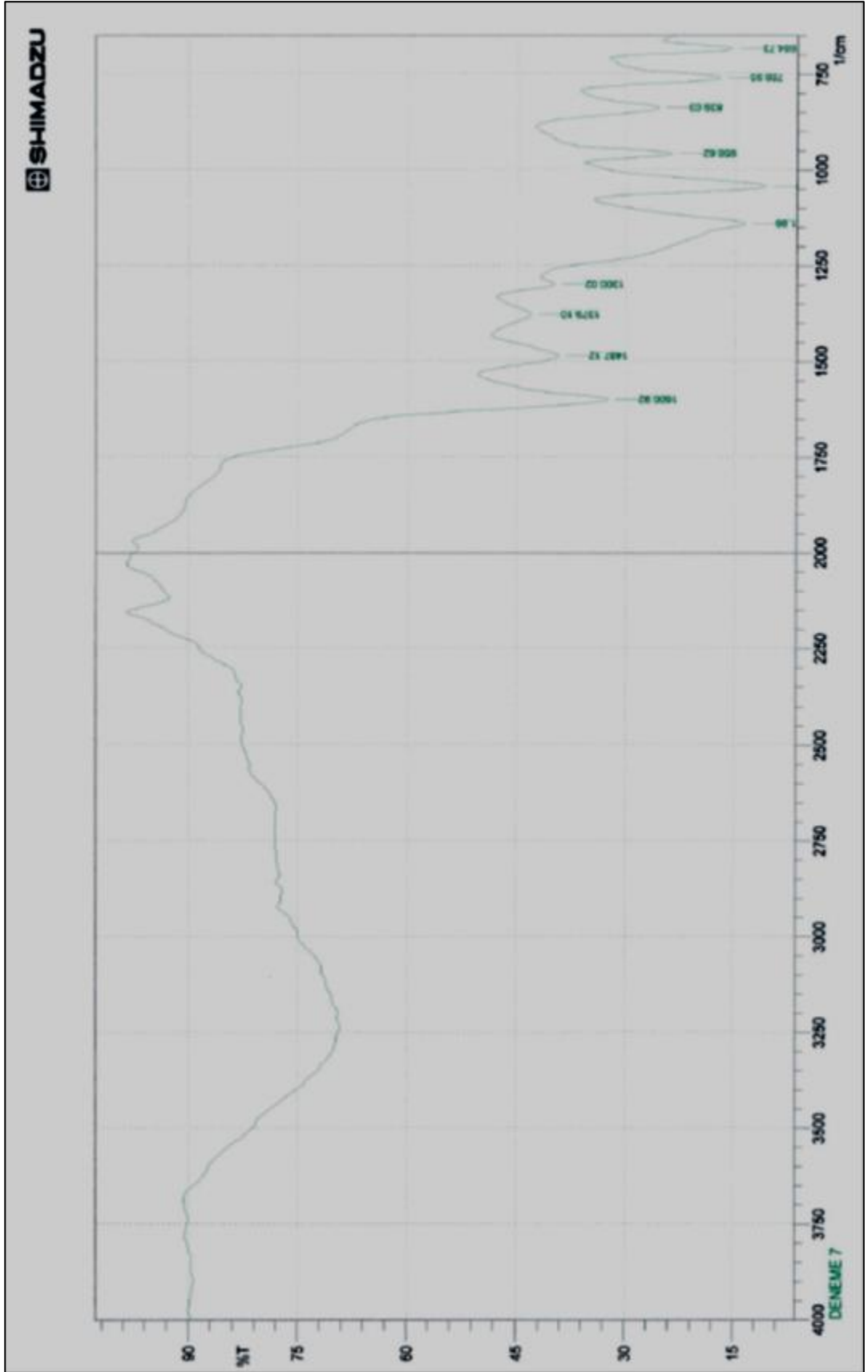
Şekil EK.2.2: Bileşik 2 FT-IR spektrumu.



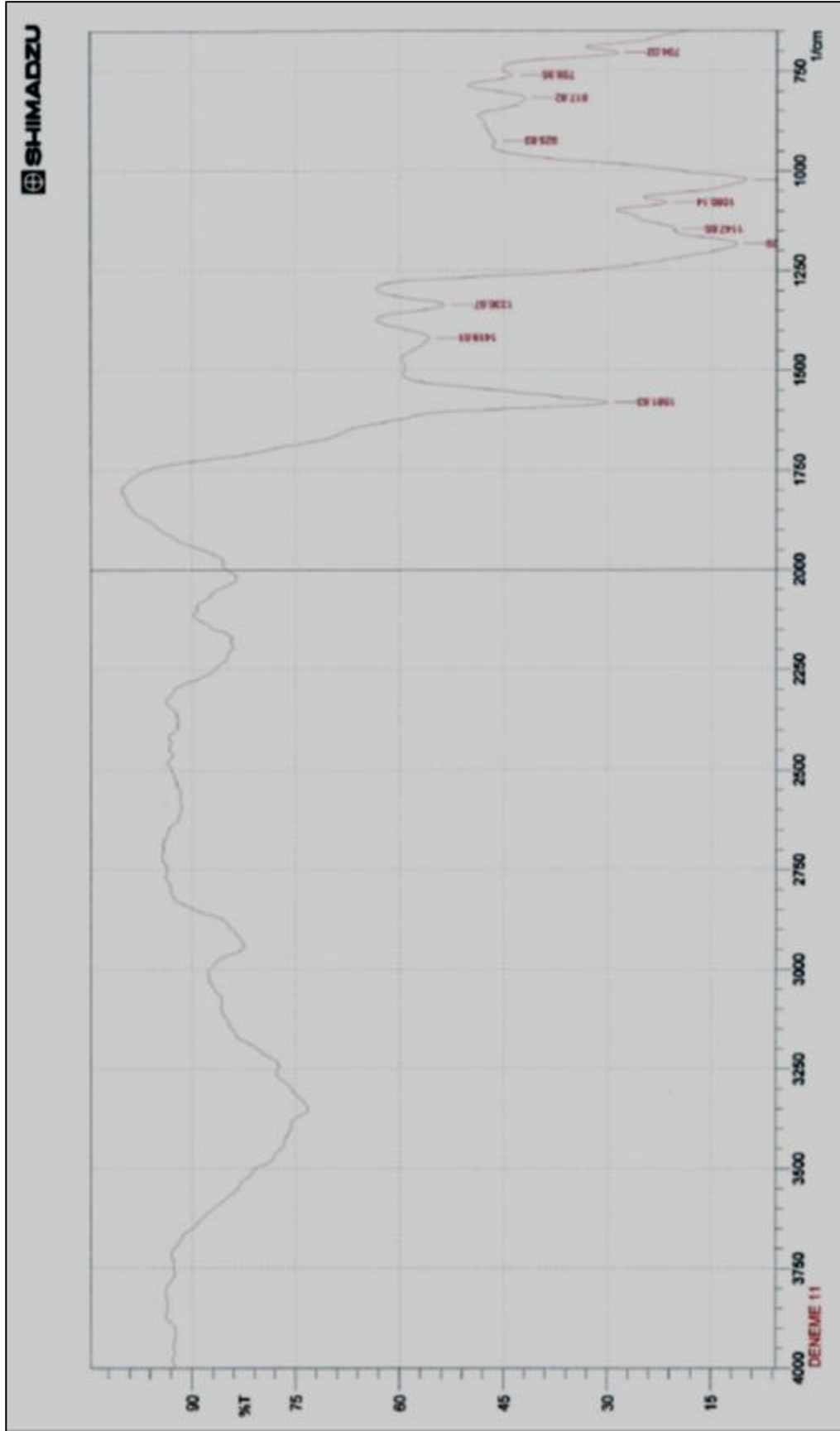
Şekil EK.2.3: Bileşik 3 FT-IR spektrumu.



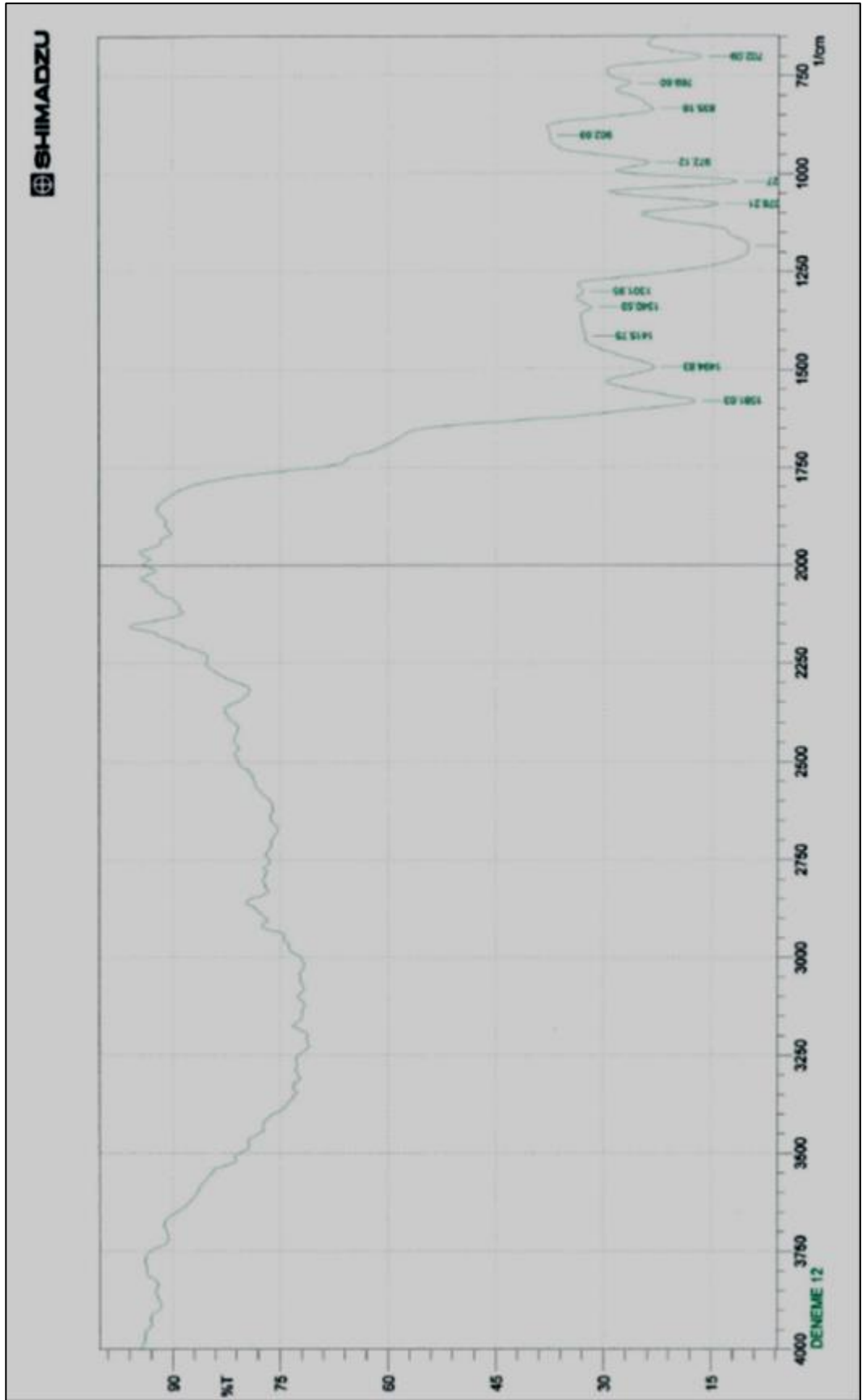
Şekil EK.2.4: Bileşik 4 FT-IR spektrumu.



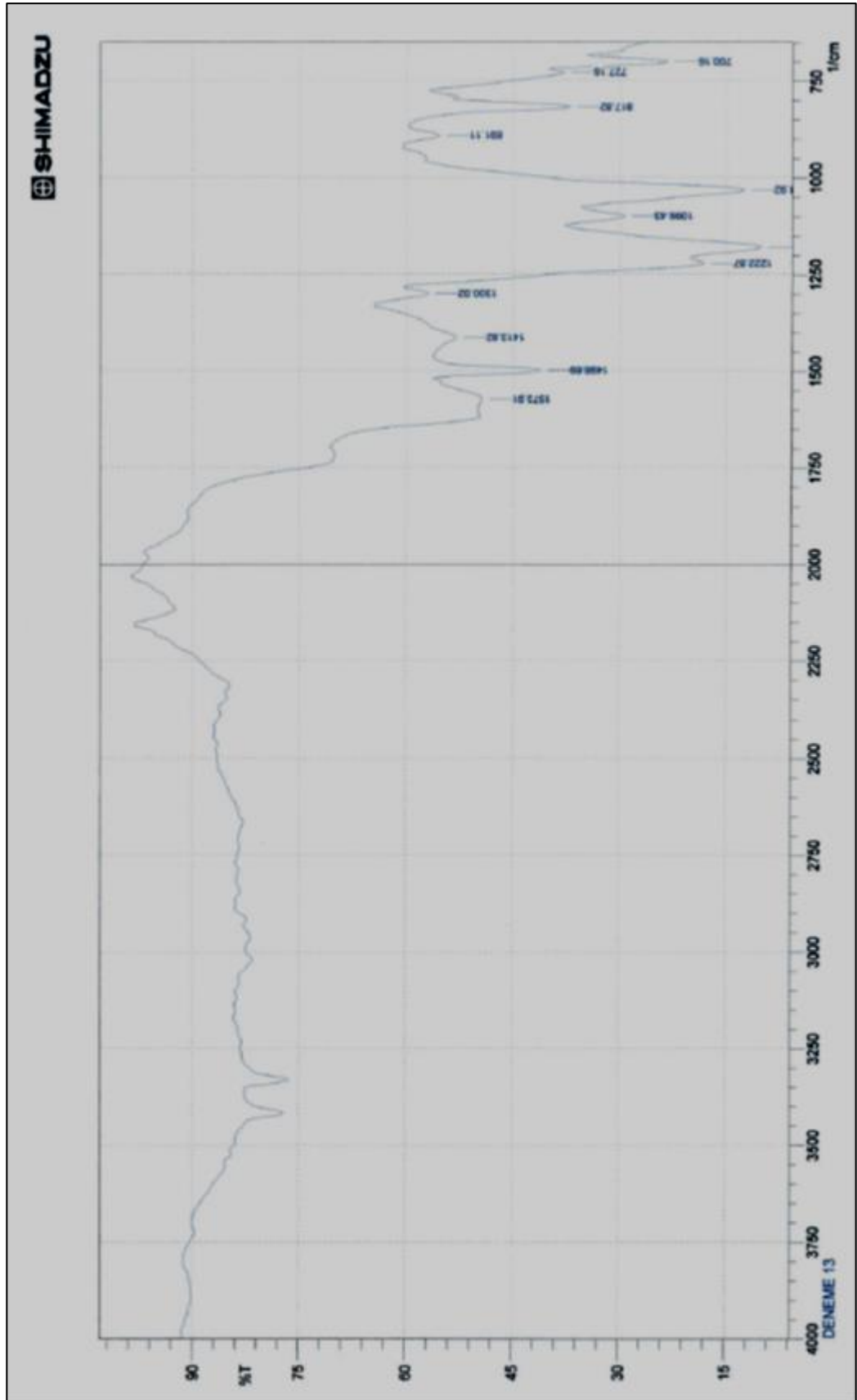
Şekil EK.2.5: Bileşik 5 FT-IR spektrumu.



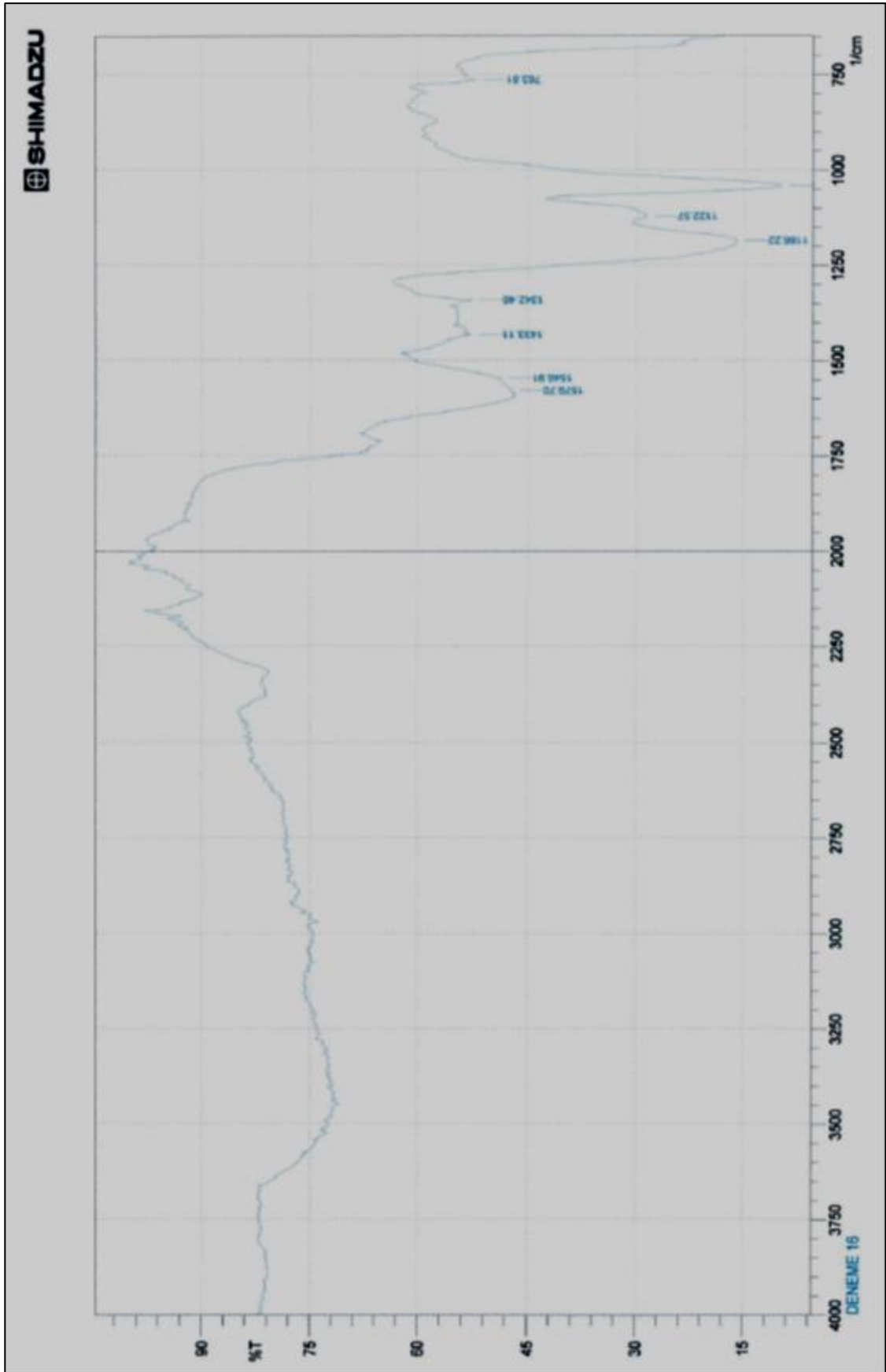
Şekil EK.2.6: Bileşik 6 FT-IR spektrumu.



