



**PAMUKLU KUMAŞLARIN ENZİMATİK RENKLENDİRİLMESİNİN
GELİŞTİRİLMESİ VE EKONOMİK VE EKOLOJİK AÇILARDAN REAKTİF
BOYAMA İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

BÜRHAN BUĞDAYCI

**Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman: Prof. Dr. Rıza ATAV
2022**

T.C.
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



PAMUKLU KUMAŞLARIN ENZİMATİK RENKLENDİRİLMESİNİN
GELİŞTİRİLMESİ VE EKONOMİK VE EKOLOJİK AÇILARDAN REAKTİF
BOYAMA İLE KARŞILAŞTIRILMASI

BÜRHAN BUĞDAYCI

ORCID: 0000-0002-9515-3477

TEKSTİL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Danışman: Prof. Dr. Rıza ATAV

ŞUBAT-2022

Her hakkı saklıdır.

ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ BEYANI

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak sunulan ve Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tez çalışması; TÜBİTAK tarafından 5170069 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Bürhan BUĞDAYCI

07/02/2022



ÖZET

PAMUKLU KUMAŞLARIN ENZİMATİK RENKLENDİRİLMESİNİN GELİŞTİRİLMESİ VE EKONOMİK VE EKOLOJİK AÇILARDAN REAKTİF BOYAMA İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Bürhan BUĞDAYCI

Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Rıza ATAV

Son yıllarda tekstilin diğer alanlarında olduğu gibi tekstil boyamacılığı alanında da çevredostu üretim alternatifleri üzerinde yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Bu açıdan önemli fırsatlar vadeden bir yaklaşım çeşitli renksiz başlangıç maddeleri kullanılarak bunların lakkaz ile enzimatik reaksiyon sonucu boya molekülüne dönüştürülmesi ve müteakip veya eşzamanlı olarak liflerin boyanmasıdır. Bu tez kapsamında öncelikle başlangıç maddesi olarak fenol, amin ve bunların karışımı kullanılarak enzimatik boya sentezine ilişkin reaksiyon mekanizması ve elde edilen boyaların kimyasal yapıları Fourier Dönüşümlü Kıızıl Ötesi Spektroskopisi ve Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi analizleri ile detaylı olarak aydınlatılmıştır. Ardından lakkaz ile enzimatik renklendirmede ultrason teknolojisi kullanımının ve enzim orijininin etkisi incelenerek literatürde daha önceki çalışmalarda elde edilmiş olan sonuçlar geliştirilmeye çalışılmıştır. Bunun ötesinde pamuğun kendi doğasında bulunan renk veren pigmentlerin veya bitkilerden ekstrakte edilen doğal başlangıç maddelerinin enzimatik renklendirmede kullanım olanakları araştırılmıştır. Son olarak, enzimatik boyamaların teknik (renk tekrarlanabilirliği; yıkama, sürtme, ışık ile ter haslığı değerleri ve UV koruma faktörü), ekonomik (bir kg kumaşın boyanması için gerekli kimyasal, enerji ve su tüketimi) ve ekolojik (atık suyun pH'ı, kimyasal oksijen ihtiyacı, biyolojik oksijen ihtiyacı, toplam çözünmüş katı madde miktarı, toplam Kjeldahl azotu ve klorür içeriği) açılardan günümüz pamuk boyamacılığında en fazla kullanılan yöntem olan reaktif boyama ile karşılaştırılması ve optimum reçetelerin endüstriyel ölçekli üretim koşullarında denenmesi gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Pamuk, Enzimatik Boyama, Lakkaz, Ekonomi, Ekoloji

ABSTRACT

ENHANCEMENT OF ENZYMATIC COLORING OF COTTON FABRICS AND ITS COMPARISON WITH REACTIVE DYEING FROM ECONOMICAL AND ECOLOGICAL PERSPECTIVES

Bürhan BUĞDAYCI

Department of Textile Engineering

MSc. Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Rıza ATAV

In recent years, intensive researches are carried out on environmentally friendly production alternatives in the field of textile dyeing as in other fields of textile. An approach that offers significant opportunities in this respect is the conversion of various colorless precursors into dye molecules by enzymatic reaction with laccase and subsequent or simultaneous dyeing of the fibers. In this thesis, first of all, the reaction mechanism of enzymatic dye synthesis by using phenol, amine and their mixture as precursor and the chemical structures of the dyes obtained were elucidated in detail by Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy analyzes. Then, the effect of using ultrasound technology and enzyme origin in enzymatic coloring with laccase was examined and the results obtained in previous studies in the literature were tried to be improved. Beyond that, the possibilities of using the pigments in the nature of cotton or natural precursors extracted from plants in enzymatic coloring have been investigated. Finally, the comparison of enzymatic dyeing with reactive dyeing, which is the most widely used method in cotton dyeing in terms of technical (color reproduceability; washing, rubbing, light and perspiration fastness values and UV protection factor), economical (chemical, energy and water consumption required for dyeing one kg of fabric) and ecological (pH, chemical oxygen demand, biological oxygen demand, total dissolved solids content, total Kjeldahl nitrogen and chloride content of wastewater) aspects, and testing of optimum recipes under industrial scale production conditions were carried out.

Keywords: Cotton, Enzymatic Dyeing, Laccase, Economy, Ecology

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TEŞEKKÜR.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1 Enzimler Hakkında Genel Bilgi.....	4
2.2 Lakkaz Enzimleri.....	5
2.2.1 Lakkaz Enzimlerinin Tarihi.....	5
2.2.2 Lakkazların Yapısı ve Özellikleri	6
2.2.3 Lakkazların etki mekanizması.....	11
2.2.3.1 Basit Fenolik Bileşiklerin Doğrudan Oksidasyonu (A tipi reaksiyon)	11
2.2.3.2 Fenolik ve Fenolik Olmayan Substratların Medyator Varlığında Oksidasyonu (B tipi reaksiyon).....	12
2.2.3.3 Lakkazın Etkisiyle Oluşan Reaktif Radikallerin Kenetlenmesi (C Tipi Reaksiyon).....	13
2.3 Selülozik Liflerin Lakkaz ile Enzimatik Renklendirilmesine İlişkin Literatür Özeti	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
3.1 Enzimatik Sentez Yoluyla Elde Edilen Boyaların Yapısal Analizlerinin Gerçekleştirilmesi	23
3.1.1 Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) analizi	23
3.1.2 Nükleer manyetik rezonans (NMR) analizi	23
3.2 Lakkaz ile Enzimatik Renklendirmede Ultrason Teknolojisinin Etkisinin İncelenmesi	24
3.3 Lakkaz ile Enzimatik Renklendirmede Enzim Orijininin Etkisinin İncelenmesi	25
3.4 Pamuğun Kendi Doğasında Bulunan Pigmentlerinin Enzimatik Renklendirmede Değerlendirilmesi.....	25
3.5 Bitkilerden Ekstrakte Edilen Doğal Başlangıç Maddelerinin Enzimatik Renklendirmede Kullanımı.....	26
3.6 Enzimatik Boyamaların Teknik, Ekonomik ve Ekolojik Açılardan Reaktif Boyama ile Karşılaştırılması	26
3.7 Optimum Reçetelerin Endüstriyel Ölçekli Üretim Koşullarında Denenmesi.....	30
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	34
4.1 Boyaların Yapısal Analizlerine İlişkin Sonuçlar	34

4.1.1	Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) analizi sonuçları.....	34
4.1.2	Nükleer manyetik rezonans (NMR) analizi sonuçları.....	45
4.2	Lakkaz ile Enzimatik Renklendirmede Ultrason Teknolojisinin Etkisinin İncelenmesine İlişkin Sonuçlar.....	49
4.3	Lakkaz ile Enzimatik Renklendirmede Enzim Orijininin Etkisinin İncelenmesine İlişkin Sonuçlar.....	51
4.4	Pamuğun Kendi Doğasında Bulunan Pigmentlerinin Enzimatik Renklendirmede Değerlendirilmesine İlişkin Sonuçlar.....	53
4.5	Bitkilerden Ekstrakte Edilen Doğal Başlangıç Maddelerinin Enzimatik Renklendirmede Kullanımına İlişkin Sonuçlar.....	55
4.6	Enzimatik Boyamaların Teknik, Ekonomik ve Ekolojik Açılardan Reaktif Boyama ile Karşılaştırılması.....	64
4.6.1	Teknik karşılaştırma.....	64
4.6.2	Ekonomik karşılaştırma.....	68
4.6.3	Ekolojik karşılaştırma.....	73
4.7	Optimum Reçetelerin Endüstriyel Ölçekli Üretim Koşullarında Denenmesine İlişkin Sonuçlar.....	75
5.	GENEL SONUÇLAR.....	78
6.	KAYNAKÇA.....	81
	ÖZGEÇMİŞ.....	88

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Uluslararası Biyokimya Birliği Enzim Komisyonu'na göre enzimlerin sınıflandırılması ve etkileri.....	4
Çizelge 2.2. Pamuk lifinin enzimatik olarak renklendirilmesiyle ilgili yapılan önceki çalışmalar	18
Çizelge 3.1. Denemelerde başlangıç maddesi olarak kullanılan bileşiklerin isimleri, CAS numaraları, molekül ağırlıkları ve kimyasal formülleri.....	22
Çizelge 3.2. Reaktif boyamada kullanılan boyarmaddelerin özellikleri	27
Çizelge 4.1. Optimum koşullar altında ultrason varlığında ve ultrason yokluğunda yapılan boyamaların renk değerleri.....	49
Çizelge 4.2. Optimum koşullar altında ultrason varlığında ve ultrason yokluğunda yapılan boyamalara ait kumaş numunelerinin fotoğrafları	50
Çizelge 4.3. Optimum koşullar altında ultrason varlığında ve ultrason yokluğunda yapılan boyamaların yıkama haslığı değerleri.....	50
Çizelge 4.4. Optimum koşullar altında farklı orijinli enzimlerle yapılan boyamaların renk değerleri.....	51
Çizelge 4.5. Optimum koşullar altında farklı orijinli enzimler kullanılarak yapılan boyamalara ait kumaş numunelerinin fotoğrafları	52
Çizelge 4.6. Optimum koşullar altında farklı orijinli enzimler kullanılarak yapılan boyamalara ait kumaş numunelerinin yıkama ve sürtme haslığı değerleri	52
Çizelge 4.7. Farklı orijinli enzimler kullanılarak yapılan boyamalara ait kumaş numunelerinin fotoğrafları.....	53
Çizelge 4.8. Sadece bazik işlem görmüş örme kumaşların başlangıç maddesi içermeyen flottelerde değişik lakkaz enzimi konsantrasyonlarında işlem sonrası renkleri	53
Çizelge 4.9. Ağartılmış ve sadece bazik işlem görmüş pamuklu kumaşların optimum koşullar altında enzimlerle yapılan boyamalarına ait renk ölçüm değerleri.....	54
Çizelge 4.10. Ağartılmış ve sadece bazik işlem görmüş pamuklu kumaşların optimum koşullar altında enzimlerle yapılan boyamalarına ait kumaş görselleri	54
Çizelge 4.11. Sarı Kantaron için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonuna ilişkin varyans analizi sonuçları	55
Çizelge 4.12. Sarı Kantaron için enzimatik boyamada enzim konsantrasyonunun etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı).....	56
Çizelge 4.13. Sarı Kantaron için enzimatik boyamada bitki ekstraktı konsantrasyonunun etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı).....	56
Çizelge 4.14. Sarı Kantaron için enzimatik boyamada sürenin etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı)	56
Çizelge 4.15. Sarı Kantaron için enzimatik boyamada sıcaklığın etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı)	56
Çizelge 4.16. Sarı Kantaron için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonu denemelerine ilişkin kumaş numunelerinin fotoğrafları	57
Çizelge 4.17. Sarı Kantaron ile optimum koşullarda enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamalara ait renk ölçüm sonuçları	58
Çizelge 4.18. Sarı Kantaron ile optimum koşullarda enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamalara ait numuneler.....	58
Çizelge 4.19. Sarı Kantaron ile optimum koşullarda enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamaların yıkama, sürtünme ve ışık haslığı test sonuçları	59
Çizelge 4.20. Beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonuna ilişkin varyans analizi sonuçları	60

Çizelge 4.21. Beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyamada enzim konsantrasyonunun etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı).....	60
Çizelge 4.22. Beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyamada bitki ekstraktı konsantrasyonunun etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı).....	61
Çizelge 4.23. Beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyamada sürenin etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı)	61
Çizelge 4.24. Soğan Kabuğu için enzimatik boyamada sıcaklığın etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı)	61
Çizelge 4.25. Beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonu denemelerine ilişkin kumaş numunelerinin fotoğrafları.....	62
Çizelge 4.26. Beyaz soğan kabuğu ile optimum koşullarda enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamalara ait renk ölçüm sonuçları	63
Çizelge 4.27. Beyaz soğan kabuğu ile optimum koşullarda enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamalara ait numuneler	63
Çizelge 4.28. Soğan kabuğu ile optimum koşullarda enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamaların yıkama, sürtme ve ışık haslığı test sonuçları	63
Çizelge 4.29. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyamaların 5 kez tekrarlanan renk ölçüm sonuçlarına ilişkin standart sapma ve varyasyon katsayısı değerleri	64
Çizelge 4.30. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyama ile elde edilmiş benzer renklerin yıkama, sürtünme ve ışık haslığı değerleri	65
Çizelge 4.31. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyama ile elde edilmiş benzer renklerin ter haslığı değerleri	66
Çizelge 4.32. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyamaya tabi tutulmuş numunelerin UV koruma özellikleri.....	67
Çizelge 4.33. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyamalarda kullanılan sarf kalemleri ve birim fiyatları	68
Çizelge 4.34. Enzimatik renklendirmede kullanılan sarf kalemleri ve 1 kg kumaş boyama için maliyetleri.....	70
Çizelge 4.35. Reaktif boyamada kullanılan sarf kalemleri ve 1 kg kumaş boyama için maliyetleri.....	71
Çizelge 4.36. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyamada maliyet kalemleri ve tutarları....	72
Çizelge 4.37. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyama ile yapılmış boyamalara ait atıksuların analiz sonuçları.....	73
Çizelge 4.38. Endüstriyel ölçekli üretim koşullarında enzimatik olarak renklendirilmiş kumaş numunelerinin renk verimi (K/S) ve CIEL*a*b* değerleri.....	76
Çizelge 4.39. Endüstriyel ölçekli üretim koşullarında enzimatik olarak renklendirilmiş kumaş numunelerinin yıkama, sürtünme ve ışık haslığı değerleri.....	76
Çizelge 4.40. Endüstriyel ölçekli üretim koşullarında enzimatik olarak renklendirilmiş kumaş numunelerinin asidik ve alkali ter haslığı değerleri	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. G. Bertrand'ın Paris'teki College de France'da saklanan lakkaz örnekleri.....	6
Şekil 2.2. Lakkaz; A: Kuprodoksin, B: Lakkazın Yapısı, C: Bakır Tipleri	7
Şekil 2.3. Lakkazın bakır atomu merkezleri.....	8
Şekil 2.4. Lakkazsın katalitik döngüsü.....	9
Şekil 2.5. Lakkaz-medyatör sistemlerinin kataliz mekanizması	10
Şekil 2.6. Lakkazların yapay medyatörleri.....	10
Şekil 2.7. Fenolik substratların doğrudan oksidasyonunun (A tipi reaksiyon) bir örneği olarak katekolün lakkaz ile o-benzokinona dönüşümü.....	11
Şekil 2.8. Medyatör olarak TEMPO varlığında lakkaz katalizörlüğünde indolün, 2,2-bis (3-indolil) indoksile oksidasyonu ve trimerizasyonu (B tipi reaksiyon).....	12
Şekil 2.9. Fenoksi radikallerinin lakkaz enzimleri ile kenetlenme reaksiyonları.....	13
Şekil 2.10. Katekolün lakkaz-medyatör sistemiyle homomoleküler oksidasyonu.....	14
Şekil 2.11. N-C ve O-C bağlarının oluştuğu homomoleküler kenetlenme reaksiyonu (C tipi reaksiyon) örneği olarak 3-amino-4-hidroksibenzen-sülfonik asidin fenoksazin boyasına lakkaz-medyatör sistemiyle oksidasyonu	15
Şekil 2.12. N-N bağlarının oluştuğu homomoleküler kenetlenme reaksiyonu (C tipi reaksiyon) örneği olarak sodyum 1-amino-4- (sikloheksilamino) -9,10-dihidro-9,10-dioksoanhtracene-2-sülfonatın azoantrakinin boyasına lakkaz-medyatör sistemiyle oksidasyonu	15
Şekil 2.13. N-C bağlarının oluştuğu heteromoleküler kenetlenme reaksiyonu (C tipi reaksiyon) örneği olarak katekol ile 2,5-diaminobenzen-sülfonik asitin renkli ürüne lakkaz-medyatör sistemiyle oksidasyonu	15
Şekil 2.14. N-C bağlarının oluştuğu heteromoleküler kenetlenme reaksiyonu (C tipi reaksiyon) örneği olarak katekol ile 2,5-diaminobenzen-sülfonik asitin renkli ürüne lakkaz-medyatör sistemiyle oksidasyonu	15
Şekil 2.15. Bir fenolik bileşiğin (doğal substrat) lakkazla oksidasyonu	16
Şekil 3.1. Ultrasonik boyamalarda kullanılan cihaz ve düzenek.....	24
Şekil 3.2. Soldan sağa enzim 1, enzim 2 ve enzim 3'e ait çözeltiler	25
Şekil 3.3. Reaktif boyamada kullanılan boyarmaddelerin kimyasal yapıları.....	28
Şekil 3.4. Reaktif boyarmaddelerle yapılan boyamalara ilişkin boyama grafiği (A:NaCl, B: Egaliz Maddesi, C: Boya, D: Soda).....	29
Şekil 4.1. Katekolün lakkaz ile o-benzokinona dönüşümü ve homopolimerizasyonu.....	35
Şekil 4.2. F başlangıç maddesinin ve F boyasının FTIR spektrumları	35
Şekil 4.3. A1 başlangıç maddesi lakkaz enzimiyle A1 boyası oluşumu	37
Şekil 4.4. A1 başlangıç maddesinin ve A1 boyasının FTIR spektrumları	37
Şekil 4.5. 4-metoksifenol ve 3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorürün renkli heteropolimer oluşturmak üzere lakkaz enzimi katalizörlüğünde oksidatif çapraz bağlanması için önerilen reaksiyon mekanizması	40
Şekil 4.6. 4-metoksifenol, 3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorürün ve AF boyasının FTIR spektrumları	40
Şekil 4.7. ABTS'den bir ve iki elektronun uzaklaştırılmasıyla katyon radikalinin ve dikatyonun oluşması.....	43
Şekil 4.8. A2 başlangıç maddesinin ve A2 boyasının FTIR spektrumları	43
Şekil 4.9. F boyasına ait ¹³ C-NMR (solda) ve ¹ H-NMR (sağda) spektrumları.....	45
Şekil 4.10. F boyasının yapısında bulunan o-benzokinondaki C atomlarındaki H atomlarının ¹ H NMR spektrumundaki pikleri.....	46
Şekil 4.11. A1 boyasına ait ¹³ C-NMR (solda) ve ¹ H-NMR (sağda) spektrumları	46
Şekil 4.12. A1 boyasının yapısında bulunan C atomlarındaki H atomlarının ¹ H NMR spektrumundaki pikleri.....	47

Şekil 4.13: AF boyasına ait ^{13}C -NMR (solda) ve ^1H -NMR (sağda) spektrumları.....	47
Şekil 4.14: AF boyasının yapısında bulunan C atomlarındaki H atomlarının ^1H NMR spektrumundaki pikleri.....	48
Şekil 4.15: A2 boyasına ait ^{13}C -NMR (solda) ve ^1H -NMR (sağda) spektrumları.....	48
Şekil 4.16: A2 boyasının yapısında bulunan C atomlarındaki H atomlarının ^1H NMR spektrumundaki pikleri.....	49
Şekil 4.17: Sarı Kantaron için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonuna ilişkin boxplot grafikleri.....	55
Şekil 4.18: Fenolik hidroksil grubu içeren doğal boyalar ile lakkaz enziminin etkileşimi (Bai ve ark., 2016).....	59
Şekil 4.19: Beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonuna ilişkin boxplot grafikleri.....	60
Şekil 4.20: Endüstriyel ölçekli üretim koşullarında enzimatik olarak renklendirilmiş kumaş numunelerin fotoğrafları.....	76



TEŞEKKÜR

Tez çalışmada bana yol gösteren ve eğitim hayatımda bana sonsuz destek olan hocam Prof. Dr. Rıza ATAV'a teőekkürü borç bilirim.

Bana her konuda destek olan çok değerli dostum Uğur ERĐUNAY'a içten teşekkür ederim. Hayatımın her anında benden desteklerini esirgemeyen sevgili eőim Cemre BUĞDAYCI'ya, bu günlere gelmemde büyük emekleri olan değerli aileme ve Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Tekstil Mühendisliği Bölümü'ndeki tüm hocalarıma Őukranlarımı sunarım.

Bu çalışmayı 5170069 nolu 1505 projesi kapsamında destekleyen TÜBİTAK'a ve başta İsmail YAKIN olmak üzere proje ortağı firma olan SETAŞ Kimya A.Ő. alışanlarına teşekkür ederim.

Bürhan BUĞDAYCI
Tekstil Mühendisi
Şubat-2022

1. GİRİŞ

Renk hem estetik hem de sosyal nedenlerden dolayı insanlığı her zaman büyülemiştir. Bu nedenle, boyalar ve pigmentler tarih boyunca en önemli ticari mallar olmuştur. Renklendirme için boyaların kullanımı, 5000 yıldan daha uzun bir tarih öncesi döneme kadar dayanmaktadır (Mondal, Purkait ve De, 2018). Eski insanlar renklendirme için kendi çevrelerinden kolayca elde edilebildikleri bitkisel, mineral ve hayvansal kaynaklı boyaları kullanmışlardır (Vankar, 2017). Ancak, 1856'da sentetik boyaların keşfinden sonra, tekstil ürünlerini renklendirmek için doğal boyaların kullanımı hızla azalmıştır (Cristea ve Vilarem, 2006). Renklendirme amacıyla bitkisel boyaların uygulanması daha çevre dostu bir yaklaşım olarak görülebilse de, boyarmadde grupları, renklendirme özellikleri (renk tonu, haslık vb.), boyama teknikleri ve fiksaj özellikleri açısından bazı sınırlamalar bulunmaktadır (Räisänen, 2009). Bununla birlikte, düşük ila orta maliyetlerde iyi haslık özelliklerine sahip olmaları ve geniş renk yelpazeleri sentetik boyaların, doğal boyaların yerine tercih edilmelerindeki ana neden olmuştur (Zarkogianni ve ark., 2010). Buna rağmen, tekstilde sentetik boyaların kullanılması, oldukça kirli atık suların oluşmasına neden olmaktadır. Bu boyaların karmaşık yapıları onları zor ayrışabilen bir hâle getirerek ciddi çevresel sorunlara yol açmaktadır. Ek olarak, çoğu sentetik boyanın toksik, mutajenik ve kanserojen olduğu kabul edilmektedir (Gioia ve ark., 2014).

Küresel ölçekte yıllık olarak hazırlanan 40 milyar pound pamuklu ürün göz önüne alındığında, hazırlık sürecinin (ön terbiye, boyama, bitim işlemleri) çevreye salınan zararlı kimyasalların başlıca kaynağı olduğu anlaşılmaktadır (Roy Choudhury, 2011). Bu atıklar tipik olarak yüksek oranda renklilik, genellikle alkali pH, daha yüksek miktarlarda biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ) ile kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ve askıda katı maddeler, boyalar, asitler, bazlar, tuzlar, yüzey aktif maddeler, klorlu bileşikler, yükseltgen ve indirgen maddeler gibi çeşitli toksik kirleticiler içermektedir. En sorunlu boyalar, parlak renkli ve suda çözünür olan reaktif ve asit boyalardır. Bunlar konvansiyonel yöntemler kullanılarak ortamdan uzaklaştırılmazlar (Kumar ve Saravanan, 2017). Ayrıca reaktif boyalar su kirliliğinin yanı sıra solunum sıkıntısına neden olmaktadır. 1985 yılında reaktif boyarmadde tozlarına maruz kalan boyahane sorumluları, operatörler, boyarmadde depo çalışanları, boya mutfakçıları ve laboratuvar personeli gibi 414 çalışanın katıldığı bir araştırmada, 21 kişide alerjik reaksiyonların olduğu, bir veya daha fazla reaktif boya kaynaklı oluşan astım tespit edilmiştir (Gregory, 2007). Tüm bunlar boyamacıları, boyarmaddelerin kimyasal sentezine ve renklendirme proseslerine çevresel olarak kabul edilebilir alternatifler bulma arayışına

yönlendirmiştir (Fu ve ark., 2012). Kimyasalların sentezinde biyoteknolojinin uygulanması, geleneksel sentetik proseslerin çevresel ayak izini azaltmayı amaçlamaktadır. Boyarmaddelerin büyük küresel üretimleri ve sentezlerindeki zorlu çalışma koşulları dikkate alındığında, bunların üretimlerinde çevreci katalitik alternatifler gerekmektedir. Bu nedenle son yıllarda, boyarmadde sentezi için enzimler gibi güvenli oksidantlar, en az çevresel etkiye sahip biyo-bazlı alternatifler olarak geniş çapta araştırılmaktadır. Bu bağlamda, lakkazlarla enzimatik prosesler umut verici ufuklar açmaktadır (Pezzella ve ark., 2016). Çeşitli renksiz başlangıç maddeleri (amin ve/veya fenol bileşikleri) kullanılarak bunların lakkaz ile enzimatik reaksiyon sonucu boya molekülüne dönüştürülmesi ve müteakip veya eşzamanlı olarak liflerin boyanması henüz oldukça yeni bir konudur ve literatürdeki çalışmalar oldukça sınırlıdır. Pamuğun enzimatik renklendirilmesi ile ilgili olarak en kapsamlı çalışma daha önce **Bozkurt (2019)** tarafından yapılan yüksek lisans tezidir. Söz konusu çalışmada çok çeşitli amin ve fenol bileşikleri ile bunların ikili kombinasyonlarının kullanılması durumunda pamuklu kumaşlar üzerinde lakkaz ile enzimatik renklendirme yoluyla elde edilebilecek renkler ile renk ve haslık özellikleri açısından optimum sonuçları veren başlangıç maddeleri belirlenmişti. Ayrıca optimum sonuç veren sarı, kırmızı, lila ve kahverengi boyaların yapısal analizleri spektrofotometrik (UV-vis) ve kromatografik (HPLC) yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmişti. Ancak yeni bir boyama teknolojisinin tekstil boyamacılığı alanında uygulanabilir olması için ekonomikliği ve verimliliği kritik öneme sahiptir. Bu nedenle, boyama sonucunda elde edilen verim özelliklerinin iyileştirilmesi ve bu yeni boyama yönteminin konvansiyonel boyamaya göre teknik, ekonomik ve ekolojik açılardan avantaj-dezavantajlarının ortaya koyulması için yeni bir çalışmaya ihtiyaç duyulmuştur.

Bu yüksek lisans tezi kapsamında öncelikle sarı, kırmızı, lila ve kahverengi renk veren boyaların enzimatik sentezine ilişkin reaksiyon mekanizması ve kimyasal yapıları Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektroskopisi ve Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi analizleri ile detaylı olarak aydınlatılmıştır. Ardından lakkaz ile enzimatik renklendirmede ultrason teknolojisi kullanımının ve enzim orijininin etkisi incelenerek daha önceki çalışmalarda elde edilmiş olan sonuçlar verim ve haslık özellikleri açısından geliştirilmeye çalışılmıştır. Bunun ötesinde pamuğun kendi doğasında bulunan renk veren pigmentlerin veya bitkilerden ekstrakte edilen doğal başlangıç maddelerinin enzimatik renklendirmede kullanım olanakları araştırılmıştır. Son olarak, enzimatik boyamaların teknik (renk tekrarlanabilirliği; yıkama, sürtme, ışık ile ter haslığı değerleri ve UV koruma faktörü), ekonomik (bir kg kumaşın boyanması için gerekli kimyasal, enerji ve su tüketimi) ve ekolojik (atık suyun pH'ı, kimyasal

oksijen ihtiyacı, biyolojik oksijen ihtiyacı, toplam çözünmüş katı madde miktarı, toplam Kjeldahl azotu ve klorür içeriği) açılardan günümüz pamuk boyamacılığında en fazla kullanılan yöntem olan reaktif boyama ile karşılaştırılması ve optimum reçetelerin endüstriyel ölçekli üretim koşullarında denenmesi gerçekleştirilmiştir.



2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Enzimler Hakkında Genel Bilgi

Enzimler, yaşayan sistemlerde metabolizmayı oluşturan neredeyse tüm biyokimyasal reaksiyonlara aracılık eden biyolojik katalizörlerdir. Kendileri herhangi bir kalıcı kimyasal değişime uğramadan kimyasal reaksiyon hızını artırmaktadırlar. "Enzim" terimi ilk olarak Kühne tarafından 1878'de kullanılmıştır ve Yunanca "içinde (en) ve maya (zumé)" anlamlarına gelen kelimelerin birleşimi olan "enzumé" kelimesinden gelmektedir. Bilinen tüm enzimler proteinlerden oluşmaktadır. Bu nedenle, bir veya daha fazla polipeptit zincirinden oluşmaktadırlar ve proteinlere özgü özellikler göstermektedirler. Bazı enzimler, katalizör olarak işlev görmek için kofaktörler olarak bilinen küçük protein olmayan moleküllere ihtiyaç duymaktadırlar. Enzimlerin temel olarak katalizlediği reaksiyon, bir enzimi diğer enzimlerden ayırt etmedeki belirleyici özellik olduğu için, enzimler buna göre sınıflandırılmakta ve isimlendirilmektedir (Jenkins, 2003). Uluslararası Biyokimya Birliği Enzim Komisyonu (The Enzyme Commission of the International Union of Biochemistry) (EC) 1961'de enzimlerin sınıflandırılması ve katalizlediği reaksiyona dayalı olarak bunlara kod numaraları verilmesi için rasyonel bir sistem tasarlamıştır. Ön eki EC olan kod numaraları artık yaygın olarak kullanılmaktadır ve noktalarla ayrılmış dört öge içermektedir (Jenkins, 2003). Çizelge 2.1'de EC sistemine göre 6 enzim sınıfı verilmektedir.

Çizelge 2.1. Uluslararası Biyokimya Birliği Enzim Komisyonu'na göre enzimlerin sınıflandırılması ve etkileri (Mojsov, 2011; Özgen, 2018)

Enzim Sınıfı	Etkisi
EC1 Oksidoredüktazlar	Yükseltgeme/indirgeme reaksiyonlarını katalize ederler.
EC2 Transferazlar	Fonksiyonel bir grup (amino, metil, fosfat vb.) aktarırlar.
EC3 Hidrolazlar	Çeşitli bağların hidrolizini katalize ederler.
EC4 Liyazlar	Çeşitli bağları hidroliz ve oksidasyon olmadan yani eliminasyon ile parçalarlar.
EC5 İzomerazlar	Tek bir molekül içindeki geometrik ya da yapısal yeniden düzenlemeyi katalizlerler.
EC6 Ligazlar	İki molekülü kovalent bağlarla birbirine bağlayarak sentez gerçekleştirirler.

EC kodunda ilk numara enzimin altı ana sınıftan hangisine ait olduğunu, katalize ettiği reaksiyonun sınıfını belirtmektedir. İkinci numara etki ettiği kimyasal yapıyı ve fonksiyonel grubu; üçüncü numara ise akseptörü belirlemektedir. Dördüncü numara ise enzimin ait olduğu en alt sınıftaki sıra numarasını ifade etmektedir ve karakteristiktir (Özgen, 2018).

2.2 Lakkaz Enzimleri

2.2.1 Lakkaz Enzimlerinin Tarihçesi

Lakkazın varlığı ilk olarak, Yoshida tarafından 1883'te Japon lak ağacının (*Rhus vernicifera*) "Urushi" olarak bilinen sütlü salgısı olan ve iyi bilinen Japon cila verniğinin hammaddesinden keşfedilmiştir (Yoshida, 1883). Antoine Lavoisier (1743-1794) ilk oksidaz araştırmacısı olarak kabul edilebilir, çünkü 1789'da "solunum, yanan bir lamba veya mumda meydana gelene tamamen benzeyen karbon ve hidrojenin yavaş bir şekilde yanmasından başka bir şey değildir" demiştir (Malmström, 1997). Bu fikir, 19. yüzyılın başlarında, birkaç araştırmacının hayvan ve bitki dokularının oksijen tükettiğini ve karbondioksit saldıgını göstermesiyle desteklenmiştir. 1836'da Rim Jacob Berzelius (1779-1848), canlı sistemlerdeki kimyasal reaksiyonların doğada katalitik olduğunu öne sürdü ve bu fikir Mauritz Traube (1826-1894) tarafından biyolojik oksidasyonlara uygulanmıştır. 1858'de başlayan bir dönemde solunumla ilgili araştırmalarını *Oxidationsfermente* (1874) monografında özetlemiştir. Bunda, biyolojik oksidasyonun hücre içi enzimler, yani günümüzde oksidazlar olarak adlandırdığımız enzimler tarafından moleküler oksijenin aktivasyonunu içerdiği görüşünü ifade etmiştir (Malmström, 1997).

Traube'nin konsepti, Japonya'da Hikorukoro Yoshida'nın (1859-1928) ve Fransa'da Gabriel Bertrand'ın (1867-1962) Doğu lak ağaçlarında lateksin koyulaştırılması ve sertleştirilmesinde rol oynayan enzimler üzerindeki çalışmalarıyla güçlü bir şekilde desteklenmiştir. Renk değişiminin iki fenolik maddenin, urushiol ve lakkolün oksidasyonundan kaynaklandığını göstermişlerdir. Özellikle Bertrand, 1894-1897 döneminde ağaç lakkazı ve mantarlardan elde edilen lakkaz üzerinde dikkate değer bir dizi araştırma yapmıştır. Ayrıca 1895-1896'da tirozinazı keşfetmiştir. Bu çalışmalar sırasında moleküler oksijeni aktive eden enzimler için oksidaz terimini kullanmıştır. Ek olarak, ilk kez bir metalin bir enzimin ayrılmaz bir parçasını oluşturduğunu öne sürmüştür. Metali Mn olarak tanımladı, ancak neredeyse yarım yüzyıl sonra Keilin ve Mann, hem lakkaz hem de tirozinazın Bakır (Cu) içeren enzimle olduğunu göstermiştir (Malmström, 1997).

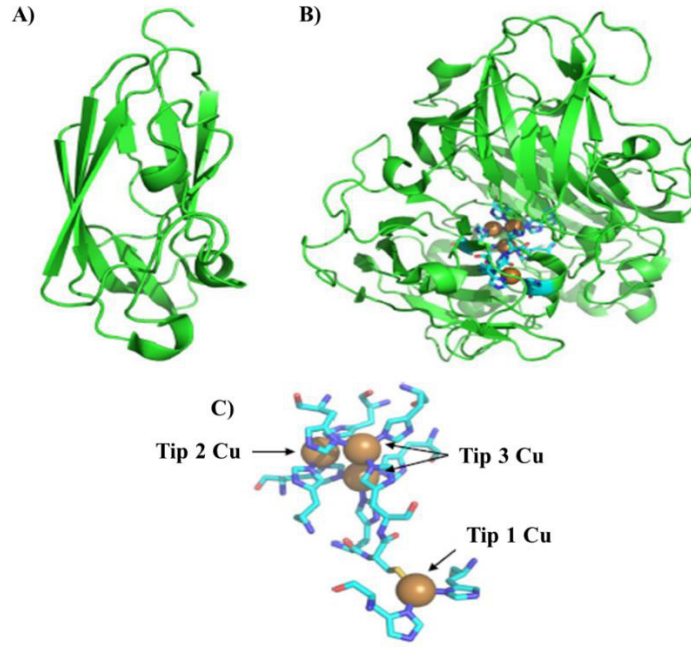


Şekil 2.1. G. Bertrand'ın Paris'teki College de France'da saklanan lakkaz örnekleri (Malmström, 1997)

2.2.2 Lakkazların Yapısı ve Özellikleri

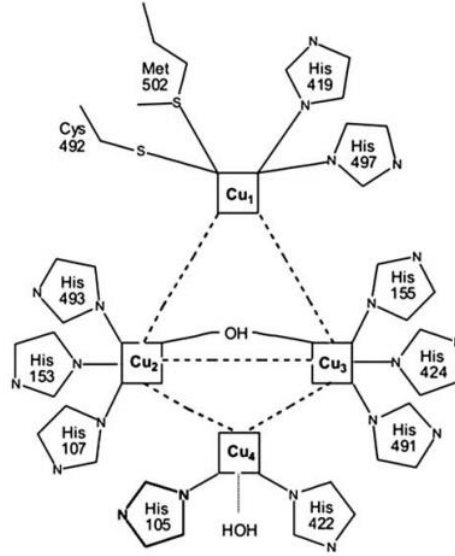
Lakkazlar (EC 1.10.3.2), çok çeşitli inorganik ve organik maddelerin oksidasyonunu katalize eden çok sayıda bakır içeren oksidazlardır (Tzanov et al., 2003). *Yoshida (1883)* 1883 yılında Japon lak ağacının (*Rhus vernicifera*) kabuğundan dışarı akan özden ekstrakte ettiği lakkazı ilk olarak tanımlamıştır. Daha sonra *Bertrand (1895)* tarafından, yapısında metal içeren bir oksidaz olarak nitelendirilmiştir. Bu durum, lakkazı şimdiye kadar tanımlanan en eski enzimlerden biri yapmaktadır. Lakkazlar böceklerde ve bakterilerde de tespit edilmiştir, ancak tüm ahşap bileşenlerini parçalayabilen tek mikroorganizma olan ağaç mantarlarında özellikle çokça bulunmaktadır (Couto ve Toca-Herrera, 2006).

Lakkaz, hidrojen peroksit üretmeden indirgeyici substratın bir elektron oksidasyonu ile moleküler oksijenin suya indirgenmesini katalize etmektedir. Lakkazlar tercihen fenolik bileşikler üzerinde etki gösterebilirler de, substrat spektrumları çok geniştir ve oksitlenen substratların aralığı bir lakkazdan diğerine farklılık göstermektedir. Bu durum, lakkazın aktivitesinin kesin olarak tanımlanmasını karmaşık bir hâle getirmektedir. Lakkazlar, *o*- ve *p*-difenoller, aminofenoller, metoksi ile süstitüye edilmiş fenoller, benzeniyoller, polifenoller, poliaminler, hidroksiindoller, bazı aril diaminler ve önemli bir dizi başka bileşiği dönüştürebilmektedirler (Alcalde, 2007). Şekil 2.2'de lakkazın yapısı verilmektedir.



Şekil 2.2. Lakkaz; A: Kuprodoksin, B: Lakkazın Yapısı, C: Bakır Tipleri (Sherif, 2015)

Lakkazlar dimerik veya tetramerik glikoproteinlerdir ve her enzim molekülünün veya fonksiyonel birimin aktif bölgesinde koordine olmak için üç redoks bölgesi T1 (mavi bakır merkez), T2 ve T3 Cu çiftine bağlı monomer başına dört bakır atomu içermektedir. Bakır atomları, karakteristik elektronik paramanyetik rezonans (EPR) sinyalleriyle birbirlerinden farklıdır. T1 bakır alanında, substrat oksitlenir ve 610 nm civarında yoğun bir elektronik absorpsiyon göstermektedir. Renksiz T2 bakır bölgesi, görünür spektrumda hiçbir absorpsiyon göstermez, ancak EPR ile tespit edilebilir. Diğer ikisi, 330 nm'de zayıf bir UV emilimi ile T3 bölgesinde diamanyetik spin-bağlı bakır-bakır çiftine aittir. T2 ve T3 bakır atomları, oksijenin bağlanmasından ve suya indirgenmesinden sorumlu üç çekirdekli bir bölge oluşturmak için kümeleşmiştir (Şekil 2.3). Lakkazların redoks potansiyeli, bakır merkezlerin yapısına ve özelliklerine bağlıdır. Genel olarak, *Basidiomycetes* kaynaklı lakkazlar (özellikle beyaz çürüklük mantarları) yüksek bir redoks potansiyeline sahipken, bakteri ve bitkilerden elde edilen lakkazlar düşük bir redoks potansiyeline sahiptir. Önceki çalışmalar, bazı indirgeme substratları için lakkazların katalitik verimliliğinin doğrusal olarak T1 bakırının redoks potansiyeline bağlı olduğunu göstermiştir, bu da T1 bölgesinin redoks potansiyeli ne kadar yüksekse, lakkazın katalitik veriminin o kadar yüksek olduğunu göstermektedir (Fu ve ark., 2012).



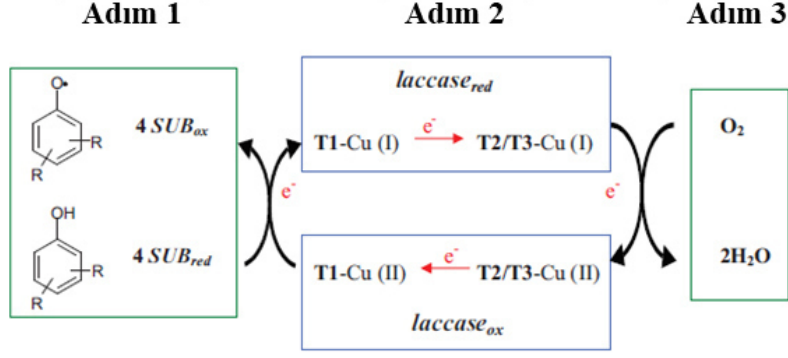
Şekil 2.3. Lakkazın bakır atomu merkezleri (Fu ve ark., 2012)

Lakkazlar, dört elektronlu bir transfer sürecinde nihai yan ürün olarak oksijenin suya indirgenmesi ile birlikte monoelektronik oksidasyonu katalize edebilmektedirler. Lakkaz katalizinin mekanizması, bir substratı oksitleyerek bakır T1'in indirgenmesini, bakır T1'den bakır T2 ve T3 üç çekirdekli kümeye farklı bakır türleri arasında dâhili elektron transferini ve T2 ve T3 bakırda oksijenin suya indirgenmesini içermektedir. Bu tür oksidasyon, kendiliğinden yeniden düzenlenebilen ve alkil yan zincirlerinin C-C veya C-O bağlarının daha fazla bölünmesine veya aromatik halkaların bölünmesine neden olarak depolimerizasyon, yeniden polimerizasyon, demetilasyon veya kinon oluşumuyla sonuçlanabilen radikallerin oluşmasına yol açmaktadır. Bu nedenle, lakkazların ana işlevleri kısaca monomerlerin çapraz bağlanması, polimerlerin bozunması ve aromatik bileşiklerin halka bölünmesi olarak gösterilmiştir (Fu ve ark., 2012).

Lakkaz katalizinin üç ana adım içerdiğine inanılmaktadır:

1. Substratın Tip 1 Cu indirgenmesi
2. Tip 1 Cu'dan tip 2 ve tip 3 Cu trinükleer kümeye dâhili elektron transferi.
3. Tip 2 ve tip 3 Cu'da O₂'nin suya indirgenmesi (Gianfreda, Xu ve Bollag, 1999).

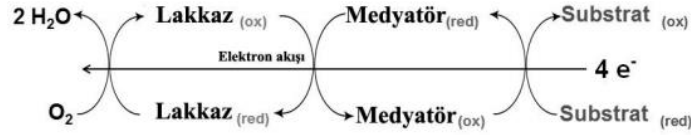
Şekil 2.4'te lakkazın oksidasyon döngüsü verilmektedir.



Şekil 2.4. Lakkazın katalitik döngüsü (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012)

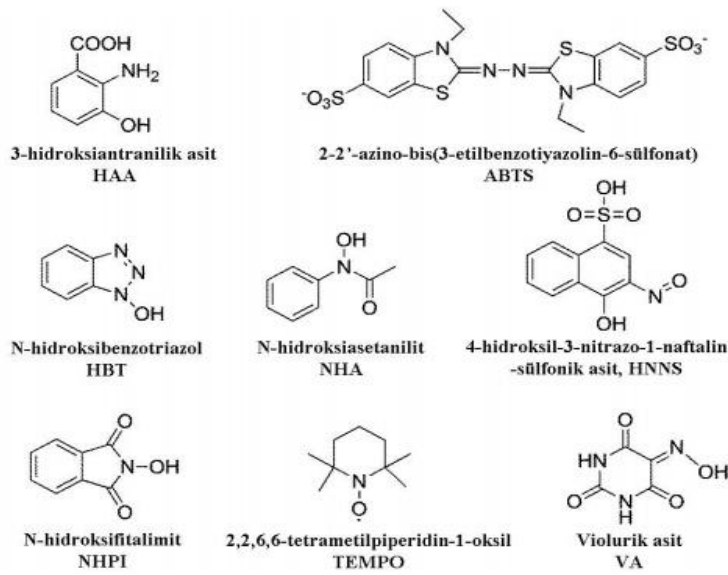
Lakkazlar tarafından alınan elektronlar bir döngü sonunda, su oluşturmak üzere oksijene aktarılmakta ve böylece oksijen dört elektron alarak suya indirgenmektedir ($\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4e^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$) (Tzanov ve ark., 2003). Substratların lakkazlarla oksidasyonu, uygun koşullar altında, yardımcı substrat olarak oksijenin kullanılmasıyla ve yan ürün olarak suyun üretilmesiyle gerçekleşmektedir. Özellikle mantar kaynaklı lakkazlar, T1 bakırlarının yüksek redoks potansiyeli nedeniyle bakteriyel kaynaklı lakkazlara kıyasla daha geniş skaladaki substratları oksitleyebilmektedir (Pezzella ve ark., 2016).

Lakkazlar tek başlarına nispeten düşük redoks potansiyeline (450-800 mV) sahip olduğundan, başlangıçta lakkazların sadece fenolik substratları oksitleyebileceği düşünülmüştür. Ancak medyatörlerin varlığında lakkazların etki edebileceği substrat çeşitliliği artırılabilir. Medyatörler, orijinal durumlarına dönmeden önce daha karmaşık substratları oksitleyebilen, çok kararsız ve reaktif katyonik radikaller üreten, lakkazlar tarafından kolayca oksitlenebilen düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir (Tzanov ve ark., 2003). Örneğin, lignin biyodegradasyonunda lakkazın rolü fenolik parçacıklarla sınırlıdır. “Medyatör” denilen elektron taşıyıcı küçük moleküller, bu tip tepkimelerde aracı substratlar olarak rol alırlar ve lakkazın doğrudan oksitleyemediği büyük moleküllerin ve hatta fenolik olmayan substratların bile oksidasyonuna olanak sağlarlar. Lakkazın medyatörleri okside etmesi sonucu ürettiği yüksek redoks potansiyelli araçlar fenolik olmayan bileşiklerin oksidasyonunu sağlar. Bu aracı bileşikler, daha sonra başlangıç formuna indirgenerek redoks döngüsünü tamamlanmaktadır (Şekil 2.5) (Tuncay, 2014).



Şekil 2.5. Lakkaz-medyatör sistemlerinin kataliz mekanizması (Tuncay, 2014)

Lakkazın yapay medyatörlerine örnek olarak 2,2'-Azino-di(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (ABTS) yanında, 3- hidroksiantranilik asit (HAA), N-hidroksibenzotriazol (HBT), N-hidroksifitalimit (NHPI), violurik asit (VA), N-hidroksiasetanilit (NHA), 4-hidroksil-3-nitrazo-1- naftalin-sülfonik asit (HNNS), 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil (TEMPO) verilebilir (Şekil 2.6) (Tuncay, 2014).



Şekil 2.6. Lakkazların yapay medyatörleri (Tuncay, 2014)

Medyatörler elektronların transferine aracılık ederek lakkazın daha yüksek redoks potansiyellerine ulaşmasını sağlamaktadırlar (Gioia ve ark., 2014). Bu sayede lakkazların etki edebileceği substrat aralığı çok genişlemektedir. Temel olarak, *p*-difenolle benzer özelliklere sahip olan herhangi bir substrat, lakkazlar tarafından oksitlenebilmektedir. Bunun yanı sıra, birkaç mantar orjinli lakkaz türü, krezol gibi monofenoller ve hatta bazıları askorbik asidi oksitleyebilmektedir (Fu ve ark., 2012). Lakkazlar sadece substituent grup olarak metoksi grubu içeren mono, orto ve paradifenollerin hidroksil grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılmasını katalizlemez, aynı zamanda aromatik aminler, syringaldazin ve fenolik olmayan bileşikler gibi diğer substratları serbest radikaller oluşturmak üzere oksitleyebilirler (Tzanov ve ark., 2003).

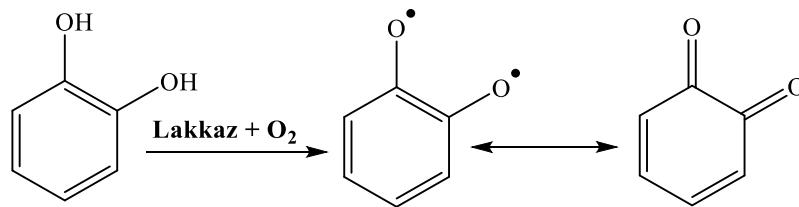
Lakkaz tarafından katalizlenen reaksiyonlar, hepsinde de renkli ürünlerin oluştuğu üç gruba ayrılabilir:

- Basit fenolik bileşiklerin doğrudan oksidasyonu (A tipi reaksiyon),
- Fenolik ve fenolik olmayan substratların medyatörler varlığında oksidasyonu (B tipi reaksiyon)
- Lakkazın etkisiyle oluşan reaktif radikallerin kenetlenmesi (C tipi reaksiyon) (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012).

2.2.3 Lakkazların etki mekanizması

2.2.3.1 Basit Fenolik Bileşiklerin Doğrudan Oksidasyonu (A tipi reaksiyon)

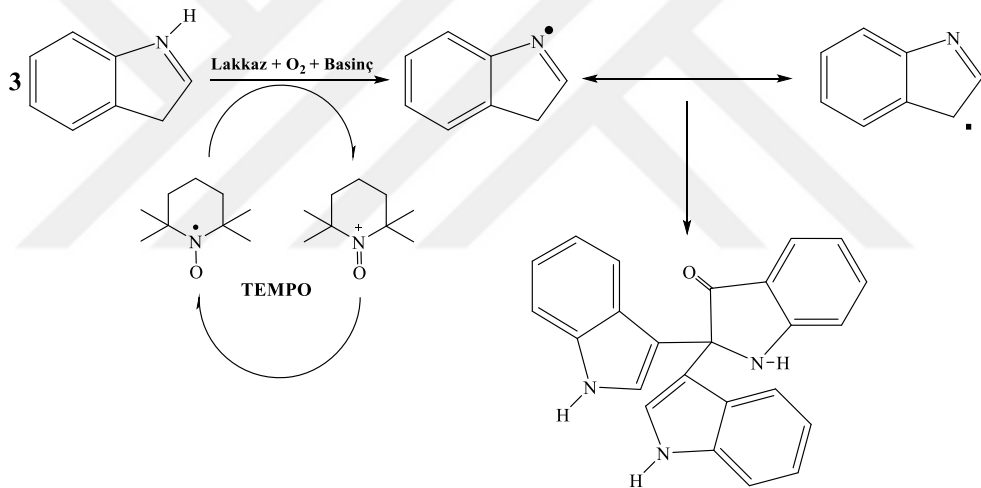
Birinci reaksiyon tipi, mono- ve difenoller gibi basit organik bileşiklerin ve bu bileşiklerin amino-, karboksi-, metoksi- ve sülfonat fonksiyonel gruplarını içeren türevlerinin oksidasyonudur. Lakkaz enzimi ile substratların doğrudan oksidasyonunun mekanizması, fenolik substratın hidroksil grubunun protonunun yapıdan ayrılarak fenoksi radikali oluşturması üzerinden (A tipi reaksiyon; Şekil 2.7) gerçekleşmektedir. Bu radikal çok kararsız bir yapıda olup enzimatik olarak kinon türevlerine yükseltgenebilir ya da homomoleküler polimerler üretmek için kendi başına enzimatik olmayan moleküller arası nükleofilik etkileşime girebilir (Şekil 2.10) ki bu durumda kenetlenme reaksiyonu (C tipi reaksiyon) gerçekleşmiş olur. Daha uzun reaksiyon sürelerinde çalışıldığında ise lakkaz-medyatör sistemli oksidasyon işlemleri sırasında ortaya çıkan tüm ürünler dimerler, oligomerler veya polimerlerdir. Bu durumda A tipi reaksiyon, C tipi reaksiyonun sadece ilk adımı olmaktadır. Lakkaz ile substratların doğrudan oksidasyonu, kenetlenme reaksiyonu olmadan oksidatif dönüşümü, yani düşük molekül ağırlıklı ürünlerle sonuçlanan oksidatif parçalanma ve çeşitli substratların oksidatif dekarboksilasyonunu içermektedir (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012).



Şekil 2.7. Fenolik substratların doğrudan oksidasyonunun (A tipi reaksiyon) bir örneği olarak katekolün lakkaz ile o-benzokinona dönüşümü (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012)

2.2.3.2 Fenolik ve Fenolik Olmayan Substratların Medyatör Varlığında Oksidasyonu (B tipi reaksiyon)

Aromatik türevlerin oksidasyon mekanizması büyük ölçüde, substratların indirgenme potansiyeline, lakkaz aktif merkezinin (T1 bakır) redoks potansiyeline ve bunların yanında substratın molekül büyüklüğüne bağlıdır. 1.000 mV'un üzerinde yüksek bir indirgenme potansiyeli sergileyen moleküller söz konusu olduğunda, lakkaz enzimi katalizörlüğündeki oksidatif işlem, sadece özel fonksiyonel gruplar içeren (-NO, -NOH, -HRNOH) düşük molekül ağırlıklı medyatörlerin varlığında gerçekleşebilmektedir. Bunlar, elektronların substrattan enzim aktif merkezine transferine aracılık etmektedirler. Bazı fenolik olmayan bileşikler, aromatik aminler ve lakkazın aktif merkezine erişimi olmayan lignin kompleksi gibi büyük moleküllerde oksidasyon için medyatörlerin kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır (Şekil 3.6) (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012).



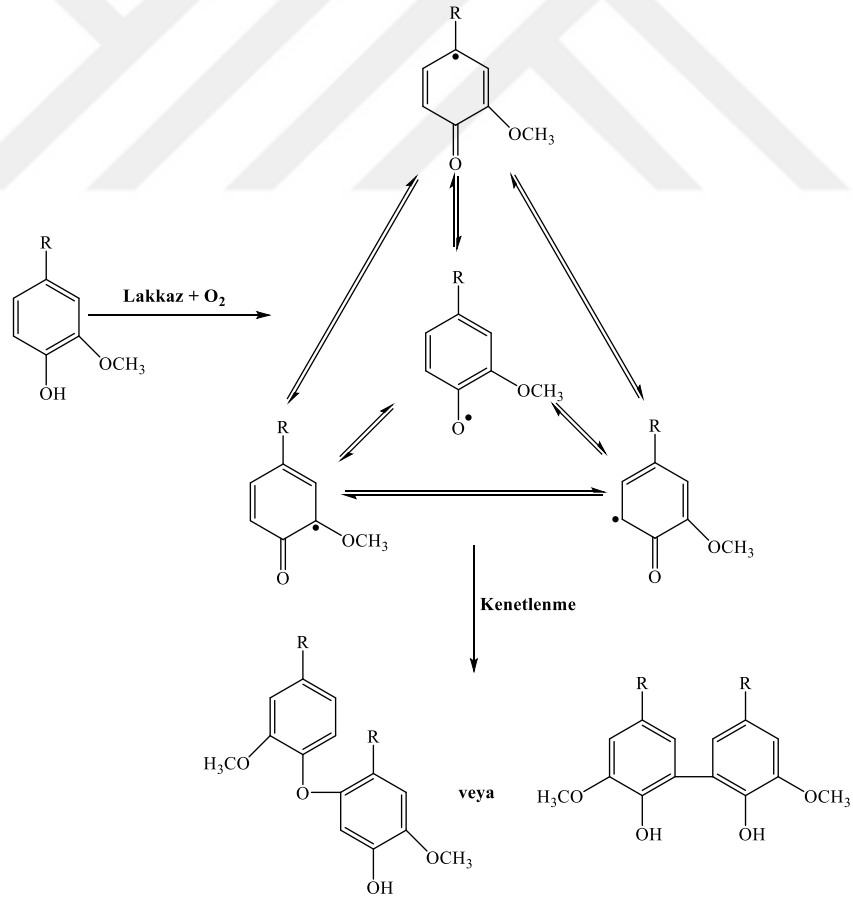
Şekil 2.8. Medyatör olarak TEMPO varlığında lakkaz katalizörlüğünde indolün, 2,2-bis (3-indolil) indoksile oksidasyonu ve trimerizasyonu (B tipi reaksiyon) (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012)

Lakkaz-medyatör sistemlerinde en çok kullanılan sentetik medyatörler, hidroksibenzotriazol (HBT), violurik asit (VIO), 2,2,6,6-tetrametilpiperidin-1-oksil (TEMPO), 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (ABTS), hidroksiasetanilid (NHA) ve hidroksiftalimid (HPI)'dir. Sentetik medyatörlerin yanı sıra, lignin depolimerizasyonunun doğal medyatörleri olarak işlev gören asetosiringon, asetovanilon ve veratrik, vanilik, kumarik ve ferulik asit gibi organik asitler doğal medyatörler arasında sayılabilir. Substratların oksidasyonu, bir elektron transfer mekanizması (örn., ABTS) veya hidrojen atomu transferi (örn., HBT) ile gerçekleşmektedir. Lakkaz-medyatör kombinasyonu, substratların dönüşümünde daha yüksek verim ve hızlara çıkılmasını sağlamakta, ancak

hepsinden önemlisi, tek başına enzimin aktivitesinin düşük olduğu veya hiç olmadığı substratlar için medyatörler lakkazın reaksiyon çeşitliliğine yeni reaksiyonlar eklemektedir. Medyatörlerin tipine bağlı olarak, aynı substratın oksidasyonu yoluyla farklı reaksiyon ürünleri oluşmaktadır (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012).

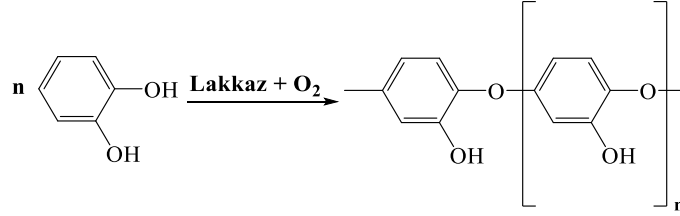
2.2.3.3 Lakkazın Etkisiyle Oluşan Reaktif Radikallerin Kenetlenmesi (C Tipi Reaksiyon)

Üçüncü reaksiyon tipi, lakkaz ile substratların doğrudan oksidasyonu (A tipi reaksiyon) sonucu açığa çıkan reaktif ara ürünlerin birbirleriyle veya başka bileşiklerle kenetlenmesidir. Fenolik substratların lakkaz-medyatör sistemi tarafından oksidasyonu sonucunda, çok kararsız ve reaktif fenoksi radikalleri oluşmaktadır. Bu radikaller, enzimatik oksidasyona uğrayarak kinonlara dönüşebilir ya da özellikle dimer oluşturmak üzere, kendiliğinden enzimatik olmayan kenetlenme reaksiyonları (hidrotasyon, polimerizasyon, oksidasyon veya indirgeme nedeniyle) verebilir. Bu dimerler, daha uzun reaksiyon sürelerinin sonunda oligomerler ve polimerler oluşturabilmektedir (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012).



Şekil 2.9. Fenoksi radikallerinin lakkaz enzimleri ile kenetlenme reaksiyonları (Widsten ve Kandelbauer, 2008)

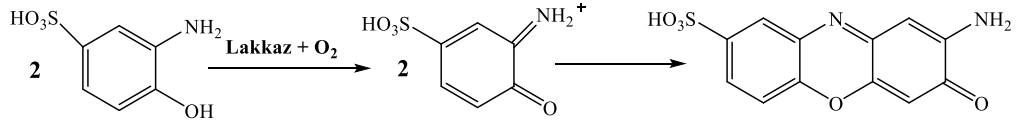
Lakkaz, aynı substratlardan fenolik radikallerin çeşitli formlarını üretme kabiliyetine sahiptir. Bu yüksek derecede reaktif ara ürünlerin kendiliğinden ve rastgele bir şekilde birleşmesi nedeniyle çeşitli ürünlerin oluşma olasılığı yüksektir. Dimer oluşum reaksiyonlarına homomoleküler kenetlenme reaksiyonları denmektedir (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012) (Şekil 2.10).



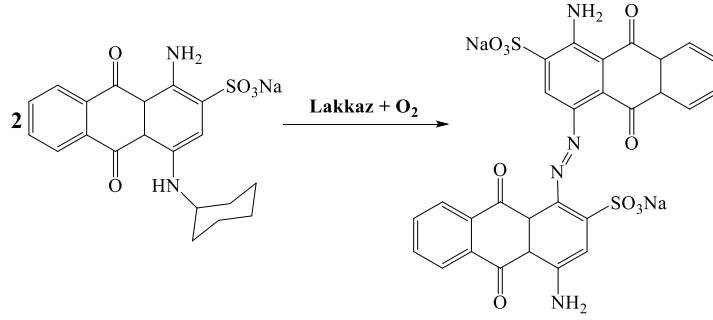
Şekil 2.10. Katekolün lakkaz-mediyatör sistemiyle homomoleküler oksidasyonu (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012)

Lakkaz, ayrıca tipik bir lakkaz substratını, lakkaz için substrat olmayan maddelerle kenetleyebilmekte ve böylece yeni heteromoleküler yapıda hibrit moleküller oluşmaktadır (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012). Sentez için daha dikkat çekici olan, bir elektron alıcı molekülün lakkaz tarafından sentezlenmiş bir radikalle reaksiyona girdiği bu heteromoleküler kenetlenmelerdir. Burada enzimatik olmayan bir reaksiyonla C-C, C-O, C-N ve C-S ürünleri oluşmaktadır. Homomoleküler dimerler, tek bir substratın lakkaz tarafından oksidasyonu sırasında oluşan fenoksi radikallerinin dimerleşme ürünleridir (Şekil 2.9 ve 2.10). Bu dimerler, karbon ve oksijen atomu (C-O) veya iki karbon atomu (C-C) arasında yeni bağların oluşması sonucu oluşmaktadır (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012).