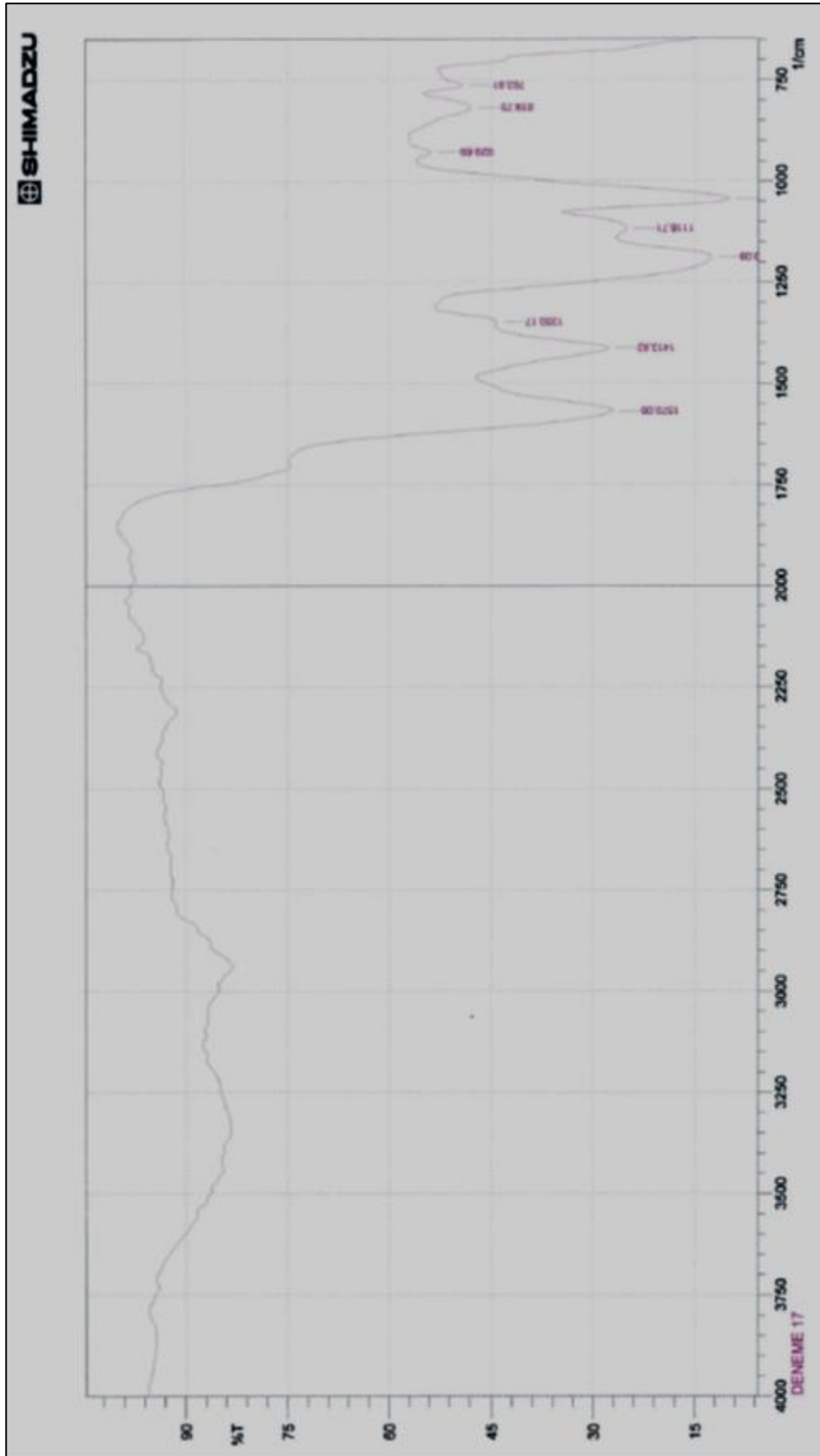
Şekil EK.2.7: Bileşik 7 FT-IR spektrumu.



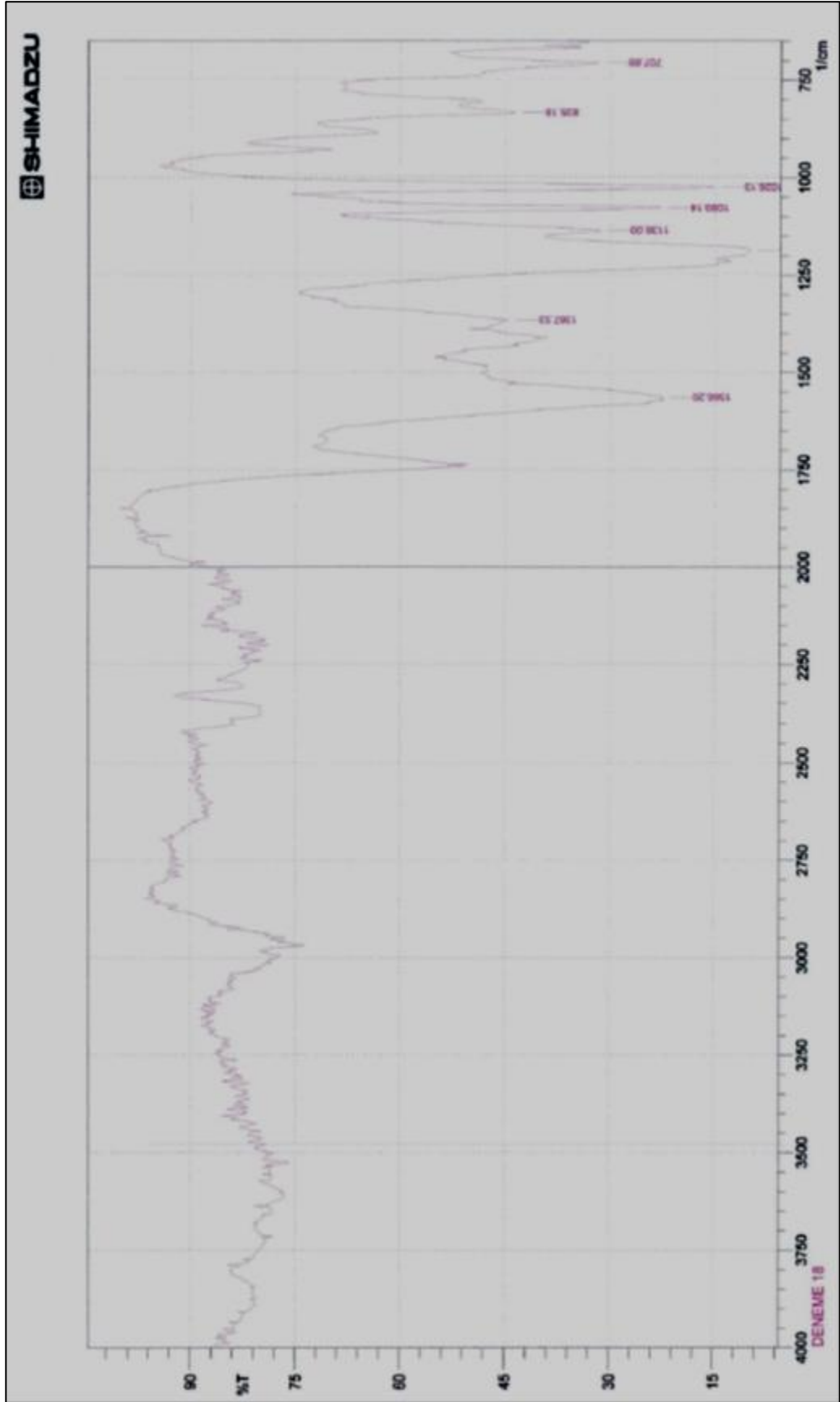
Şekil EK.2.8: Bileşik 8 FT-IR spektrumu.



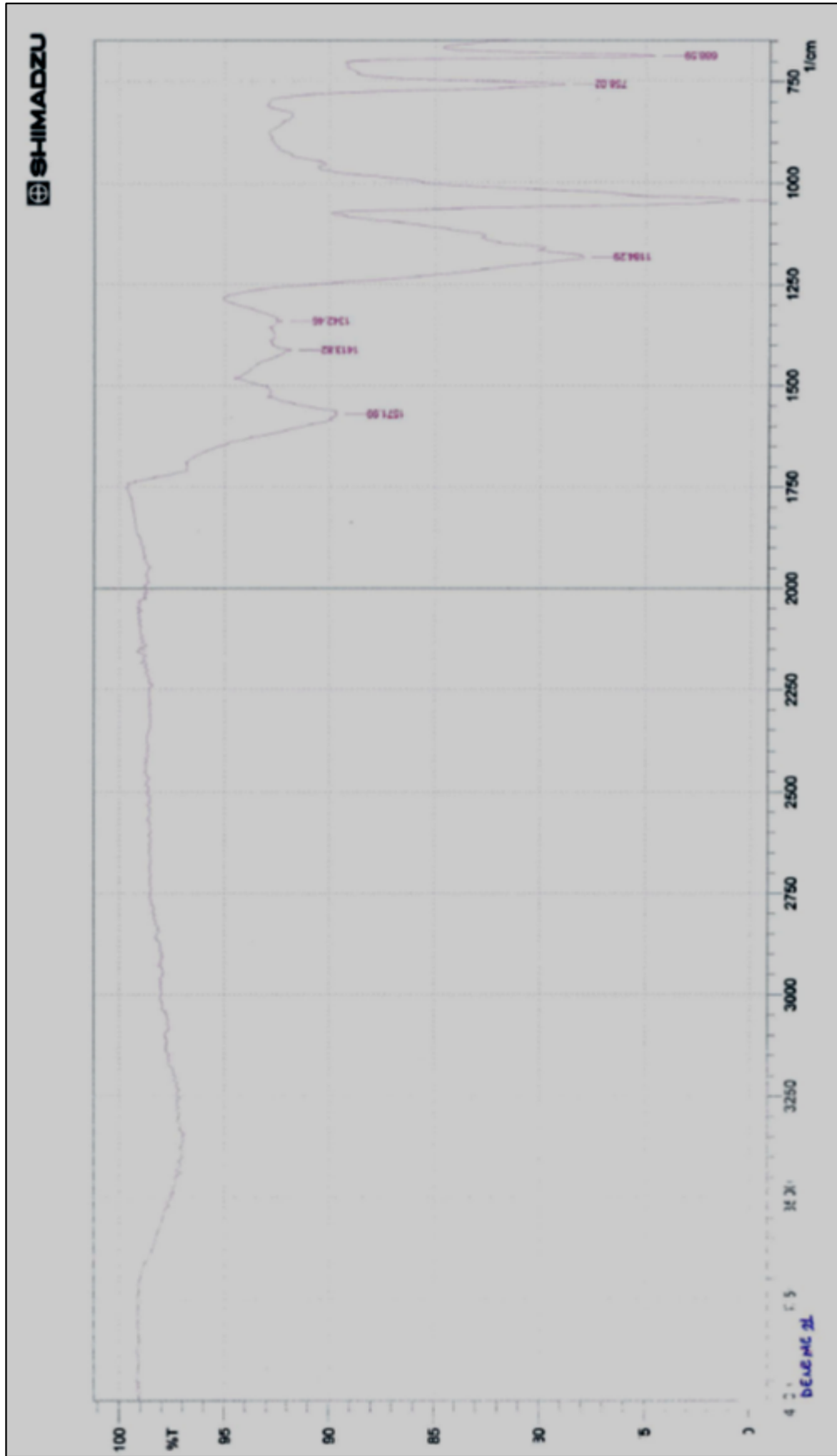
Şekil EK.2.9: Bileşik 9 FT-IR spektrumu.



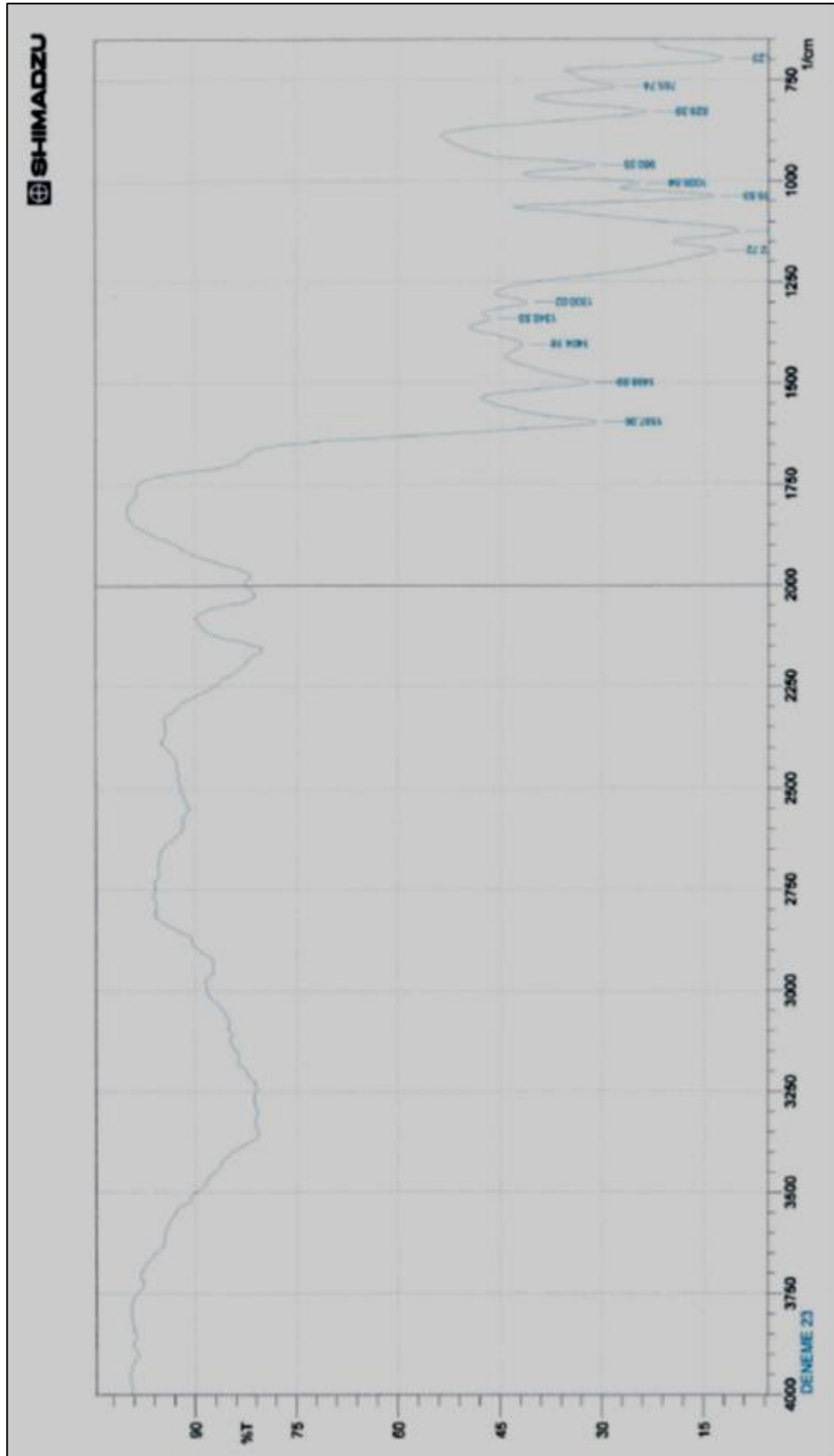
Şekil EK.2.10: Bileşik 10 FT-IR spektrumu.



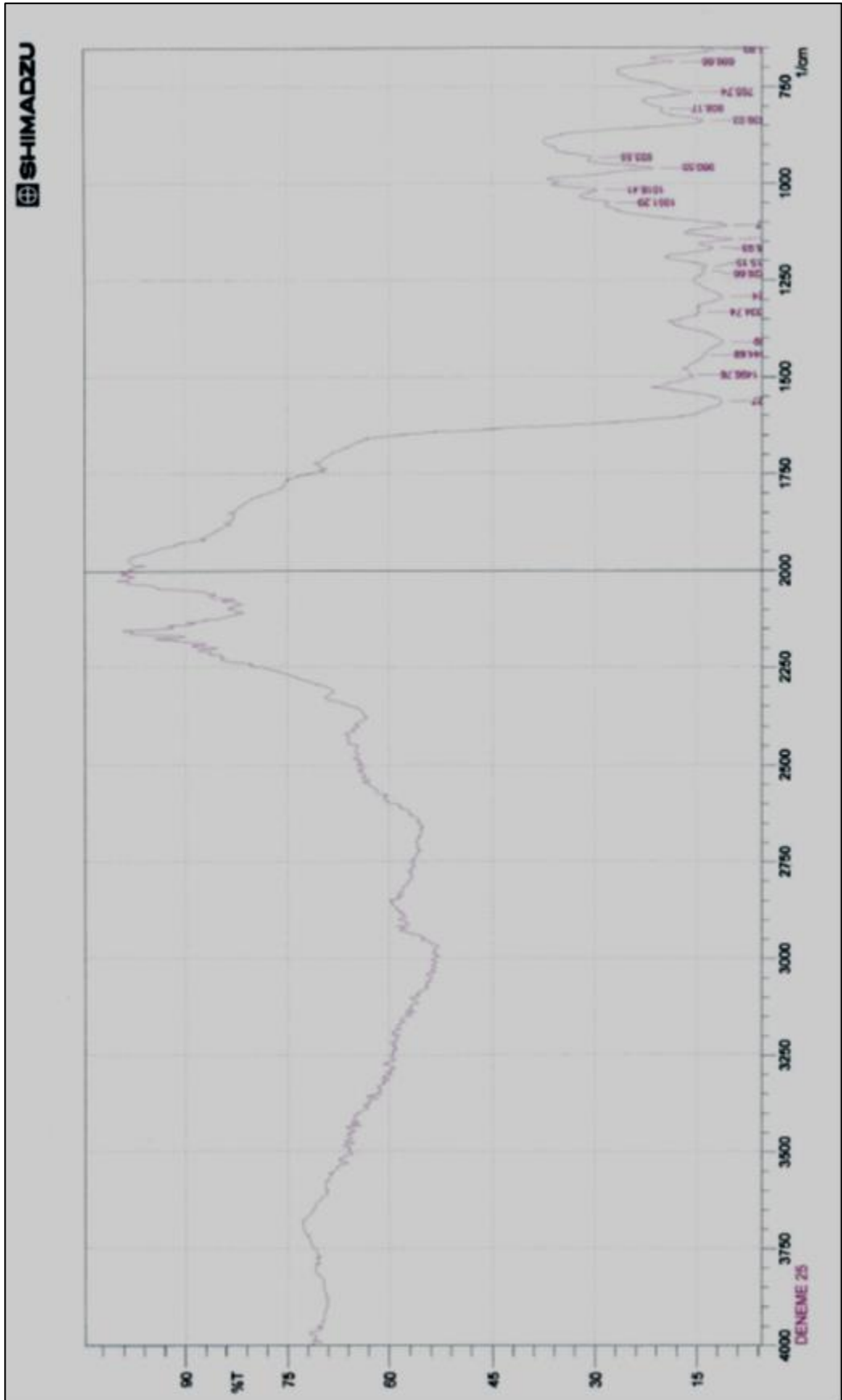
Şekil EK.2.11: Bileşik 11 FT-IR spektrumu.



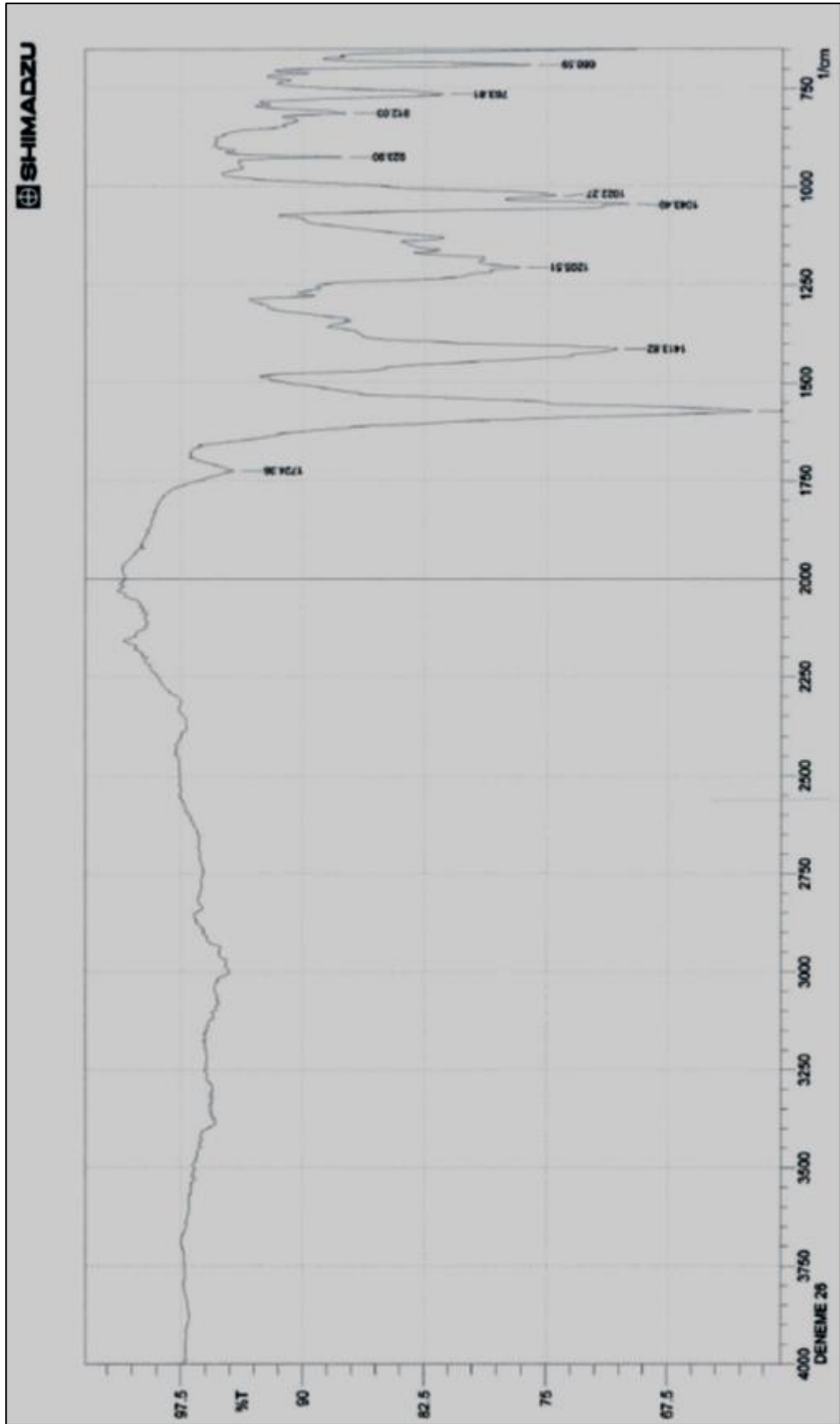
Şekil EK.2.12: Bileşik 12 FT-IR spektrumu.



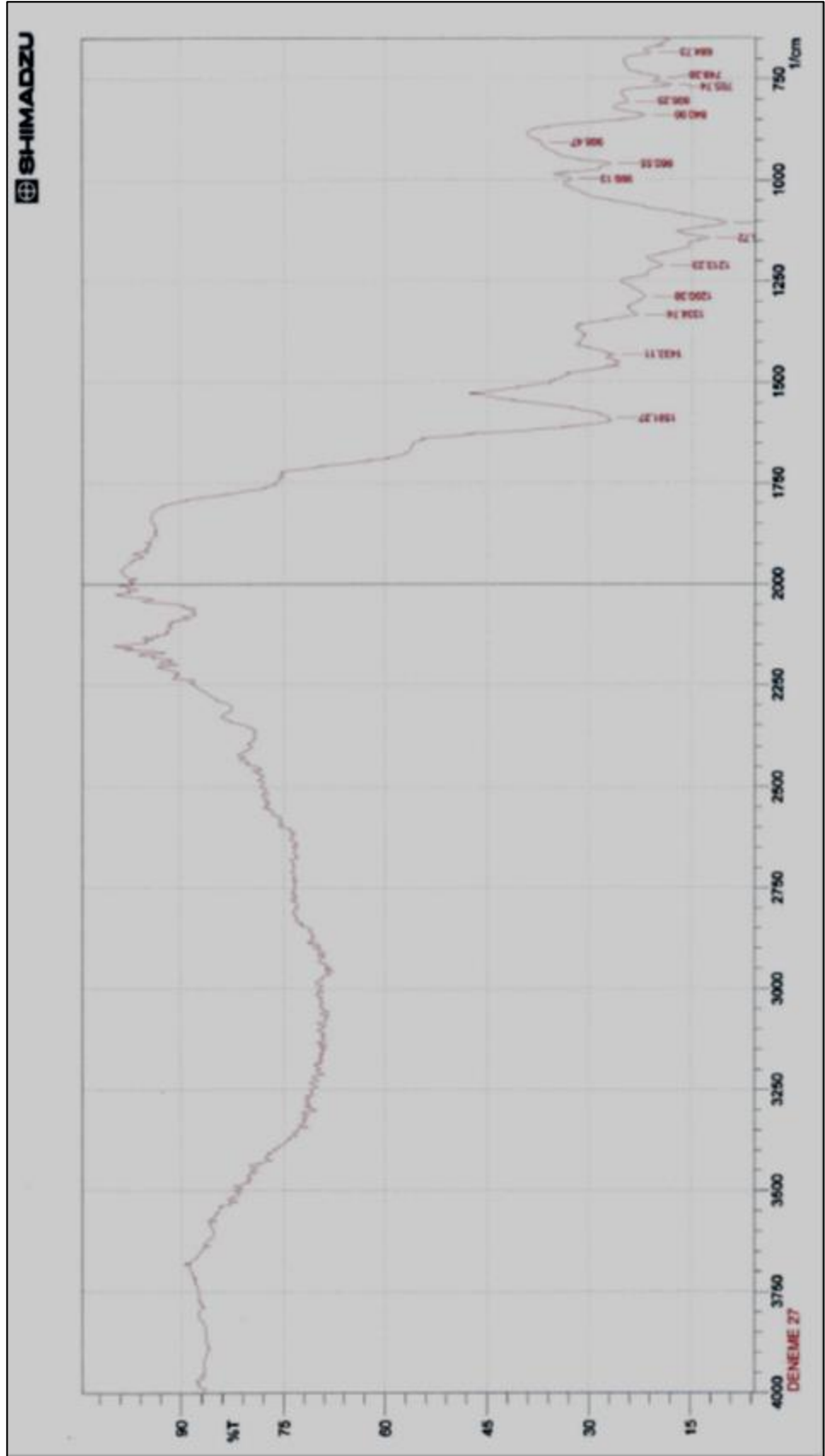
Şekil EK.2.13: Bileşik 13 FT-IR spektrumu.



Şekil EK.2.14: Bileşik 14 FT-IR spektrumu.

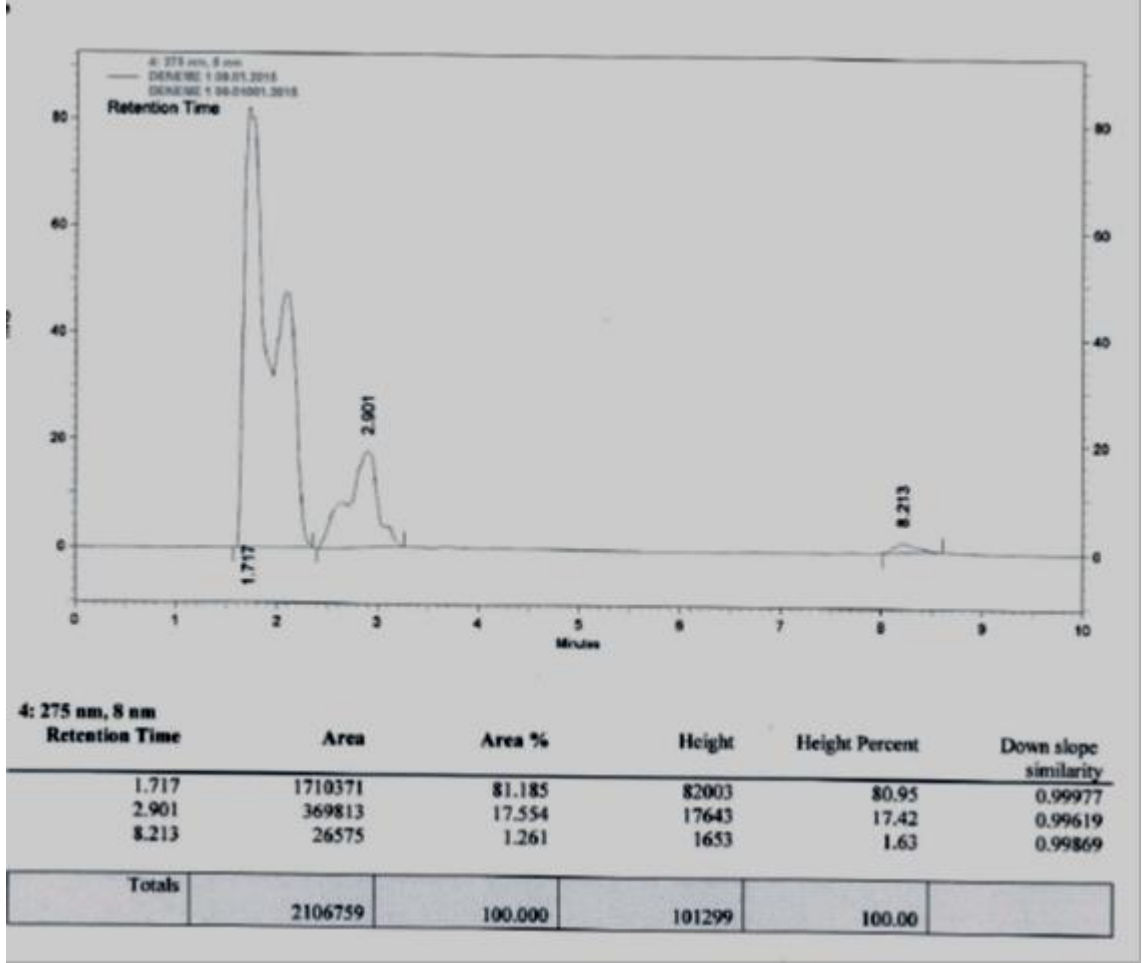


Şekil EK.2.15: Bileşik 15 FT-IR spektrumu.

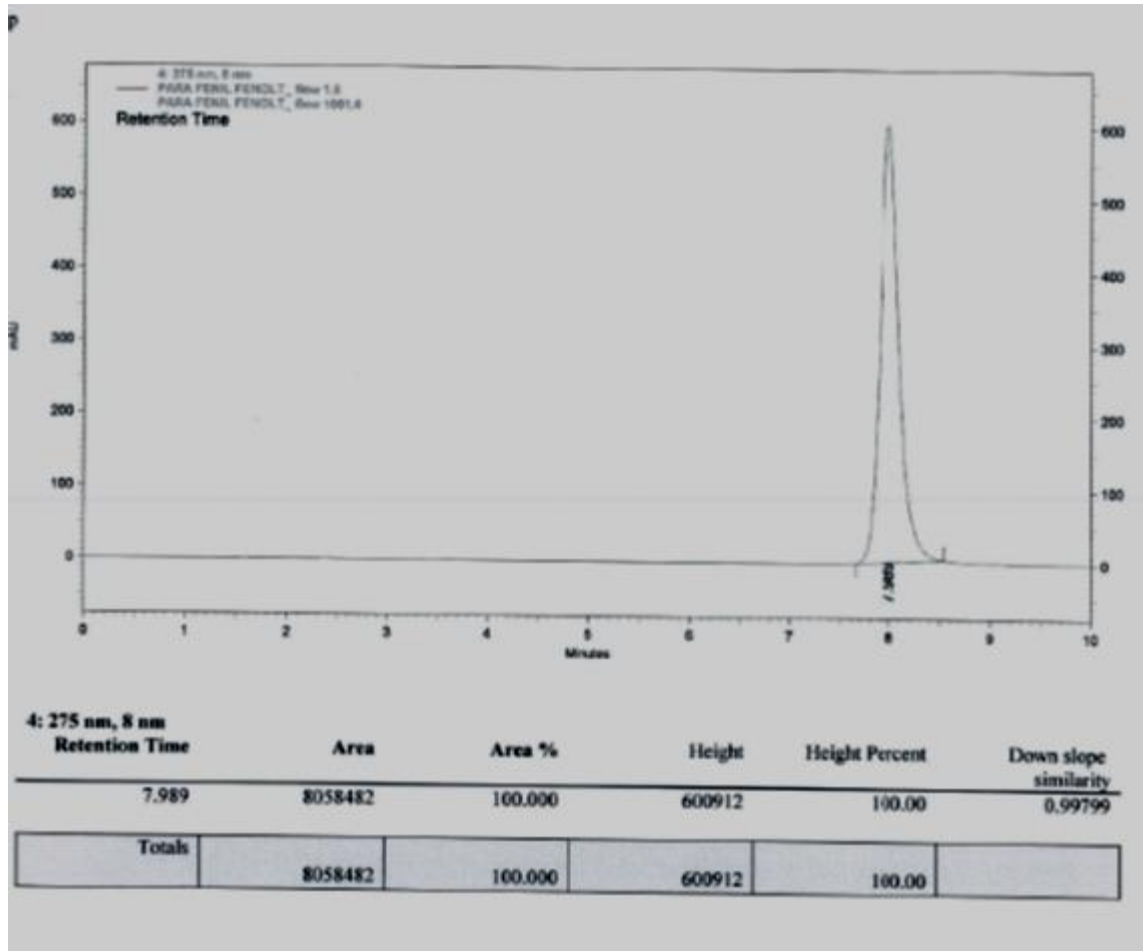


Şekil EK.2.16: Bileşik 16 FT-IR spektrumu

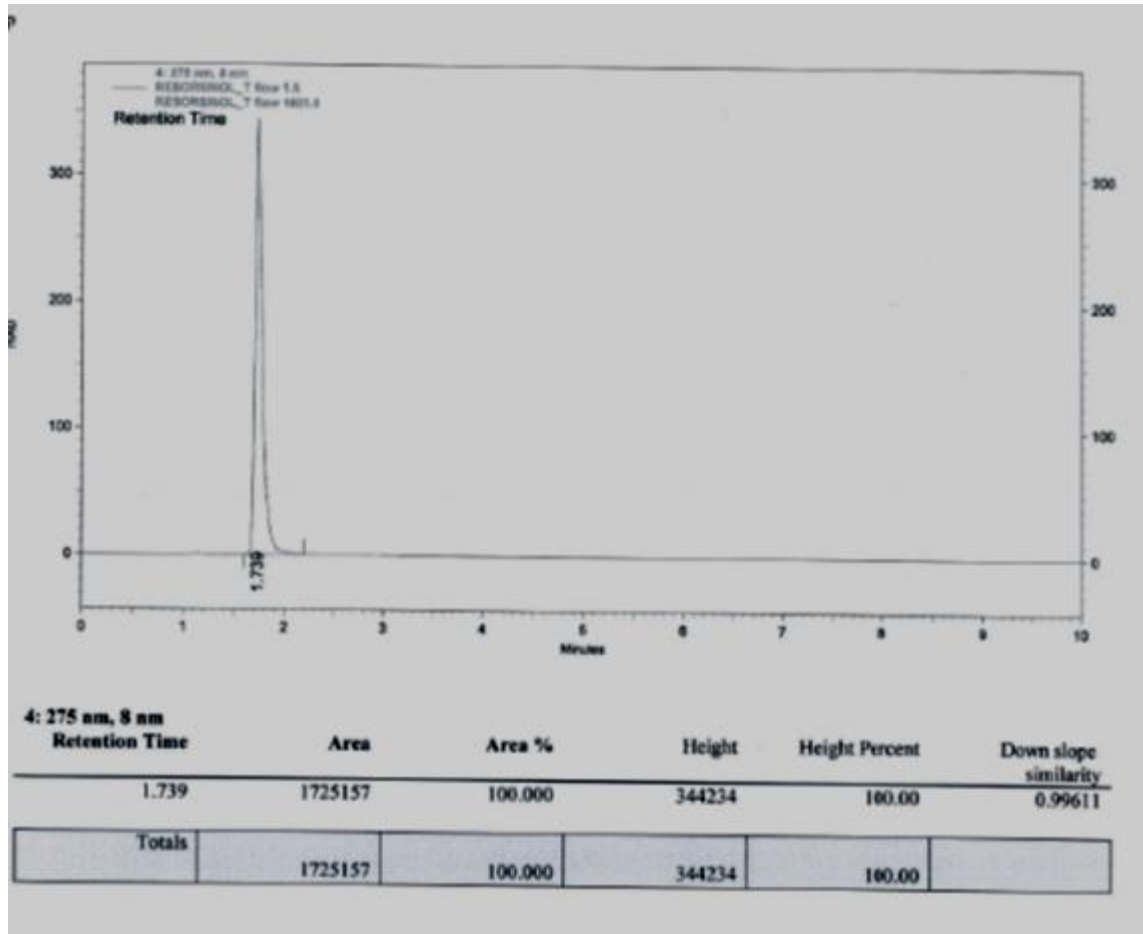
EK 3. HPLC İLE YAPI KONTROLÜ



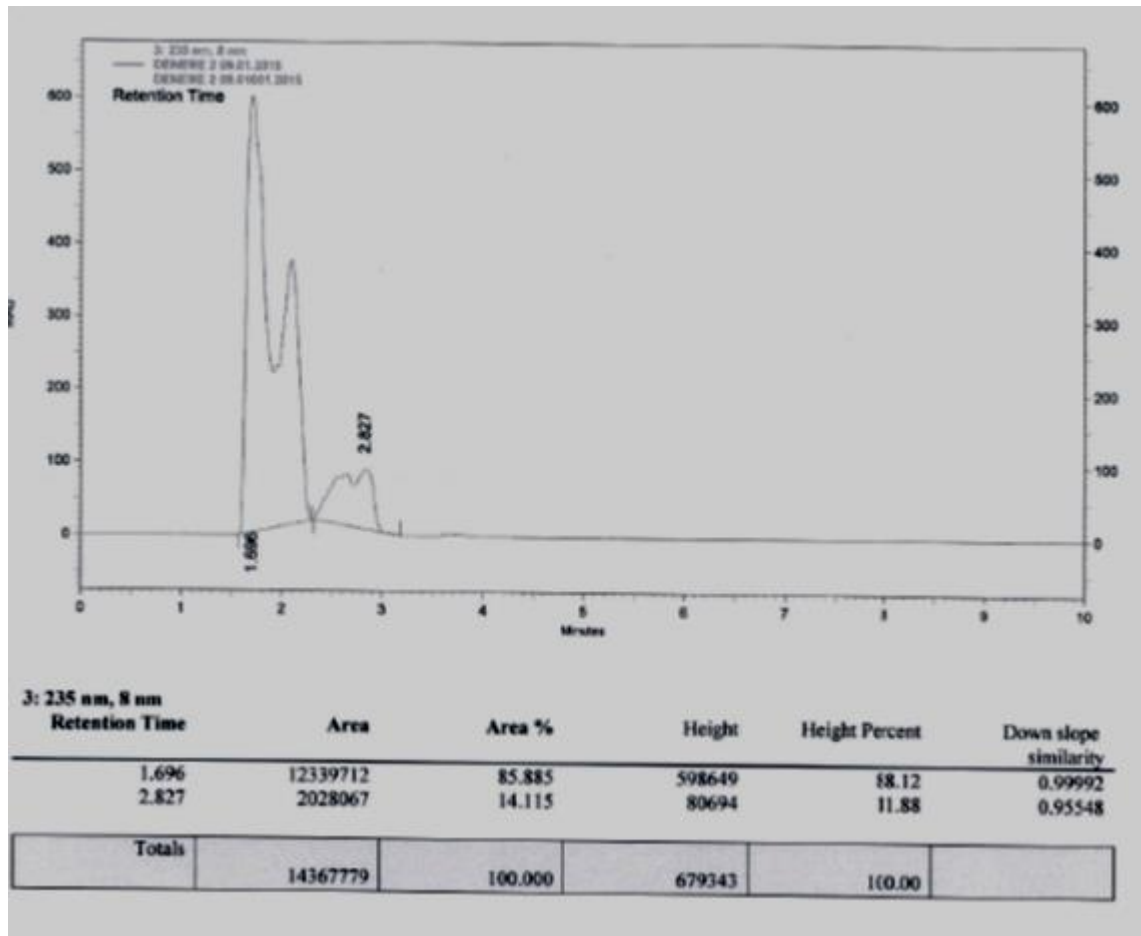
Şekil EK.3.1: Bileşik 1 HPLC kromatogramı.