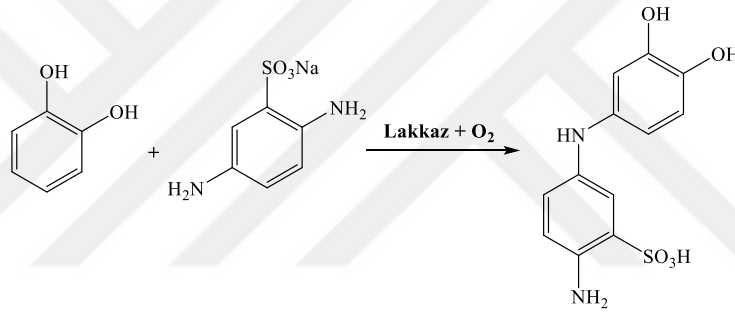
Heteromoleküler dimerler, fenolik substratların sıklıkla doğrudan lakkaz tarafından oksitlenmeyen diğer bileşiklerle birleşmesiyle oluşan fenolik, kinon ve kinon-imin yapılarıdır. Fenoksi radikallerinin aromatik aminler gibi substratlarla kenetlenmesiyle, tamamen yeni fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip ürünler oluşmaktadır (Şekil 2.12). Aromatik aminlerin kenetlenmesi için substratların karbon ve oksijen atomları (C-O), karbon ve azot atomları (C-N) veya iki azot atomu (N-N) ve hatta karbon ve kükürt atomları (C-S) arasında yeni bağlar oluşmaktadır. Yeni oluşturulmuş bir bağ, her tür heteromoleküler dimerde meydana gelebilmektedir. Belirlenmiş dimerik veya trimerik yapılara sahip yeni moleküllerin lakkaz-mediyatör sistemi ile sentezi, istenmeyen polimerizasyon reaksiyonunu en aza indirgeyebilmek için belirli reaksiyon koşullarının (örneğin; kısa reaksiyon süresi, substratların belirli molar konsantrasyonları, pH değeri) ayarlanmasını gerektirmektedir (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012).



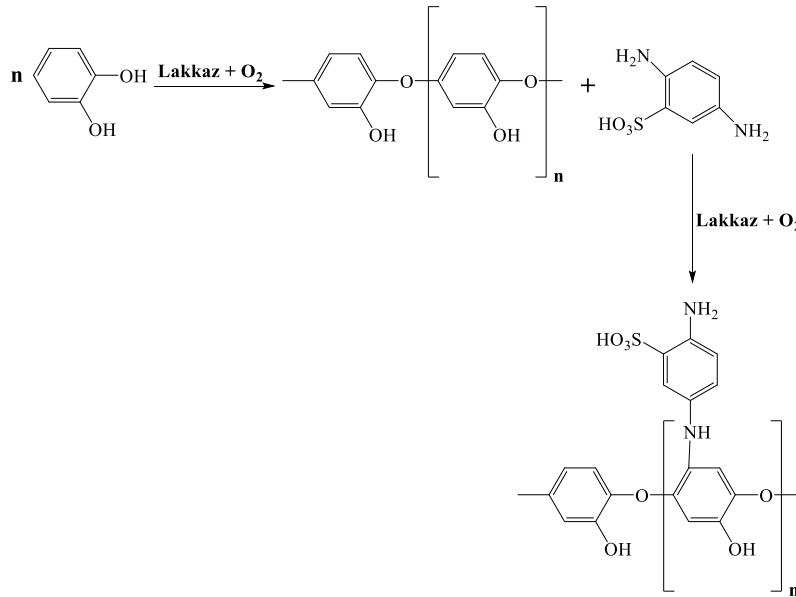
Şekil 2.11. N-C ve O-C bağlarının oluştuğu homomoleküler kenetlenme reaksiyonu (C tipi reaksiyon) örneği olarak 3-amino-4-hidroksibenzen-sülfonik asidin fenoksazin boyasına lakkaz-mediyatör sistemiyle oksidasyonu (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012)



Şekil 2.12. N-N bağlarının oluştuğu homomoleküler kenetlenme reaksiyonu (C tipi reaksiyon) örneği olarak sodyum 1-amino-4-(sikloheksilamino)-9,10-dihidro-9,10-diooksoantracene-2-sülfonatın azoantrakinon boyasına lakkaz-mediyatör sistemiyle oksidasyonu (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012)

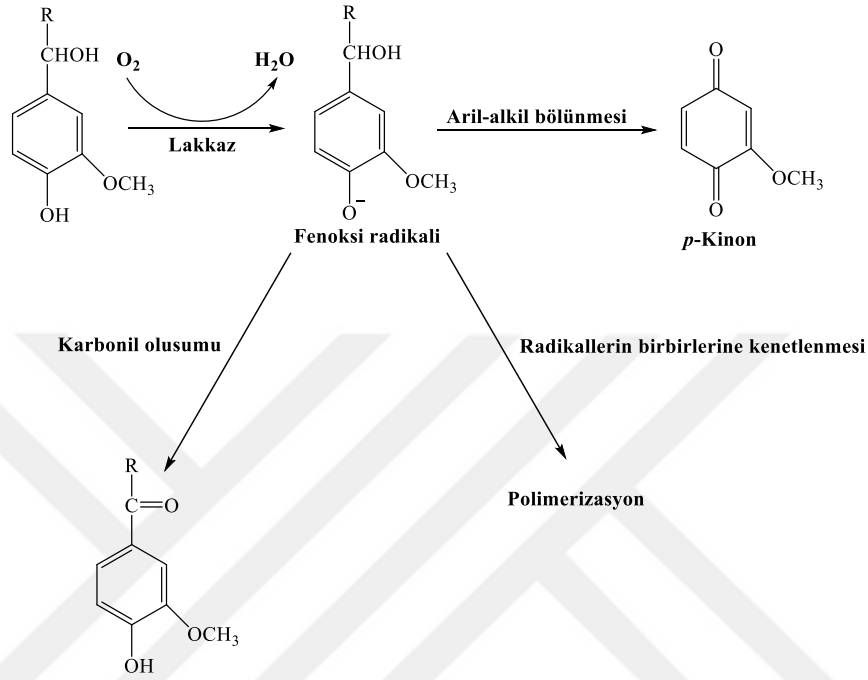


Şekil 2.13. N-C bağlarının oluştuğu heteromoleküler kenetlenme reaksiyonu (C tipi reaksiyon) örneği olarak katekol ile 2,5-diaminobenzen-sülfonik asidin renkli ürüne lakkaz-mediyatör sistemiyle oksidasyonu (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012)



Şekil 2.14. N-C bağlarının oluştuğu heteromoleküler kenetlenme reaksiyonu (C tipi reaksiyon) örneği olarak katekol ile 2,5-diaminobenzen-sülfonik asidin renkli ürüne lakkaz-mediyatör sistemiyle oksidasyonu (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012)

Lakkazın doğal substratları arasında fenoller gibi *o*- ve *p*-difenoller, aminofenoller, polifenoller, poliaminler ve aril diaminler bulunmaktadır. Bu moleküllerin oksidasyonu Şekil 2.15'te gösterilmektedir. Burada lakkaz kendiliğinden, aromatik halkaları parçalamak veya polimerizasyonu sağlamak için, molekülleri aynı anda radikal bir oluşumla oksidasyona uğratmaktadır (Mendoza, 2011).



Şekil 2.15. Bir fenolik bileşiğin (doğal substrat) lakkazla oksidasyonu (Mendoza, 2011)

Normal olarak, fenolik ve polifenolik bileşiklerin (ferulik asit, gallik asit, kafeik asit ve katekin) lakkaz ile oksidasyonu sulu ortamda gerçekleştiğinde, oksidasyon ürünlerinin rengi sarı, yeşil veya turuncudan nihai bir kahverengiye doğru gitmektedir. Ancak, reaksiyon ortamında organik bir çözücünün varlığı hem lakkazın aktivitesini hem de enzimatik olmayan reaksiyon hızlarını azaltmakta, bu arada da ürünlerin stabilitesinde büyük bir iyileşme sağlamaktadır. Bu nedenle, renkli yapıların lakkaz ile sentezi, bu ortamla diğer fenolik ve polifenolik bileşiklere genişletilebilmektedir. Buna ilave olarak, iki fazlı bir hidro-organik ortam, kahverengileşmeyi önlemeye ve ürün çözünürlüğünü artırmaya yardımcı olmaktadır (Fu ve ark., 2012).

2.3 Selülozik Liflerin Lakkaz ile Enzimatik Renklendirilmesine İlişkin Literatür Özeti

Literatür incelendiğinde çeşitli başlangıç maddeleri kullanılarak lakkaz enzimi ile değişik boyaların sentezlendiği görülmektedir. Ancak bu boyaların pamuk boyamacılığında kullanımı üzerine çalışmalar oldukça sınırlıdır. Aşağıda literatürde yapılan önceki çalışmalarda sarı ve kahve tonları, kırmızı ve mavi renk eldesi için hangi başlangıç maddesi veya başlangıç

maddesi karışımlarının kullanılmış olduğu liste halinde verilmektedir. Her bir alternatif için literatürde daha önce kimler tarafından boyanın elde edildiği parantez içerisinde belirtilmiştir. Sadece boya eldesi ile kalmayıp pamuk üzerinde de denemenin yapılmış olduğu literatürler ise koyu renk ile işaretlenmiştir.

Sarı ve kahve tonlarının eldesi için;

- Ferulik asit (Shin, Guebitz ve Cavaco-Paulo, 2001; Mustafa ve ark., 2005; **Sun, Xing ve Tang, 2015**)
- Hidrokinon (Shin, Guebitz ve Cavaco-Paulo, 2001; **Bai ve ark., 2019**)
- Rutin (El-Hennawi, Ahmed ve El-Thalouth, 2012; **Kim, Moldes ve Cavaco-Paulo, 2007**)
- Morin (El-Hennawi, Ahmed ve El-Thalouth, 2012; **Kim, Moldes ve Cavaco-Paulo, 2007**)
- Kuarsetin (El-Hennawi, Ahmed ve El-Thalouth, 2012; **Kim, Moldes ve Cavaco-Paulo, 2007**)
- Katekol (**Blanco ve ark., 2009; Guimarães ve ark., 2011**)
- Katekin (**Guimarães ve ark., 2011**)
- H-asit (**Yakın, 2015**)
- 4-nitro-1-naftilamin + 4-amino-5-hidroksinaftalin-2,7-disülfonik asit (Spinelli ve ark., 2013)
- 2,5-diaminobenzensülfonik asit + Katekol (1-hidroksi fenol) (**Hadzhiyska ve ark., 2006; Calafell ve ark., 2007; Blanco ve ark., 2009**)
- 2,5-Diaminobenzensülfonik asit + Resorsinol (**Pezzella ve ark., 2016**)

Kırmızı renk eldesi için;

- 3-hidroksiantranilik asit (**Yakın, 2015**)
- 3-Metil-2-benzothiazolinone hidrazon hidroklorür monohidrat + metoksifenol (Setti ve ark., 1999)
- 2,2'-azino-bis (3etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu + 4-amino-1-naftalinsülfonik asit (Spinelli ve ark., 2013)
- Ferulik Asit + Siringik asit karışımı (Jeon ve ark., 2010)
- Resorsinol + m-fenilendiamin (**Yakın, 2015**)
- 2-amino,6-metoksi, benzotiyazol + 4-aminonaftalin sülfonik asit (**Yakın, 2015**)

Mavi renk eldesi için;

- 2,2'-Azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat) (Munteanu ve ark., 2007)

Pamuklu kumaşların enzimatik renklendirme yoluyla boyanmasına ilişkin bugüne kadar yapılmış çalışmalarda hangi enzim ile hangi başlangıç maddesinin/maddelerinin kullanıldığı ve elde edilen renkler Çizelge 2.2’de verilmektedir.

Çizelge 2.2. Pamuk lifinin enzimatik olarak renklendirilmesiyle ilgili yapılan önceki çalışmalar

Çalışma	Lakkaz orjin	Başlangıç maddesi	Renk
<i>Hadzhiyska ve ark. (2006)</i>	<i>Trametes versicolor</i>	2,5-Diaminobenzen-sülfonik asit + Katekol (1:10)	Koyu kahverengi
		2,5-Diaminobenzen-sülfonik asit + Katekol (10:1)	Kahverengi
<i>Calafell ve ark. (2007)</i>	<i>Trametes versicolor</i>	2,5-Diaminobenzen-sülfonik asit + Katekol	Kahverengi
<i>Kim, Moldes ve Cavaco-Paulo (2007)</i>	<i>Trametes hirsuta</i>	Rutin	Kahverengi
		Morin	
		Kuarsetin	
<i>Blanco ve ark. (2009)</i>	<i>Trametes versicolor</i>	2,5-Diaminobenzen-sülfonik asit + Katekol	Açık kahverengi
		Katekol	Kahverengi
		Katekin	Kahverengiden yeşil-sarı tonlara
<i>Sun, Xing ve Tang (2015)</i>	<i>Rhus Vernicifera</i>	Ferulik asit	Soluk turuncu
<i>Polak ve ark. (2016)</i>	<i>Cerrena unicolor</i>	Çeşitli benzen bileşikleri	Sarı
		Çeşitli naftalin bileşikleri	Kahverengi
		Benzen bileşikleri + naftalin bileşikleri	Pembe
<i>Pezzella ve ark. (2016)</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	2,5-Diaminobenzen-sülfonik asit + Resorsinol	Açık kahverengi
		Hidrokinon	Koyu kahverengi
<i>Bai ve ark. (2019)</i>	<i>Trametes versicolor</i>		Kahve ve
<i>Bozkurt (2019)</i>	<i>Cerrena unicolor</i>	19 çeşit başlangıç maddesi (aminler ve fenoller)	tonları, sarı ve tonları, kırmızı ve lila

Hadzhiyska ve ark. (2006), çalışmalarında ağartılmış %100 pamuklu örme kumaşı enzimatik olarak renklendirmişlerdir. Boyama koşulları olarak 30-70°C, 40 dev/dk. cihaz dönüş

hızı, 1-5 saat boyama süresi, 0,1 g/L lakkaz konsantrasyonu, 1-10 mmol 2,5-diaminobenzen-sülfonik asit (2,5-DABSA), 1-10 mmol katekol, pH 5 (asetik asit/ sodyum asetat tamponu) ve 1:20 flotte oranını kullanmışlardır. Ardından renk ölçümleri ve haslık testleri yapılmıştır. Sonuç olarak en uygun enzimatik boyama sıcaklığı 40 °C olarak bulunmuştur. Süre olarak kısa boyama sürelerinde tatmin edici kahverengi renkler elde edilmiştir. Ancak, flotteye başlangıç maddesi ilavesiyle birlikte sürenin uzatılması (örn. 5 saat) boyama derinliğini artırmaktadır. Amin veya fenol konsantrasyonunu 1/1 ila 1/10 oranında artırarak daha koyu renkler elde edilmiştir. Katekol oranı sabit tutulup amin bileşiğinin oranının artırılması durumunda düşük boya fiksajı gözlemlenmiştir. Bu nedenle, katekol oranını artırmanın elde edilen fiksaj verimini artırdığı belirtilmiştir.

Calafell ve ark. (2007), çalışmalarında ağartılmış pamuklu örme kumaşı enzimatik olarak renklendirmişlerdir. Enzimatik boyama koşulları, 1 mM 2,5-DABSA, 1-10 mM katekol, 0,1 g/L lakkaz, pH 5, 40 °C, 3 saat olarak seçilmiştir. Çalışmada Yöntem A (kumaş, lakkaz ve başlangıç maddesi baştan flotteye koyulur) ve Yöntem B (kumaş önce lakkazla işlem görür ardından başlangıç maddesi koyulur) olmak üzere 2 farklı yöntem kullanılmıştır. Boyama sonucu renk olarak kahverengi elde edilmiştir. En iyi fiksaj verimi 1:10 2,5-DABSA : katekol oranında elde edilmiştir. Sentezlenen boyanın yapısal analizleri gerçekleştirilmiştir.

Kim, Moldes ve Cavaco-Paulo (2007), çalışmalarında %100 pamuklu dokuma kumaşı enzimatik olarak renklendirmişlerdir. Çalışmada başlangıç maddesi olarak rutin, morin ve kuersatin kullanılmıştır. Enzimatik boyama, 5 g kumaş 100 mL boyama çözeltisi içerisine eklenerek 30 µL lakkaz, 10 mM başlangıç maddesi konsantrasyonunda, pH 5'te 50 °C'da gerçekleştirilmiştir. Ardından yıkama ve durulama işlemleri yapılmıştır. Çalışmada 40 dev/ dk. hızla çalışan dikey karıştırma cihazı ve 80 dev/dk. hızla çalışan dairesel karıştırma cihazı olmak üzere iki farklı cihaz kullanılmıştır. Mekanik etki ve boyama süresinin (1, 2, 3, 5 ve 24 saat) etkisine bakılmıştır. Sonuç olarak başlangıç maddeleriyle renklendirilmiş kumaşların renk verimi (K/S) değerlerinin, reaksiyon süresi ve mekanik etki arttığında artma eğiliminde olduğu ve kahverengi renkler elde edildiği tespit edilmiştir. Boyama sürelerinde başlangıçta K/S değerleri 3 ila 7 kat artarken, boyama süresinin uzamasıyla birlikte K/S değerlerinde artış azalmıştır. Ayrıca dikey karıştırmanın K/S değerlerine etkisinin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir.

Blanco ve ark. (2009), çalışmalarında ağartılmış %100 pamuklu örme kumaşı enzimatik olarak renklendirmişlerdir. *P*-toluen sülfonil klorür gibi toluen sülfonil grubu içeren

bir bileşikle tosillemiş pamuk lifleri daha sonra 0,015 M 2,5-DABSA ile 3 saat, 75 °C'da, 100 dev/dk.'da işleme tabi tutulmuş ve böylece liflerin yapısına amin grupları eklenmiştir. Daha sonra katekol gibi bir fenolik bileşikle lakkaz katalizörlüğünde işleme sokulmuş (0,004-1 M katekol, 0,1 g/L lakkaz enzimi, pH 5, 40 dev/dk., 40 °C) ve böylece kopolimerizasyon gerçekleşerek oluşan renkli ürün kumaş üzerine kovalent bağla fikse olmuştur. Sonuç olarak 2,5-DABSA ile modifiye edilmiş kumaş katekol ile muamele edildiğinde, modifiye edilmemiş kumaşlara kıyasla daha koyu kahverengi renkler elde edilmiştir. İlk aşamada selülozun kontrollü aminasyonu ve daha sonra renklendirilmesi, kumaş üzerinde %95'e kadar boya fiksajı sağlamıştır.

Guimarães ve ark. (2011), çalışmalarında denim kumaşa enzimatik olarak üzerine boyama (overdyeing) işlemi uygulamışlardır. Başlangıç maddesi olarak katekol ve katekin kullanılmıştır. Denim kumaşın enzimatik overdyeing işleminde boyamanın optimizasyonu için lakkaz konsantrasyonu (0, 1, 2 ve 5 U/mL), işlem süresi (denim numuneleri 2, 4, 6 ve 24 saat boyunca lakkaz varlığında ve yokluğunda fenolik bileşiklerle işleme tabi tutulmuştur) ve medyatör varlığı gibi çeşitli reaksiyon faktörlerinin etkileri incelenmiştir. Kahverengiden yeşilimsi sarı tonlara kadar çeşitli renkler elde edilmiştir. En iyi K/S değerleri, her iki başlangıç maddesi için 2 U/mL lakkaz konsantrasyonunda elde edilmiştir. En iyi K/S değerleri katekol için 4, katekin için 6 saat boyama süresinde elde edilmiştir.

Sun, Xing ve Tang (2015), çalışmalarında pamuk, ipek, poliamid, yün ve viskon kumaşları enzimatik olarak renklendirmişlerdir. Çalışmada medyatör olarak 2,2-azino-bis (3-etilbenziazolin- 6 sülfonik asit) (ABTS), başlangıç maddesi olarak ferulik asit (FA) kullanılmıştır. Boyamalar 2 farklı yönteme göre yapılmıştır. Yöntem 1 için çalışma koşulları; 10 mM FA, %4 etanol, 4 U/mL lakkaz, pH 7,4, 50 °C, 3 saat, 1:25 flote oranı şeklindedir. Yöntem 2'de ise FA ile 50 °C'da 3 saat enzimatik polimerizasyon gerçekleştirilmiş, ardından kumaşlar Yöntem 1'den farklı olarak 90 C°'da 2 saat süreyle boyanmışlardır. Sentezlenen boyaların karakterizasyonu yapılmış ve boyanan kumaşların haslıklarına bakılmıştır. Sonuç olarak pamuk için Yöntem 1'de Yöntem 2'ye kıyasla daha iyi turuncu renk elde edilmiştir. Haslıklar açısından ise her iki yöntem arasında bir fark gözlemlenmemiştir.

Polak ve ark. (2016), çalışmalarında pamuk ve yün liflerini enzimatik olarak renklendirmişlerdir. Başlangıç maddesi olarak benzen ve naftalin türevleri olan çeşitli substitue gruplar içeren başlangıç maddeleri kullanmışlardır. Yün ve pamuk lifleri, 1 mg/mL konsantrasyonda söz konusu boyalar ile boyanmıştır. Boyama banyosuna asetik asit (pH 4)

ilave edilmiş ve daha sonra boyama 30 dakika boyunca 100 °C'da gerçekleştirilmiştir. Başlangıç maddeleri homomoleküler ve heteromoleküler olarak flotteye eklenmiştir. Boyama işleminden sonra, kumaşlar iki kez su ile yıkanmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Ayrıca yapılan boyamaların toksisitesine bakılmıştır. Sonuç olarak pamuk elyafı için homomoleküler boyamada sarı ve gri tonlar elde edilirken, heteromoleküler boyamada pembe tonlar elde edilmiştir.

Pezzella ve ark. (2016), çalışmalarında yün, PA ve multifiber kumaşı enzimatik olarak renklendirmişlerdir. Başlangıç maddesi olarak resorsinol ve 2,5-DABSA kullanmışlardır. Boyama farklı başlangıç maddesi oranlarıyla A (1:1 2,5 DABSA: resorsinol), B (1:10 2,5 DABSA: resorsinol) gerçekleştirilmiştir. Multifiber incelendiğinde A ve B oranında da pamuk bölümü açık kahverengi boyanmıştır.

Bai ve ark. (2019), çalışmalarında ağartılmış ve bazik işlem görmüş dokuma kumaşı enzimatik olarak renklendirmişlerdir. Çalışmada önce pamuklu kumaş kitosanla ön işleme tabi tutulmuştur. Ön işlem çözeltisi 5 g/L kitosan konsantrasyonda, 0,1 M asetik asitle, 1 saat boyunca karıştırılarak hazırlanmıştır. Ardından 100 mL kitosan çözeltisi içerisine pamuklu kumaş eklenerek 24 saat oda sıcaklığında işlem yapılmıştır. Daha sonra pamuklu kumaşa 120 °C'da 5 dakika işleme tabi tutulmuştur. Enzimatik boyama 0,1 M hidrokinon konsantrasyonunda, 0,08 mg/mL lakkaz, 1:20 flote oranında, 55 °C'da, 6 saat süreyle, pH 5'te gerçekleşmiştir. Lakkaz enzimi katalizörlüğünde boyanmış pamuklu kumaşlar, koyu kahverengi renk ve yüksek renk haslığı göstermiştir. Bu da pamuk liflerinin yüzeyinde kitosan / polimerize hidrokinon kompleksinin renk verimini artırdığını ortaya koymuştur.

Bozkurt (2019) yaptığı yüksek lisans tezinde, aminler ve fenollerden oluşan 19 farklı başlangıç maddesi kullanarak pamuklu örme kumaşı lakkaz (*Cerrena unicolor*) ile enzimatik olarak renklendirmiştir. Çalışma, çeşitli fenol ve amin bileşiklerinin tekli ve ikili karışımları kullanılarak lakkaz enzimi ile enzimatik renklendirmede elde edilebilecek renklerin belirlenmesi, iyi sonuç veren tekli veya ikili başlangıç maddeleri kullanılarak lakkaz enzimi ile elde edilecek renklerin optimizasyonu, lakkaz ile enzimatik renklendirmede pH'ın etkisinin incelenmesi ve en iyi sonuçları veren boyaların yapısal analizlerinin (HPLC) gerçekleştirilmesi olmak üzere 4 adımdan oluşmaktadır. Sonuç olarak kahve ve tonları, sarı ve tonları, kırmızı ve lila olmak üzere birçok renk elde edilmiştir.

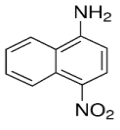
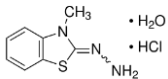
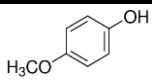
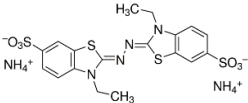
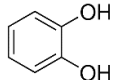
3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tez projesi;

- Enzimatik sentez yoluyla elde edilen boyaların yapısal analizlerinin gerçekleştirilmesi
- Lakkaz ile enzimatik renklendirmede ultrason teknolojisinin etkisinin incelenmesi
- Lakkaz ile enzimatik renklendirmede enzim orijininin etkisinin incelenmesi
- Pamuğun kendi doğasında bulunan pigmentlerinin enzimatik renklendirmede değerlendirilmesi
- Bitkilerden ekstrakte edilen doğal başlangıç maddelerinin enzimatik renklendirmede kullanımı
- Enzimatik boyamaların teknik, ekonomik ve ekolojik açılarından reaktif boyama ile karşılaştırılması
- Optimum reçetelerin endüstriyel ölçekli üretim koşullarında denenmesi

olmak üzere 7 adımdan oluşmaktadır. Tüm denemelerde %100 pamuk Ne16/1 iplikten üretilmiş boyamaya hazır ağartılmış süprem örme kumaşlar (158 g/m²) kullanılmıştır. Tüm laboratuvar ölçekli çalışmalar Termal HT boyama makinesinde 1:20 flote oranında 5'er gramlık kumaş numuneleri ile saf su kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Lakkaz enzimi olarak fungal orijinli (*Cerrena unicolor*) 5700 GLacU/g aktiviteye sahip Prima Green Ecofade LT100 (Dupont) ticari isimli lakkaz enzimi kullanılmıştır. Denemelerde başlangıç maddesi olarak kullanılan bileşiklerin isimleri, CAS numaraları ve molekül ağırlıkları ve kimyasal formülleri Çizelge 3.1'de verilmektedir.

Çizelge 3.1. Denemelerde başlangıç maddesi olarak kullanılan bileşiklerin isimleri, CAS numaraları, molekül ağırlıkları ve kimyasal formülleri

Renk	Kod	Başlangıç Maddesi	CAS	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Kimyasal Formül
Sarı	A1	4-Nitro-1-naftilamin (Sigma-Aldrich)	776-34-1	188,18	
Kırmızı	AF	3-Metil-2-benzotiazolinon Hidrazon hidroklorür monohidrat (Acros)	38894-11-0	233,72	
		4-Metoksifenol (Acros)	150-76-5	124,14	
Lila	A2	2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (Acros)	30931-67-0	548,68	
Kahverengi	F	Katekol (Acros)	120-80-9	110,11	

3.1 Enzimatik Sentez Yoluyla Elde Edilen Boyaların Yapısal Analizlerinin Gerçekleştirilmesi

Daha önce *Bozkurt (2019)* tarafından saptanmış olan optimum koşullarda enzimatik boya sentezleri yapılmış, ardından elde edilen boyaların yapısal analizleri gerçekleştirilmiştir.

Bu amaçla;

- A1 başlangıç maddesi için 1 g/L enzim konsantrasyonu, 8 mmol/L başlangıç maddesi konsantrasyonu, 80 °C, 4 saat
 - AF başlangıç maddeleri için 1 g/L enzim konsantrasyonu, 4 mmol/L toplam başlangıç maddesi konsantrasyonları (1:1 karışım oranı), 20 °C, 1 saat
 - A2 başlangıç maddesi için 0,1 g/L enzim konsantrasyonu, 8 mmol/L başlangıç maddesi konsantrasyonları, 60 °C, 1 saat
 - F başlangıç maddesi için 1 g/L enzim konsantrasyonu, 8 mmol/L başlangıç maddesi konsantrasyonu, 60 °C, 3 saat
- süreyle Termal HT boyama cihazında enzimatik boya sentezi gerçekleştirilmiş ve ardından boya çözeltilerine yapısal karakterizasyon analizleri yapılmıştır.

3.1.1 Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) analizi

Lakkaz ile katalitik polimerizasyon yoluyla elde edilen boyaların kimyasal yapısını karakterize etmek için, optimum koşullarda çeşitli başlatıcılar kullanılarak elde edilen boyalar kızılötesi analize tabi tutulmuştur. Başlangıç maddelerinin ve elde edilen boyaların FT-IR spektrumları SETAŞ Kimya A.Ş.'de bulunan Shimadzu IR Prestige-21 model Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometresi kullanılarak 400-4000 cm⁻¹ aralığında elde edilmiştir.

3.1.2 Nükleer manyetik rezonans (NMR) analizi

Sentezlenen bileşiklerin ¹H-NMR, ¹³C-NMR analizleri, Çankırı Karatekin Üniversitesi Araştırma Merkezi NMR laboratuvarındaki Agilent marka 600 MHz'lik frekansta, 14,1 Tesla alan gücüne sahip Premium Compact NMR cihazı ile hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Bu analizde toz haldeki 10 mg'lık boyarmadde numuneleri 0,6-0,75 mL uygun döteryumlu çözücüde çözülmekte, çözünmeden kalan parçacıklar süzülmemekte ve elde edilen homojen çözeltiler analize tabi tutulmaktadır. Daha sonra hazırlanan numune homojen alan içerisine koyulup daha homojen bir alan elde etmek için döndürülmekte ve radyo frekans vericisi tarafından oluşturulan değişken alan numune üzerine gönderilmektedir. Radyo frekans

vericisinin oluşturduğu değişken alanın frekansı rezonans koşulunu sağladığı zaman enerji absorblanmaktadır. Böylece kaybolan enerji radyo frekans alıcısı tarafından ölçülerek kaydedici tarafından sinyal olarak kaydedilmektedir (Mishra, 2017).

3.2 Lakkaz ile Enzimatik Renklendirmede Ultrason Teknolojisinin Etkisinin İncelenmesi

En iyi sonuçların elde edildiği başlangıç maddeleri ile optimum koşullarda yapılan boyama işlemleri sırasında ultrasonik enerjinin kullanımının etkisini saptamak için, optimum koşullardaki denemeler ultrason varlığında ve yokluğunda olmak üzere iki farklı şekilde yapılmıştır. Referans alınacak konvansiyonel boyamalar da ultrasonik banyoda yapılmış olup, bu deneylerde ultrason devre dışı bırakılmıştır. Denemelerde Kudos marka SK2210 HP model ultrasonik banyo kullanılmış olup, hazırlanan boyama flotteleri bir beherin içerisine koyulduktan sonra bu beher bir stant ayağının üçlü kıskaçına tutturulmak suretiyle Şekil 3.1’de gösterildiği şekilde ultrasonik banyoya yerleştirilmiştir. Denemeler beher içerisinde yapıldığı için düzgünlük sorunu yaşanmaması için 1 gramlık kumaş numuneleri ile 1:50 flotte oranında işleme tabi tutulmuştur.