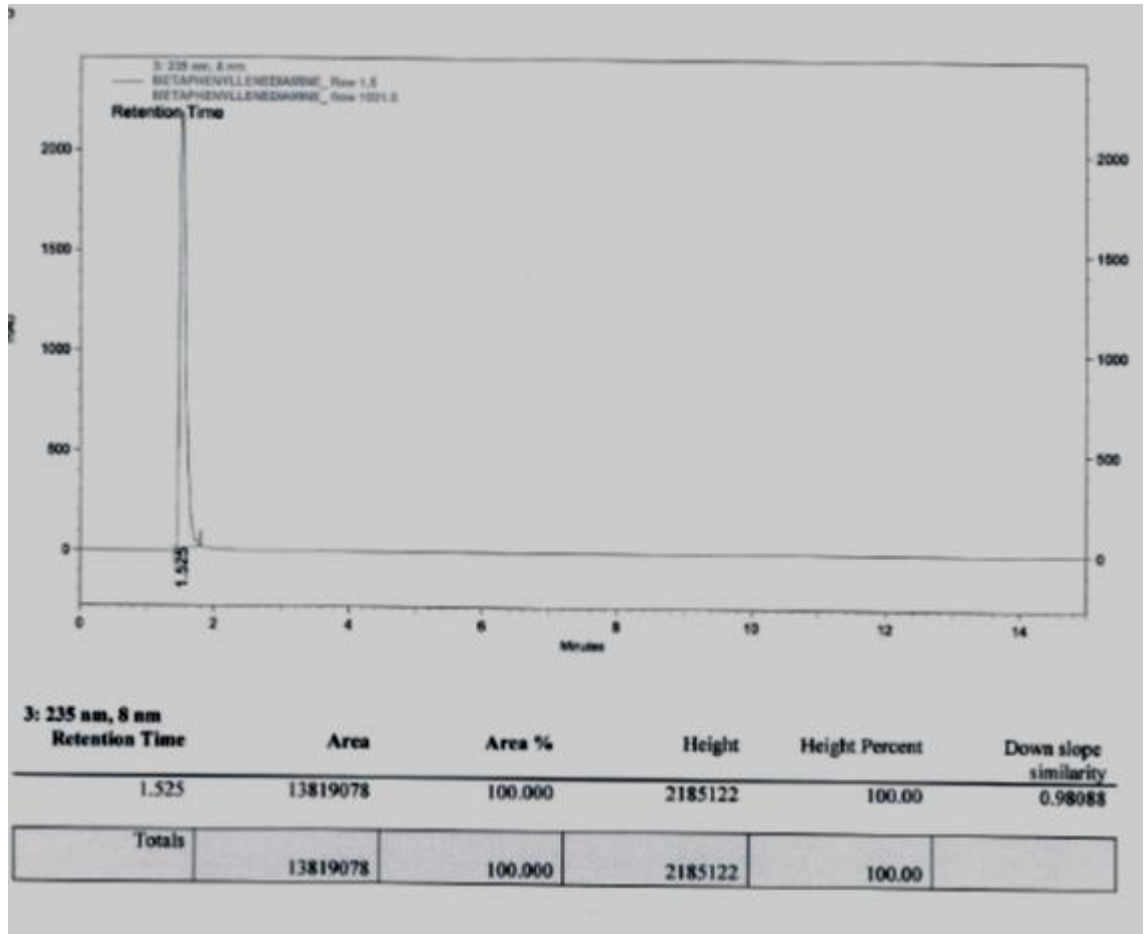
Şekil EK.3.2: Parafenilfenol HPLC kromatogramı



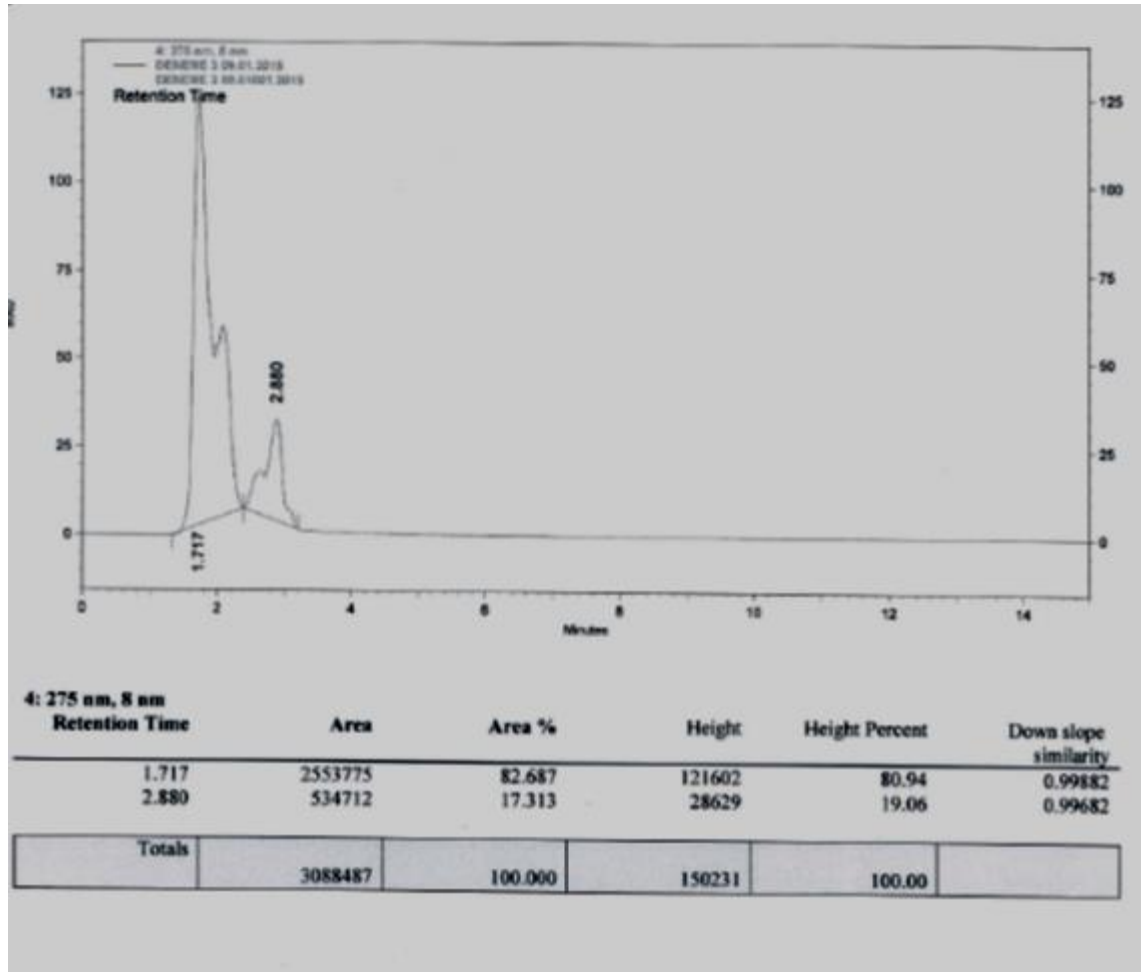
Şekil EK.3.3: Resorsinol HPLC kromatogramı



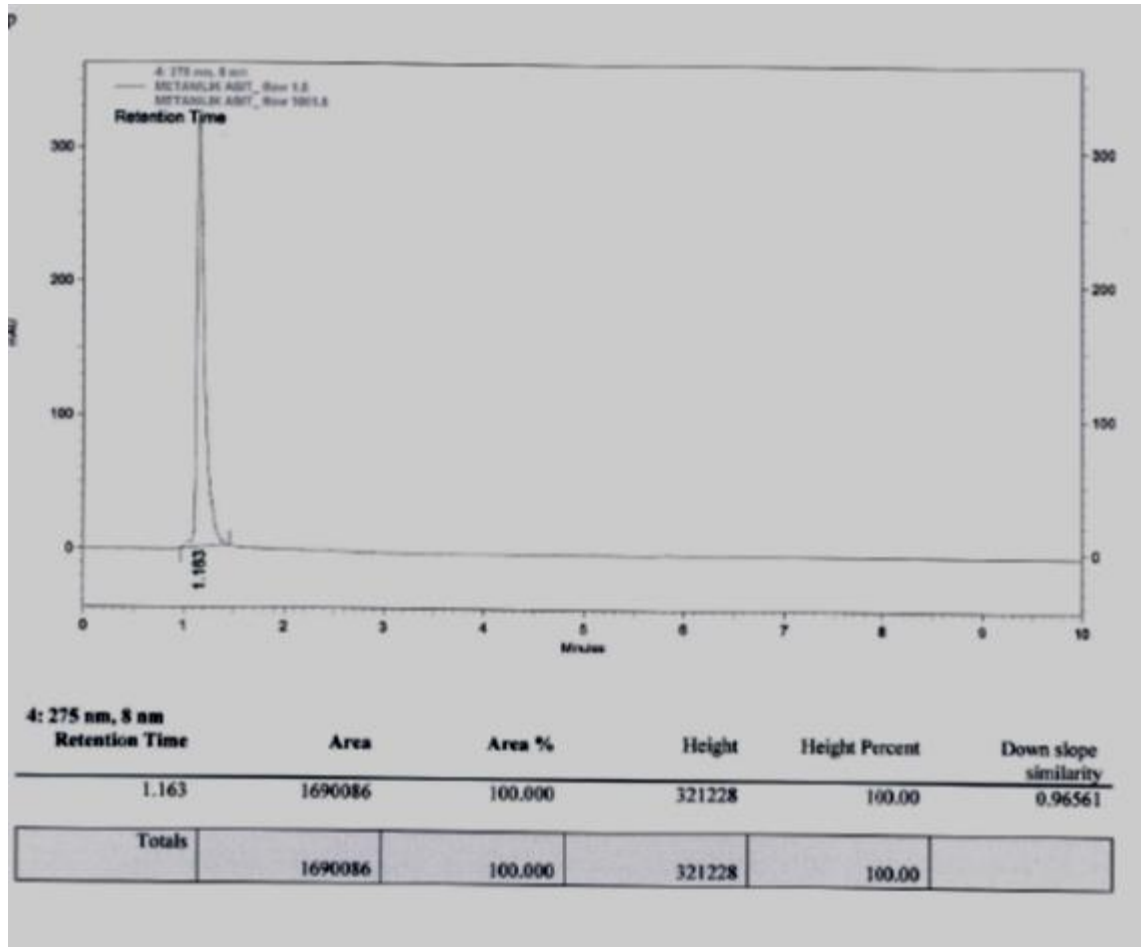
Şekil EK.3.4: Bileşik 2 HPLC kromatogramı



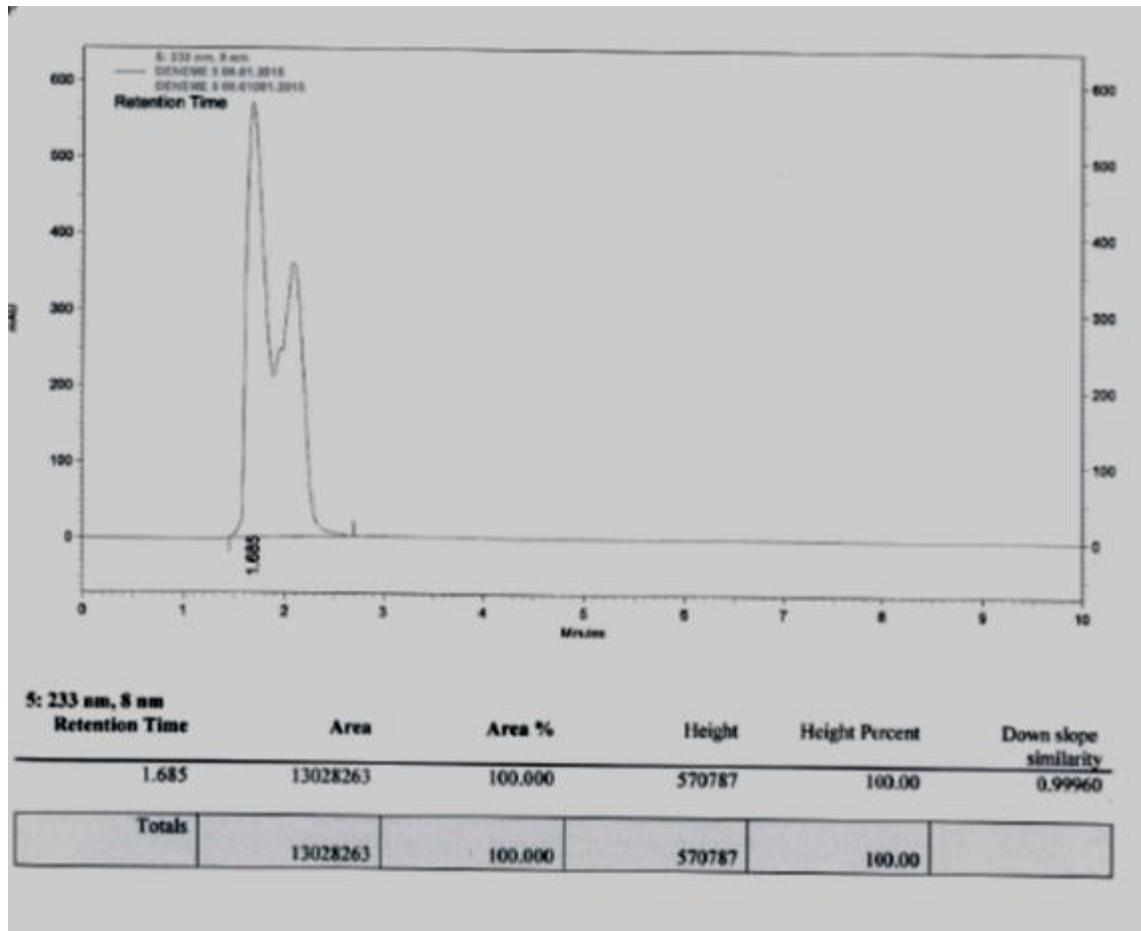
Şekil EK.3.5: Metafenilendiamin HPLC kromatogramı.



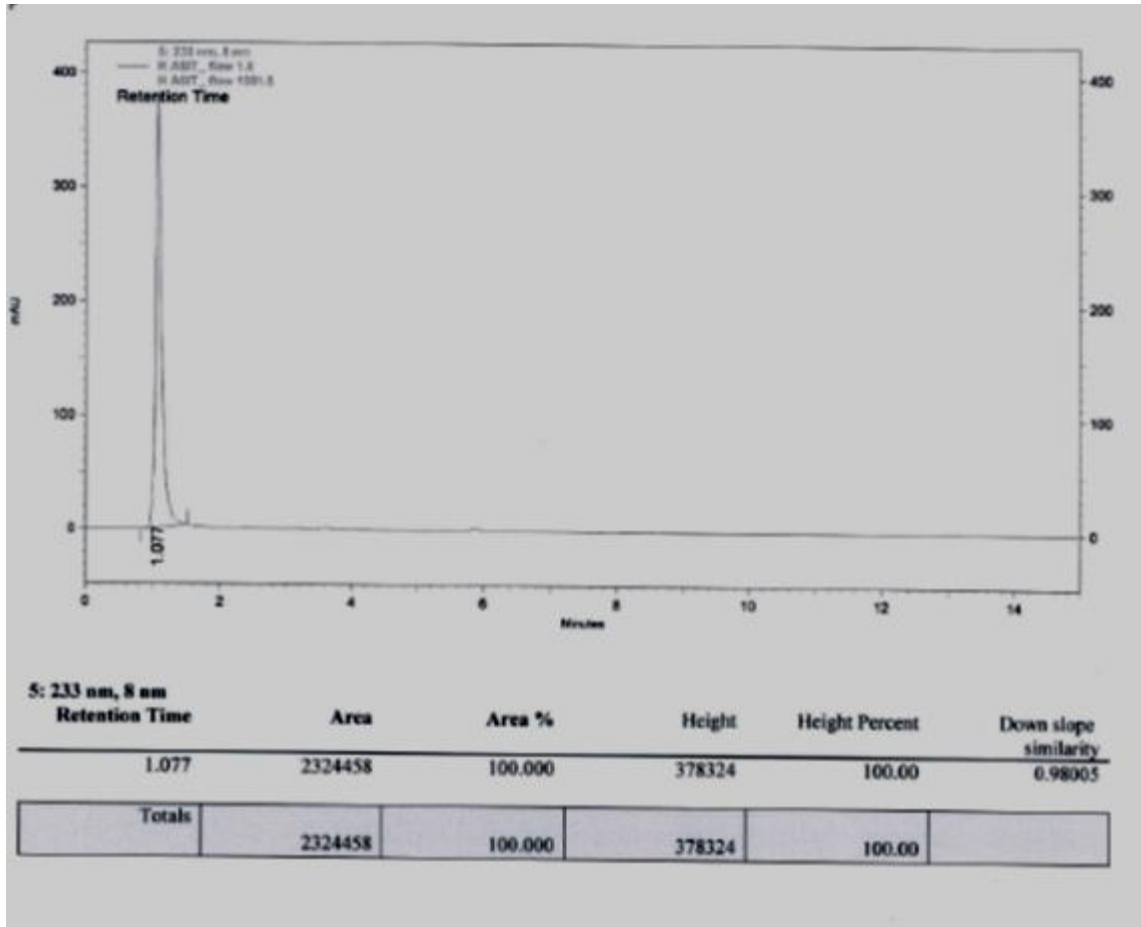
Şekil EK.3.6: Bileşik 3 HPLC kromatogramı.



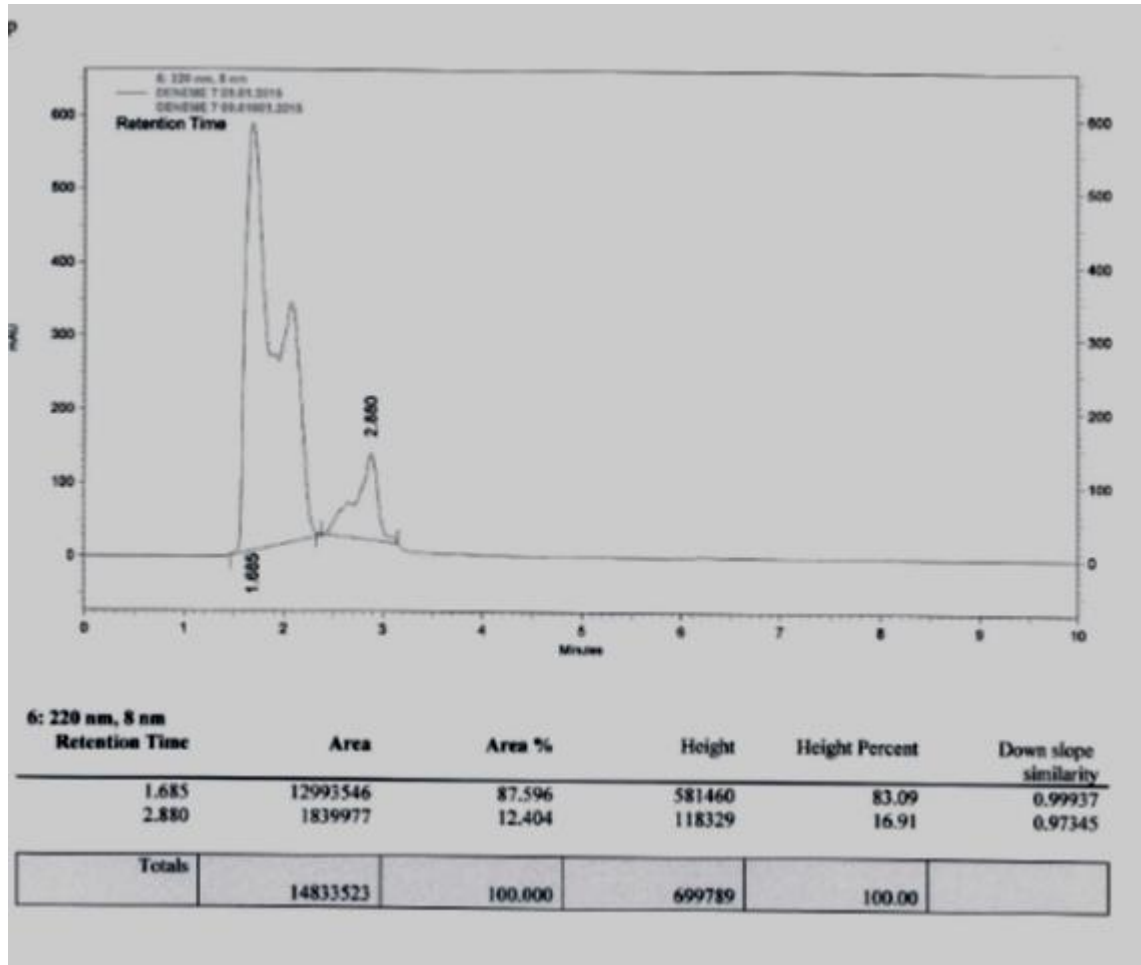
Şekil EK.3.7: Metanilik Asit HPLC kromatogramı.



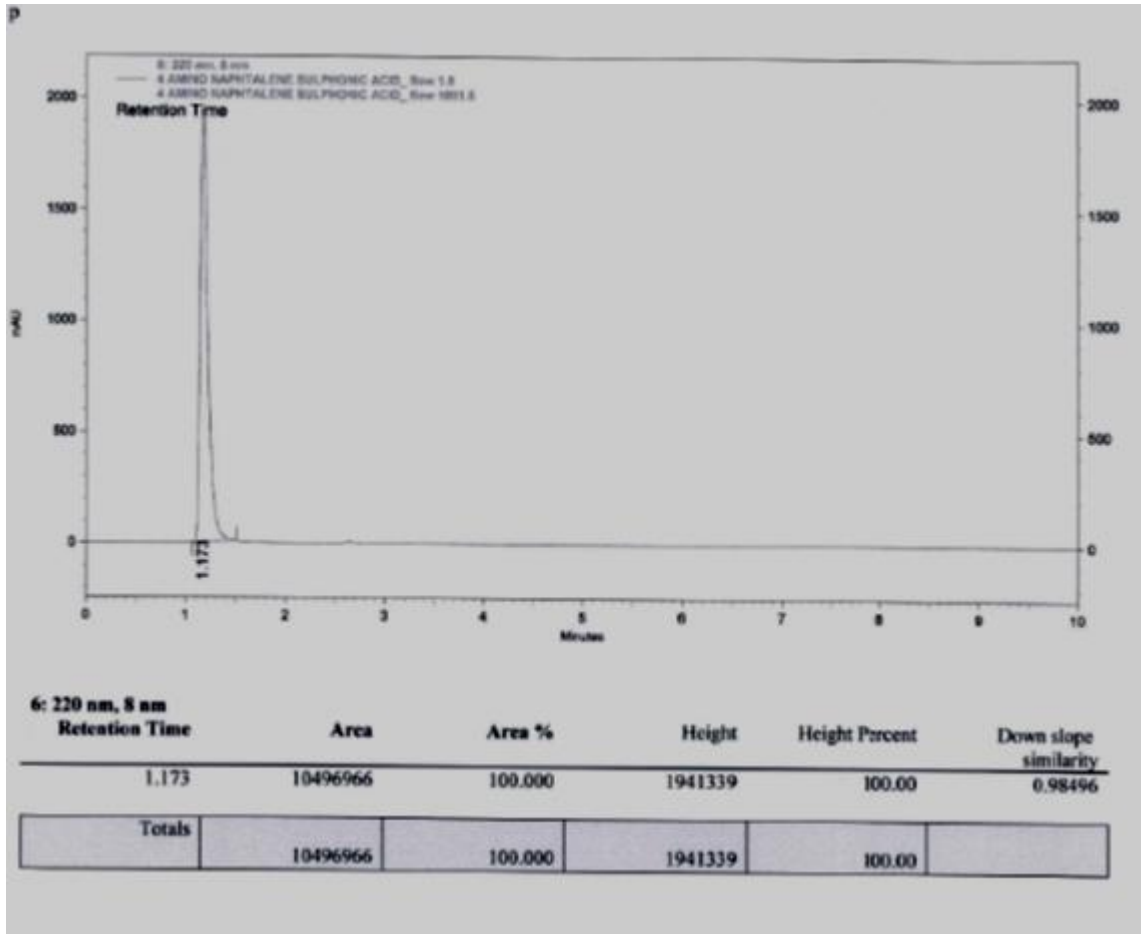
Şekil EK.3.8: Bileşik 4 HPLC s kromatogramı.



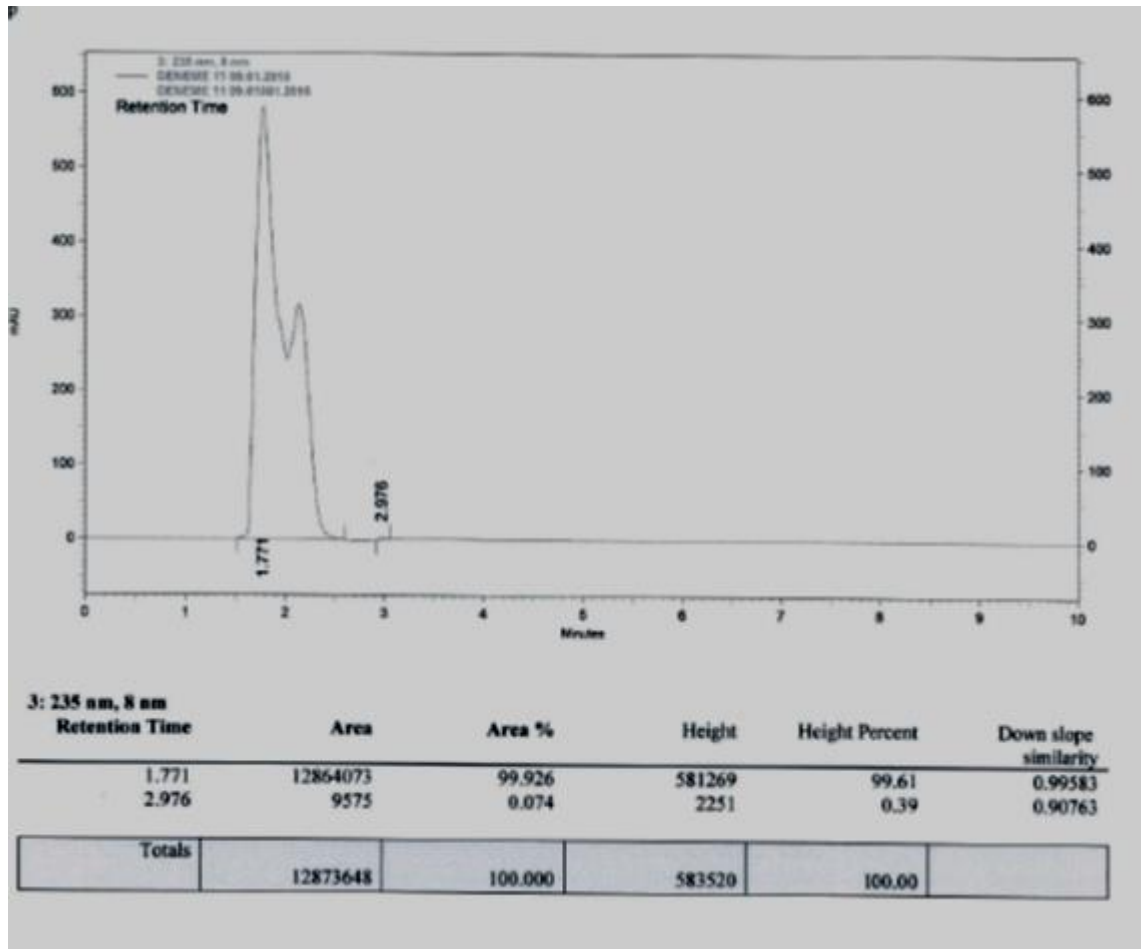
Şekil EK.3.9: H Asit HPLC kromatogramı.



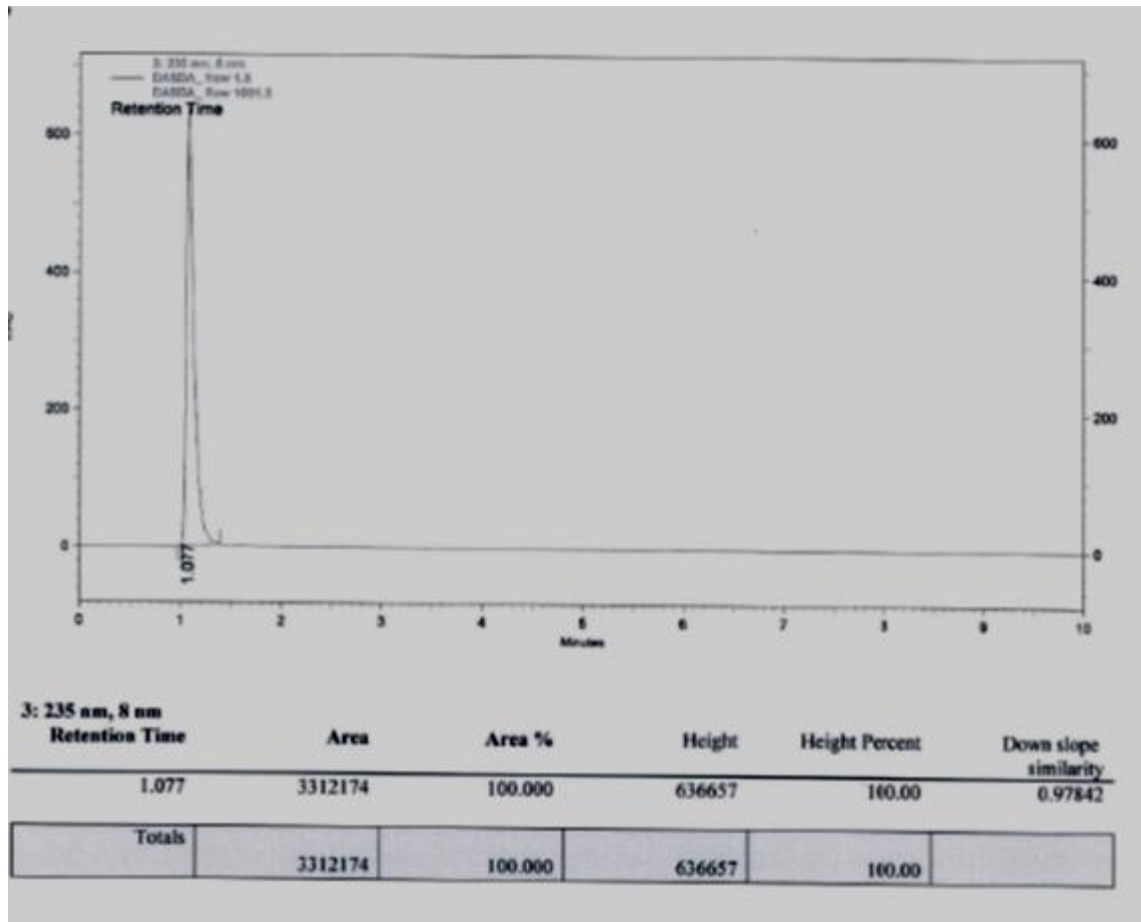
Şekil EK.3.10: Bileşik 5 HPLC kromatogramı.



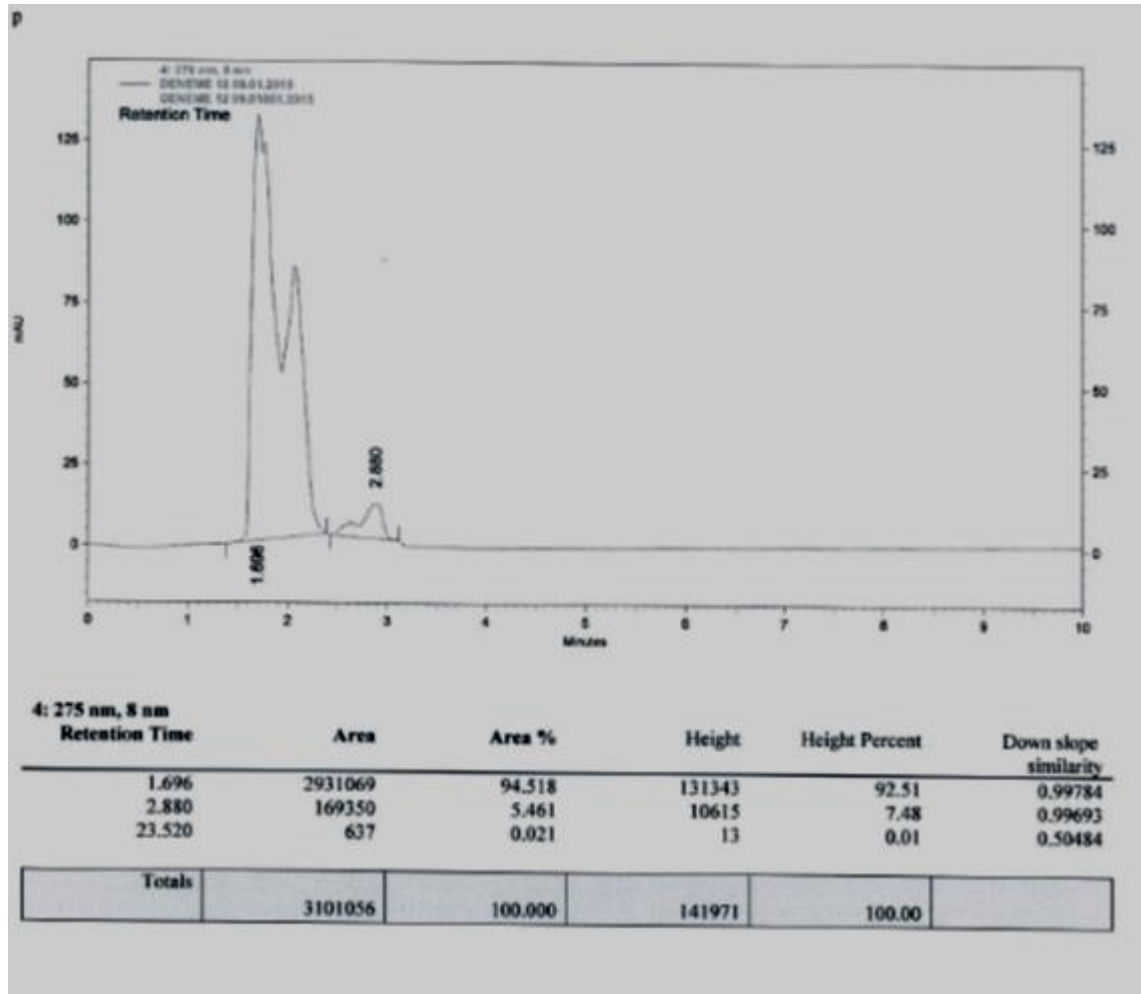
Şekil EK.3.11: 4-Amino naftalene sulfonik Asit HPLC kromatogramı.



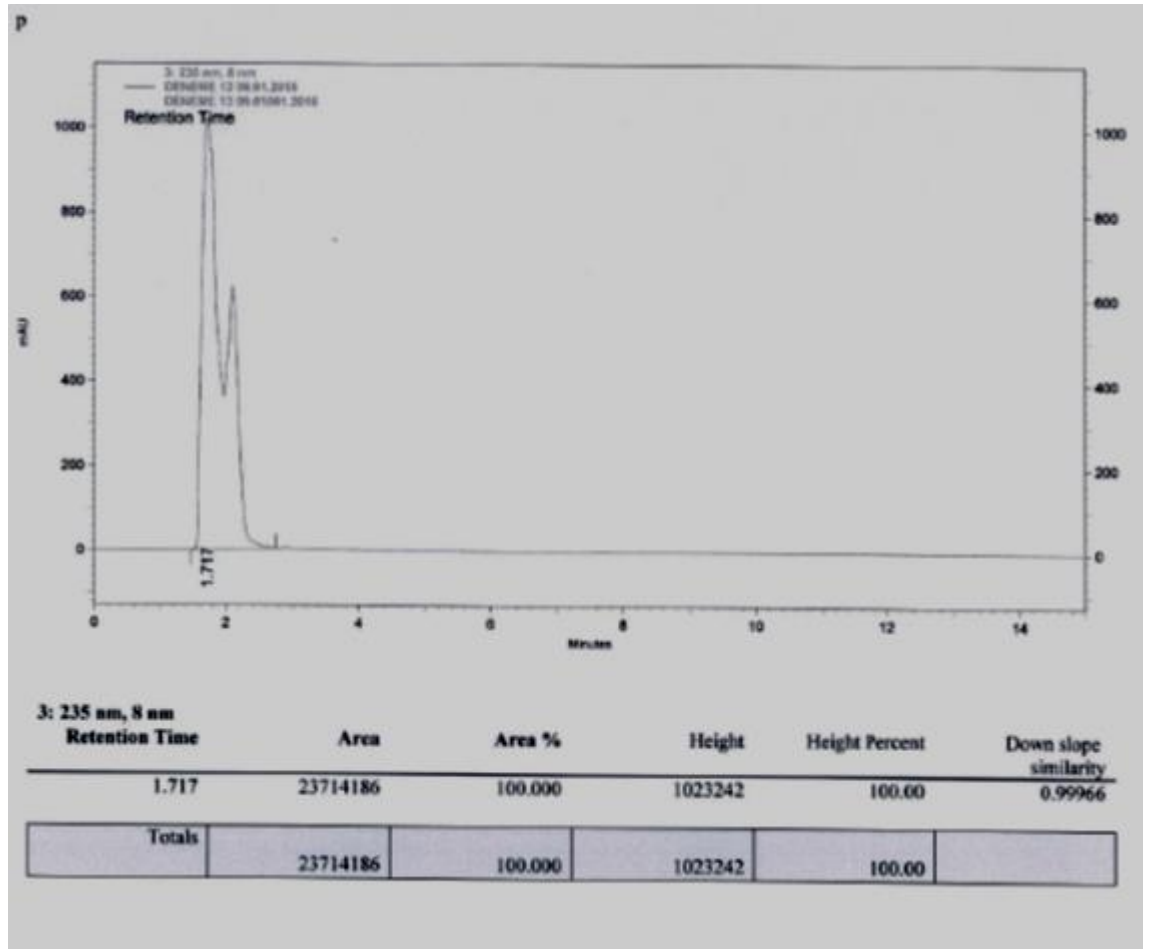
Şekil EK.3.12: Bileşik 6 HPLC kromatogramı.



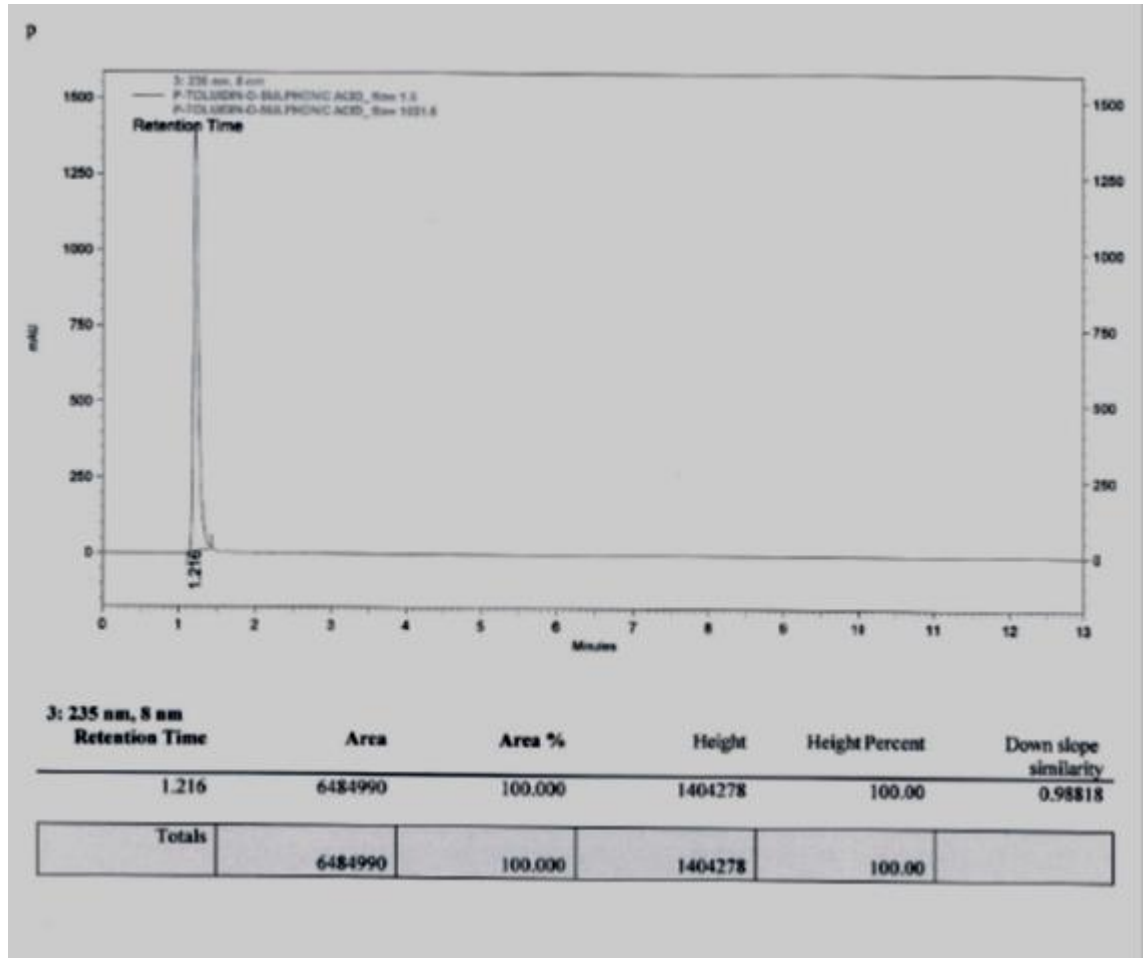
Şekil EK.3.13: DASDA HPLC kromatogramı



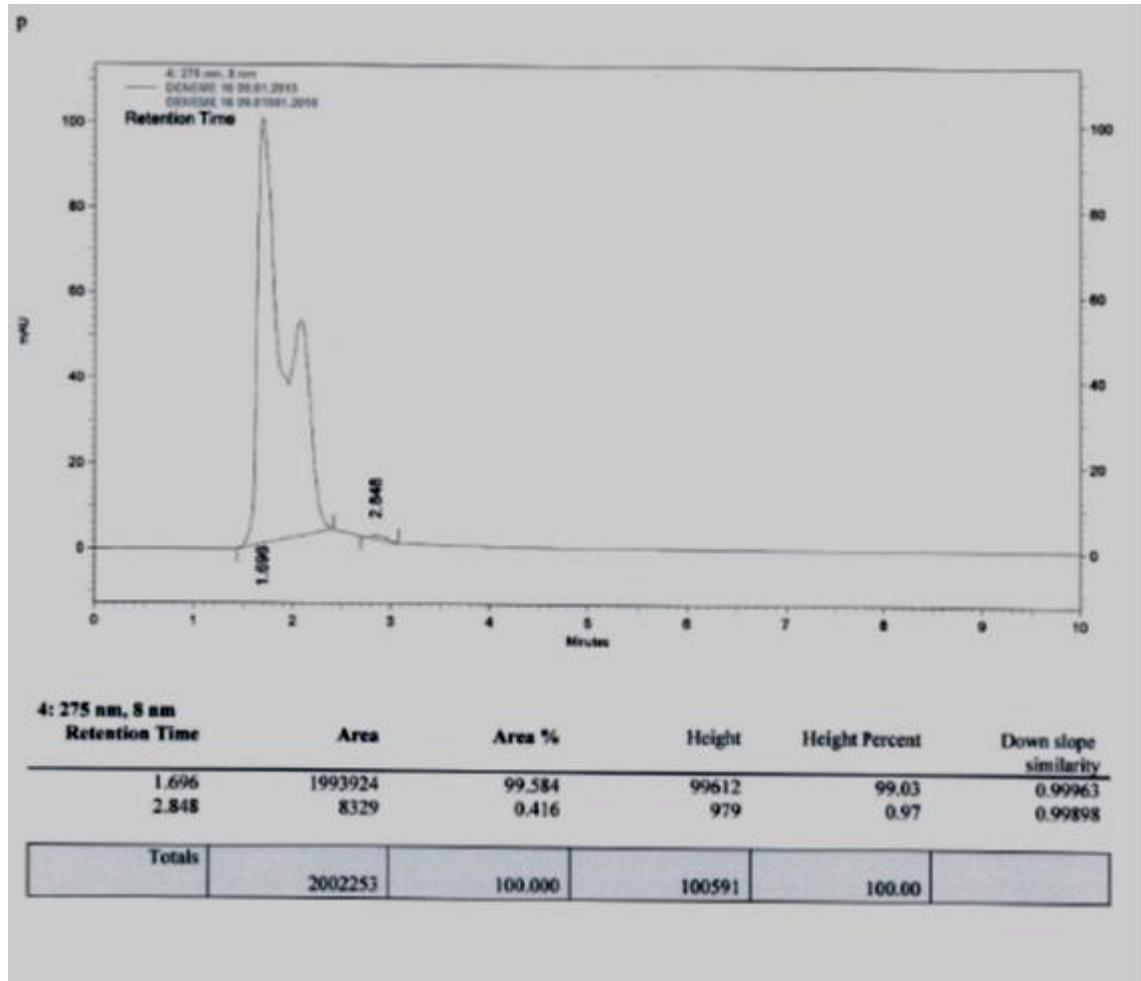
Şekil EK.3.14: Bileşik 7 HPLC kromatogramı.