Şekil 3.1. Ultrasonik boyamalarda kullanılan cihaz ve düzenek

Yapılan denemelerdeki işlem koşulları her bir başlangıç maddesi için şu şekildedir;

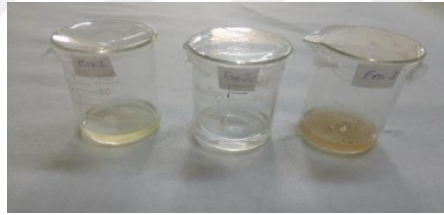
- A1 başlangıç maddesi için 1 g/L enzim konsantrasyonu, 8 mmol/L başlangıç maddesi konsantrasyonu, 80 °C, 4 saat
- AF başlangıç maddeleri için 1 g/L enzim konsantrasyonu, 4 mmol/L toplam başlangıç maddesi konsantrasyonları (1:1 karışım oranı), 20 °C, 1 saat
- A2 başlangıç maddesi için 0,1 g/L enzim konsantrasyonu, 8 mmol/L başlangıç maddesi konsantrasyonları, , 60 °C, 1 saat
- F başlangıç maddesi için 1 g/L enzim konsantrasyonu, 8 mmol/L başlangıç maddesi konsantrasyonu, 60 °C, 3 saat

Boyama sonrası numunelerin renk verimi (K/S) ve CIE L*a*b* değerleri ölçülmüştür. Ayrıca numunelere yıkama haslığı testleri yapılarak karşılaştırılmıştır.

3.3 Lakkaz ile Enzimatik Renklendirmede Enzim Orijininin Etkisinin İncelenmesi

Fungal orijinli Prima Green Ecofade LT100 (Dupont) ticari isimli lakkaz enziminin (**Enzim 1**) yanı sıra; yine fungal orijinli *Trametes versicolor* (Sigma-Aldrich) (**Enzim 2**) enzimiyle de yapılmıştır. Burada optimum koşullarda tüm parametreler sabit tutulup yalnızca enzim cinsi değiştirilmiş ve elde edilen sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Bunun ötesinde bitkisel (lale ağacı) orijinli *Rhus vernicifera* (Sigma-Aldrich) (**Enzim 3**) enzimi de temin edilmiş ve bununla da deneme yapılmıştır. Ancak Enzim 3'den çok az miktarda (0,027 gram) satın alınmış olduğu için sadece AF ile çalışılırken 3 enzim tipi karşılaştırılmıştır. Ayrıca bu denemelerde normalde AF için optimal olduğu bulunmuş olan 1 g/L enzim konsantrasyonu yerine karşılaştırma yapılabilmesi için her üç enzimden de 0,27 g/L olarak kullanılmıştır. Şekil 3.2'de denemelerde kullanılan enzimlerin çözeltilerine ilişkin görseller verilmektedir.



Şekil 3.2. Soldan sağa enzim 1, enzim 2 ve enzim 3'e ait çözeltiler

Farklı orijinli enzimler kullanılarak yapılan boyamaların renk verimi (K/S) ve CIE L*a*b* değerleri ölçülmüştür. Ayrıca numunelere yıkama ve sürtme haslığı testleri yapılmıştır.

3.4 Pamuğun Kendi Doğasında Bulunan Pigmentlerinin Enzimatik Renklendirmede Değerlendirilmesi

Literatürde (Kim, Moldes ve Cavaco-Paulo, 2007) pamuktaki doğal renk veren pigmentlerin de enzimatik oksidasyon sonrası boya oluşumunda başlangıç maddesi gibi değerlendirilebileceği belirtilmektedir. Buradan hareketle %100 pamuk Ne16/1 iplikten üretilmiş sadece bazik işlem görmüş, ancak ağartılmamış süprem örme kumaşlar (145 g/m²) başlangıç maddesi içermeyen pH'ı 5'e ayarlanmış flotteler içerisinde değişik lakkaz enzimi konsantrasyonlarında (0,2-0,4-0,6-0,8-1 g/L) 60 °C'da 3 saat süreyle işleme tabi tutulmuşlardır. Ayrıca sadece bazik işlem görmüş, ağartılmamış pamuklu kumaşlar en iyi sonuçların elde

edildiği başlangıç maddeleri ile optimum koşullarda boyanarak, pamuğun yapısında var olan doğal flavonoidlerin enzimatik renklendirme sırasındaki katılma reaksiyonunda kullanılan diğer başlangıç maddeleri ile reaksiyonu destekleyip desteklemediği saptanmaya çalışılmıştır. Yapılan denemeler sonrası kumaş numunelerinin renk verimi (K/S) ve CIE L*a*b* değerleri ölçülmüştür.

3.5 Bitkilerden Ekstrakte Edilen Doğal Başlangıç Maddelerinin Enzimatik Renklendirmede Kullanımı

Bu bölümde sentetik bileşiklerin yanı sıra sarı ve kahve tonlarının eldesi için doğal fenol olarak sarı kantaron otu (*Hypericum perforatum L.*) ve soğan kabuğundan (*Allium cepa L.*) elde edilen ekstraktlar kullanılmıştır. Bu amaçla 50 g bitki 1 L saf suda yarım saat süreyle kaynatılıp, gaze bezi ile filtre edilmiştir. Hazırlanan bu stok çözelti değişik oranlarda saf su ile seyreltilerek çeşitli konsantrasyonlarda bitki ekstraktı içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Denemeler bazik işlem + ağartma işlemi görmüş pamuklu örme kumaşlar üzerinde;

- çeşitli lakkaz enzimi konsantrasyonlarında (0,1-0,2-0,4-0,8-1,0 g/L)
- çeşitli bitki ekstraksiyon çözeltisi konsantrasyonlarında (2,5-4-10-20-40 g/L)
- farklı sıcaklıklarda (25 (oda sıcaklığı)-40-60-80-100 °C)
- farklı sürelerde (1-2-3-4-5 saat)

İşlem sonrası kumaş numunelerine soğuk su ile durulama, sıcak durulama, soğuk durulama işlemleri uygulanmıştır. Ardından numuneler kurutulup, spektrofotometre ile renk verimi (K/S) değerleri ölçülmüştür. 3 tekrarlı olarak elde edilen renk verimi değerleri üzerinden enzimatik boya sentezini etkileyen faktörlerin her biri için varyans analizi yapılmış ve boxplot grafikleri çizilmiştir.

Her bir doğal boya için optimum enzimatik boyama koşulları belirlendikten sonra, enzim varlığında ve yokluğunda bu doğal boyalarla kendi optimum koşullarında boyama işlemleri gerçekleştirilmiştir. Ardından numunelerin CIE L*a*b* değerleri ölçülmüş ve yıkama, sürtme ve ışık haslığı değerleri test edilmiştir.

3.6 Enzimatik Boyamaların Teknik, Ekonomik ve Ekolojik Açılardan Reaktif Boyama ile Karşılaştırılması

Boyamada elde edilen renk verimi ve haslıklar (yıkama, sürtünme, ter ve ışık) en iyi olacak şekilde proses optimizasyonları yapıldıktan sonra en iyi sonucu veren başlangıç

maddeleri ile yapılan sarı, kırmızı ve lila renklerdeki enzimatik boyamaların renkleri bugün için pamuk boyamacılığında en önemli kullanım payına sahip reaktif boyalarla (soğuk grup) tutturulmuştur.

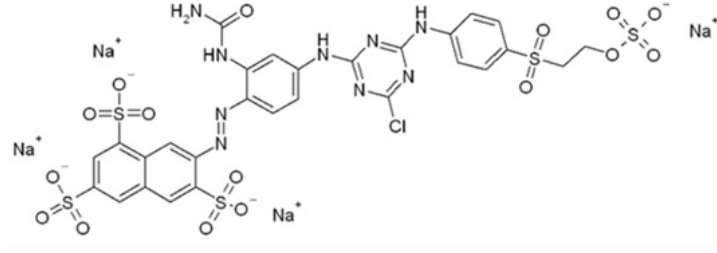
Enzimatik renklendirme işlemlerinde boyama koşulları;

- Sarı renk için (A1 başlangıç maddesi) 1 g/L enzim konsantrasyonu, 8 mmol/L başlangıç maddesi konsantrasyonu, 80 °C, 4 saat
- Kırmızı renk için (AF başlangıç maddeleri) 1 g/L enzim konsantrasyonu, 4 mmol/L toplam başlangıç maddesi konsantrasyonları (1:1 karışım oranı), 20 °C, 1 saat
- Lila renk için (A2 başlangıç maddesi) 0,1 g/L enzim konsantrasyonu, 8 mmol/L başlangıç maddesi konsantrasyonları, 60 °C, 1 saat şeklindedir.

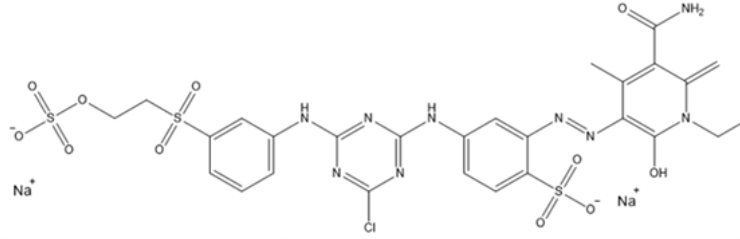
Tüm denemeler lakkaz enziminin aktivasyonunun en iyi olduğu pH 5’de (asetik asit/sodyum asetat tamponu ile) gerçekleştirilmiştir. İşlem sonrası kumaş numunelerine soğuk su ile durulama, sıcak sabunlama, soğuk durulama işlemleri uygulanmıştır. Kullanılan reaktif boyarmaddelerin özellikleri ise Çizelge 3.2’de, kimyasal yapıları Şekil 3.3’te verilmektedir.

Çizelge 3.2. Reaktif boyamada kullanılan boyarmaddelerin özellikleri

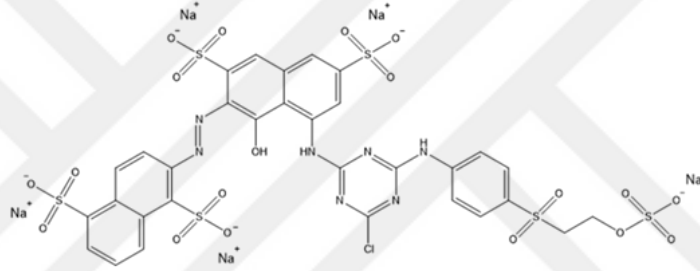
Boyarmadde	Setazol Yellow SX	Setazol Yellow 4GL	Setazol Red SX	Setazol Blue BRFX
C.I. No	C.I. Reactive Yellow 176	C.I. Reactive Yellow 160	C.I. Reactive Red 239	C.I. Reactive Blue 221
Kromofor	Monoazo	Monoazo	Monoazo	Cu-Formazan
Reaktif grup	MCT/VS	MCT/VS	MCT/VS	MCT/VS



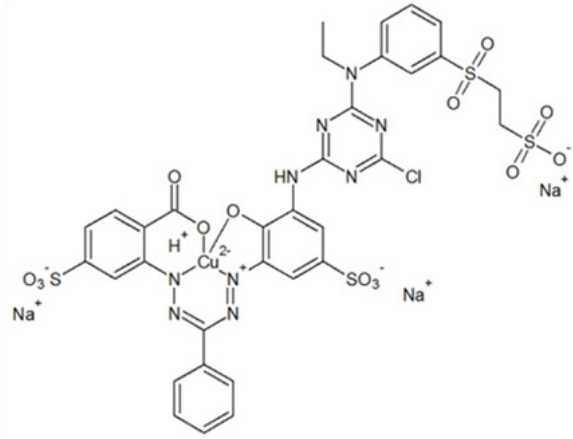
Setazol Yellow SX (C.I. Reactive Yellow 176)



Setazol Yellow 4GL (Reactive Yellow 160)



Setazol Red SX (C.I. Reactive Red 239)



Setazol Blue BRFX : Reactive Blue 221

Şekil 3.3. Reaktif boyamada kullanılan boyarmaddelerin kimyasal yapıları

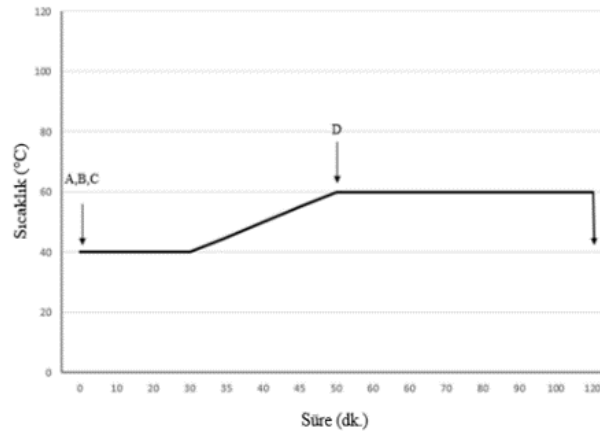
Reaktif boyarmaddelerle boyama işlemlerinde ise boyama reçeteleri;

- Sarı renk için %0,11 Setazol Yellow SX (C.I. Reactive Yellow 176), %0,16 Setazol Yellow 4GL (C.I. Reactive Yellow 160), %0,0035 Setazol Blue BRFX (C.I. Reactive Blue 221), 30 g/L tuz, 12,5 g/L soda

- Kırmızı renk için %0,052 Setazol Yellow SX (C.I. Reactive Yellow 176), %0,27 Setazol Red SX (C.I. Reactive Red 239), %0,07 Setazol Blue BRFX (C.I. Reactive Blue 221), 30 g/L tuz, 12,5 g/L soda

- Lila renk için %0,016 Setazol Yellow SX (C.I. Reactive Yellow 176), %0,041 Setazol Red SX (C.I. Reactive Red 239), %0,04 Setazol Blue BRFX (C.I. Reactive Blue 221), 10 g/L tuz, 10 g/L soda

şeklindedir. Boyama işlemleri 5'er gramlık kumaş numuneleri ile 1:10 flotte oranında gerçekleştirilmiştir. Boyama grafiği ise Şekil 3.4'te verilmektedir.



Şekil 3.4. Reaktif boyamaddelerle yapılan boyamalara ilişkin boyama grafiği (A:NaCl, B: Egaliz Maddesi, C: Boya, D: Soda)

İşlem sonrası kumaş numunelerine soğuk-sıcak-soğuk su ile durulama yapılmıştır. Ayrıca hem enzimatik renklendirme hem reaktif boyamada ard işlemin haslıklar üzerine etkisini görebilmek amacıyla, boyama sonrası numunelere Setafix T (Setaş) ticari isimli katyonik fiksatorle %2, pH 5,5'da (asetik asit ile), 50 °C'da 20 dk. süreyle ard işlem uygulanmıştır.

Tekstil boyamacılığı açısından kritik olan bir konu renk tekrarlanabilirliğidir. Bugüne kadar enzimatik renklendirme ile ilgili yapılan çalışmalarda tekrarlanabilirlik konusu hiç irdelenmemiştir. Bu nedenle, bu tez kapsamında elde edilen renk ve haslık açısından en iyi sonucu veren sarı, kırmızı ve lila renkler için tekrarlanabilirliğin saptanması amacıyla yukarıda açıklanan reçeteler farklı zamanlarda 5 kez tekrar edilmiştir. Kumaşlarda elde edilen renk verimi (K/S) ve CIEL*a*b* değerleri arasındaki varyasyon hesaplanarak enzimatik renklendirme ve reaktif boyama için tekrarlanabilirlik karşılaştırılmıştır.

Yapılan çalışmalarla aynı rengin enzimatik boyama ve reaktif boyama ile eldesi;
- teknik (renk tekrarlanabilirliği; yıkama, sürtünme, ışık ve ter haslığı değerleri; ve UV koruma faktörü),
- ekonomik (1 kg kumaş boyama için (ard işlemler dâhil) kimyasal, enerji ve su tüketimi) ve
- ekolojik (boyama atıksularının kimyasal oksijen ihtiyacı, biyolojik oksijen ihtiyacı, toplam çözünmüş katı madde, amonyak azotu, klorür içeriği ve pH değeri)
açılardan birbirleri ile karşılaştırılmıştır.

3.7 Optimum Reçetelerin Endüstriyel Ölçekli Üretim Koşullarında Denenmesi

Tüm çalışmalar tamamlandıktan sonra yeni geliştirilen enzimatik boyama prosesi sarı, kırmızı ve lila renkler için Setaş Kimya A.Ş.'de bulunan parça boyama makinesinde Bölüm 3.6'da verilen reçetelere göre endüstriyel ölçekli üretim koşullarında enzimatik olarak renklendirilmiştir. Ardından numunelerin renk verimi (K/S) ve CIEL*a*b* değerleri ölçülmüş ve yıkama, sürtünme, ter ve ışık haslığı değerleri test edilmiştir.

Yapılan Test ve Analizler

- **Renk verimi ve CIEL*a*b* değerlerinin tespiti:** Boyama sonrası renk verimini tespit edebilmek amacıyla kumaş numunelerinin 400-700 nm'lik spektral bölgede ve maksimum absorpsiyon (minimum remisyon) dalga boyunda spektral fotometre (D65/10°) kullanılarak %R (remisyon) ve K/S değerleri ölçülmüştür. Kubelka/Munk formülüne göre;

$$K/S = (1 - R)^2 / 2R$$

R: Maksimum absorpsiyon dalga boyundaki reflektans değeri

K: Absorpsiyon katsayısı

S: Yayılma katsayısı

Spektral fotometre ile numunelerin ayrıca CIEL*a*b* değerleri ölçülmüştür.

L*: Açıklık/koyuluk değeri (+ daha açık, - daha koyu)

a*: Kırmızılık/yeşillik değeri (+ daha kırmızı, - daha yeşil)

b*: Sarılık/mavilik değeri (+ daha sarı, - daha mavi)

- **Yıkamaya karşı renk haslığı tayini:** Boyanmış numunelerin yıkama haslığı tayini TS-7584'e (ISO-105 C06) göre yapılmıştır. Yıkama haslığı tayini için bir yüzüne multifiber dikilmiş olan numune, 60 °C'da 30 dakika süreyle 4 g/L'lik deterjan çözeltisiyle işleme tabi tutulmuştur.

- **Sürtünmeye karşı renk haslığı tayini:** Numunelerin sürtünmeye karşı renk haslığı tayini TS-717'ye (ISO 105-X12) göre sürtünme test cihazı (krokmetre) ile kuru ve yaş olarak yapılmış ve gri skala ile değerlendirilmiştir.

- **Işığa karşı renk haslığı tayini:** Boyalı numunelerin ışığa karşı renk haslığı tayini TS-1008'e (ISO 105 BO2) göre yapılmıştır.

- **Ter haslığı tayini:** Numunelerin ter haslığı tayini TS EN- ISO 105-D01'e göre asidik ve bazik olarak yapılmış ve gri skala ile (1-5 arası) değerlendirilmiştir.

- **Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) analizi:** Bu test Çevre Endüstriyel Analiz Laboratuvarı'ndan hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Kimyasal oksijen ihtiyacını (KOİ) ölçmek için SM 5220:B Açık Reflaks -Titrimetrik Metodu kullanılmıştır. KOİ, kontrollü şartlar altında numune ile reaksiyona giren oksitleyicilerin miktarı olarak tanımlanmaktadır. Tüketilen oksitleyicinin miktarı, oksijen miktarı eşdeğeri olarak ifade edilmektedir. Kimyasal özelliklerinden dolayı dikromat iyonu ($Cr_2O_7^{2-}$) bu yöntemde Cr^{+3} 'ya indirgenerek oksitleyici olarak kullanılmaktadır. Organik maddelerin çoğu kaynayan sülfürik ve kromik asit karışımında oksitlenmektedir. Bu metotta, numune potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) ile sülfürik asit gibi güçlü bir asit karışımında refluks edilmektedir. Parçalanmadan sonra tüketilen $K_2Cr_2O_7$ miktarını tespit etmek için geride kalan indirgenmemiş $K_2Cr_2O_7$ ferro amonyum sülfat ile titre edilmekte ve oksitlenmiş organik madde oksijen eşdeğeri şeklinde hesaplanmaktadır. Analizler paralel numunelerle yapılmaktadır. İki paralel numune arasındaki farkın %10'dan fazla olmaması gerekmektedir. Bu durumda analiz tekrarlanmaktadır (Baird, Eaton ve Rice, 2017).

- **Biyolojik Oksijen İhtiyacı (BOİ) analizi:** Bu test Çevre Endüstriyel Analiz Laboratuvarı'ndan hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. BOİ analizi için TS 4957-1 EN 1899-1 Su Kalitesi-n Günden Sonra Biyokimyasal Oksijen İhtiyacının (BOİ_n) Tayini'ne göre BOİ₅ metodu kullanılmıştır. BOİ organik maddenin biyokimyasal oksidasyonu sırasında mikroorganizmalar tarafından tüketilen oksijen miktarıdır. Heterotrofik organizmalardan oluşan karma bir mikroorganizma topluluğunun tükettiği oksijen miktarını ve organik maddenin karbondioksite dönüşmesi için gerekli oksijen miktarını ölçmektedir. Numune üzerine, suyun litresi başına birer mL KH_2PO_4 tampon, $MgSO_4$, $CaCl_2$ ve $FeCl_3$ çözeltileri eklenmektedir. Daha sonra 10 mg/L olacak şekilde nitrifikasyon inhibitörü eklenmektedir. pH 6,5-8,5 arasında değilse asit ya da alkali çözeltiyle pH 7'ye getirilmektedir. Yeterli miktarda aşırı ilave edilmektedir (1-2 mL). Kullanmadan önce seyreltme suyu sıcaklığı 20 ± 3 °C'a getirilmektedir. Çözünmüş oksijene

doyması sağlanmaktadır. Numune üzerine 1 L olacak şekilde tamamlanmaktadır. En az 3 paralelde aynı numuneler hazırlanır ve hava almasını engellemek için suyla tamamlanarak, inkübatöre konulmaktadır. 3 şişeden birinde 15 dakika içinde çözülmüş oksijen tayini yapıp, kaydedilmektedir. 5 günün sonunda aşı/seyreltme suyundaki ve numunelerdeki çözülmüş oksijen değerleri ölçülmektedir (Türk Standardları Enstitüsü (TSE), 2002). Hesaplama için;

Seyreltme suyu aşısız olduğunda kullanılan formül: $BOİ \text{ (mg/L)} = (D1-D2) / P$

Seyreltme suyu aşılandığında kullanılan formül: $BOİ \text{ (mg/L)} = (D1-D2)-(B1-B2) \times f/P$

D1: Seyreltilmiş numunenin hemen hazırlandıktan sonraki çözülmüş oksijen konsantrasyonu (mg/L)

D2: Seyreltilmiş numunenin 5 günlük inkübasyondan sonraki çözülmüş oksijen konsantrasyonu (mg/L)

P: Kullanılan numunenin desimal hacim kesri

B₁: Aşılı kontrol numunesinin başlangıçtaki çözülmüş oksijen konsantrasyonu (mg/L)

B₂: İnkübasyondan sonra aşılı kontrol numunesinin çözülmüş oksijen konsantrasyonu (mg/L)

f: Numunedeki aşımın, kontrol numunesindeki aşıya oranıdır. ($f = D_1$ 'deki aşı yüzdesi / B₁'deki aşı yüzdesi)

- Toplam çözülmüş katı madde tayini: Bu test Çevre Endüstriyel Analiz Laboratuvarı'ndan hizmet alımı yoluyla yaptırılmıştır. Toplam çözülmüş katı madde tayini için, Toplam Çözülmüş Madde Tayini SM 2540:C Gravimetrik Metot kullanılmıştır. Katı madde tayini 180°C'da tespit edilmektedir. İyi bir şekilde karışmış çözelti, standart cam lifi filtreden süzülmemektedir. Daha sonra tartılmış bir cam kapta 180±2 °C'da ağırlık sabitlenene kadar kurutulmaktadır (Baird, Eaton ve Rice, 2017).

Toplam Çözülmüş Katı Madde (mg/L) = $(A-B) \times 1000 / \text{Numune Hacmi (mL)}$

A= Kurutulmuş kalıntı ağırlığı + kabın ağırlığı (mg)

B= Kabın ağırlığı(mg)

- Klorür tayini: Bu test Çevre Endüstriyel Analiz Laboratuvarı'ndan hizmet alımı yoluyla yapılmıştır. Klorür tayini için, 4500-Cl⁻ C Mercurik (civalı) Nitrat Yöntemi kullanılmıştır. Klorür iyonları civa (II) iyonları ile dissosiyeye olmayan civa (II) klorür vermektedir. Klorür iyonları bu şekilde bağlanır bağlanmaz civa, difenil karbazon ile mavi-menekşe renkte kompleks bileşik oluşturmaktadır. 100 mL su numunesi, 1 mL nitrik asit ve 1 mL difenil karbazon çözeltisi katıldıktan sonra ayarlı civa (II) nitrat çözeltisi ile menekşe renge kadar titre edilmektedir. Bir de 100 mL distile su ile bir deneme yapılmaktadır. Sarfiyatlar hesaplanarak, suyun litresindeki mg Cl⁻ iyonu hesaplanmaktadır. Sudaki klorür miktarını hesaplamak için mg/l Cl⁻ eş değeri olarak aşağıdaki formülden yararlanılır. Numune için harcanan Hg (NO₃)₂ miktarı ile saf su ile yapılan titrasyon sonucunda harcanan Hg (NO₃)₂ miktarı arasındaki fark dikkate alınmaktadır (Baird, Eaton ve Rice, 2017).

$$\text{mg Cl}^- = \frac{(A - B) \times N \times 35450}{\text{numune (mL)}}$$

A= numune için harcanan Hg(NO₃)₂ hacmi (mL),

B= Saf su için harcanan Hg(NO₃)₂ hacmi (mL),

N= Hg (NO₃)₂'ın normalitesi

- **Toplam Keldal (Kjeldahl) azotu tayini:** Bu test Çevre Endüstriyel Analiz Laboratuvarı'ndan hizmet alımı yoluyla yapılmıştır. Azot tayini için, Toplam Keldal Azotu (TKN) SM 4500-N_{org} B metodu kullanılmıştır. Azot analiz yöntemleri genelde dört önemli azot formu ile ilgilidir. Bunlar amonyak azotu, nitrat azotu, nitrit azotu ve organik azot formları olup yüzeysel sularda ve kirletilmiş sularda ölçülmesi gereken azot şekilleridir. Organik azot analizinde genelde Kjeldahl metodu uygulanmaktadır. Yöntemde çeşitli oksitleyici koşullarda organik bileşikteki azotu NH₃'e dönüştürmekle işe başlanmaktadır. Oksidasyon derişik H₂SO₄ ile bu asidin kaynama noktasının üzerindeki bir sıcaklıkta yapıldığından asidin kaynama noktasının K₂SO₄ eklenerek yükseltilmesi gerekmektedir. Tüm azotlu bileşikler NH₃'e dönüştüğünden, önce H₂SO₄'ün fazlası fenolftalein indikatörü kullanılarak nötralize edilir. Daha sonra pH 7 civarında suda kalan amonyak azotu normal amonyak tayin yöntemi ile belirlenir. Analiz için 0,5 gr numune tartılır. 10 mL saf su ve 0,5 mL H₂SO₄ eklenir. 15 dk. ısıtılır. Soğuduktan sonra 2 damla fenolftalein indikatörü damlatılarak %8'lik NaOH'dan renk pembe oluncaya kadar 5 mL'lik ilaveler yapılır. Böylece nötrleşme sağlanmış olur. İşlem sırasında amonyağın uçmaması için çözelti çalkalanmaz. Örnek tekrar ısıtılır. Bir erlene 0,1 M 50 mL HCl koyulur. Kabarcık bitene kadar ısıtmaya devam edilir. 0,1 M NaOH ile 2 damla fenolftalein damlatılarak titrasyon yapılır. Bulunan sarfiyattan aşağıdaki formül yardımıyla %N miktarı hesaplanır (Eren, 2004).

$$N \text{ (g)} = (V_{\text{HCl}} \times C_{\text{HCl}} - V_{\text{NaOH}} \times C_{\text{NaOH}}) \times 10^{-3} \times 14 = (50 \text{ mL} \times 0,1 \text{ M} - \text{Sarfiyat mL} \times 0,1 \text{ M}) \times 10^{-3} \times 14$$

$$N \text{ (\%)} = (\text{gram N} / 0,5 \text{ g}) \times 100$$

- **pH tayini:** Atıksu numunelerinin pH değerleri Mettler Toledo Fivego pH-metre ile oda sıcaklığında ölçülmüştür.

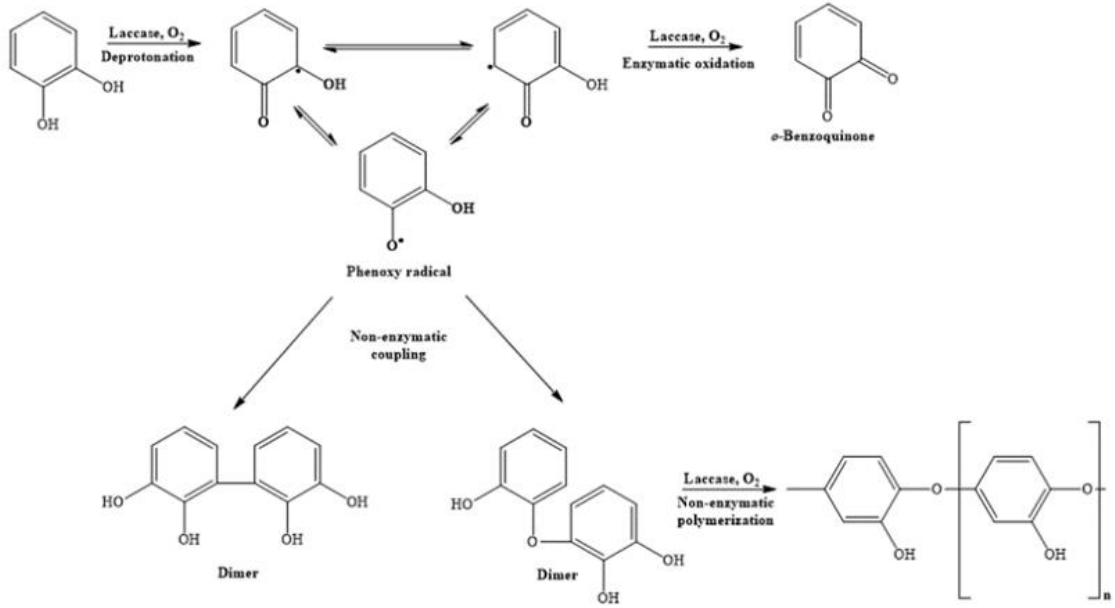
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Boyaların Yapısal Analizlerine İlişkin Sonuçlar

4.1.1 Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) analizi sonuçları

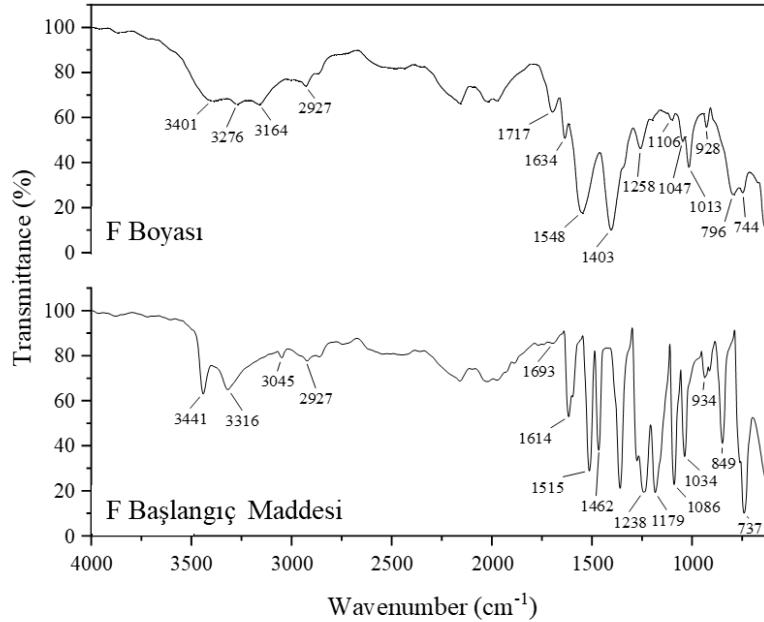
Enzimatik polimerizasyon olgusu, biyosentetik olmayan yollar ile polimerlerin enzimler tarafından katalizlenen “*in vitro*” sentezi olarak tanımlanmaktadır. 1985’ten beri aromatik bileşiklerin, enzimatik oksidatif polimerizasyonu geniş ölçüde araştırılmaktadır (Fu ve ark., 2012). Lakkazlar, çok çeşitli inorganik ve organik maddelerin oksidasyonunu katalize eden çok bakırlı oksidazlardır. Lakkazlar tarafından alınan elektronlar bir döngü sonunda, su oluşturmak üzere oksijene aktarılmakta ve böylece oksijen dört elektron alarak suya indirgenmektedir ($O_2 + 4H^+ + 4e^- \rightarrow 2H_2O$) (Tzanov ve ark., 2003).