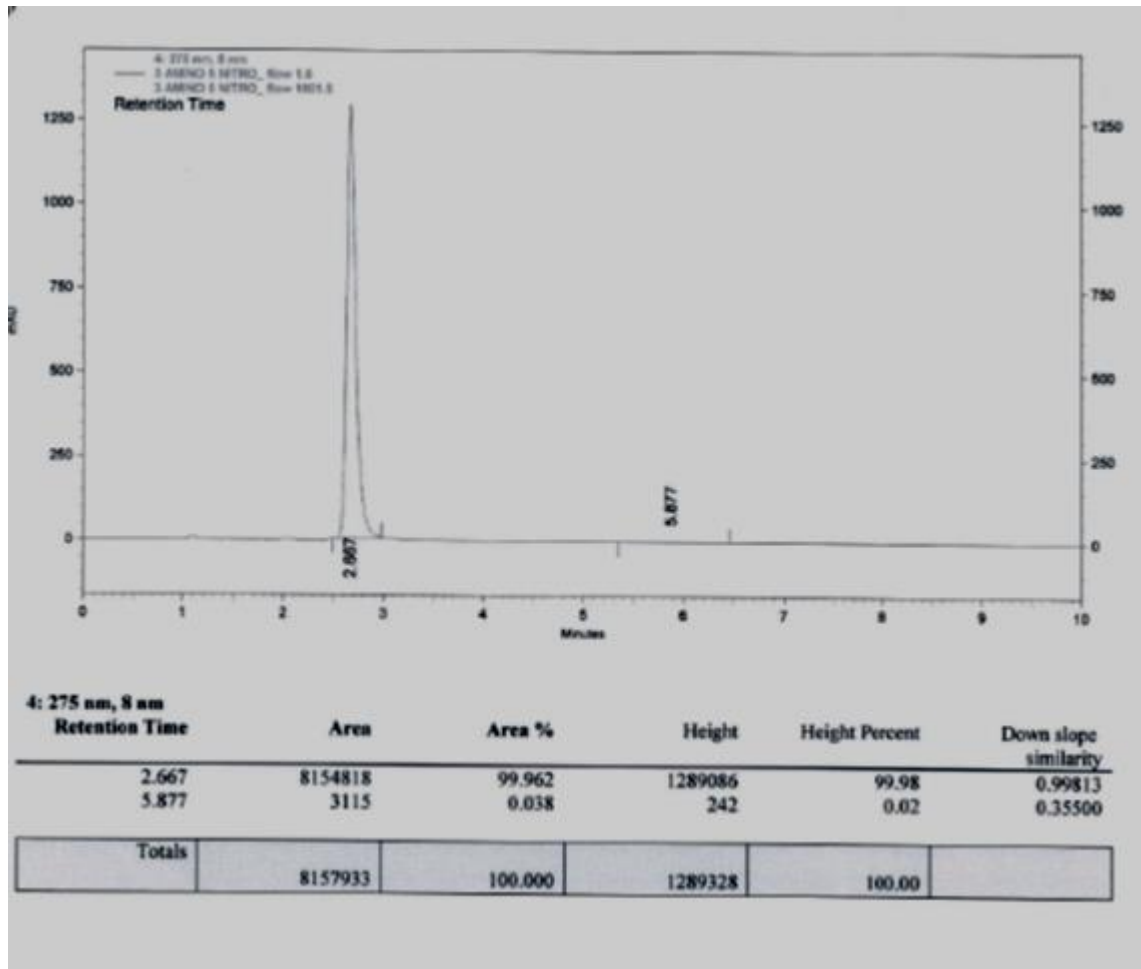
Şekil EK.3.15: Bileşik 8 HPLC kromatogramı.



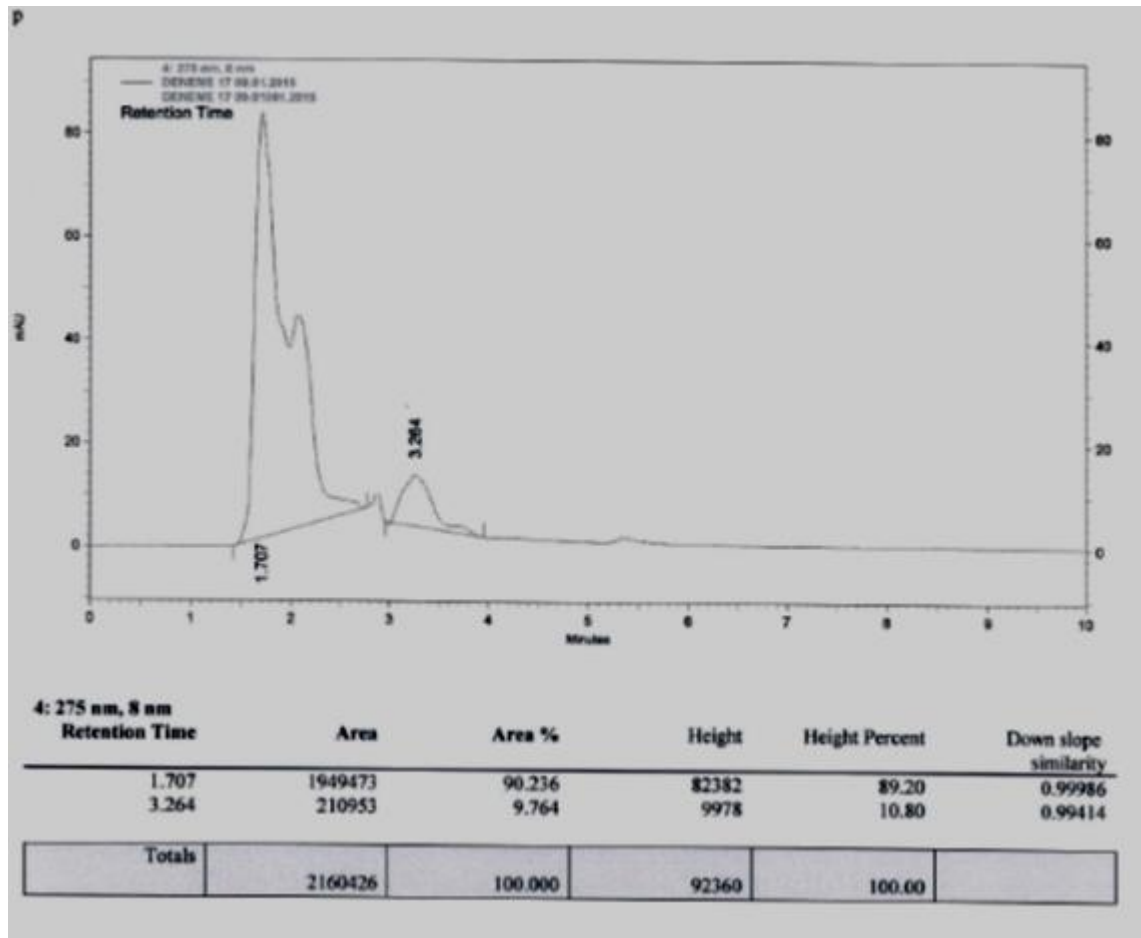
Şekil EK.3.16: p-toluidine o-sülfonik asit HPLC kromatogramı



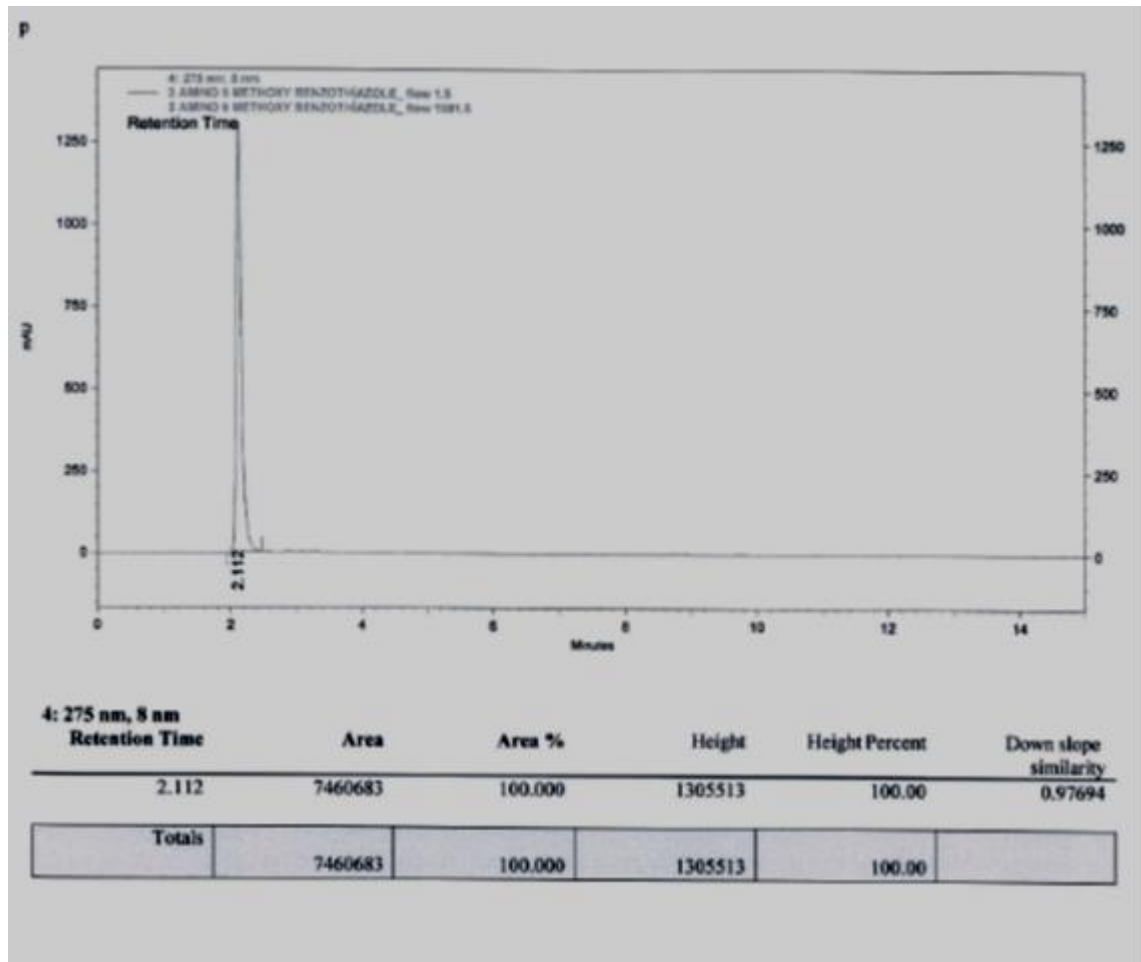
Şekil EK.3.17: Bileşik 9 HPLC kromatogramı



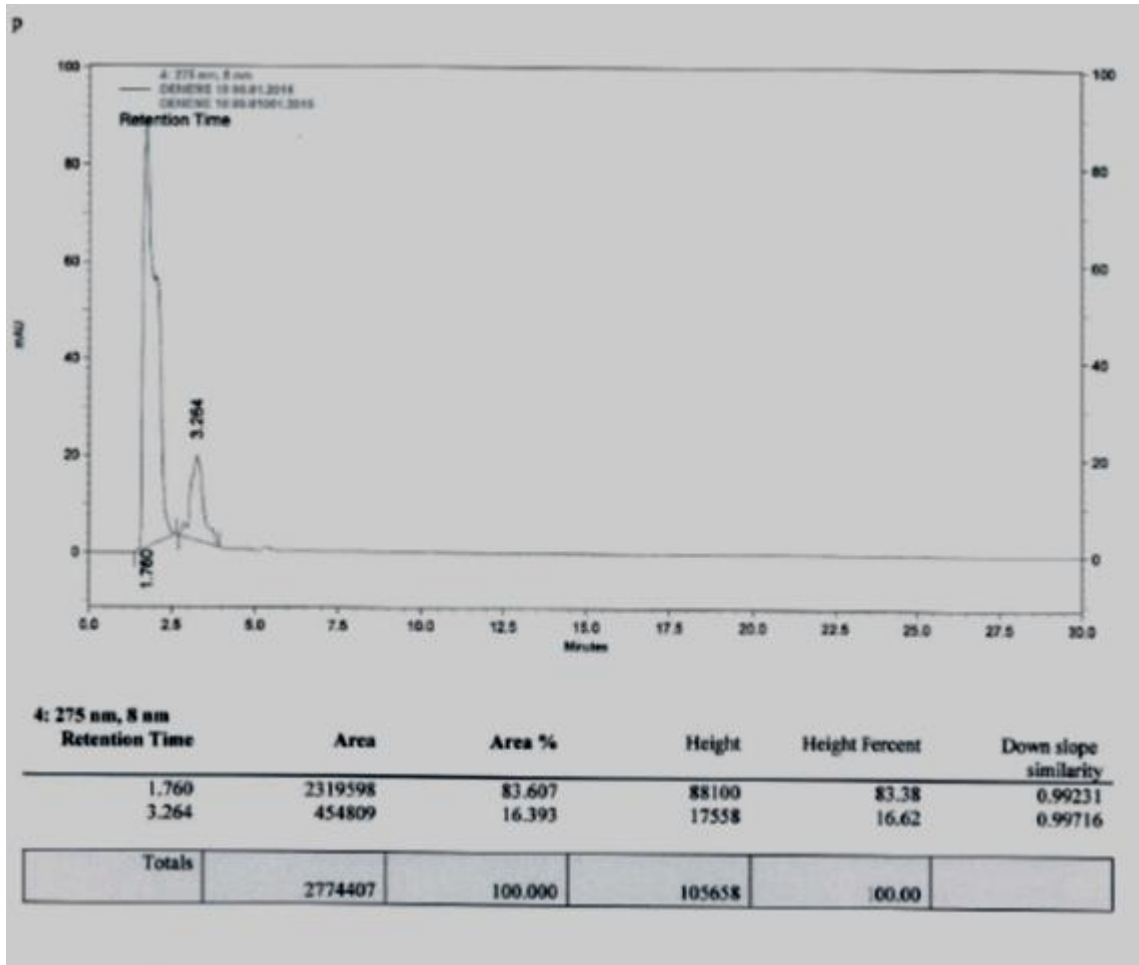
Şekil EK.3.18: 3-amino 5-nitro benzotriazol HPLC kromatogramı.



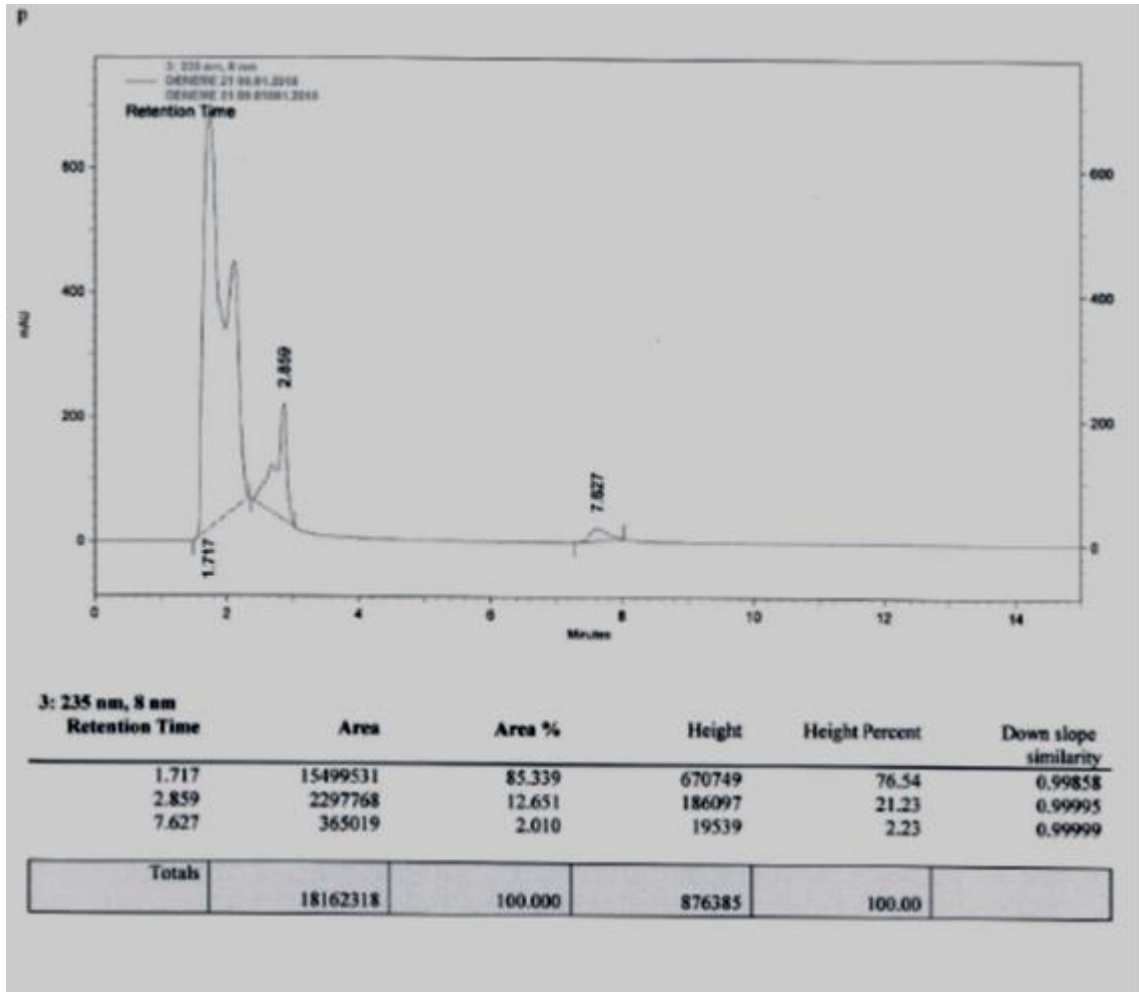
Şekil EK.3.19: Bileşik 10 HPLC kromatogramı.