Fenol oksidazlar olarak lakkazlar, fenolik bileşiklerin polimerizasyonunu etkili bir şekilde katalize edebilmektedirler (Jeon ve ark., 2010). Mono ve difenoller gibi basit organik bileşikler, lakkaz enzimi tarafından doğrudan oksidasyona tabi tutulmaktadır. Fenolik substratların lakkaz-mediyatör sistemi tarafından oksidasyonu sonucunda, çok kararsız ve reaktif fenoksi radikalleri oluşmaktadır. Bu radikaller, enzimatik oksidasyona uğrayarak kinonlara dönüşebilir ya da özellikle dimer oluşturmak üzere, kendiliğinden enzimatik olmayan kenetlenme reaksiyonları (hidratasyon, polimerizasyon, oksidasyon veya indirgeme nedeniyle) verebilir. Bu dimerler, karbon ve oksijen atomu (C-O) veya iki karbon atomu (C-C) arasında yeni bağların oluşmasının bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012). Daha uzun reaksiyon sürelerinden sonra, bu dimerlerden daha düşük çözünürlükte ve yüksek molekül ağırlıklı oligomerler ve homomoleküler polimerler de üretilebilmektedir (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012; Jeon ve ark., 2010). Bu nedenle, enzimatik olarak polimerize fenolik bileşikler, ana zincir boyunca büyük bir konjüge yapının oluşumuna dayandırılan karakteristik bir renge sahip olma eğilimindedir ve bu da renklendirme uygulamaları için büyük bir potansiyel sunmaktadır. Normal olarak, fenolik (katekol gibi) ve polifenolik bileşiklerin lakkaz oksidasyonu sulu ortamda gerçekleştiğinde, oksidasyon ürünlerinin rengi sarı, yeşil veya turuncudan son olarak kahverengi bir tona gitmektedir (Fu ve ark., 2012). Bu açıklamaların ışığı altında, katekolden lakkaz katalizli boya sentezi için önerilen mekanizma Şekil 4.1’de verilmektedir.



Şekil 4.1. Katekolün lakkaz ile *o*-benzokinona dönüşümü ve homopolimerizasyonu (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012; Widsten ve Kandelbauer, 2008)

Katekolün (F başlangıç maddesi) ve lakkazın katekole etkisiyle elde edilen kahverengi boyanın (F boyası) kimyasal yapısını karakterize etmek için FTIR spektrumları belirlenmiş olup sonuçlar Şekil 4.2’de verilmektedir.



Şekil 4.2. F başlangıç maddesinin ve F boyasının FTIR spektrumları

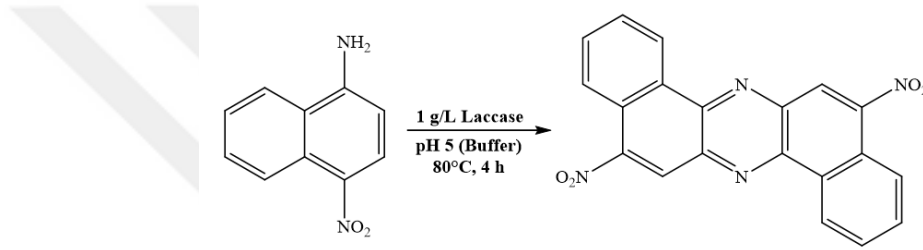
Şekil 4.2’den görülebileceği gibi, F başlangıç maddesinin ve F boyasının spektrumu arasında bazı farklılıklar bulunmaktadır. F başlangıç maddesinin spektrumunda, ana pikler

sırasıyla 737, 849, 934, 1034, 1086, 1179, 1238, 1462, 1515, 1614, 1693, 2927, 3045, 3316 ve 3441 cm^{-1} 'de gözlemlenmektedir. 737 cm^{-1} 'deki absorpsiyon frekansı, F başlangıç maddesinin orto (1,2) konumunda substituent içeren aromatik halkasındaki sp^2 C-H bükülmesinden kaynaklanmaktadır. Öte yandan, 849 ve 934 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantları aromatik C-H bağlarının varlığına işaret etmektedir (Erdik, 2008). 1034 ve 1086 cm^{-1} 'de gözlenen pikler, aromatik C-H düzlem içi bükülmelerine dayandırılabilir (Coates ve Meyers, 2006). Aromatik halka için düzlem içi bükülmeye karşılık gelen C-H titreşimleri 1179 cm^{-1} ve 1238 cm^{-1} 'de görünmektedir (Sun, Xing ve Tang, 2015). Ayrıca, 1462, 1515 ve 1614 cm^{-1} 'deki pikler C=C gerilmelerine işaret etmektedir (Sun, Xing ve Tang, 2015; Erdik, 2008). Bunun ötesinde 1693 cm^{-1} 'de tespit edilen pik de C=C çift bağına işaret etmektedir. 2927 ve 3045 cm^{-1} 'deki pikler ise Ar=C-H gerilmeleri ile ilişkilendirilmektedir. 3316 ve 3441 cm^{-1} 'de gözlemlenen iki bant, sırasıyla alkolün serbest -OH grubunun gerilmesine ve H-bağı yapmış olan -OH grubuna karşılık gelmektedir (Erdik, 2008).

Öte yandan, F boyası için ana pikler sırasıyla 744, 796, 928, 1013, 1047, 1106, 1258, 1462, 1548, 1634, 1717, 2927, 3164, 3276 ve 3401 cm^{-1} 'de gözlemlenmektedir. 744 cm^{-1} 'deki absorpsiyon frekansı, orto (1,2) konumunda substituent içeren aromatik halkadaki sp^2 C-H bükülmesinden kaynaklanmaktadır. Öte yandan, 796 ve 928 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantları, sırasıyla aromatik C-H bağlarını ve sp^2 C-H bükülmesini göstermektedir (Erdik, 2008). 1013 cm^{-1} 'de gözlenen pik, aromatik C-H düzlem içi bükülmesine dayandırılabilir (Coates ve Meyers, 2006). Aromatik eterin C-O-C gerilmesi ise 1047 cm^{-1} ve 1258 cm^{-1} 'de görülmektedir. Bununla birlikte, bu piklerin aromatik halka için düzlem içi bükülmeye karşılık gelen C-H titreşimlerine de işaret edebileceğini belirtmekte fayda vardır. Yapıdaki C-O-C bağının varlığı, Şekil 4.1'de verilen lakkaz enziminin etkisiyle homopolimerizasyon reaksiyonunun gerçekleştiğini göstermektedir. Öte yandan, 1106 cm^{-1} 'deki pik noktası, iki karbon atomu (C-C) arasında yeni bağların oluşması sonucu üretilen dimerlerin varlığına işaret eden C-C gerilmesini göstermektedir (Coates ve Meyers, 2006). Ayrıca 1403, 1548 ve 1634 cm^{-1} 'deki pikler C=C gerilmelerini göstermektedir (Sun, Xing ve Tang, 2015; Erdik, 2008). 1700 cm^{-1} 'deki pik, $\text{R}_2\text{C}=\text{O}$ kinon bandının titreşimine karşılık gelmektedir (Bai ve ark., 2015). Bu bulgu, reaksiyon ortamında ayrıca *o*-benzokinon bileşiklerinin de oluştuğunu göstermektedir. Tüm bu bulgular lakkazın etkisiyle her iki olası ürünün belirli oranda oluştuğunu ve sistemde bir karışım olarak bulunduğunu ortaya koymaktadır. Başka bir deyişle F boyası, hem *o*-benzokinon bileşiğini hem de katekol dimerlerini ve homopolimerini içermektedir. 2927 ve 3164 cm^{-1} 'deki pikler Ar=C-H gerilmesiyle ilişkilidir. 3276 ve 3401 cm^{-1} 'de gözlemlenen iki

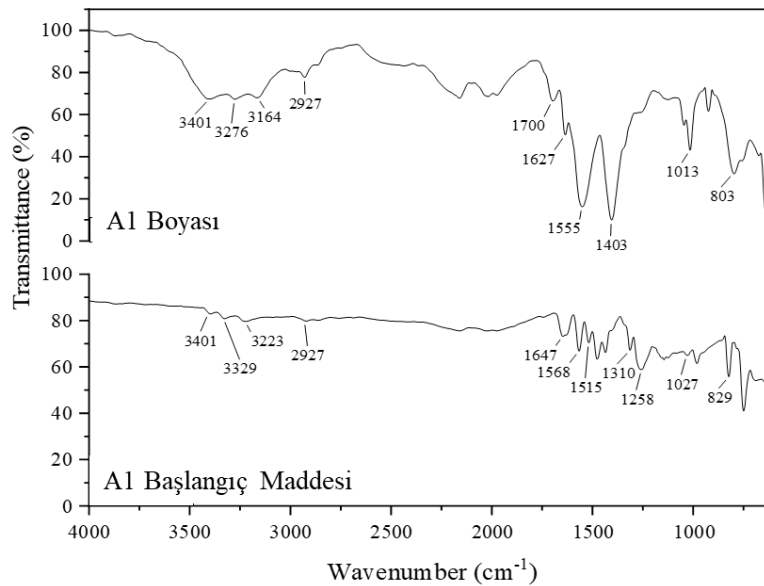
bant, sırasıyla alkolün serbest -OH grubunun gerilmesine ve H-bağı yapmış olan -OH grubuna karşılık gelmektedir (Erdik, 2008).

Lakkazlar sadece substituent grup olarak metoksi grubu içeren mono, orto ve paradifenollerin hidroksil grubundan bir hidrojen atomunun uzaklaştırılmasını katalizlemez, aynı zamanda aromatik aminler, siringaldazin ve fenolik olmayan bileşikler gibi diğer substratları serbest radikaller oluşturmak üzere oksitleyebilirler (Tzanov ve ark., 2003). Literatürde aromatik aminlerin lakkaz-mediyatör sistemiyle oksidasyonu sonucu C-N bağı oluşumu ile sarı ve mavi boyalar elde edildiği bildirilmektedir (Wellington ve Luque, 2014). Wellington tarafından önerilen mekanizmaya benzer şekilde, 4-nitro-1-naftilaminin lakkaz katalizli oksidatif kenetlenmesi için reaksiyon mekanizması Şekil 4.3'te verilmektedir.



Şekil 4.3. A1 başlangıç maddesi lakkaz enzimiyle A1 boyası oluşumu

4-nitro-1-naftilaminin (A1 başlangıç maddesi) ve bunun lakkazla katalitik polimerizasyonu ile elde edilen sarı renkli boyanın (A1 boyası), kimyasal yapısını karakterize etmek için FTIR spektrumları belirlenmiş olup sonuçlar Şekil 4.4'te verilmektedir.



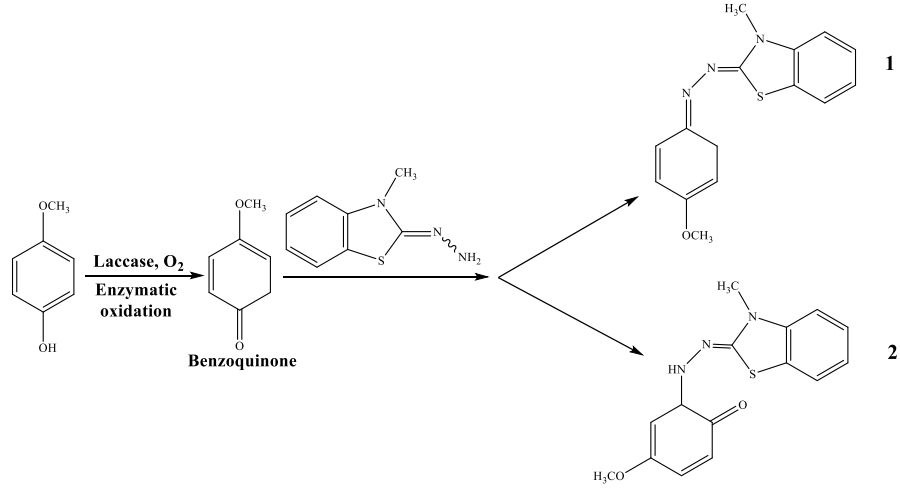
Şekil 4.4. A1 başlangıç maddesinin ve A1 boyasının FTIR spektrumları

Şekil 4.4'ten görülebileceği gibi, A1 başlangıç maddesi ve A1 boyasının spektrumları arasında bazı farklılıklar bulunmaktadır. A1 başlangıç maddesinin spektrumlarında ana pikler sırasıyla 829, 1027, 1258, 1310, 1515, 1568, 1647, 2927, 3223, 3229 ve 3401 cm^{-1} 'de gözlemlenmektedir. 829 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandı aromatik C-H bağlarının varlığını göstermektedir (Erdik, 2008; Hesse, Meier ve Thime, 2008). 790-840 cm^{-1} 'deki absorpsiyon frekansları ise A1 başlangıç maddesinin yapısındaki para konumunda substituent içeren aromatik halkadaki sp^2 CH bükülmesinden kaynaklanmaktadır. Buna karşılık, C-N bağlarının varlığı (ν C-N), muhtemelen C-N bağlarının gerilmesinden kaynaklanan 1027 cm^{-1} 'de yoğun bir sinyal ile tanımlanabilmektedir (Erdik, 2008; Hesse, Meier ve Thime, 2008). 1258 cm^{-1} 'de gözlemlenen pik aromatik aminlerin C-N gerilmesinin varlığına işaret etmektedir. 1515 cm^{-1} ve 1310 cm^{-1} 'deki pikler ise sırasıyla, nitronun N-O asimetrik ve simetrik gerilme titreşimlerini belirtmektedir (Erdik, 2008). 1568 cm^{-1} 'deki pik noktası aynı zamanda, konjüge karbonil ve N-H bükülmesi de dâhil olmak üzere birçok bağın absorpsiyonunun üst üste binmesine bağlı olabilen geniş bir bandı içermektedir (Hadzhiyska ve ark., 2006). 1647 ve 2927 cm^{-1} 'de tespit edilen daha zayıf pikler, sırasıyla alken C=C gerilmesi (Sun, Xing ve Tang, 2015) ve Ar-C-H gerilmesi ile ilişkilendirilmektedir. ν (~3223 cm^{-1}) piki aromatik hidrojenin varlığını belirtmektedir. Bilindiği gibi, 3400-3300 ve 3330-3250 cm^{-1} 'deki iki bant, primer aminlerin varlığını göstermektedir (Erdik, 2008). Bu nedenle, 3329 ve 3401 cm^{-1} 'deki pikler, A1 başlangıç maddesinin $-\text{NH}_2$ gruplarıyla ilişkilendirilmektedir.

Öte yandan, A1 boyasındaki ana pikler sırasıyla 803, 1013, 1403, 1555, 1627, 1700, 2927, 3164, 3276 ve 3401 cm^{-1} 'de görülmektedir. 1500 ila 800 cm^{-1} arasındaki IR bölgesi genellikle C-C, C-H ve C-N bağlarının titreşimlerine karşılık gelen bantları içermektedir ve bu bölgeye "parmak izi" bölgesi denilmektedir (Smith, 1999). A1 boyası için 803 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandı aromatik C-H bağlarının varlığını belirtmektedir. Buna karşılık, C-N bağlarının varlığı, muhtemelen C-N bağlarının gerilmesinden (ν C-N) ortaya çıkan 1013 cm^{-1} 'de yoğun bir sinyal ile tanımlanabilmektedir (Erdik, 2008; Hesse, Meier ve Thime, 2008). 1555 cm^{-1} ve 1403 cm^{-1} 'deki pikler, sırasıyla nitronun N-O asimetrik ve simetrik gerilme titreşimlerini belirtmektedir. 1700 cm^{-1} yakınında gözlemlenen bir pik noktası, C=N gerilmesinin varlığına işaret etmektedir (Erdik, 2008). A1 başlangıç maddesinde C=N gerilmesinin bulunmamasına karşılık A1 boya yapısında ise primer amin bantlarının ve aromatik aminlerin C-N gerilmesinin bulunmaması Şekil 4.3'te verilen mekanizmayı doğrulamaktadır. 1627 ve 2927 cm^{-1} 'de tespit edilen zayıf pikler, sırasıyla alken C=C gerilmesi (Sun, Xing ve Tang, 2015) ve Ar-C-H gerilmesiyle ilişkilendirilmektedir. ν (~3164 cm^{-1}) piki

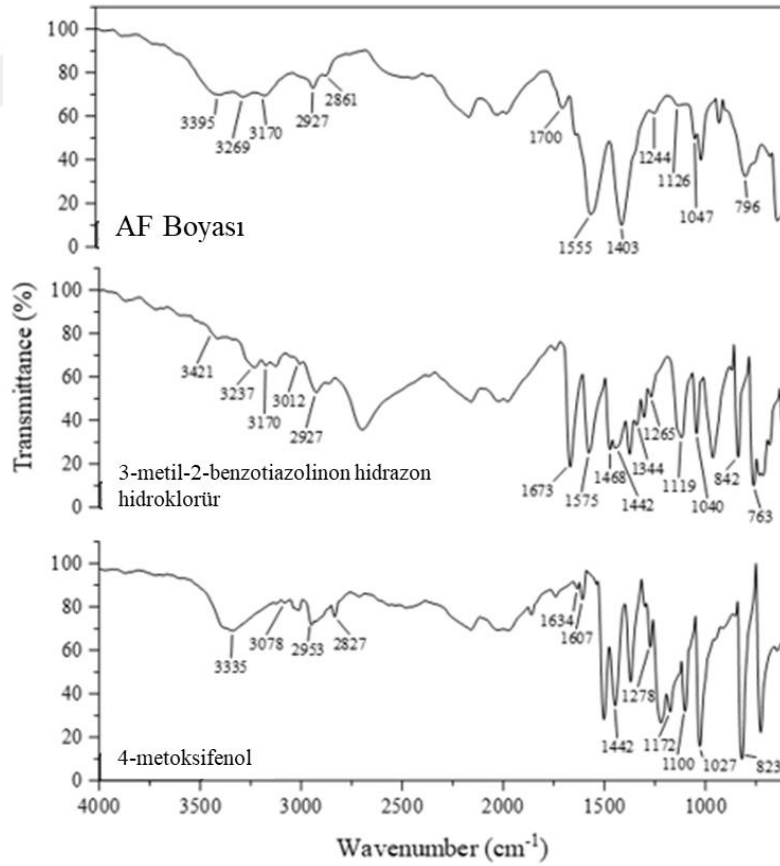
aromatik hidrojenin varlığını belirtmektedir. 3200-3400 cm^{-1} arasında gözlemlenen iki zayıf bant normalde sırasıyla alkolün serbest OH grubuna ilişkin gerilmeye ve H-bağlı OH grubuna karşılık gelmektedir (Erdik, 2008). Ancak, boya yapısında hidrosil grubu bulunmadığı için bu pik muhtemelen nem, diğer bir deyişle suyun kendisinden kaynaklanmaktadır.

Başlangıç maddeleri tek başlarına kullanılmalarının yanı sıra, uygun bir modifiye edici (kenetleyici) başka bir fenolik bileşik ile kombinasyon halinde de kullanılabilir, bu sayede enzimatik boyamada elde edilen renk paleti genişlemektedir. Renkli bir bileşiği dönüştürmek için, modifiye edici madde lakkaz varlığında başlangıç maddesiyle reaksiyona girmektedir (Tzanov ve ark., 2003). Lakkazın aynı substrattan çok çeşitli fenolik radikal formları üretme kabiliyeti nedeniyle, bu yüksek derecede reaktif ara ürünlerin kendiliğinden ve rastgele kenetlenmesi sonucu çeşitli ürünlerin oluşma olasılığı yüksektir. Dimer oluşum reaksiyonlarına homoleküler kenetlenme reaksiyonları denilmektedir. Lakkaz ayrıca substratı olan bileşikler, substratı olmayanlarla kenetleyerek yeni heteromoleküler hibrit bileşikler de oluşturabilmektedir (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012). Fenoksi radikallerinin, enzimatik olmayan 1,4-Michael katılmasıyla (Tzanov ve ark., 2003) aromatik aminler gibi substratlarla kenetlenmesiyle, tamamen yeni fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip ürünler elde edilebilmektedir. Şekil 4.3'te gösterildiği gibi substratların karbon ve azot atomları (C-N) arasında yeni kimyasal bağlar oluşmaktadır (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012). Amin bileşikler ile kenetlenme reaksiyonunun yanı sıra, fenolik bileşiklerin oksidasyonu ile oluşturulan fenoksil radikalleri de Şekil 4.1'de gösterilen mekanizmaya benzer şekilde kendi aralarında reaksiyona girebilmektedirler. Ayrıca, ortamdaki amin bileşikler kendi aralarında da reaksiyona girebilmektedirler. Bu nedenle, başlangıç maddesinin (fenol bileşiği) ve modifiye edicinin (amin bileşiği) lakkaz-mediyatör sistemi tarafından oksidasyonu ile oluşturulan bileşiklerin karakterizasyonu zordur (Hadzhiyska ve ark., 2006; Tzanov ve ark., 2003). 4-Metoksifenol ve 3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorürün lakkaz-mediyatör sistemi yardımıyla oksidatif çapraz bağlanması için önerilen reaksiyon Şekil 4.5'te verilmektedir.



Şekil 4.5. 4-metoksifenol ve 3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorürün renkli heteropolimer oluşturmak üzere lakkaz enzimi katalizörlüğünde oksidatif çapraz bağlanması için önerilen reaksiyon mekanizması (Polak ve Jarosz-Wilkolazka, 2012; Tzanov ve ark., 2003; Kim ve Cavaco-Paulo, 2011)

4-metoksifenol ve 3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorür ve bunlardan lakkazla elde edilen kırmızı boyarmaddenin (AF boyası) kimyasal yapısını karakterize etmek için FTIR spektrumları belirlenmiş olup sonuçlar Şekil 4.6’da verilmektedir.



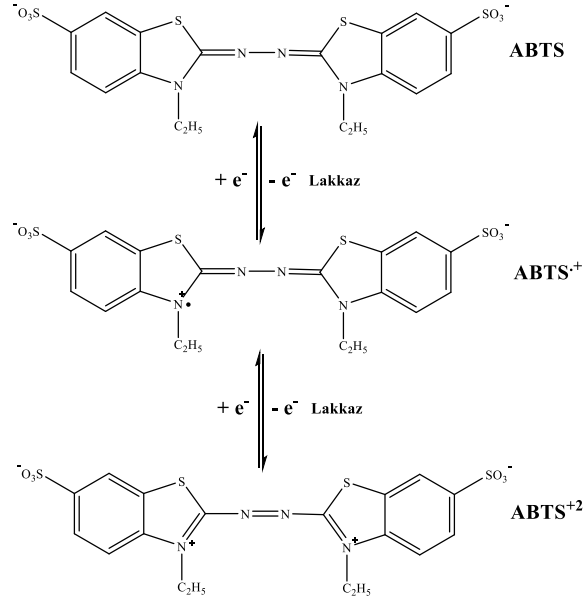
Şekil 4.6. 4-metoksifenol, 3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorürün ve AF boyasının FTIR spektrumları

Şekil 4.6'dan görülebileceği gibi, 4-metoksifenol ve 3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorür başlangıç maddelerinin spektrumu ile AF boyası arasında bazı farklılıklar bulunmaktadır. 4-metoksifenol başlangıç maddesinin spektrumunda, ana pikler sırasıyla 823, 1027, 1100, 1172, 1278, 1442, 1607, 1634, 2827, 2953, 3078 ve 3335 cm^{-1} 'de gözlemlenmektedir. 823 cm^{-1} 'deki absorpsiyon frekansı, 4-metoksifenol başlangıç maddesi yapısında bulunan para (1,4) konumunda substituent içeren aromatik halkadaki sp^2 CH bükülmesinden kaynaklanmaktadır (Erdik, 2008). Diğer yandan, 1027 ve 1100 cm^{-1} 'de gözlenen pikler, aromatik C-H düzlem içi bükülmelerine atfedilebilir (Coates ve Meyers, 2006). Aromatik halka için düzlem içi bükülmeye karşılık gelen C-H titreşimleri 1172 cm^{-1} ve 1278 cm^{-1} 'de görülmektedir (Sun, Xing ve Tang, 2015). Ayrıca, 1442, 1607 ve 1634 cm^{-1} 'deki pikler C=C gerilmelerine işaret etmektedir (Sun, Xing ve Tang, 2015; Erdik, 2008). 2827 cm^{-1} 'deki tepe noktası, Ar-O-CH₃ bağının karakteristik gerilme bandıdır. 2953 ve 3078 cm^{-1} 'deki pikler Ar=C-H gerilmeleriyle ilişkilidir. 3335 cm^{-1} 'de gözlemlenen bant, alkolün serbest -OH grubunun gerilmesine karşılık gelmektedir (Erdik, 2008).

3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorür başlangıç maddesinin spektrumunda ise ana pikler sırasıyla 763, 842, 1040, 1119, 1265, 1344, 1442, 1468, 1575, 1673, 2927, 3012, 3170, 3237 ve 3421 cm^{-1} 'de görülmektedir. 763 ve 842 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bantları, sırasıyla aromatik C-S gerilmesi (Coates ve Meyers, 2006) ve aromatik C-H bağlarının varlığına işaret etmektedir. Buna karşılık C-N bağlarının varlığı, muhtemelen C-N bağlarının (ν C - N) gerilmesinden kaynaklanan 1040 cm^{-1} 'de yoğun bir sinyalle tanımlanabilir (Hesse, Meier ve Thime, 2008; Xu ve ark., 2017). 1119 cm^{-1} 'deki pik N-N bağına dayandırılabilir. 1265 ve 1344 cm^{-1} 'de gözlenen pikler, sırasıyla, substitue halka düzlem içi C-N gerilmesi ve C-S bükülmesine dayandırılabilir (Xu ve ark., 2017). Ayrıca, 1442 ve 1468 cm^{-1} 'deki pikler C=C gerilmelerine işaret etmektedir (Sun, Xing ve Tang, 2015; Erdik, 2008). 1575 cm^{-1} 'deki pik ise, konjuge karbonil ve N-H bükülmesi dâhil olmak üzere birçok bağın absorpsiyonunun üst üste binmesine bağlı olabilen geniş bir banttır (Hadzhiyska ve ark., 2006). 1673 cm^{-1} 'de tespit edilen pik (ν C=N) grubunun varlığına işaret etmektedir (Coates ve Meyers, 2006). 2927, 3012 ve 3170 cm^{-1} 'de tespit edilen daha zayıf pikler, sırasıyla alifatik C-H gerilmesi, CH₃ titreşimleri (Sun, Xing ve Tang, 2015) ve Ar=C-H gerilmesi ile ilişkilidir. 3237 ve 3421 cm^{-1} 'de bulunan pikler, 3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorür başlangıç maddesindeki -NH₂ grupları ile ilişkilidir (Erdik, 2008).

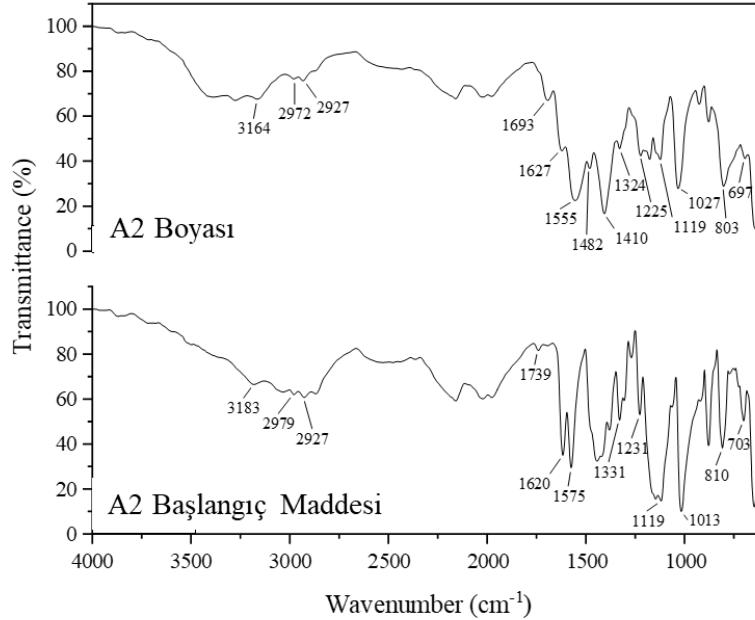
Öte yandan AF boyasının spektrumundaki ana pikler sırasıyla 796, 1047, 1126, 1244, 1403, 1555, 1700, 2861, 2927, 3170 ve 3395 cm^{-1} 'de görülmüştür. 796 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandı aromatik C-S gerilmesinin varlığını göstermektedir (Coates ve Meyers, 2006). Buna karşılık C-N bağlarının varlığı, muhtemelen C-N bağlarının (ν C-N) gerilmesinden kaynaklanan 1047 cm^{-1} 'deki yoğun sinyal ile tanımlanabilir (Hesse, Meier ve Thime, 2008; Xu ve ark., 2017). 1126 cm^{-1} 'deki pik noktası N-N bağına dayandırabilir. 1244 ve 1403 cm^{-1} 'de gözlenen pikler, sırasıyla, substitue halka düzlem içi C-N gerilmesi ve C-S bükülmesine dayandırılabilir (Erdik, 2008; Xu ve ark., 2017). Ayrıca, 1555 cm^{-1} 'deki pik noktası C=C gerilmesine işaret etmektedir (Sun, Xing ve Tang, 2015; Erdik, 2008). 1700 cm^{-1} 'de görülen pik, ν C=N grubunun varlığını göstermektedir (Coates ve Meyers, 2006). 2861 cm^{-1} 'deki pik noktası, Ar-O-CH₃ bağının karakteristik gerilme aralığıdır. 2927 ve 3170 cm^{-1} 'de saptanan daha zayıf pikler, sırasıyla alifatik C-H gerilmesi ve Ar = C-H gerilmesiyle ilişkilidir (Erdik, 2008). 3269 cm^{-1} 'de gözlenen bant, sekonder N-H gerilmesine karşılık gelir. Bütün bu bulgular, Şekil 4.5'te verilen mekanizmayı teyit etmektedir. Bu bulgulara göre özellikle 2 değil 1 ile gösterilen yapının oluştuğu söylenebilir. 3395 cm^{-1} 'da gözlenen zayıf bant normalde alkolün serbest -OH grubunun gerilmesine karşılık gelmektedir (Erdik, 2008). Ancak, bu boyanın yapısında hidroksil grubu bulunmadığı için bu pik muhtemelen nem, diğer bir deyişle suyun kendisinden kaynaklanmaktadır.