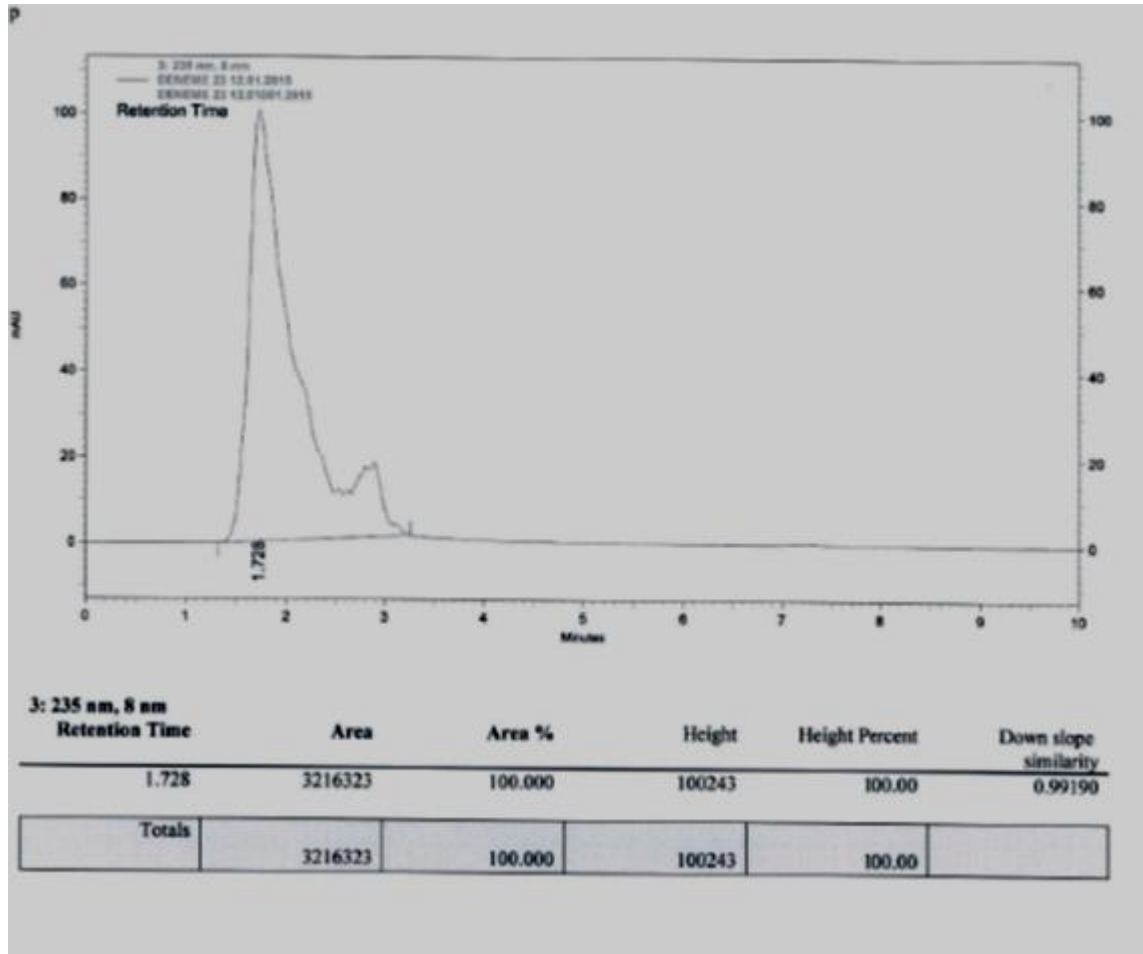
Şekil EK.3.20: 2-amino 6-metoksi benzotiyazol HPLC kromatogramı.



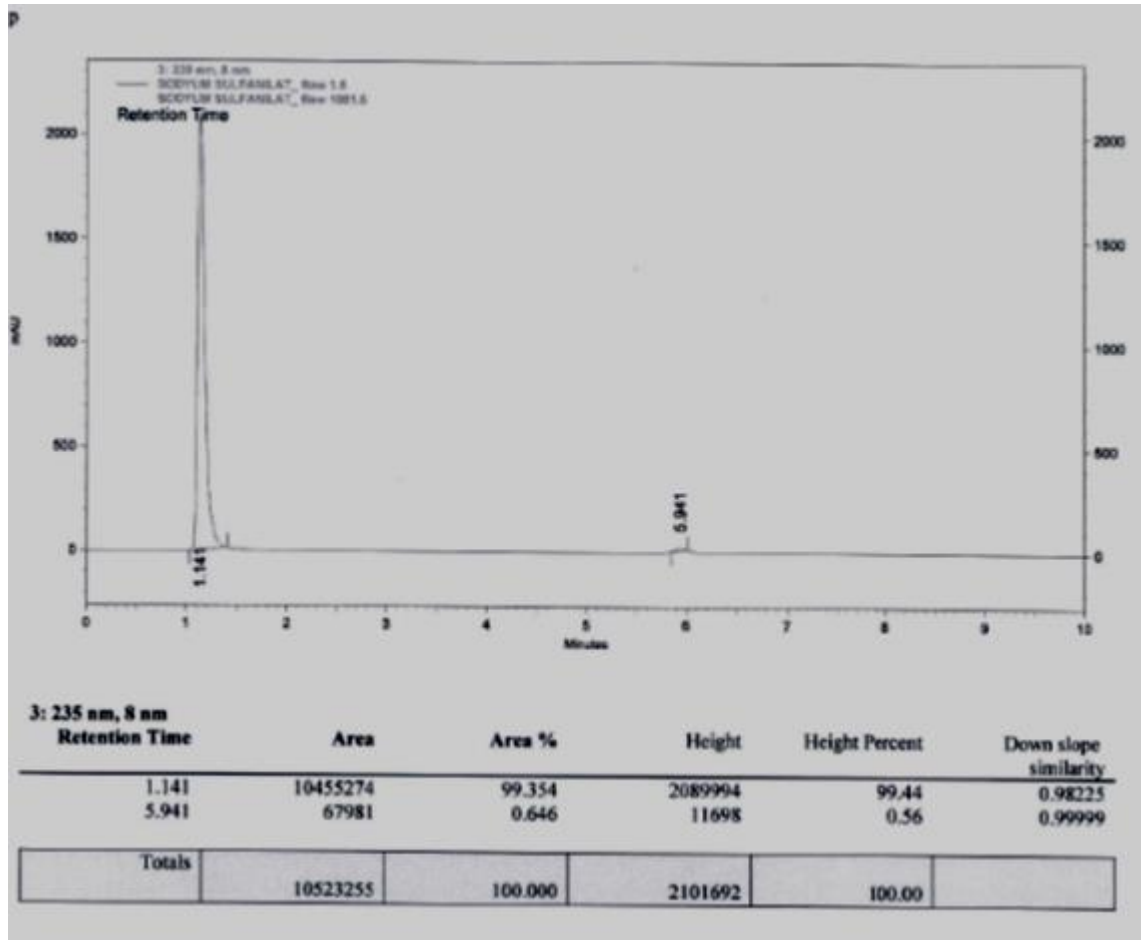
Şekil EK.3.21: Bileşik 11 HPLC kromatogramı.



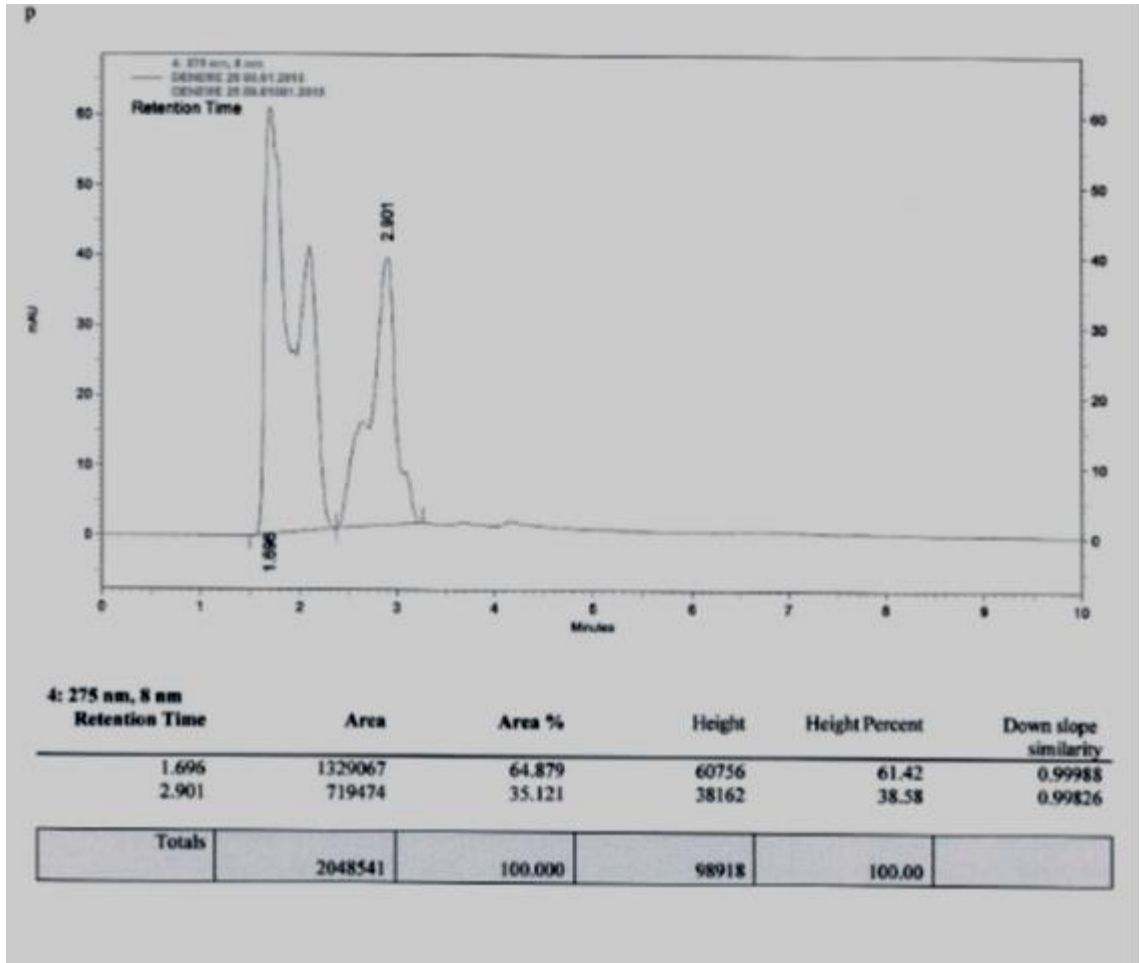
Şekil EK.3.22: Bileşik 12 HPLC kromatogramı.



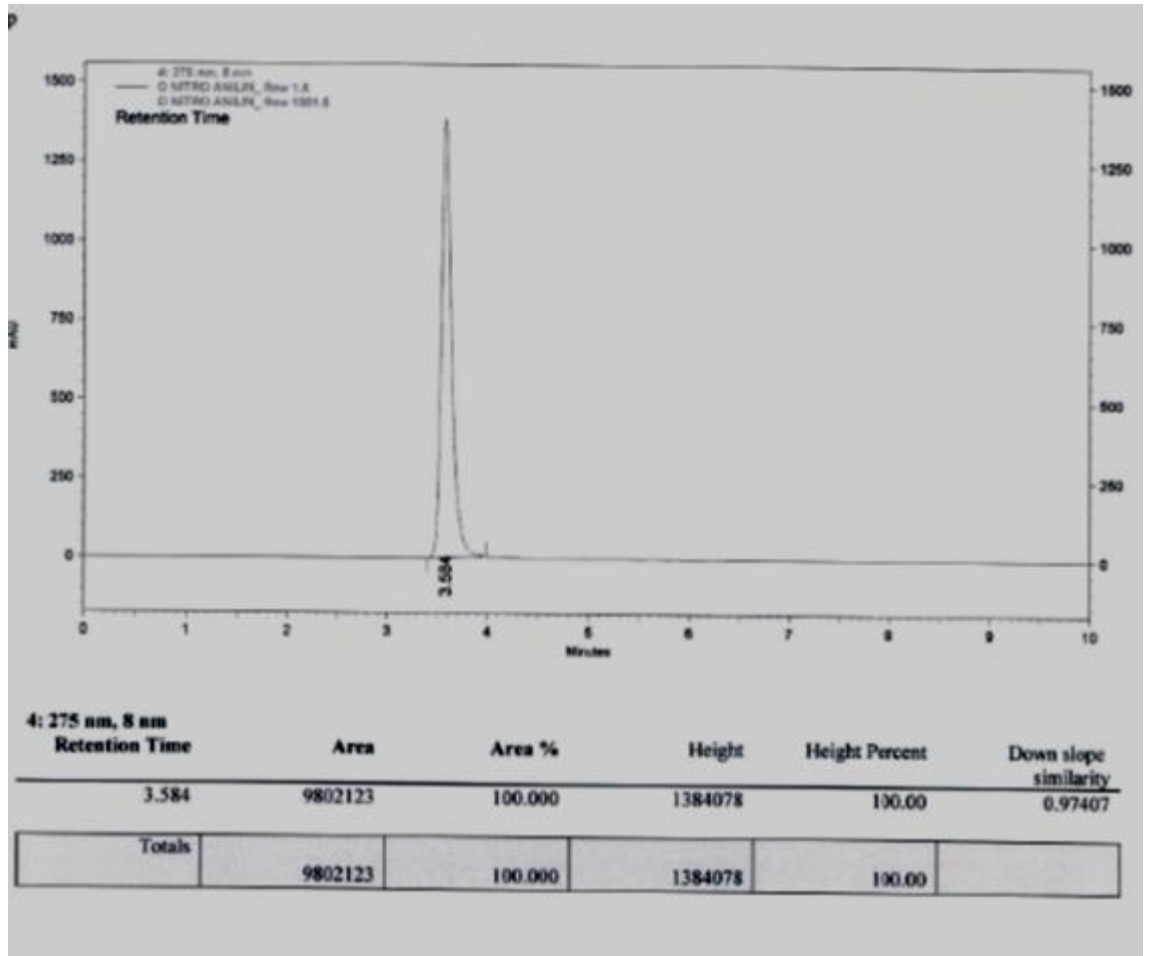
Şekil EK.3.23: Bileşik 13 HPLC kromatogramı.



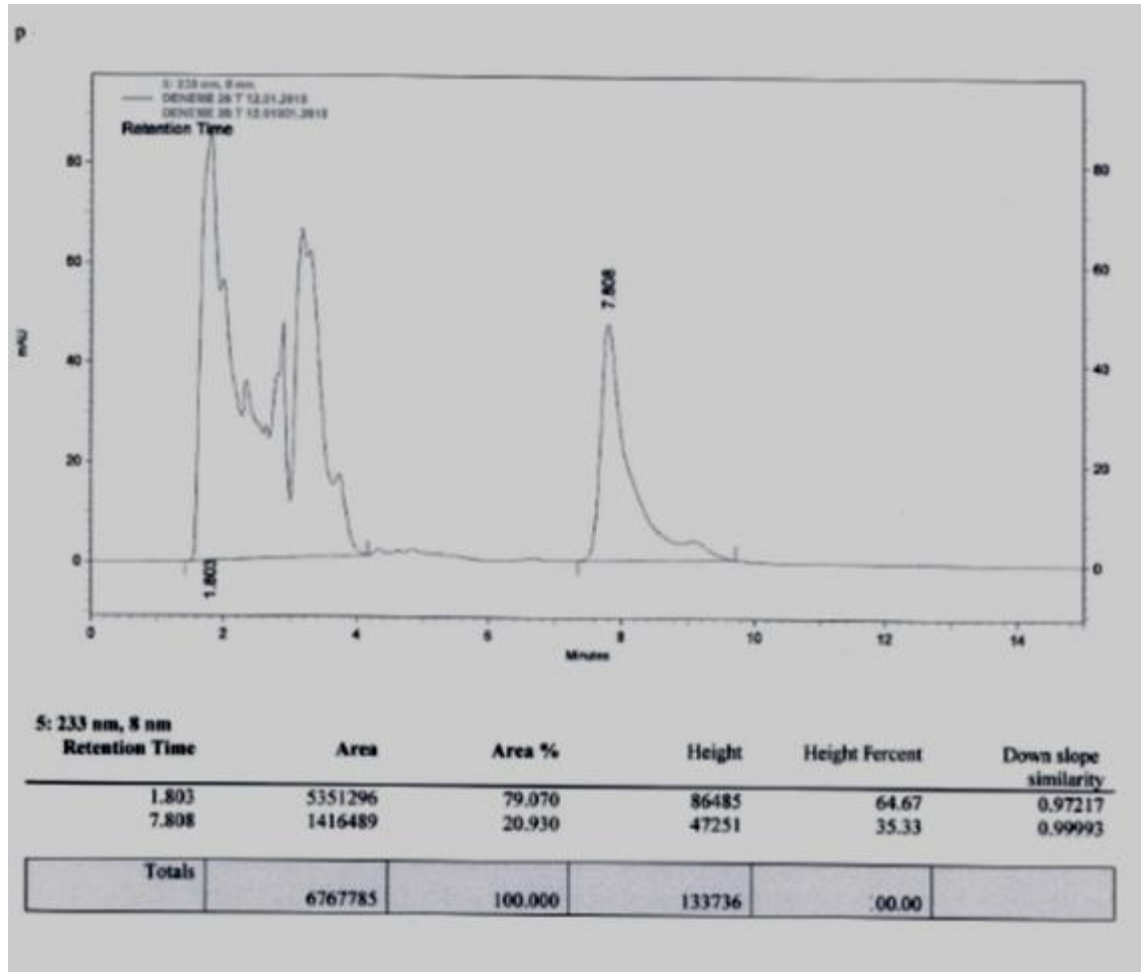
Şekil EK.3.24: Sodyum sulfanilat HPLC kromatogramı.



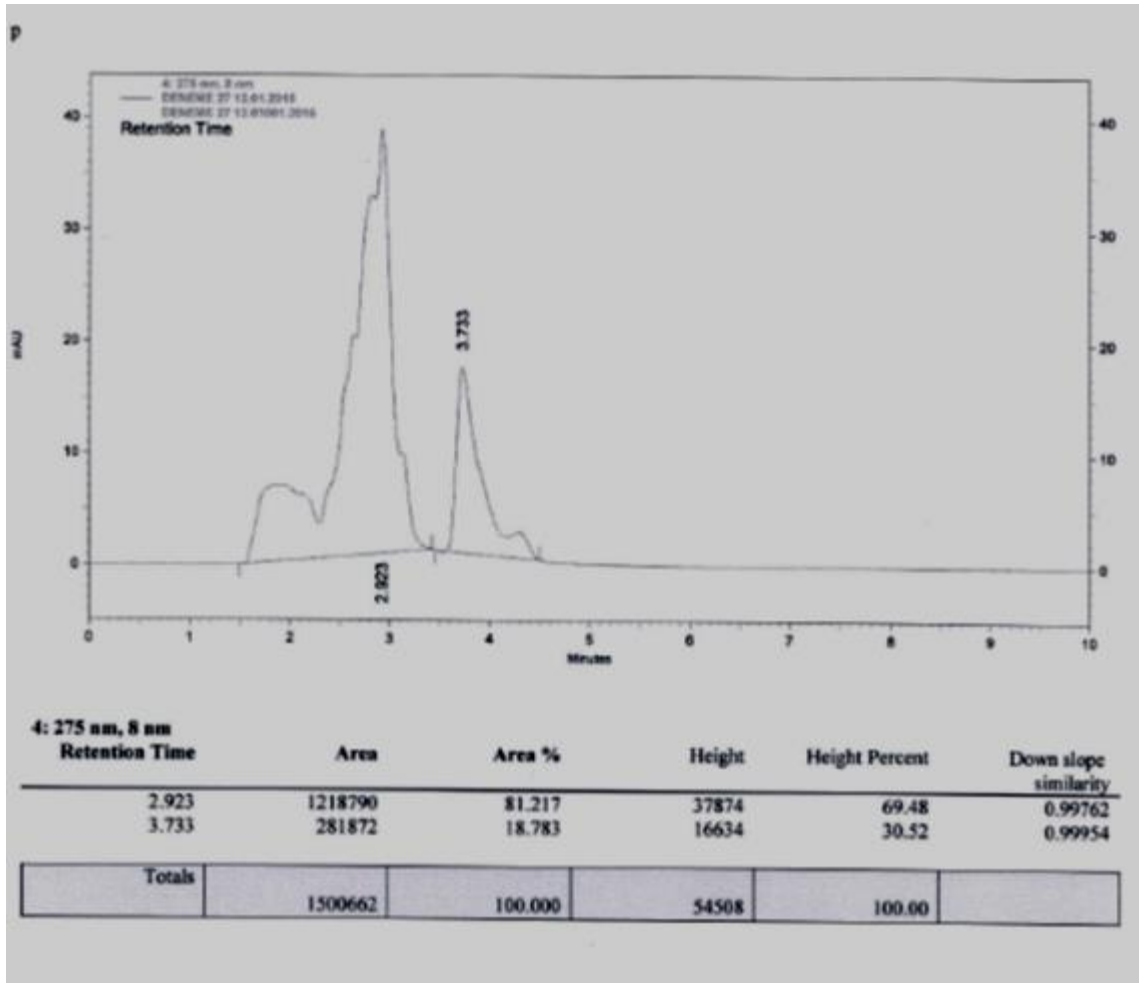
Şekil EK.3.25: Bileşik 14 HPLC kromatogramı.



Şekil EK.3.26: p-nitro anilin HPLC kromatogramı.

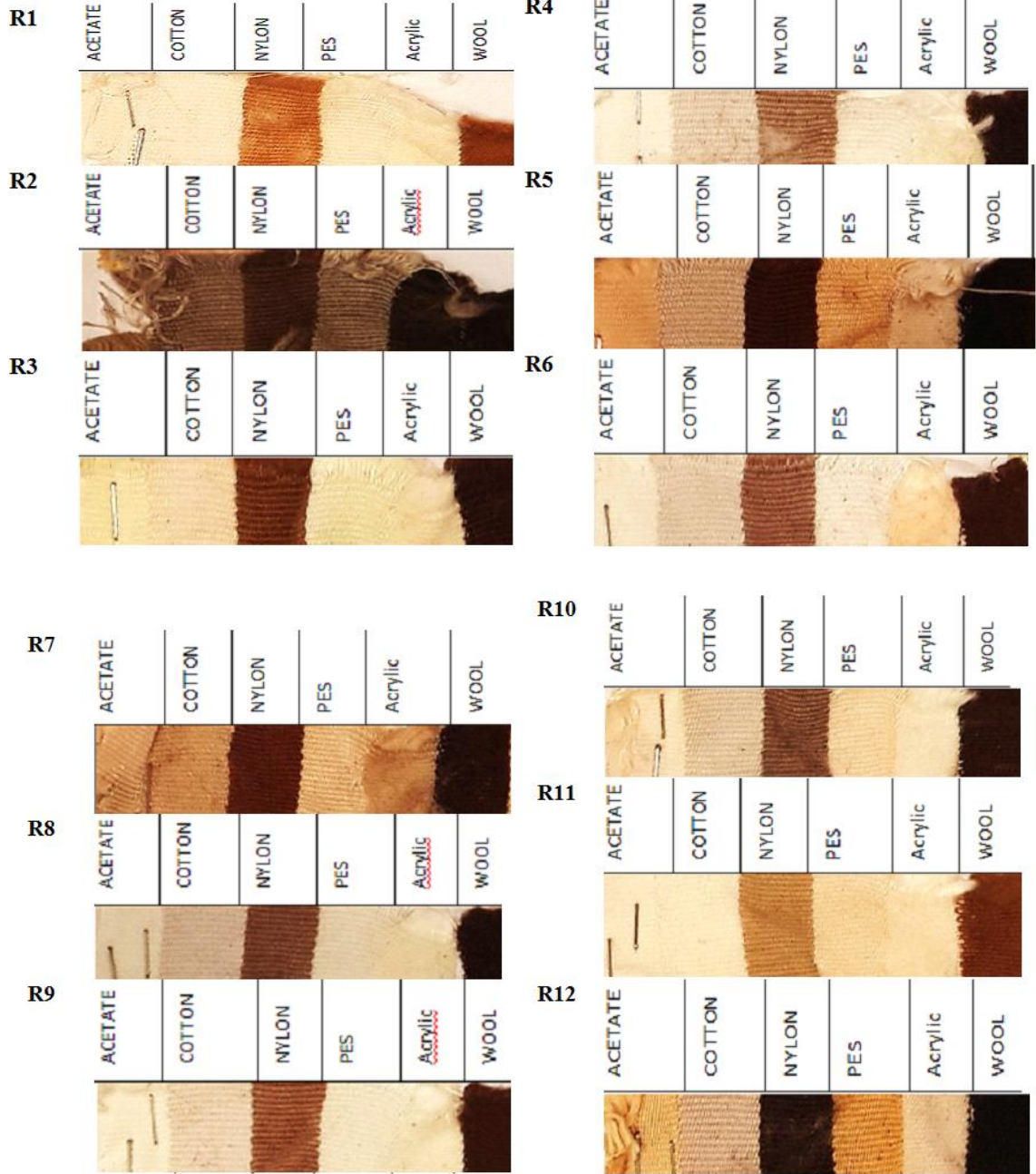


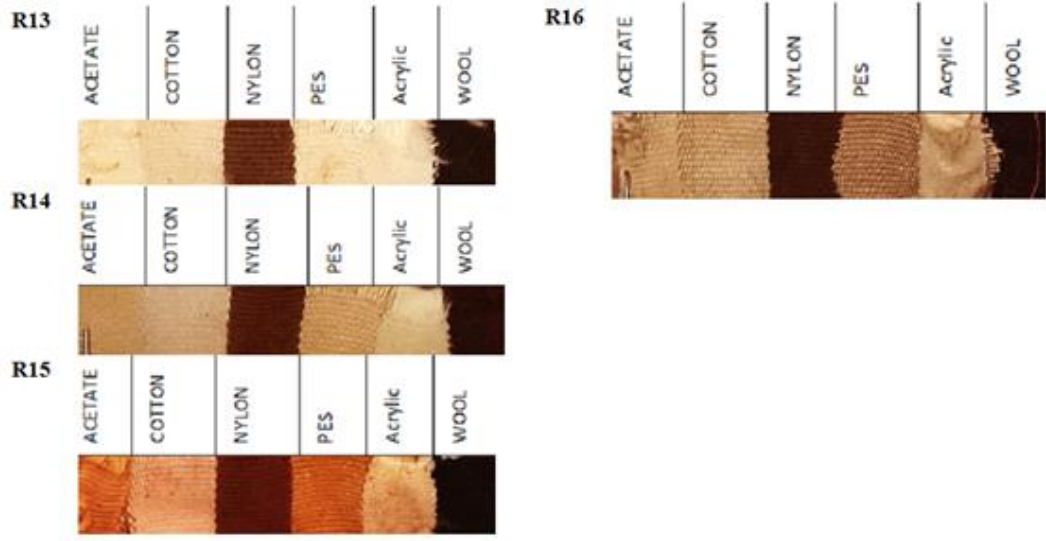
Şekil EK.3.27: Bileşik 15 HPLC kromatogramı.



Şekil EK.3.28: Bileşik 16 HPLC kromatogramı.

EK 4. MULTİFİBER BOYAMA SONUÇLARI

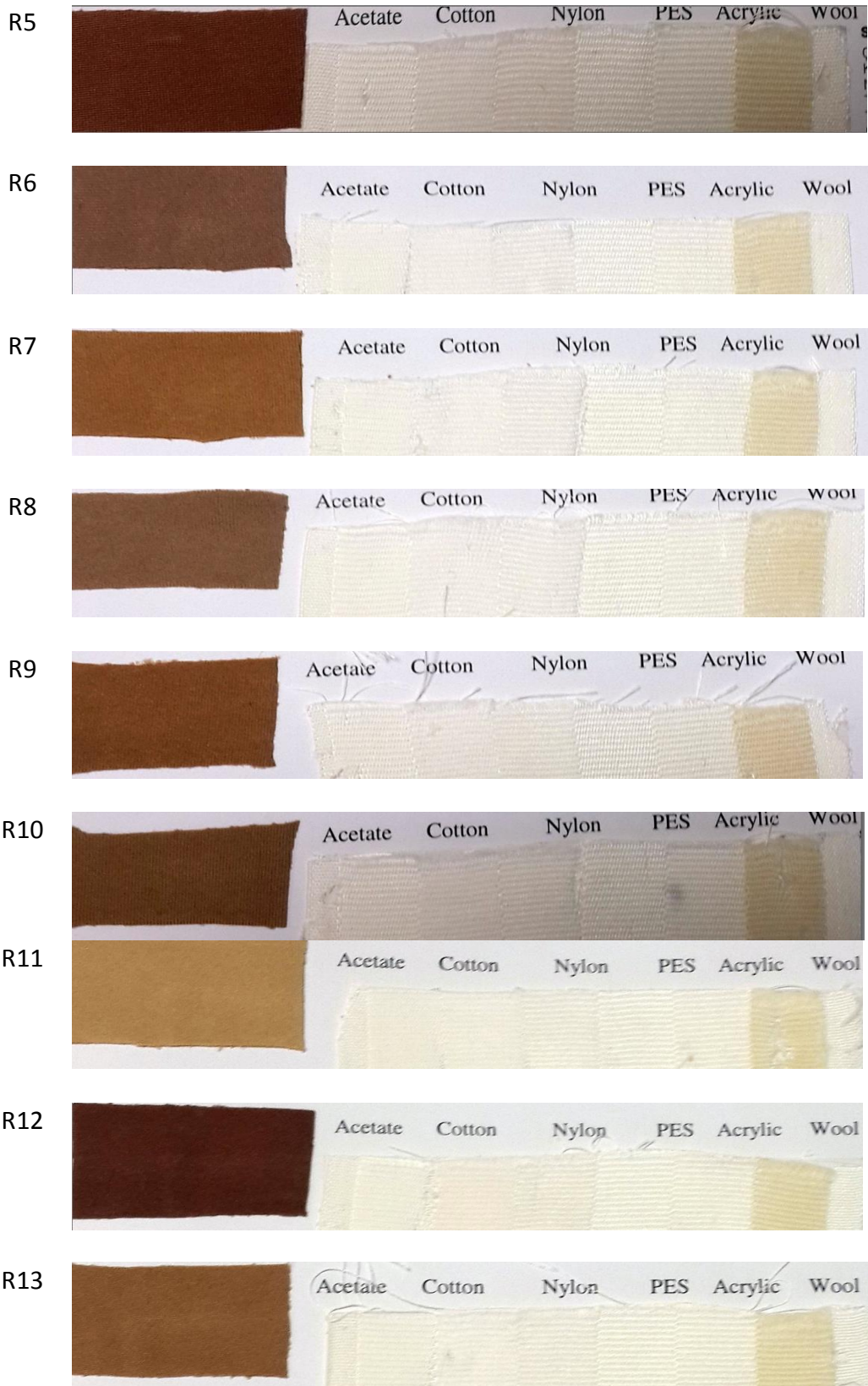


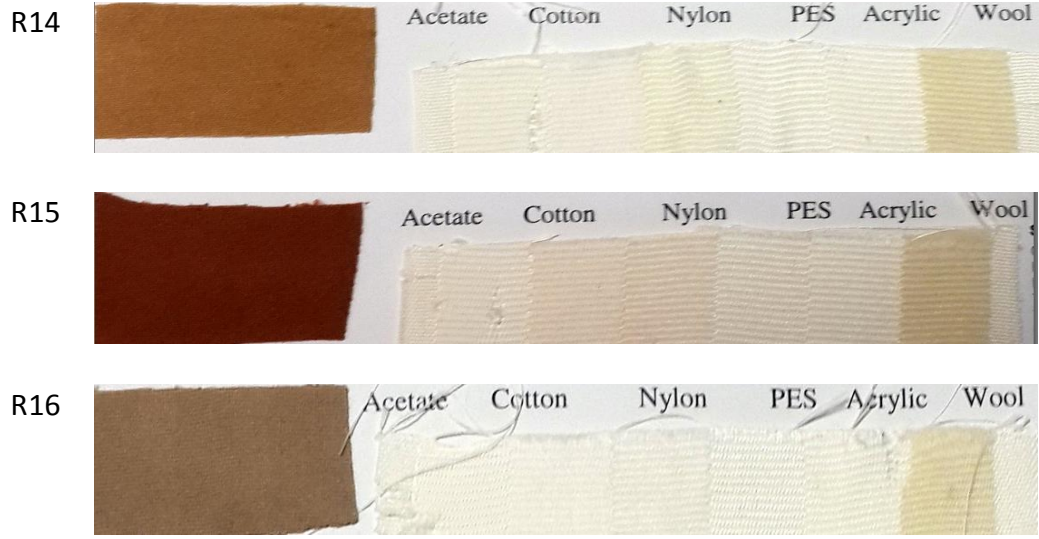


EK 5. YIKAMA HASLIĞI SONUÇLARI

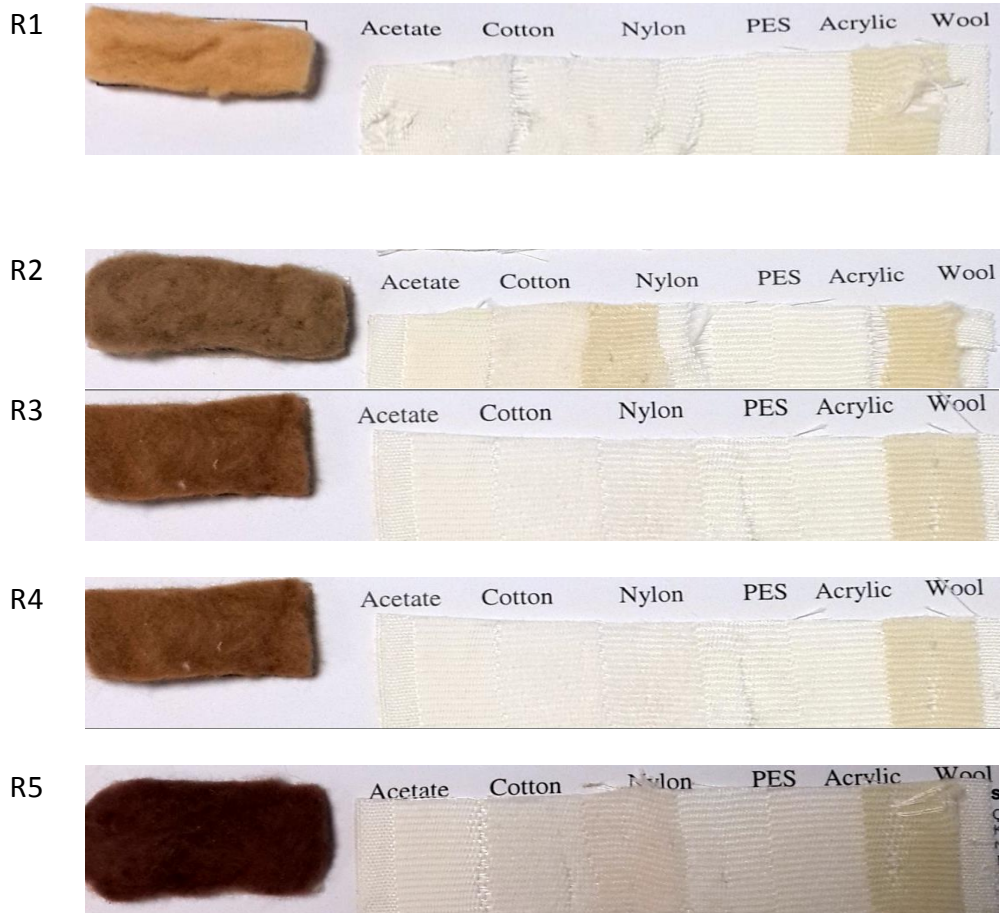
EK 5.1 Nylon Boyama (ISO 105 C06 A2S, 40 °C, 30 dakika)

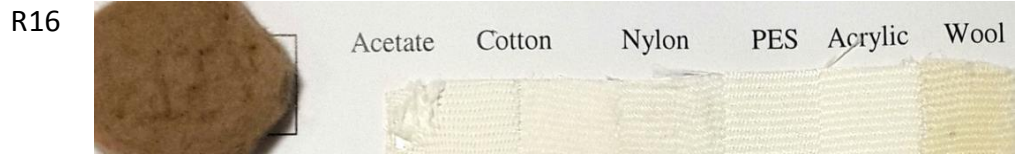
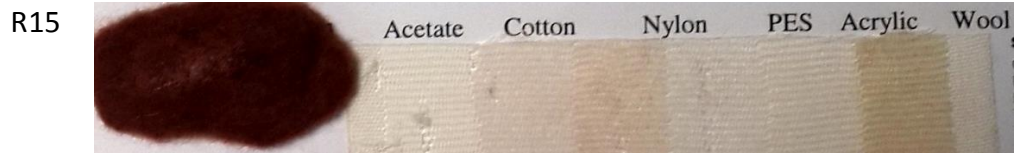




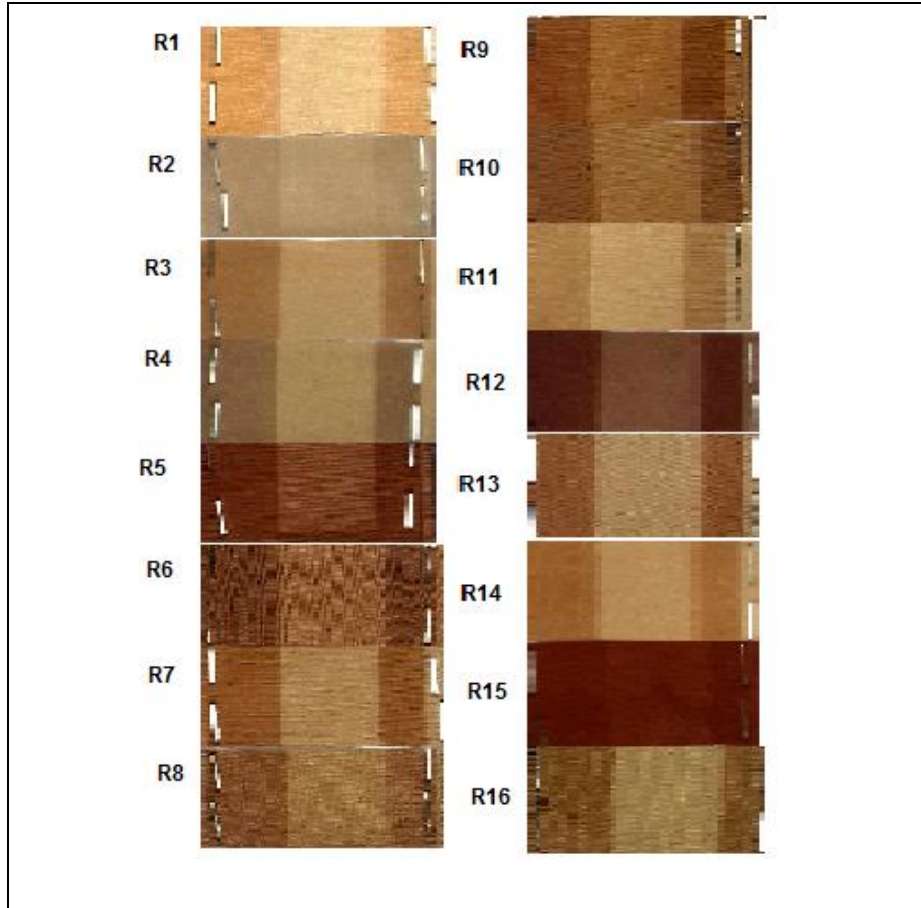


EK 5.2 Yün Boyama (ISO 105 C06 A2S, 40 °C, 30 dakika)





EK 6. IŞIK HASLIĞI SONUÇLARI



ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	İsmail YAKIN
Uyruğu	T.C
Doğum tarihi, Yeri	1978, Çanakkale
Telefon	0 533 2492229
E-mail	iyakin@setas.com.tr

Eğitim

Derece	Kurum/Anabilim Dalı/Programı	Yılı
Yüksek Lisans	İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü / Kimya Anabilim Dalı / Organik Kimya Programı	2015
Lisans	İ.Ü Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü	2000
Lise	Pertevniyal Lisesi	1995

Makaleler / Bildiriler

- 1- Çımarlı A., Gürbüz D., Solak S.,Yakın İ. , Tavman A., Öztürk A., 2014, Geri Dönüşümden Elde Edilen Polyesterin Yüksek Süblimasyon Haslıklı Yeni Dispers Boyarmaddelerle Boyanması, 2. Uluslararası Tekstil Zirvesi Kahramanmaraş.
- 2- Atav, R., Yakın, İ., Ergünay, U., 2014, Poliamid Liflerinin Düşük Sıcaklıkta Boyanma Olanaklarının İncelenmesi, 2. Uluslararası Tekstil Zirvesi Kahramanmaraş.
- 3- Onar N., Morali S., Kutlu B., Aksit A., Yakın İ., Çelik E., 2014, Improving Of Cotton Fabric With Durable Water Oil Repellency And Flame Retardancy Properties By Organic-Inorganic Hybrid Coating, International Conference Applied Research On Textile CITRAT-6, Hammamet-Tunisia.