2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (ABTS), lakkazlar için mükemmel elektrokimyasal medyatörlerden biridir. ABTS, Şekil 4.7'de gösterildiği gibi, kararlı ve yoğun renkli bir katyon radikali (ABTS⁺) ve dikatyon (ABTS⁺²) oluşturacak şekilde tersinir oksidasyona uğramaktadır (Munteanu ve ark., 2007).



Şekil 4.7. ABTS'den bir ve iki elektronun uzaklaştırılmasıyla kation radikalinin ve dikasyonun oluşması (Munteanu ve ark., 2007)

2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (A2 başlangıç maddesi) ve bunun lakkaz ile katalitik oksidasyonu sonucu elde edilen lila renkli boyanın (A2 dye) kimyasal yapısını karakterize etmek için FTIR spektrumları belirlenmiş olup sonuçlar Şekil 4.8'de verilmektedir.



Şekil 4.8. A2 başlangıç maddesinin ve A2 boyasının FTIR spektrumları

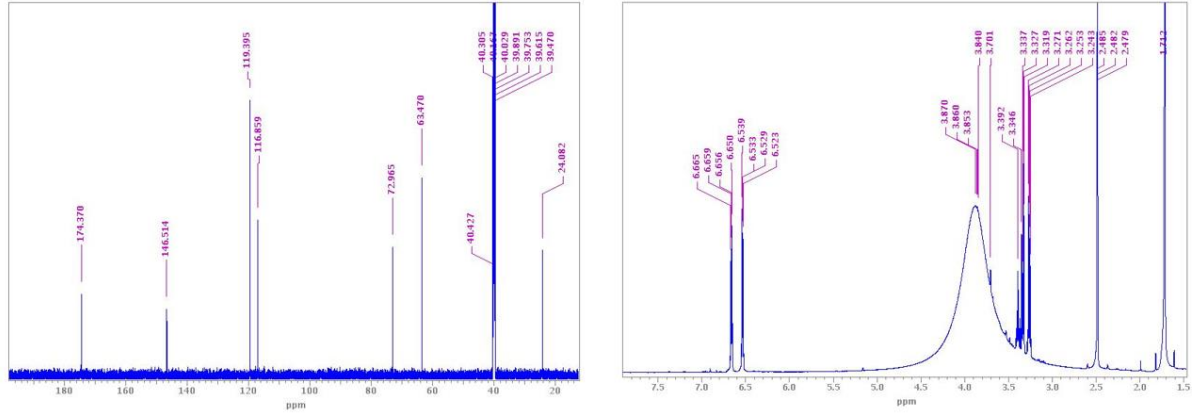
Şekil 4.8'den görülebileceği gibi, A2 başlangıç maddesi ve A2 boyasının spektrumları arasında bazı farklılıklar vardır. A2 başlangıç maddesinin spektrumunda, ana pikler sırasıyla

703, 810, 1013, 1119, 1231, 1331, 1575, 1620, 1739, 2927, 2979 ve 3183 cm^{-1} 'de görülmektedir. 703 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandı aromatik C-S gerilmesine işaret etmektedir (Coates ve Meyers, 2006). 810 cm^{-1} ve 1013 cm^{-1} 'deki güçlü pikler ise, sırasıyla S-O gerilmesi (sülfoksit) ve S=O bağı göstermektedir (Vinayan ve ark., 2016). 1119 cm^{-1} 'deki pik noktası hem N-N bağı hem de C-C gerilmesine (iskelet titreşimleri) dayandırılabilir (Coates ve Meyers, 2006). 1231 ve 1331 cm^{-1} 'de gözlenen pikler, sırasıyla, substitue halka düzlem içi C-N gerilmesi ve C-S bükülmesine atfedilebilir (Xu ve ark., 2017). Ayrıca, 1575 cm^{-1} ve 1620 cm^{-1} 'deki pikler aromatik C=C gerilmesine dayandırılabilir (Sun, Xing ve Tang, 2015; Erdik, 2008). A2 başlangıç maddesi ve A2 boyasının yapısındaki temel farklılıklardan biri >C=N- grubudur. Bununla birlikte, >C=N- grubu gibi çift bağı azot grupları, karbonil (C=O) ve alken (C=C) çift bağı gerilme bölgesine yakın absorpsiyonlar sergilemektedir. Fonksiyonel grup için karakteristik olmalarına rağmen, bölgedeki diğer yaygın fonksiyonel gruplarla örtüşmesi nedeniyle bazen doğrudan tayin edilmeleri zordur (Coates ve Meyers, 2006). Bu nedenle, 1739 cm^{-1} 'de tespit edilen pik >C=N- grubuna dayandırılabilir, fakat aynı zamanda C=C çift bağına da işaret etmektedir. 2927, 2979 ve 3183 cm^{-1} 'de tespit edilen daha zayıf pikler, sırasıyla alifatik C-H gerilmesi (Widsten ve Kandelbauer, 2008), CH_3 titreşimleri (Sun, Xing ve Tang, 2015) ve Ar=C-H gerilmesiyle (Erdik, 2008) ilişkilidir.

Öte yandan, A2 boyasındaki ana pikler sırasıyla 697, 803, 1027, 1119, 1225, 1324, 1410, 1482, 1555, 1627, 1693, 2927, 2972 ve 3164 cm^{-1} 'de gözlenmektedir. 697 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandı aromatik C-S gerilmesine dayandırılabilir (Coates ve Meyers, 2006). 803 cm^{-1} ve 1027 cm^{-1} 'deki güçlü pikler ise, sırasıyla S-O gerilmesi (sülfoksit) ve S=O bağından kaynaklanmaktadır (Vinayan ve ark., 2016). 1119 cm^{-1} 'deki pik C-C gerilmesine (iskelet titreşimleri) dayandırılabilir (Coates ve Meyers, 2006). 1225 ve 1324 cm^{-1} 'de gözlenen pikler, sırasıyla, substitue halka düzlem içi C-N gerilmesi ve C-S bükülmesine atfedilebilir (Xu ve ark., 2017). Diğer yandan, 1410 ve 1482 cm^{-1} 'deki pikler, sırasıyla Ar-C=N ve disazo (-N=N-) gruplarına işaret etmektedir (Erdik, 2008). A2 başlangıç maddesinde bulunmayan Ar-C=N ve disazo (-N=N-) gruplarının A7 boya yapısında bulunması, Şekil 4.7'de verilen mekanizmayı onaylamaktadır. Ayrıca, 1555 cm^{-1} ve 1627 cm^{-1} 'deki pikler aromatik C=C gerilmesine dayandırılabilir (Sun, Xing ve Tang, 2015; Erdik, 2008). 1693 cm^{-1} 'de saptanan pik noktası da C=C çift bağına işaret etmektedir. 2927, 2972 ve 3164 cm^{-1} 'de tespit edilen daha zayıf pikler, sırasıyla alifatik C-H gerilmesi (Erdik, 2008), CH_3 titreşimleri (Sun, Xing ve Tang, 2015) ve Ar=C-H gerilmesi (Erdik, 2008) ile ilişkilidir.

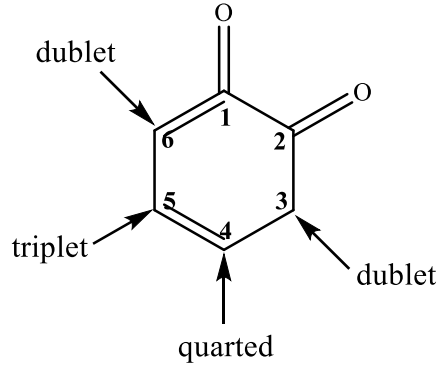
4.1.2 Nükleer manyetik rezonans (NMR) analizi sonuçları

Lakkazın katekole (F başlangıç maddesi) etkisiyle elde edilen kahverengi boyanın (F boyası) kimyasal yapısını karakterize etmek için ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR analizleri de yapılmış olup sonuçlar Şekil 4.9’da verilmektedir.



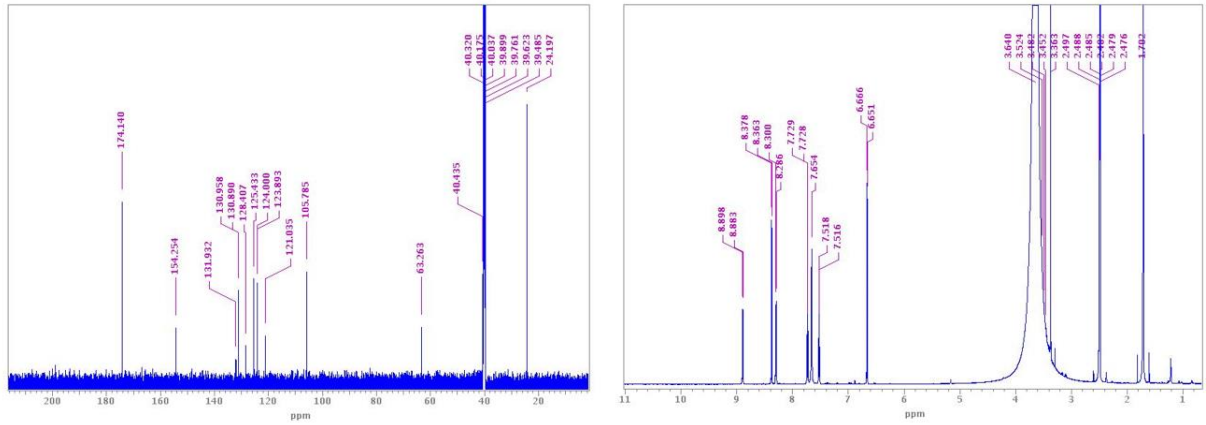
Şekil 4.9. F boyasına ait ^{13}C -NMR (solda) ve ^1H -NMR (sağda) spektrumları

Şekil 4.9’da verilen F boyasına ait ^{13}C -NMR sonuçları incelendiğinde 174,370 ppm’de görülen pik kinon yapısına işaret etmektedir. Ancak öte yandan bir ^{13}C -NMR spektrumunda bileşiğin yapısındaki birbirinden farklı olan karbon sayısı kadar pik görülmesi gerekmektedir. Buna göre eğer F boyasının yapısı sadece Şekil 4.1’de gösterilen *o*-benzokinon olsaydı ^{13}C -NMR spektrumunda Şekil 4.10’dan anlaşılacağı üzere 6 pik görülmesi gerekirdi. Ancak daha fazla pik görülmüş olması sentezlenen F boyasının yapısında sadece *o*-benzokinonun bulunmadığı başka bileşiklerin de bulunduğu anlamına gelmektedir. Bu sonuç FTIR analizi sonuçlarını destekler niteliktedir. Zira FTIR analizi sonuçlarına göre F boyasının, hem *o*-benzokinon bileşiğini hem de katekol dimerlerini ve homopolimerini içerdiği ortaya koyulmuştur. Şekil 4.10’dan anlaşılacağı üzere F boyasının ^1H -NMR spektrumunda dublet, triplet ve quartet pikler görülmesi gerekmektedir. Yalnız bu yapıların her birinin ^1H -NMR’da net olarak çıkmamış olması yine yapının saf olmadığını ortaya koymaktadır. Öte yandan, 6,5 ppm civarındaki pikler aromatik halkanın bozularak oksijenlerin bağlandığı orto yapısının oluştuğunu göstermektedir.



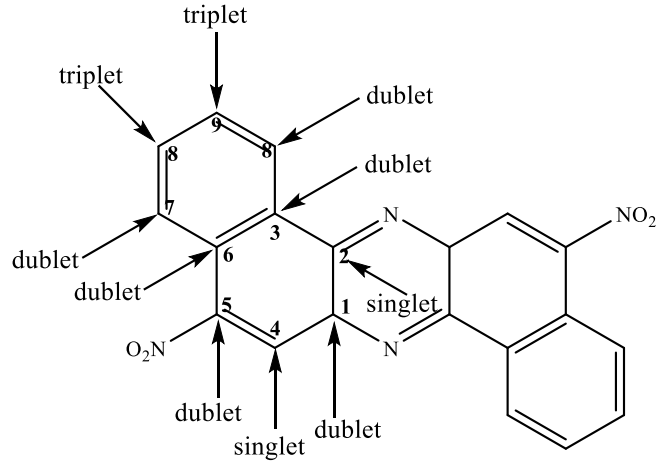
Şekil 4.10. F boyasının yapısında bulunan *o*-benzokinondaki C atomlarındaki H atomlarının ^1H NMR spektrumundaki pikleri

4-nitro-1-naftilaminin (A1 başlangıç maddesi) lakkazla katalitik polimerizasyonu ile elde edilen sarı renkli boyanın (A1 boyası) kimyasal yapısını karakterize etmek için ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR analizleri de yapılmış olup sonuçlar Şekil 4.11’de verilmektedir.



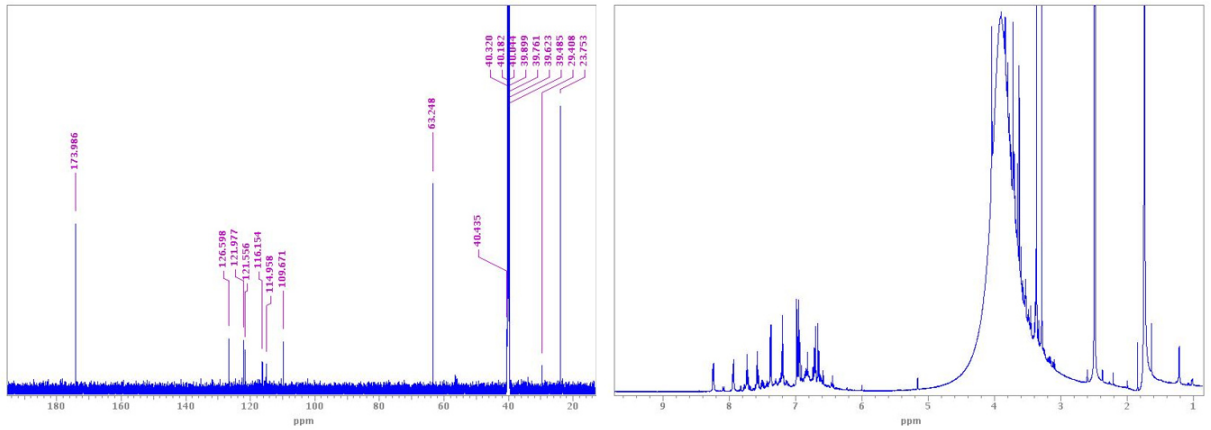
Şekil 4.11. A1 boyasına ait ^{13}C -NMR (solda) ve ^1H -NMR (sağda) spektrumları

Şekil 4.11’de verilen A1 boyasına ait ^{13}C -NMR sonuçları incelendiğinde 9 farklı pik görülmektedir. Zaten Şekil 4.3’te verilen A1 boyasının yapısından görüldüğü üzere 9 farklı karbon atomu bulunmaktadır. Yapı simetrik olduğu için bileşiğin sağ tarafı da spektrumda aynı yerde görünmektedir. Dolayısıyla bu sonuç FTIR analizi sonuçlarını ve Şekil 4.3’te verilen mekanizmayı destekler niteliktedir. Şekil 4.12’den anlaşılacağı üzere A1 boyasının ^1H -NMR spektrumunda singlet, dublet ve triplet pikler görülmesi gerekmektedir. ^1H -NMR sonuçları bunu destekler niteliktedir. Öte yandan, 7 ppm ve üzerinde görülen pikler yapının aromatikliğini net bir şekilde ortaya koymaktadır.



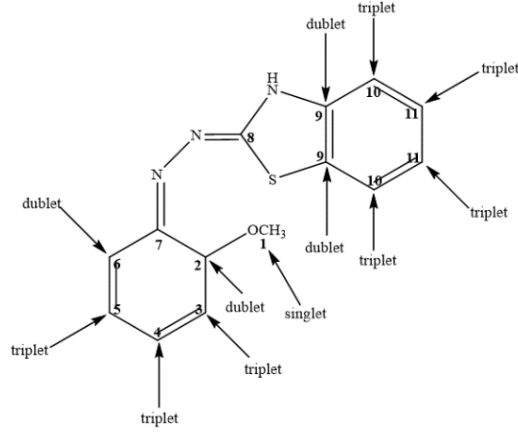
Şekil 4.12. A1 boyasının yapısında bulunan C atomlarındaki H atomlarının ^1H NMR spektrumundaki pikleri

4-metoksifenol ve 3-metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorürden lakkaz enziminin etkisiyle elde edilen kırmızı boyarmaddenin (AF boyası) kimyasal yapısını karakterize etmek için ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR analizleri de yapılmış olup sonuçlar Şekil 4.13'te verilmektedir.



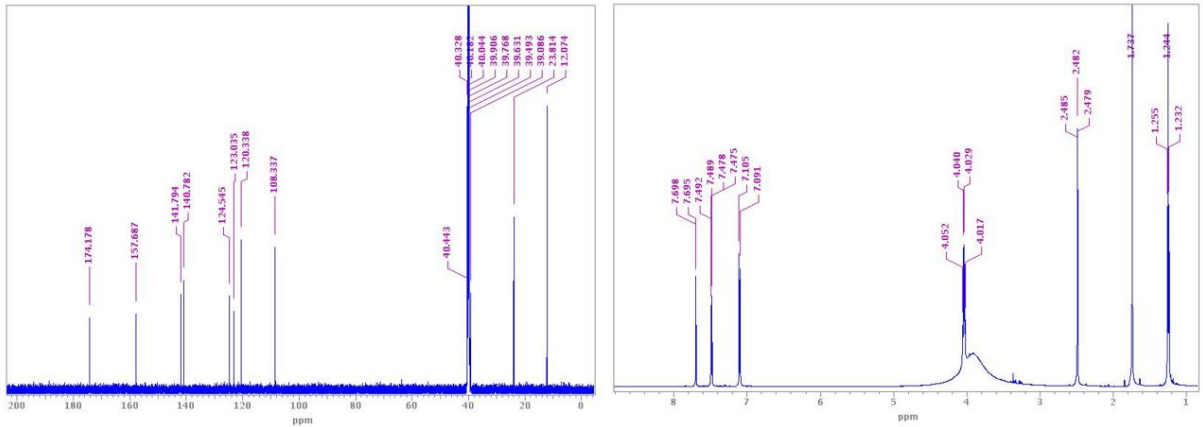
Şekil 4.13: AF boyasına ait ^{13}C -NMR (solda) ve ^1H -NMR (sağda) spektrumları

Şekil 4.13'te verilen AF boyasına ait ^{13}C -NMR sonuçları incelendiğinde 9 pik, yani 9 farklı C görülmektedir. Şekil 4.5'te verilen AF boyasının yapısından görüldüğü üzere aslında yapıda 11 farklı karbon atomu bulunmaktadır. Muhtemelen bu karbonlardan birbirine yakın olanlar spektrumda üst üste çakışmıştır. Bu sonuç FTIR analizi sonuçlarını ve Şekil 4.5'te verilen mekanizmayı destekler niteliktedir. Şekil 4.14'ten anlaşılacağı üzere AF boyasının ^1H -NMR spektrumunda singlet, dublet ve triplet pikler görülmesi gerekmektedir. Bunların bazıları ^1H -NMR sonuçlarında belirgindir, ancak bazıları ise muhtemelen spektrumda üst üste çakıştıkları için gözükmemektedir. Öte yandan, 7 ppm civarında görülen pikler yapının aromatikliğini net bir şekilde ortaya koymaktadır.



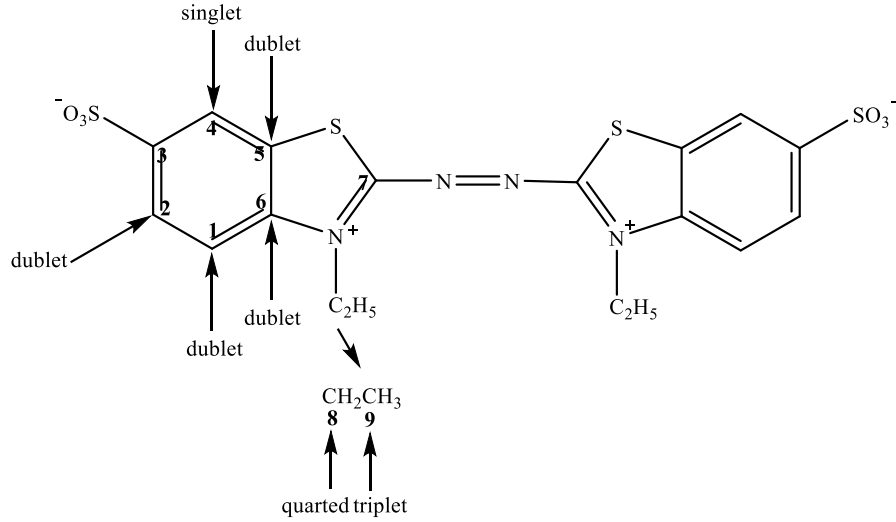
Şekil 4.14. AF boyasının yapısında bulunan C atomlarındaki H atomlarının ^1H NMR spektrumundaki pikleri

2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzunun (A2 başlangıç maddesi) lakkaz ile katalitik oksidasyonu sonucu elde edilen lila renkli boyanın (A2 boyası) kimyasal yapısını karakterize etmek için ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR analizleri de yapılmış olup sonuçlar Şekil 4.15'te verilmektedir.



Şekil 4.15: A2 boyasına ait ^{13}C -NMR (solda) ve ^1H -NMR (sağda) spektrumları

Şekil 4.15'te verilen A2 boyasına ait ^{13}C -NMR sonuçları incelendiğinde 9 farklı pik görülmektedir. Zaten Şekil 4.7'de verilen A2 boyasının yapısından görüldüğü üzere 9 farklı karbon atomu bulunmaktadır. Yapı simetrik olduğu için bileşiğin sağ tarafı da spektrumda aynı yerde görünmektedir. Dolayısıyla bu sonuç FTIR analizi sonuçlarını ve Şekil 4.7'de verilen mekanizmayı destekler niteliktedir. Şekil 4.16'dan anlaşılacağı üzere A2 boyasının ^1H -NMR spektrumunda singlet, dublet, triplet ve quarted pikler görülmesi gerekmektedir. ^1H -NMR sonuçları bunu destekler niteliktedir. Öte yandan, 7 ppm civarında görülen pikler yapının aromatikliğini net bir şekilde ortaya koymaktadır. Ayrıca 1-2 ppm arasındaki quarted ve triplet pikler boyanın yapısındaki $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ grubunun varlığını göstermektedir.



Şekil 4.16. A2 boyasının yapısında bulunan C atomlarındaki H atomlarının ¹H NMR spektrumundaki pikleri

4.2 Lakkaz ile Enzimatik Renklendirmede Ultrason Teknolojisinin Etkisinin İncelenmesine İlişkin Sonuçlar

En iyi sonuçların elde edildiği başlangıç maddeleri ile optimum koşullarda yapılan boyama işlemleri sırasında ultrasonik enerjinin kullanımının etkisini saptamak için, optimum koşullardaki denemeler ultrason varlığında ve yokluğunda olmak üzere iki farklı şekilde yapılmış olup elde edilen renk ölçüm sonuçları Çizelge 4.1’de verilmektedir.



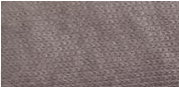





Çizelge 4.1. Optimum koşullar altında ultrason varlığında ve ultrason yokluğunda yapılan boyamaların renk değerleri

Numune	Ultrason	L*	a*	b*	C	h°	nm	R	K/S
A	-	90,59	-5,25	40,74	41,07	97,34	440	31,13	0,76
	+	82,47	-0,29	50,04	50,04	90,33	440	17,39	1,96
AF	-	61,56	24,75	-6,15	25,5	346,04	530	21,89	1,39
	+	52,18	24,08	-5,04	24,6	348,18	530	14,59	2,50
A2	-	79,12	6,17	-4,53	7,65	323,71	550	51,07	0,23
	+	78,69	7,04	-7,4	10,21	313,6	550	47,73	0,29
F	-	56,21	3,98	8,25	9,16	64,24	400	16,93	2,03
	+	47,53	4,44	10,08	11,02	66,21	400	10,17	3,96

Çizelge 4.1 incelendiğinde, ultrason varlığında yapılan boyamaların renk verimleri (K/S) ultrason olmadan yapılan boyamalardan çok daha yüksek çıkmıştır. Genel olarak boyama işleminin ultrasonik ortamda yapılmasının boyama verimini artırdığı söylenebilir. Bilindiği gibi

ultrasonik ortamda kavitasyon etkisi söz konusu olmakta, ortamdaki kinetik enerji arttığından ve boya moleküllerinin agregasyonu azaldığından liflerin boya alımında artış meydana gelmektedir. Ultrasonlu ve ultrasonuz ortamda yapılan boyamaların renklerinin nüansı değerlendirilecek olursa, ultrasonlu ortamda boyanan kumaşların renginin nüansının genelde daha kırmızı (a^* değeri daha büyük) ve daha sarı (b^* değeri daha büyük) olduğu dikkati çekmektedir. Çizelge 4.2’de boyanmış kumaş numunelerinin fotoğrafları görülmektedir.

Çizelge 4.2. Optimum koşullar altında ultrason varlığında ve ultrason yokluğunda yapılan boyamalara ait kumaş numunelerinin fotoğrafları

Boyama	A	AF	A2	F
Ultrasonuz				
Ultrasonlu				

Çizelge 4.2 incelendiğinde, ultrason varlığında yapılan boyamalar ile ultrason olmadan yapılan boyamaların arasında K/S değerlerini destekleyecek şekilde gözle görülebilir bir renk farkı olduğu görülmektedir. Çizelge 4.3’te optimum koşullar altında ultrason varlığında ve ultrason yokluğunda yapılan boyamaların yıkama haslığı değerleri verilmektedir.

Çizelge 4.3. Optimum koşullar altında ultrason varlığında ve ultrason yokluğunda yapılan boyamaların yıkama haslığı değerleri

Numune	Ultrason	WO	PAC	PES	PA	CO	CA
A1	-	3	5	4	2	4/5	2
	+	1	4/5	3	1	3/4	1
AF	-	3	5	4	2	3/4	2/3
	+	1-2	5	3	1	2/3	2
A2	-	5	5	5	3	5	3
	+	5	5	5	2/3	5	3
F	-	5	5	5	3	5	3/4
	+	5	5	5	2/3	5	3

Çizelge 4.3'ten görülebileceği üzere ultrasonlu ortamda boyanmış numunelerin yıkama haslıkları ultrasonuz ortamda boyanmışlara göre 1 ila 2 puan arasında daha düşük çıkmıştır. Bunun nedeni ultrasonlu ortamda boyanmış kumaşların oldukça daha koyu renge boyanmış olmalarıdır. Bilindiği gibi daha koyu tondaki boyamaların yaş haslıkları daha düşük çıkmaktadır. Bunun ötesinde ultrasonik ortamda boyaların agregasyon derecesinin düştüğü bilinmektedir. Bunun da yaş haslıkların daha düşük çıkmasının bir nedeni olabileceği düşünülmektedir.

4.3 Lakkaz ile Enzimatik Renklendirmede Enzim Orijininin Etkisinin İncelenmesine İlişkin Sonuçlar

En iyi sonuçların elde edildiği başlangıç maddeleri ile optimum koşullarda yapılan boyama işlemleri sırasında enzim orijinin etkisini saptamak için, optimum koşullardaki denemeler fungal orijinli Prima Green Ecofade LT 100 (Dupont) (**Enzim 1**) enziminin yanı sıra; *fungal orijinli Trametes versicolor* (Sigma-Aldrich) (**Enzim 2**) enzimiyle de yapılmıştır. Yapılan boyamaların renk verimi (K/S) ve CIEL*a*b* değerleri Çizelge 4.4'te verilmektedir.

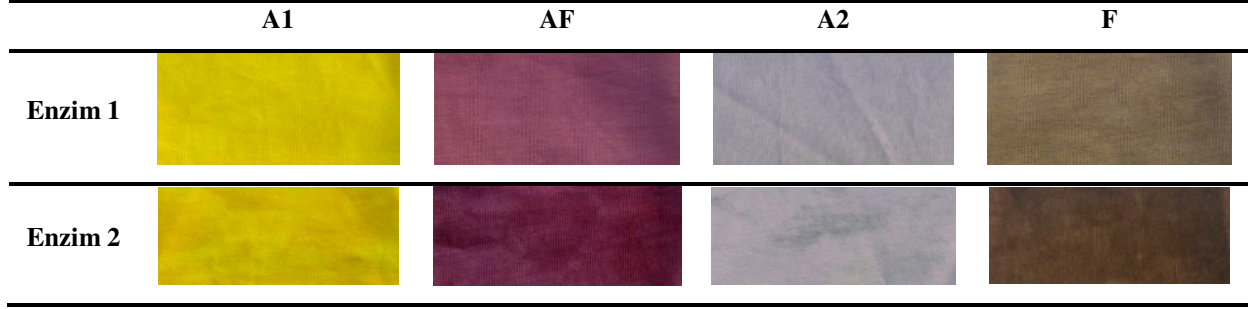
Çizelge 4.4. Optimum koşullar altında farklı orijinli enzimlerle yapılan boyamaların renk değerleri

Kumaş Adı	Enzim Cinsi	L*	a*	b*	C	h°	nm	R	K/S
A1	1	86,74	-3,32	48,99	49,10	93,88	440	21,36	1,45
	2	86,30	-2,49	57,18	56,24	92,50	440	16,62	2,09
AF	1	56,03	24,63	-3,30	24,86	352,41	530	17,17	2,00
	2	50,64	23,74	-8,81	25,42	339,64	530	13,88	2,68
A2	1	72,05	7,91	-7,31	10,77	317,23	550	39,73	1,06
	2	71,50	7,01	-4,36	8,26	328,15	550	39,59	0,46
F	1	48,26	3,90	10,43	11,14	69,48	400	10,45	3,84
	2	35,76	5,22	11,63	12,75	65,81	400	4,65	9,79

Çizelge 4.4 incelendiğinde enzim 2 ile yapılan boyamaların L* değerlerinin (açıklık-koyuluk) en küçük, K/S (renk verimi) değerlerinin ise en büyük olduğu görülmektedir. Bu durum *Trametes versicolor*'dan elde edilen lakkaz enzimi ile daha yüksek verim elde edilebileceğini gösteriyor olsa da, gözle yapılan değerlendirmelerde, bu enzimle yapılmış olan

boyamaların düzgünsüzlük problemi olduğu saptanmıştır. Tüm bu sonuçlar Çizelge 4.5'te verilen kumaş fotoğraflarından da görülebilmektedir.

Çizelge 4.5. Optimum koşullar altında farklı orijinli enzimler kullanılarak yapılan boyamalara ait kumaş numunelerinin fotoğrafları



Boyanmış kumaş numunelerine ait yıkama ve sürtünme haslığı değerleri Çizelge 4.6'da verilmektedir.

Çizelge 4.6. Optimum koşullar altında farklı orijinli enzimler kullanılarak yapılan boyamalara ait kumaş numunelerinin yıkama ve sürtme haslığı değerleri




Kumaş Adı	Enzim	Yıkama Haslığı						Sürtme Haslığı	
		WO	PAC	PES	PA	CO	CA	Kuru	Yaş
A1	1	1	4/5	4	1	4	1	2	1
	2	1	4/5	4	1	4	1	2	1
AF	1	1/2	4/5	4	1/2	2/3	1/2	4	2/3
	2	1	4/5	3/4	1	1/2	1	4	2
A2	1	5	5	5	3/4	4/5	4	3/4	2/3
	2	5	5	5	3/4	4/5	4	4	3/4
F	1	5	5	5	2/3	4/5	3/4	3/4	2/3
	2	5	5	5	1/2	4/5	2/3	3/4	1/2

Çizelge 4.6 incelendiğinde Enzim 2 ile boyanmış kumaşların bir miktar daha koyu boyanmış olmasından kaynaklı yaş haslıklarının yarım ila bir puan kadar daha düşük olduğu görülmektedir.

Çalışmada ayrıca *bitkisel (lale ağacı) orijinli Rhus vernicifera* (Sigma-Aldrich) (**Enzim 3**) enzimi de temin edilmiş ve bununla da deneme yapılmıştır. Ancak Enzim 3'den çok az miktarda (0,027 gram) satın alınmış olduğu için sadece AF ile çalışılırken 3 enzim tipi karşılaştırılmıştır. Ayrıca bu denemelerde normalde AF için optimal olduğu bulunmuş olan 1

g/L enzim konsantrasyonu yerine karşılaştırma yapılabilmesi için her üç enzimden de 0,27 g/L olarak kullanılmıştır. Sonuçlar Tablo Çizelge 4.7'den görülebilmektedir.

Çizelge 4.7. Farklı orijinli enzimler kullanılarak yapılan boyamalara ait kumaş numunelerinin fotoğrafları

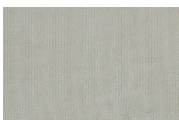

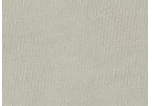


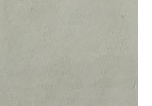
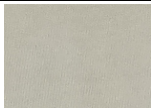
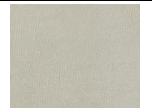
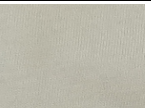

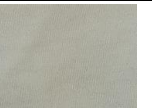
Numune	Enzim 1	Enzim 2	Enzim 3
AF			

Çizelge 4.7 incelendiğinde Enzim 2 ile yapılan boyamada kumaşın en koyu, Enzim 3 ile yapılan boyamada ise en açık renk verdiği görülmektedir.

4.4 Pamuğun Kendi Doğasında Bulunan Pigmentlerinin Enzimatik Renklendirmede Değerlendirilmesine İlişkin Sonuçlar

Bu gruptaki denemelerde öncelikle sadece bazik işlem görmüş, ancak ağartılmamış pamuklu süprem örme kumaşlar başlangıç maddesi içermeyen pH'ı 5'e ayarlanmış flotteler içerisinde değişik lakkaz enzimi konsantrasyonlarında (0,2-0,4-0,6-0,8-1 g/L) 60 °C'da 3 saat süreyle işleme tabi tutulmuşlardır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8'de verilmektedir.

Çizelge 4.8. Sadece bazik işlem görmüş örme kumaşların başlangıç maddesi içermeyen flottelerde değişik lakkaz enzimi konsantrasyonlarında işlem sonrası renkleri

		0,2 g/L	0,4 g/L	0,6 g/L	0,8 g/L	1 g/L
	Enzim 1					
	Enzim 2					



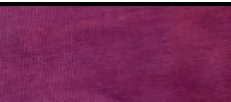
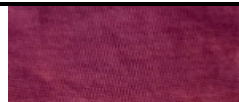
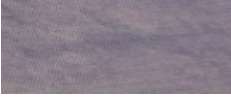
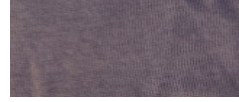
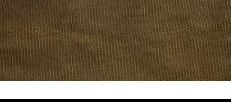
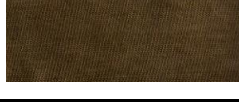
Çizelge 4.8 incelendiğinde başlangıç maddesi kullanılmadan doğrudan pamuğun yapısındaki renk veren pigmentlerle bir sonuç elde edilemediği açıkça görülmektedir. Bu nedenle, sadece bazik işlem görmüş pamuklu kumaşlar en iyi sonuçların elde edildiği başlangıç maddeleri ile optimum koşullarda boyanarak, pamuğun yapısında var olan doğal flavonoidlerin enzimatik renklendirme sırasındaki katılma reaksiyonunda kullanılan diğer başlangıç maddeleri

ile reaksiyonu destekleyip desteklemediği saptanmaya çalışılmıştır. Elde edilen renk ölçüm sonuçları Çizelge 4.9’da, kumaş numunelerinin fotoğrafları ise Çizelge 4.10’da verilmektedir.

Çizelge 4.9. Ağartılmış ve sadece bazik işlem görmüş pamuklu kumaşların optimum koşullar altında enzimlerle yapılan boyamalarına ait renk ölçüm değerleri

Kumaş Adı	Ön İşlem	L*	a*	b*	C	h°	nm	R	K/S
A1	Ağartılmış	82,42	-0,51	55,04	55,04	90,53	440	14,60	2,50
	Bazik İşlem	81,60	-1,38	63,29	63,30	91,24	440	10,42	3,85
AF	Ağartılmış	56,53	25,28	-8,46	26,69	341,45	540	18,47	1,80
	Bazik İşlem	56,35	25,60	-6,76	24,55	344,02	540	17,80	1,90
A2	Ağartılmış	71,30	8,01	-8,15	11,37	314,27	550	38,58	0,49
	Bazik İşlem	64,79	8,96	-7,93	11,97	318,51	550	30,07	0,81
F	Ağartılmış	47,62	4,41	10,13	11,04	66,49	400	10,08	4,01
	Bazik İşlem	42,31	4,74	11,30	12,25	67,23	400	7,12	6,06

Çizelge 4.10. Ağartılmış ve sadece bazik işlem görmüş pamuklu kumaşların optimum koşullar altında enzimlerle yapılan boyamalarına ait kumaş görselleri

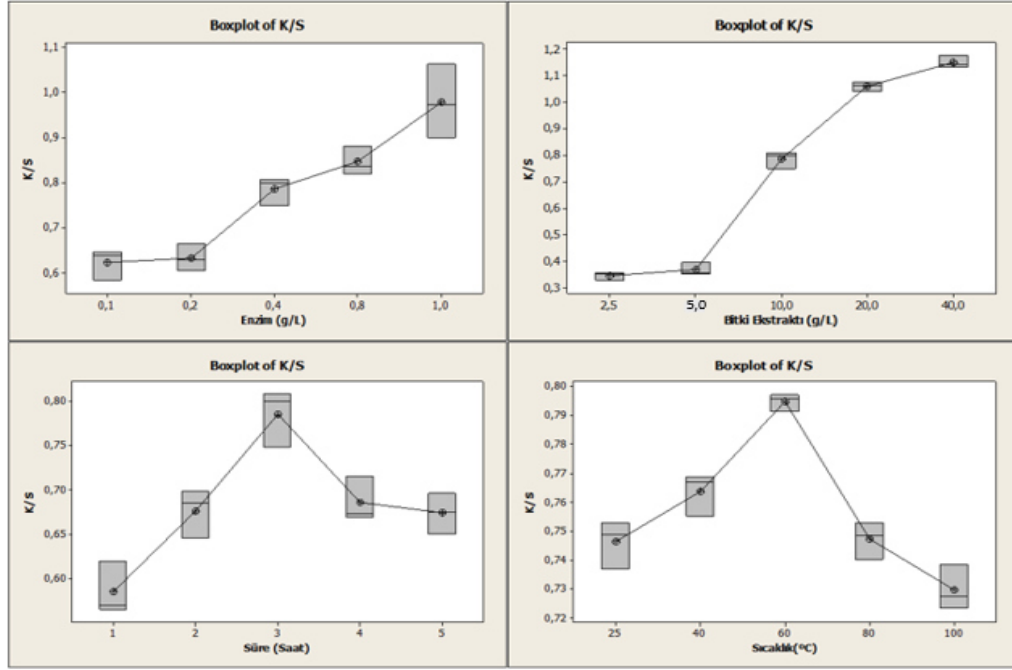
Numune	Ağartılmış	Bazik İşlem
A1		
AF		
A2		
F		

Çizelge 4.9 ve 4.10 incelendiğinde sadece bazik işlem görmüş kumaşların renklerinin daha sarı (b* değeri daha büyük) nüanslı ve ayrıca biraz daha koyu olduğu (L* değeri daha küçük) anlaşılmaktadır. Bu durumun pamuğun yapısında var olan doğal flavonoidlerin enzimatik renklendirme sırasındaki katılma reaksiyonunda kullanılan diğer başlangıç maddeleri

ile reaksiyonu desteklediği söylenebilir. Ön terbiye işlemleri sırasında bir adımın (ağartma) atlanabilecek olması çevresel açıdan zaten anlamlı olan enzimatik renklendirmenin daha da avantajlı hale gelmesi bakımından önemli olacaktır.

4.5 Bitkilerden Ekstrakte Edilen Doğal Başlangıç Maddelerinin Enzimatik Renklendirmede Kullanımına İlişkin Sonuçlar

Bilindiği gibi çeşitli doğal boyaların yapılarında flavonoidler bulunmaktadır. Bu çalışmada sarı kantaron ve beyaz soğan kabuğu bitkilerinden elde edilen ekstraktların enzimatik renklendirmede kullanılması üzerinde çalışılmıştır. Sarı Kantaron için yapılan optimizasyon çalışmalarından elde edilen renk verimi sonuçları Şekil 4.17’de, varyans analizi sonuçları ise Çizelge 4.11’de verilmektedir.



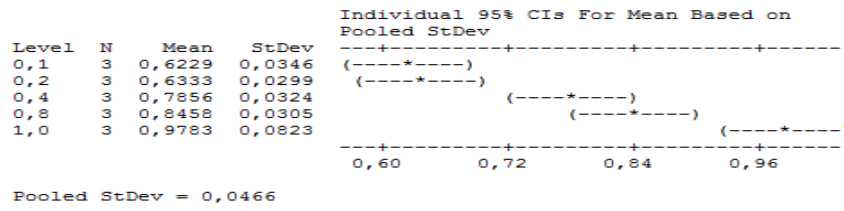
Şekil 4.17. Sarı Kantaron için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonuna ilişkin boxplot grafikleri

Çizelge 4.11. Sarı Kantaron için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonuna ilişkin varyans analizi sonuçları

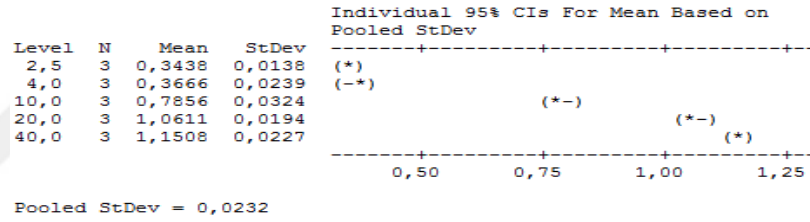
Source	DF	SS	MS	F	P
Enzim (g/L)	4	0,26907	0,06727	31,00	0,000
Bitki Ekstrakt Kons. (g/L)	4	1,710922	0,427730	791,62	0,000
Süre (saat)	4	0,060533	0,015133	19,43	0,000
Sıcaklık(°C)	4	0,0072672	0,0018168	38,83	0,000

Çizelge 4.11 incelendiğinde sarı kantaron ekstraktı ile enzimatik boyama üzerine enzim konsantrasyonu, başlangıç maddesi konsantrasyonu, süre ve sıcaklık parametrelerinin her birinin etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) olduğu görülmektedir. Ancak her bir parametre için farklılığın kaynağını görmek için Tukey testi de yapılmış olup, sonuçlar Çizelge 4.12-4.15'te verilmektedir.

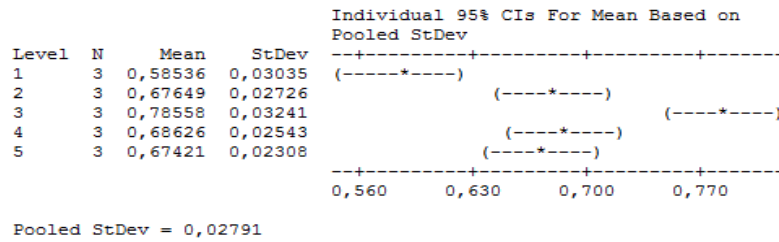
Çizelge 4.12. Sarı Kantaron için enzimatik boyamada enzim konsantrasyonunun etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı)



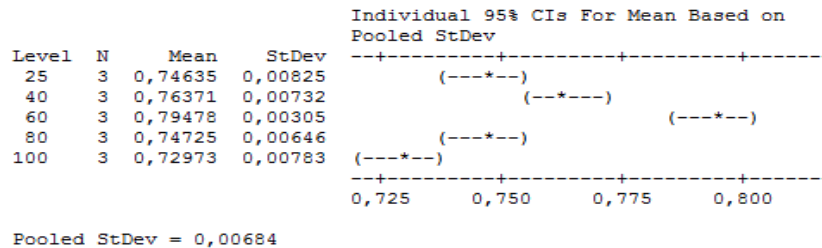
Çizelge 4.13. Sarı Kantaron için enzimatik boyamada bitki ekstraktı konsantrasyonunun etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı)



Çizelge 4.14. Sarı Kantaron için enzimatik boyamada sürenin etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı)



Çizelge 4.15. Sarı Kantaron için enzimatik boyamada sıcaklığın etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı)

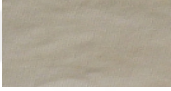

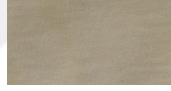








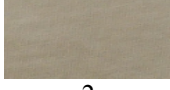

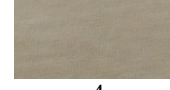








Çizelge 4.12 incelendiğinde enzim konsantrasyonunun etkisine göre elde edilen sonuçların 3 grupta toplandığı ve en iyi renk veriminin 1 g/L’de elde edildiği görülmektedir. Çizelge 4.13’te ise bitki ekstraktı konsantrasyonunun etkisine göre elde edilen sonuçların 4 grupta toplandığı ve en iyi renk veriminin en yüksek bitki ekstraktı konsantrasyonu olan 40 g/L’de elde edildiği görülmektedir.

Çizelge 4.14 incelendiğinde sürenin etkisine göre elde edilen sonuçların 3 grupta toplandığı ve en iyi sonucun 3 saatte elde edildiği görülmektedir. Çizelge 4.15 incelendiğinde sıcaklığın etkisine göre elde edilen sonuçların 2 grupta toplandığı ve en iyi renk veriminin 60 °C’da elde edildiği görülmektedir.

Yukarıda açıklanan tüm bulgular Çizelge 4.16’da verilen Sarı Kantaron için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonu denemelerine ilişkin kumaş numunelerinin fotoğraflarından da açıkça görülebilmektedir.

Çizelge 4.16. Sarı Kantaron için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonu denemelerine ilişkin kumaş numunelerinin fotoğrafları

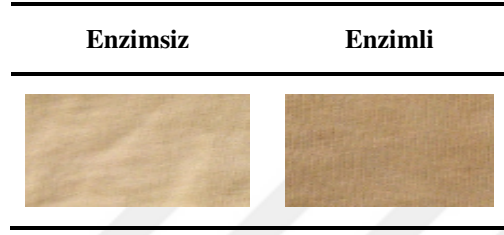
Enzim Konsantrasyonu (g/L)					
	0,1	0,2	0,4	0,8	1
Bitki ekstraktı konsantrasyonu (g/L)					
	2,5	5	10	20	40
Süre (Saat)					
	1	2	3	4	5
Sıcaklık (°C)					
	25	40	60	80	100

Bütün bu değerlendirmelerin sonucunda Sarı kantaron ekstraktı ile enzimatik boyamanın optimum koşulları 1 g/L enzim konsantrasyonu, 40 g/L bitki ekstraktı konsantrasyonu, 60 °C, 3 saat olarak belirlenmiştir. Bu belirlenen optimum koşullarda Sarı Kantaron ekstraktı ile enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan boyama işlemleri yapılmış olup elde edilen renk ölçüm sonuçları Çizelge 4.17’de, kumaş numunelerinin fotoğrafları ise Çizelge 4.18’de verilmektedir.

Çizelge 4.17. Sarı Kantaron ile optimum koşullarda enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamalara ait renk ölçüm sonuçları

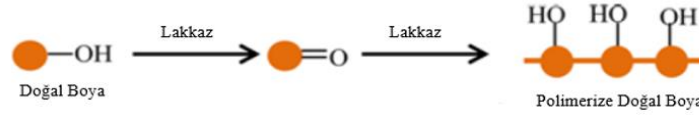
Boyama	L*	a*	b*	C	h°
Enzimsiz	77,69	2,93	14,62	14,92	78,66
Enzimli	71,71	5,96	16,31	17,37	69,92

Çizelge 4.18. Sarı Kantaron ile optimum koşullarda enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamalara ait numuneler



Çizelge 4.17 ve 4.18 incelendiğinde Sarı Kantaron ile yapılan boyamada enzim kullanılması durumunda elde edilen rengin belirgin ölçüde koyulaştığı, yani L* değerinin küçüldüğü görülmektedir. Aslında tablolardan da görülebileceği gibi Sarı Kantaron bitkisi pamuğu zaten boyama kabiliyetine sahiptir. Zira bu bitkinin yapısında çeşitli fenolik komponentler bulunmaktadır. Sarı Kantaron'da bulunan biyoaktif bileşikler hiperisin ve pseudohiperisin gibi naftodiantron türevleri ile hiperforin ve adiperforin gibi açillenmiş floroglükinol türevlerinin yanı sıra kuersetin, kuersitrin, rutin ve amentoflavon gibi çeşitli flavonoid türevleridir (Orhan ve Kartal, 2015). Dolayısı ile bu boyalar ile pamuk lifleri arasında van der Waals çekim kuvvetleri ve dipol-dipol etkileşimlerinin yanı sıra, boyaların yapısındaki fenolik hidroksil (-OH) gruplarının hidrojen atomu ile pamuk liflerinin yapısında bulunan hidroksil (-OH) gruplarının oksijen atomları arasında hidrojen köprüleri üzerinden etkileşim oluşacağı söylenebilir. Ancak boyama sırasında ortamda lakkaz enzimi de bulunduğunda söz konusu doğal boyaların yapısındaki aktif bileşikler yapısal değişikliğe uğramaktadır. Şekil 4.18'de verilen mekanizmaya göre doğal boyanın yapısındaki fenolik -OH grupları oksidasyonun birinci basamağında ara ürün olarak kinon gruplarına dönüşmektedir. Bazı ara ürünler katalizör (lakkaz enzimi) varlığında kovalent bağlarla birbirine bağlanarak polimerize olmaktadır (Bai ve ark., 2016). Bilindiği gibi boya molekülleri ne kadar uzun ve düz zincirli olursa liflerle arasındaki ikincil çekim kuvvetlerinin etkinliği arttığından boyanın liflere karşı afinitesi artmaktadır. Bu durum söz konusu doğal boyalarla enzim varlığında elde edilen renklerin daha koyu olmasının nedenini açıklamaktadır. Enzim varlığında yapılan boyamalarda

sadece rengin açıklığı-koyuluğu değil, nüansı da değişmiştir. Hem a*, hem b* değerinin arttığı, yani rengin nüansının daha kırmızı ve daha sarı yöne kaydığı söylenebilir.



Şekil 4.18. Fenolik hidroksil grubu içeren doğal boyalar ile lakkaz enziminin etkileşimi (Bai ve ark., 2016)

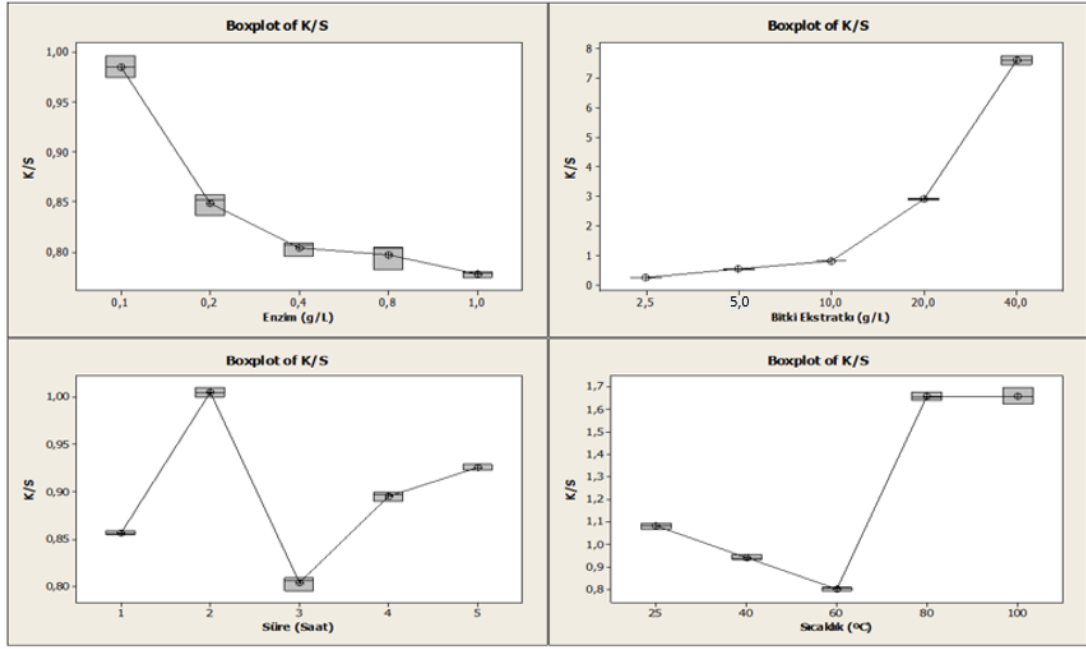
Sarı Kantaron ekstraktı ile enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamaların yıkama, sürtünme ve ışık haslığı test sonuçları Çizelge 4.19’da verilmektedir.

Çizelge 4.19. Sarı Kantaron ile optimum koşullarda enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamaların yıkama, sürtünme ve ışık haslığı test sonuçları

Boyama	Yıkama Haslığı					Sürtünme Haslığı		Işık Haslığı	
	WO	PAC	PES	PA	CO	CA	Kuru		Yaş
Enzimsiz	5	5	5	2	5	3	4	3	2-3
Enzimli	5	5	5	2	5	3	4	3	3

Çizelge 4.19 incelendiğinde Sarı Kantaron ekstraktı ile enzim kullanılarak yapılan boyamaların yıkama ve sürtme haslıklarının, kumaşın rengi daha koyu olmasına rağmen enzim kullanılmadan yapılan boyama ile aynı çıktığı, ışık haslıklarının ise 1/2 puan daha yüksek olduğu görülmektedir. Enzimli boyanmış kumaş numunesinin ışık haslığının biraz daha iyi çıkmasının nedeni kumaşın daha koyu boyanmış olmasıdır.

Beyaz soğan kabuğu için yapılan optimizasyon çalışmalarından elde edilen renk verimi sonuçları Şekil 4.19, varyans analizi sonuçları ise Çizelge 4.20’de verilmektedir.



Şekil 4.19. Beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonuna ilişkin boxplot grafikleri

Çizelge 4.20. Beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonuna ilişkin varyans analizi sonuçları

Source	DF	SS	MS	F	P
Enzim (g/L)	4	0,0851918	0,0212980	234,22	0,000
Bitki Ekstrakt Kons. (g/L)	4	114,1699	28,5425	6802,35	0,000
Süre (saat)	4	0,0686467	0,0171617	784,91	0,000
Sıcaklık(°C)	4	1,959815	0,489954	1208,98	0,000

Çizelge 4.20 incelendiğinde soğan kabuğu ekstraktı ile enzimatik boyama üzerine enzim konsantrasyonu, başlangıç maddesi konsantrasyonu, süre ve sıcaklık parametrelerinin her birinin etkisinin istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) olduğu görülmektedir. Ancak her bir parametre için farklılığın kaynağını görmek için Tukey testi de yapılmış olup, sonuçlar Çizelge 4.21-4.24'te verilmektedir.

Çizelge 4.21. Beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyamada enzim konsantrasyonunun etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı)

Level	N	Mean	StDev
0,1	3	0,98563	0,01079
0,2	3	0,84844	0,01098
0,4	3	0,80334	0,00710
0,8	3	0,79665	0,01255
1,0	3	0,77738	0,00313

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

-----+-----+-----+-----+-----

(--*) (--) (--)

(--*) (--)

(--*)

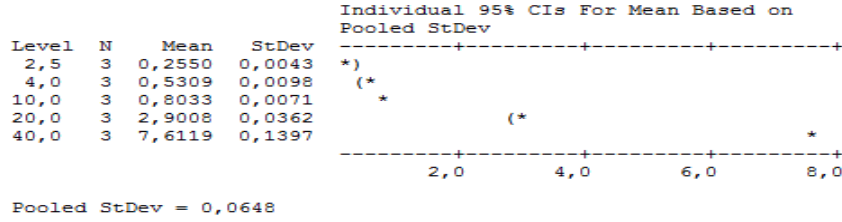
(--*)

-----+-----+-----+-----+-----

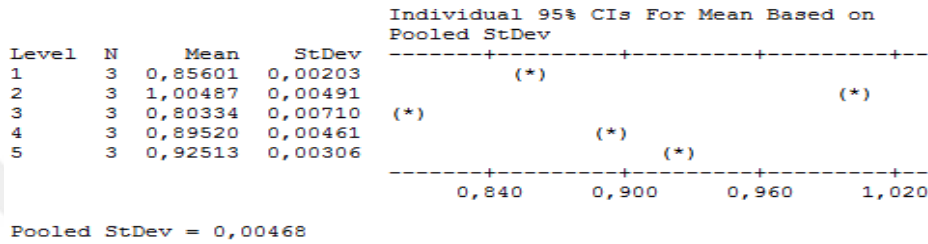
0,780 0,840 0,900 0,960

Pooled StDev = 0,00954

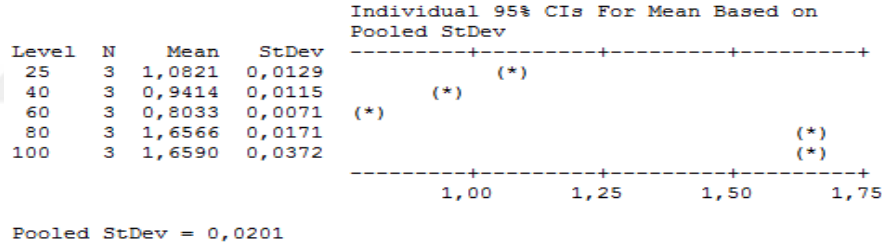
Çizelge 4.22. Beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyamada bitki ekstraktı konsantrasyonunun etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı)



Çizelge 4.23. Beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyamada sürenin etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı)






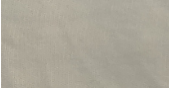











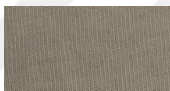




Çizelge 4.24. Soğan Kabuğu için enzimatik boyamada sıcaklığın etkisine ilişkin Tukey test sonuçları (Standart sapma bazında ortalamalar için %95 güven aralığı)



Çizelge 4.21 incelendiğinde enzim konsantrasyonunun etkisine göre elde edilen sonuçların 3 grupta toplandığı ve en iyi renk veriminin 0,1 g/L'de elde edildiği görülmektedir. Çizelge 4.22'de ise bitki ekstraktı konsantrasyonunun etkisine göre elde edilen sonuçların 4 grupta toplandığı ve en iyi renk veriminin en yüksek bitki ekstraktı konsantrasyonu olan 40 g/L'de elde edildiği görülmektedir. Çizelge 4.23 incelendiğinde sürenin etkisine göre elde edilen sonuçların 5 grupta toplandığı ve en iyi sonucun 2 saatte elde edildiği görülmektedir. Çizelge 4.24 incelendiğinde sıcaklığın etkisine göre elde edilen sonuçların 4 grupta toplandığı ve en iyi renk veriminin 80 °C ve 100 °C'da elde edildiği görülmektedir. Bu nedenle, en uygun sıcaklığın 80 °C olduğu söylenebilir. Sözü edilen tüm bu bulgular Çizelge 4.25'te verilen beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonu denemelerine ilişkin kumaş numunelerinin fotoğraflarından da açıkça görülebilmektedir.

Çizelge 4.25. Beyaz soğan kabuğu için enzimatik boyama koşullarının optimizasyonu denemelerine ilişkin kumaş numunelerinin fotoğrafları

Enzim Konsantrasyonu (g/L)					
	0,1	0,2	0,4	0,8	1
Bitki ekstraktı konsantrasyonu (g/L)					
	2,5	5	10	20	40
Süre (Saat)					
	1	2	3	4	5
Sıcaklık (°C)					
	25	40	60	80	100

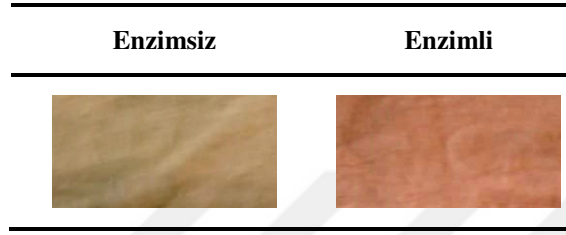
Bütün bu değerlendirmelerin sonucunda beyaz soğan kabuğu ekstraktı ile enzimatik boyamanın optimum koşulları 0,1 g/L enzim konsantrasyonu, 40 g/L bitki ekstraktı konsantrasyonu, 80 °C, 2 saat olarak belirlenmiştir. Bu belirlenen optimum koşullarda beyaz soğan kabuğu ekstraktı ile enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan boyama işlemleri yapılmıştır. Ancak enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamalar arasında önemli bir renk farklılığı görülmemiştir. Bu durum enzim konsantrasyonu ile bitki ekstraktı konsantrasyonu parametreleri arasında ikili etkileşim olduğunu ortaya koymaktadır. Yani 10 g/L bitki ekstraktı konsantrasyonunda en iyi sonuç 0,1 g/L enzim ile elde edilebilirken, 40 g/L bitki ekstraktı konsantrasyonunda bu kadar az enzim kullanmak yetersiz gelmektedir. Bu nedenle enzim konsantrasyonu artırılarak denemeler yapılmış ve 1 g/L enzim kullanılması gerektiği saptanmıştır. Yani optimum koşulları 1 g/L enzim konsantrasyonu, 40 g/L bitki ekstraktı konsantrasyonu, 80 °C, 2 saat olarak değiştirilmiştir.

Bu belirlenen optimum koşullarda beyaz soğan kabuğu ekstraktı ile enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan boyama işlemleri yapılmış olup elde edilen renk ölçüm sonuçları Çizelge 4.26'da, kumaş numunelerinin fotoğrafları ise Çizelge 4.27'de verilmektedir.

Çizelge 4.26. Beyaz soğan kabuğu ile optimum koşullarda enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamalara ait renk ölçüm sonuçları

Boyama	L*	a*	b*	C	h°
Enzimsiz	71,29	9,68	24,90	26,72	68,77
Enzimli	66,56	14,81	20,39	25,20	54,01

Çizelge 4.27. Beyaz soğan kabuğu ile optimum koşullarda enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamalara ait numuneler



Beyaz soğan kabuğunda ana renklendirici flavonoid türevi olan kuarsetin (C.I. Natural Yellow 10, 13) bulunmaktadır (Montazer ve ark., 2004). Bu nedenle, beyaz soğan kabuğu ekstraktı da zaten tek başına pamuk liflerini belirli ölçüde boyama yeteneğine sahiptir. Ancak Çizelge 4.26 ve 4.27'den beyaz soğan kabuğu ekstraktına lakkaz enzimi eklenerek bitkinin içerisindeki aktif maddenin doğal kaynaklı başlangıç maddesi olarak kullanılması durumunda elde edilen renklerin koyulaştığı ve verimin arttığı görülmektedir. Bu durumun nedeni Sarı Kantarondaki ile aynıdır. Enzim varlığında yapılan boyamalarda sadece rengin açıklığı-koyuluğu değil, nüansı da değişmiştir. a* değeri artmış, b* değeri azalmış olup bu durum rengin nüansının daha kırmızı ve daha yeşil yöne kaydığını göstermektedir. Bu arada soğan kabuğu ile yapılan boyamada rengin nüansındaki kayma Sarı Kantaron'a göre oldukça daha belirgindir. Beyaz soğan kabuğu ekstraktı ile enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyama işlemlerine ait yıkama, sürtme ve ışık haslığı test sonuçları Çizelge 4.28'de verilmektedir.

Çizelge 4.28. Soğan kabuğu ile optimum koşullarda enzim kullanılarak ve enzim kullanılmadan yapılan boyamaların yıkama, sürtme ve ışık haslığı test sonuçları

Boyama	Yıkama Haslığı					Sürtme Haslığı		Işık Haslığı	
	WO	PAC	PES	PA	CO	CA	Kuru		Yaş
Enzimsiz	4-5	5	5	2	3-4	3-4	4-5	3	2-3
Enzimli	5	5	5	3	4	4	4-5	3-4	3

Çizelge 4.28 incelendiğinde beyaz soğan kabuğu ekstraktı ile enzim kullanılarak yapılan boyamaların yıkama ve sürtme haslıklarının, kumaşın rengi daha koyu olmasına rağmen enzim kullanılmadan yapılan boyamadan daha iyi çıktığı, ancak ışık haslıklarının ise yarım puan daha düşük olduğu görülmektedir.





4.6 Enzimatik Boyamaların Teknik, Ekonomik ve Ekolojik Açılardan Reaktif Boyama ile Karşılaştırılması

Çalışmanın bu aşamasında, en iyi sonuçları veren başlatıcılar kullanılarak enzimatik renklendirme ile elde edilen sarı, kırmızı ve lila renkleri laboratuvar koşullarında reaktif boyalarla (soğuk grup) tutturulmuş ve enzimatik renklendirme ile reaktif boyama teknik, ekonomik ve ekolojik açılardan karşılaştırılmıştır.



4.6.1 Teknik karşılaştırma

Tekstil boyamacılığı açısından kritik olan bir konu renklerin tekrarlanabilirliğidir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda enzimatik renklendirmede tekrarlanabilirlik konusu hiç irdelenmemiş olup bu tez kapsamında renk ve haslık açısından en iyi sonucu veren 3 renk (sarı, kırmızı ve lila) için oluşturulan reçeteler farklı zamanlarda 5'er kez tekrar edilerek kumaşlarda elde edilen renk verimi (K/S) ve CIEL*a*b* değerleri arasındaki varyasyon katsayısı (%CV) hesaplanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.29'da verilmektedir.

Çizelge 4.29. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyamaların 5 kez tekrarlanan renk ölçüm sonuçlarına ilişkin standart sapma ve varyasyon katsayısı değerleri

Numune	Fotoğraf	Değer	L*	a*	b*	C	h°	R	K/S
Enzimatik Sarı		\bar{X}	82,45	-1,28	52,78	52,73	91,29	15,86	2,24
		S	0,67	0,14	1,35	1,3	0,46	0,27	0,05
		%CV	0,45	0,02	1,83	1,69	0,21	0,07	0,002
Reaktif Sarı		\bar{X}	83,93	0,78	51,36	51,36	89,12	17,01	2,02
		S	0,13	0,12	0,29	0,28	0,14	0,24	0,04
		%CV	0,01	0,01	0,08	0,08	0,02	0,06	0,001
Enzimatik Kırmızı		\bar{X}	56,53	25,28	-8,46	26,69	341,45	18,47	1,80
		S	1,19	0,4	0,6	0,37	1,34	0,17	0,02
		%CV	1,43	0,16	0,36	0,14	1,81	0,02	0,00065
Reaktif Kırmızı		\bar{X}	57,32	23,85	-8,45	25,31	340,50	17,98	1,87
		S	0,44	0,28	0,13	0,31	0,13	0,42	0,06
		%CV	0,19	0,08	0,01	0,09	0,01	0,17	0,003

Çizelge 4.29. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyamaların 5 kez tekrarlanan renk ölçüm sonuçlarına ilişkin standart sapma ve varyasyon katsayısı değerleri (Devam Ediyor)

Numune	Fotoğraf	Değer	L*	a*	b*	C	h°	R	K/S
Enzimatik Lila		\bar{X}	71,30	8,01	-8,15	11,37	314,27	38,58	0,49
		S	0,31	0,24	0,30	0,30	0,67	0,48	0,01
		%CV	0,09	0,05	0,09	0,09	0,45	0,23	0,00012
Reaktif Lila		\bar{X}	71,96	7,14	-6,22	9,47	318,92	39,35	0,47
		S	0,16	0,09	0,17	0,18	0,45	0,14	0,004
		%CV	0,02	0,008	0,03	0,03	0,2	0,02	0

Çizelge 4.29’da verilen fotoğraflar incelendiğinde sarı, kırmızı ve lila renkler için enzimatik boyalı ve reaktif boyalı kumaşların renklerinin birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. Elde edilen renk ölçüm sonuçları da bu bulguları doğrulamaktadır. Her ne kadar elde edilen renklerin nüanslarında bir miktar farklılık olsa da burada amaç benzer bir rengin reaktif boya ile veya enzimatik renklendirme yoluyla elde edilmesi durumunda tekrarlanabilirliğin ve haslıkların nasıl değişeceğini ortaya koymaktır. Tüm renklerde hem enzimatik renklendirme hem reaktif boyama için yapılan tekrarlı boyamalarda elde edilen renk ölçüm değerlerinin standart sapması ve varyasyonu oldukça düşük çıkmıştır. Enzimatik renklendirmede standart sapma ve varyasyon değerleri reaktif boyamaya göre çok az daha büyük olsa da, değerler çok düşük olduğu için hem enzimatik renklendirme hem reaktif boyamanın tekrarlanabilirliğinin çok iyi olduğunu söylemek mümkündür. Çizelge 4.30’da enzimatik renklendirme ve reaktif boyama ile elde edilmiş benzer renklerin yıkama, sürtünme ve ışık haslığı değerleri, Çizelge 4.31’de ise ter haslığı değerleri verilmektedir.

Çizelge 4.30. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyama ile elde edilmiş benzer renklerin yıkama, sürtünme ve ışık haslığı değerleri

Renk	Boyama	Fiksator	Yıkama Haslığı						Sürtünme Haslığı		Işık Haslığı
			WO	PAC	PES	PA	CO	CA	Kuru	Yaş	
Sarı	Enzimatik	-	1	4	2-3	1	3-4	1	2	1	1
		+	1/2	4	2-3	1	4	1-2	2-3	2	1
	Reaktif	-	5	5	5	4-5	5	4	5	4	4-5
		+	5	5	5	4-5	5	4	5	4	4

Çizelge 4.30. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyama ile elde edilmiş benzer renklerin yıkama, sürtünme ve ışık haslığı değerleri (Devam Ediyor)

Renk	Boyama	Fiksator	Yıkama Haslığı						Sürtünme		Işık Haslığı
									Haslığı		
			WO	PAC	PES	PA	CO	CA	Kuru	Yaş	
Kırmızı	Enzimatik	-	1-2	4-5	3	1	1-2	1	3-4	1-2	1-2
		+	2	4-5	3-4	1	2	1-2	4	3	1-2
	Reaktif	-	5	4-5	4	4	4-5	4-5	4-5	4	3-4
		+	5	4-5	4	4	4-5	4-5	4-5	4	3
Lila	Enzimatik	-	5	5	5	3	4-5	3	2	1-2	1
		+	5	5	5	3	4-5	3	4	3	1
	Reaktif	-	5	5	4	3-4	4-5	4	4-5	4	3-4
		+	5	5	4	3-4	4-5	4	4-5	4	3

Çizelge 4.31. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyama ile elde edilmiş benzer renklerin ter haslığı değerleri

Renk	Boyama	Fiksator	Asidik Ter Haslığı						Alkali Ter Haslığı					
			WO	PAC	PES	PA	CO	CA	WO	PAC	PES	PA	CO	CA
Sarı	Enzimatik	-	1	3-4	3	1	2	1-2	1	3-4	3	1	2	1-2
		+	1	4	3	1	2	1-2	1	4	3	1	2-3	1-2
	Reaktif	-	5	5	5	5	5	4-5	5	5	5	5	5	4-5
		+	5	5	5	5	5	4-5	5	5	5	5	5	4-5
Kırmızı	Enzimatik	-	1	3-4	2	1	1	1	1	3-4	2	1	1	1
		+	2	4	2-3	2	1-2	2	2	4	2-3	2-3	1-2	2
	Reaktif	-	5	5	5	5	5	4-5	5	5	5	5	5	4-5
		+	5	5	5	5	5	4-5	5	5	5	5	5	4-5
Lila	Enzimatik	-	5	5	5	4	5	4-5	5	5	4-5	4	4-5	4-5
		+	5	5	5	4	5	4-5	5	5	5	4	4-5	4-5
	Reaktif	-	5	5	5	5	5	4-5	5	5	5	5	5	4-5
		+	5	5	5	5	5	4-5	5	5	5	5	5	4-5

Çizelge 4.30 incelendiğinde öncelikle reaktif boyamada elde edilen yıkama ve sürtünme haslıklarının tüm renklerde çok iyi, ışık haslıklarının ise orta ila iyi seviyelerde olduğu söylenebilir. Bunun ötesinde fiksatorle yapılan ard işlem ışık haslıklarında 1/2 puanlık düşüşe yol açmıştır. Enzimatik renklendirmede elde edilen haslık değerlerine bakıldığında ise sarı ile kırmızı renklerde yıkama ve sürtünme haslıklarının oldukça düşük olduğu; lila renkte ise orta

seviyelerde olduğu görülmektedir. Fiksatorle ard işlem yapılması durumunda ise tüm renklerde yıkama haslıklarında önemli bir iyileşme sağlanamazken, özellikle yaş sürtme haslıklarında ciddi iyileşmeler sağlanmıştır. Işık haslıkları ise genel olarak tüm renklerde çok düşüktür ve fiksatorle ard işlemin bir etkisi bulunmamaktadır.

Çizelge 4.31 incelendiğinde öncelikle reaktif boyamada elde edilen asidik ve alkali ter haslıklarının tüm renklerde çok iyi seviyelerde olduğu söylenebilir. Bunun ötesinde fiksatorle yapılan ard işlem yer yer 1/2 puanlık artışa yol açmış olsa da, zaten haslık seviyeleri pek çok numunede 5 olduğu için önemli bir değişim görülmemiştir. Enzimatik renklendirmede elde edilen haslık değerlerine bakıldığında ise sarı ile kırmızı renklerde ter haslıklarının oldukça düşük olduğu; lila renkte ise oldukça iyi seviyede olduğu görülmektedir. Fiksatorle ard işlem yapılması durumunda ise başta kırmızı olmak üzere tüm renklerde ciddi iyileşmeler sağlanmıştır.

Bu sonuçlar bir başlangıç maddesi ile başarılı bir şekilde renk elde edilebiliyor olsa bile, haslık açısından her başlangıç maddesinin işe yaramayacağını göstermektedir. Önceki bölümlerde elde edilen sonuçlara bakıldığında özellikle fenolik başlangıç maddeleri veya çeşitli bitkilerden ekstrakte edilen başlangıç maddeleri kullanılarak elde edilen toprak tonlarında çok iyi haslık seviyelerinin elde edilebildiği görülmektedir. Dolayısı ile haslık performansı bakımından her rengin reaktif boyama ile rekabet edebilir seviyede olmadığı söylenebilir.

Enzimatik renklendirme ve reaktif boyamanın renk ve haslık özellikleri karşılaştırıldıktan sonra, boyalı kumaşların UV koruma özelliklerini karşılaştırmak için UV dayanımı testleri yapılmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.32’de verilmektedir.

Çizelge 4.32. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyamaya tabi tutulmuş numunelerin UV koruma özellikleri

Renk	Boyama	T(UVA) (%) (315-400 nm)	T(UVB) (%) (290-315 nm)	UV Koruma Faktörü (290-400 nm) (UPF)	UV koruma Sınıfı
Sarı	Enzimatik	3,50	1,96	45,58	İyi
	Reaktif	3,12	1,09	67,00	Mükemmel
Kırmızı	Enzimatik	4,88	1,10	68,30	Mükemmel
	Reaktif	2,07	0,82	121,10	Mükemmel
Lila	Enzimatik	6,33	2,46	34,48	İyi
	Reaktif	3,75	2,39	42,78	İyi

Çizelge 4.32 incelendiğinde reaktif boyarmadde ile boyanmış kumaşların enzimatik renklendirilmişlere göre UPF değerlerinin her zaman daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Boyalı materyalin UV koruma özelliğini etkileyen lif, iplik, kumaş özellikleri ile renk ve boyama koyuluğu aynı olsa bile, enzimatik renklendirmede oluşan boya ile reaktif boyaların kimyasal yapılarının farklı olması aradaki farkın nedenini açıklamaktadır. Öte yandan, UV koruma sınıfı olarak bakıldığında aslında aralarında kritik bir farklılık olmadığı, yani gerek enzimatik renklendirme gerekse reaktif boyama işlemi görmüş numunelerin hepsinin UV koruma özelliklerinin iyi ila mükemmel arasında değiştiği söylenebilir.

4.6.2 Ekonomik karşılaştırma

1 kg pamuklu örme kumaşı jet boyama makinesinde aynı renge (sarı, kırmızı veya lila) enzimatik yöntemle ve reaktif boyalarla boyamak için gerekli maliyetin karşılaştırılması için su, boyarmadde (reaktif boya veya başlangıç maddesi), kimyasal, elektrik, doğal gaz ve işçilik maliyetleri ayrı ayrı hesaplanmıştır. Bu hesaplamalarda kullanılan birim fiyat değerleri Çizelge 4.33'te verilmektedir.

Çizelge 4.33. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyamalarda kullanılan sarf kalemleri ve birim fiyatları

Sarf Kalemi	Fiyat
Lakkaz (TL/kg)	150
Asetik Asit (TL/kg)	5
Sodyum Asetat (TL/kg)	5,5
NaCl (TL/kg)	0,65
Soda (TL/kg)	3,5
Setawash STP (TL/kg)	15
Setelan LDR (TL/kg)	10
Setazol Yellow SX (TL/kg)	26
Setazol Yellow 4GL (TL/kg)	44,5
Setazol Blue BREFX (TL/kg)	103
Setazol Red SX (TL/kg)	26
4-Nitro-1-naftilamin (A1) (TL/kg)	217.000
3-Metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorür monohidrat (TL/kg)	60.500
4-Metoksifenol(TL/kg)	1.600
2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (A2) (TL/kg)	325.000
Su (Organize Sanayi Bölgesi Aboneleri) (TL/L)	0,01937
Elektrik (Sanayi tek terimli tek zamanlı) (TL/kWh)	0,591
Doğalgaz (TL/m ³)	1,9
İşçilik (TL/sa.) (Asgari ücret 3458,03 TL olarak alınmıştır.)	17,64

1 \$ = 6,81 TL/ 1 €= 7,43 TL (23.05.2020 Tarihli kur dikkate alınmıştır)

Elektrik maliyeti hesaplanırken sanayi tek terimli tek zamanlı fiyat 0,591 TL/kWh, kayıp faktörü ise 2,5 olarak alınmıştır. Jet boyama makinesi için güç 2,9 kW alınırsa elektrik maliyeti (TL) = 2,9 kW X boyama süresi (sa.) X 0,591 TL/kWh şeklinde hesaplanır.

Doğal gaz maliyeti ise şu şekilde hesaplanmıştır;

1 kg kumaş için 1:10 flotte oranında çalışırken 10 L su ile işlem yapılacaktır. 10 L suyun sıcaklığının T_1 °C'dan T_2 °C'a çıkarılması için gereken ısı $Q = m$ (g) X c (Cal/g °C) X ΔT formülünden yararlanılarak ve suyun yoğunluğunun 1 olduğu dikkate alınarak (yani hacmi ile kütlesi aynı) $Q = 10.000$ g X 1 cal/g °C x ΔT °C = 10.000 X ΔT cal = 10 X ΔT kcal olarak hesaplanır. Makinede yapılacak işlem sırasında meydana gelecek ısı kayıp faktörü 1,5 kabul edilecek olursa, ihtiyaç duyulan gerçek toplam enerji 10 X ΔT kcal x $1,5$ = 15 X ΔT kcal olacaktır. 1 kg buhar 540 kcal enerji verdiği göre 15 X ΔT / 540 = $0,028$ X ΔT kg buhara ihtiyaç vardır. 1 kg buhar üretmek için 1900 kcal enerji gerektiğine göre; $0,028$ X ΔT X 1900 = $53,2$ X ΔT kcal enerji gerekir. 1 m³ doğalgaz, 9155 kcal enerji verdiği göre; $53,2$ X ΔT / 9155 m³ = $0,0058$ X ΔT m³ doğalgaz gerekir. Doğalgaz 1,9 TL/m³ olarak alınırsa doğalgaz maliyeti $0,11$ X ΔT TL olarak bulunur.

1 kg pamuklu örme kumaşı renklendirmek için enzimatik renklendirme ve reaktif boyamalarda yıkama işlemleri de dâhil kullanılan su, başlangıç maddesi, kimyasal, elektrik, doğal gaz ve işçilik miktarları ile bunlara ilişkin maliyetler sırasıyla Çizelge 4.34 ve Çizelge 4.35'te verilmektedir.

Çizelge 4.34. Enzimatik renklendirmede kullanılan sarf kalemleri ve 1 kg kumaş boyama için maliyetleri

ADIM	Sarf	Enzim Sarı		Enzim Kırmızı		Enzim Lila		
		Miktar	Tutar (TL)	Miktar	Tutar (TL)	Miktar	Tutar (TL)	
BOYAMA	4-Nitro-1-naftilamin (A1)	15 g	3255	x	x	x	x	
	3-Metil-2-benzotiazolinon hidrazon hidroklorür monohidrat	x	x	4,67 g	282,54	x	x	
	4-Metoksifenol	x	x	2,48 g	3,97	x	x	
	2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (A2)	x	x	x	x	43,9 g	14267,5	
	Lakkaz	10 g	1,5	10 g	1,5	10 g	0,15	
	Asetik Asit	60 g	0,30	60 g	0,30	60 g	0,30	
	Sodyum Asetat	147,6 g	0,81	147,6 g	0,81	147,6 g	0,81	
	Su	10 L	0,19	10 L	0,19	10 L	0,19	
	Elektirik	29 kW	17,14	7,25 kW	4,28	7,25 kW	4,28	
	Doğalgaz	0,345 m ³	0,66	x	x	0,23 m ³	0,44	
	İşçilik	4 sa.	70,56	1 sa.	17,64	1 sa.	17,64	
	Soğuk Durulama							
YIKAMA	Su	10 L	0,19	10 L	0,19	10 L	0,19	
	Elektirik	1,21 kW	0,71	1,21 kW	0,71	1,21 kW	0,71	
	Doğalgaz	x	x	x	x	x	x	
	İşçilik	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	
	Sıcak Durulama							
	Su	10 L	0,19	10 L	0,19	10 L	0,19	
	Elektirik	1,21 kW	0,71	1,21 kW	0,71	1,21 kW	0,71	
	Doğalgaz	0,23 m ³	0,44	0,23 m ³	0,44	0,23 m ³	0,44	
	İşçilik	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	
	Soğuk Durulama							
	Su	10 L	0,19	10 L	0,19	10 L	0,19	
	Elektirik	1,21 kW	0,71	1,21 kW	0,71	1,21 kW	0,71	
Doğalgaz	x	x	x	x	x	x		
İşçilik	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94		

Çizelge 4.35. Reaktif boyamada kullanılan sarf kalemleri ve 1 kg kumaş boyama için maliyetleri

ADIM	Sarf	Reaktif Sarı		Reaktif Kırmızı		Reaktif Lila	
		Miktar	Tutar (TL)	Miktar	Tutar (TL)	Miktar	Tutar (TL)
BOYAMA	Setazol Yellow SX	1,1 g	0,03	0,52 g	0,01	0,16 g	0,004
	Setazol Yellow 4GL	1,6 g	0,07	x	x	x	x
	Setazol Blue BRFX	0,035 g	0,004	0,7 g	0,07	0,4 g	0,04
	Setazol Red SX	x	x	2,7 g	0,07	0,41 g	0,01
	Setalan LDR	10 g	0,10	10 g	0,10	10 g	0,10
	NaCl	300 g	0,20	300 g	0,20	100 g	0,07
	Na ₂ CO ₃	125 g	0,44	125 g	0,44	100 g	0,35
	Su	10 L	0,19	10 L	0,19	10 L	0,19
	Elektrik	21,75 kW	12,85	21,75 kW	12,85	21,75 kW	12,85
	Doğalgaz	0,23 m ³	0,44	0,23 m ³	0,44	0,23 m ³	0,44
	İşçilik	3 sa.	52,92	3 sa.	52,92	3 sa.	52,92
	Soğuk Durulama						
Su	10 L	0,19	10 L	0,19	10 L	0,19	
Elektrik	1,2 kW	0,71	1,2 kW	0,71	1,2 kW	0,71	
Doğalgaz	x	x	x	x	x	x	
İşçilik	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	
Nötralizasyon							
Asetik Asit	10 g	0,05	10 g	0,05	10 g	0,05	
Su	10 L	0,19	10 L	0,19	10 L	0,19	
Elektrik	1,2 kW	0,71	1,2 kW	0,71	1,2 kW	0,71	
Doğalgaz	0,172 m ³	0,33	0,172 m ³	0,33	0,172 m ³	0,33	
İşçilik	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	
Sıcak Sabunlama							
Setawash STP	5 g	0,08	5 g	0,08	5 g	0,08	
Su	10 L	0,19	10 L	0,19	10 L	0,19	
Elektrik	1,2 kW	0,71	1,2 kW	0,71	1,2 kW	0,71	
Doğalgaz	0,432 m ³	0,82	0,432 m ³	0,82	0,432 m ³	0,82	
İşçilik	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	
Soğuk Durulama							
Su	10 L	0,19	10 L	0,19	10 L	0,19	
Elektrik	1,2 kW	0,71	1,2 kW	0,71	1,2 kW	0,71	
Doğalgaz	x	x	x	x	x	x	
İşçilik	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	10 dk.	2,94	

Çizelge 4.34 ve 4.35'te ayrıntılı hesaplarla sunulan verilerin her bir renk için enzimatik renklendirme ve reaktif boyamayı karşılaştırmaya imkân verecek şekilde özetlenmiş hali Çizelge 4.36'da verilmektedir.

Çizelge 4.36. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyamada maliyet kalemleri ve tutarları

Maliyet Kalemi	Sarı		Kırmızı		Lila	
	Enzim	Reaktif	Enzim	Reaktif	Enzim	Reaktif
Boya / Başlangıç Maddesi (TL)	3255	0,10	286,50	0,16	14267,5	0,06
Yardımcı madde (TL)	2,61	0,86	2,61	0,86	1,26	0,64
Su (TL)	0,77	0,97	0,77	0,97	0,77	0,97
Elektrik (TL)	19,28	15,70	6,43	15,70	6,43	15,70
Doğalgaz (TL)	1,09	1,58	0,44	1,58	0,87	1,58
İşçilik (TL)	79,38	64,68	26,46	64,68	26,46	64,68
Toplam Maliyet (TL)	3358,14	83,89	323,21	83,94	14303,30	83,63
Boya Hariç Maliyet (TL)	103,14	83,79	36,71	38,78	35,8	83,57

Enzimatik ve reaktif boyamalara ilişkin maliyet kalemleri incelendiğinde enzimatik boyamalarda ekstra enzim kullanılması gerektiği için yardımcı madde maliyeti reaktif boyamaya göre %50-70 daha yüksek çıkmaktadır. Buna karşın, enzimatik boyamalarda boyama sonrası 3 durulama adımı yeterliyken reaktif boyamalarda en az 4 durulama adımı gerekmektedir. Bu nedenle, **enzimatik boyamalarda su tüketimi ve buna bağlı maliyet %20 daha düşük** olmaktadır. Enzimatik renklendirmede toplam süre sarı renk dışında reaktif boyamaya göre belirgin ölçüde daha düşüktür. Bu durum hem birim makineden faydalanma veriminin daha yüksek olmasına yol açacak hem de enerji maliyetinin %30-75 ve işçilik maliyetinin %35 daha düşük çıkmasını sağlayacaktır. Nitekim enzimatik renklendirmede genelde elektrik ve doğalgaz maliyeti özellikle boyamanın oda sıcaklığında yapıldığı kırmızı renkte reaktif boyamaya göre enerji maliyeti %75 ve elektrik maliyeti %60 daha düşüktür. Boyamaların toplam maliyetleri karşılaştırıldığında enzimatik renklendirmenin maliyeti %98 gibi daha yüksek çıkmaktadır. Oysa bu durumun nedeni reaktif boya fiyatlarına göre enzimatik renklendirmede kullanılan başlangıç maddelerinin fiyatlarının %99 daha yüksek olmasıdır. Çünkü enzimatik renklendirme çalışmaları halen laboratuvar ölçekli çalışmalar olduğu için analitik saflıkta kimyasallar kullanılmaktadır. Ancak ileride enzimatik renklendirmede kullanılmak üzere başlangıç maddelerinin tekstil alanında kullanım için uygun fiyatlı olanları da piyasada mevcut olduğunda bu dezavantaj ortadan kalkabilecektir. Bu nedenle, bu koşullarda boya hariç maliyetleri karşılaştırmak daha sağlıklı olacaktır. Boya hariç toplam maliyetlere bakıldığında, sarı renkte reaktif boyama ile yakın, kırmızı ve lila renklerde ise reaktif boyamaya göre %55 daha düşük boyama maliyetleri dikkati çekmektedir. Tüm bu değerlendirmeler

enzimatik renklendirmenin daha az su ve daha az enerji tüketerek daha kısa sürede daha düşük maliyetli boyamaya imkân veren çevre dostu bir proses olduğunu ortaya koymaktadır.

4.6.3 Ekolojik karşılaştırma

Aynı rengin enzimatik renklendirme veya reaktif boyama ile elde edilmesi durumunda boya banyosu atık sularının yol açtığı çevre yüklerin karşılaştırılması için sarı, kırmızı ve lila renklerde yapılmış boyamalara ait atık flotellere kimyasal oksijen ihtiyacı, biyolojik oksijen ihtiyacı, toplam çözülmüş katı madde, amonyak azotu, klorür analizi yapılmış olup, sonuçlar Çizelge 4.37’de sunulmaktadır.

Çizelge 4.37. Enzimatik renklendirme ve reaktif boyama ile yapılmış boyamalara ait atıksuların analiz sonuçları

Renk	Boyama	KOI (mg O ₂ /L)	BOİ (mg/L)	KOI:BOİ	Klorür (mg/L)	Toplam Çözülmüş Katı Madde (mg/L)	Toplam Kjeldahi Azotu (TKN) (mg/L)	Alkalinite (pH)
Sarı	Enzimatik	6358	2601	2,44	11,5	4627	15,41	5-5,5
	Reaktif	242	50	4,84	6385,5	11543	2,2	10,5-11
Kırmızı	Enzimatik	6745	3051	2,21	139	4276	26,01	5-5,5
	Reaktif	113	27	4,19	4836	10437	1,49	10,5-11
Lila	Enzimatik	7197	3236	2,22	135	5060	110,68	5-5,5
	Reaktif	145	36	4,02	3211,5	5980	2,15	10,5-11

Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) sudaki yükseltgenbilir maddelerin kimyasal yolla oksitlenmeleri için gerekli oksijen miktarıdır. Evsel ve özellikle de endüstriyel atıksuların kirlilik derecesini belirlemede kullanılan en önemli parametrelerden biri kimyasal oksijen ihtiyacıdır. BOİ’ den farklı olarak organik maddenin biyokimyasal reaksiyonlarla değil redoks reaksiyonlarıyla oksitlenmesi esasına dayanır. Oksidasyon ortamında karbonlu organik maddeler karbondioksit ve su; azotlu organik maddeler ise amonyak haline dönüşür. Elektron transferinin olmadığı reaksiyonlara giren maddelerin KOİ’ sinden söz edilemez (Çevre Kimyası Laboratuvarı Ders Notu, 2012). BOİ ise belirli bir sürede (5 gün) ve belirli bir sıcaklıkta (20 °C) aerobik bakteriler tarafından parçalanabilen organik maddeler için tüketilen oksijen miktarıdır (Çevre Kimyası Laboratuvarı Dersi Notu, 2014). KOİ, BOİ’den farklı olarak biyolojik yollarla ayrışmayan bazı maddeleri de içerdiğinden (Çevre Kimyası Laboratuvarı Ders Notu, 2012), endüstriyel veya evsel atıksularda her zaman KOİ değeri BOİ değerinden

büyüktür. Bu nedenle, KOİ:BOİ oranı da 1'den büyüktür. KOİ:BOİ oranı atıksuyun biyolojik olarak arıtılıp arıtılamayacağını göstermektedir (Xzenon34FilesWordpress, 2012).

Bu bilgilerin ışığı altında Çizelge 4.37'de verilen değerler incelendiğinde enzimatik renklendirmede atıksuların içerdiği organik madde miktarının reaktif boyama prosesine göre çok daha yüksek olduğu söylenebilir. Aslında boyama işlemlerinde kullanılan organik kirleticilerin miktarları hesaplandığında bu durum daha net bir şekilde anlaşılabilir. Örneğin sarı renk eldesi için enzimatik renklendirme yapıldığında 1 g/L lakkaz enzimi ve başlangıç maddesi olarak Şekil 4.3'te kimyasal yapısı verilen 1,505 g/L ($188,18 \text{ g/mol} \times 8.10^{-3} \text{ mol/L} = 1,505 \text{ g/L}$) 4-nitro-1-naftilamin (A1) kullanılmaktadır. Diğer taraftan, aynı renk için reaktif boyama yapıldığında 0,11 g/L (%0,11 demek 5 gram kumaş için 0,0055 gram boya demektir. 5 gram kumaş 1:10 flote oranında boyanırken flote hacmi 50 mL olduğundan 0,0055 gram boya 50 mL'ye koyulmuş olur. Bu da 0,11 g/L'ye eşittir.) Setazol Yellow SX, 0,16 g/L Setazol Yellow 4GL, 0,0035 g/L Setazol Blue BRFX kullanılmaktadır. Yani toplam kullanılan organik bileşik konsantrasyonu enzimatik renklendirmede 2,505 g/L iken, reaktif boyamada 0,2735 g/L'dir. Dolayısı ile KOİ ve BOİ değerlerinin enzimatik renklendirmede daha yüksek çıkması normaldir. Ancak atıksuyun arıtılabilirliği noktasında KOİ:BOİ oranına bakılması önem taşımaktadır. Atıkların toksik madde içermemesi ve sadece kolaylıkla ayrışabilecek organik maddeleri içermesi halinde bulunan KOİ değeri, yaklaşık olarak nihai BOİ (karbonlu) değerine eşit çıkar (Çevre Kimyası Laboratuvarı Ders Notu, 2012). KOİ:BOİ < 3 ise bu atıksu biyolojik olarak arıtılabilir anlamına gelmektedir (Xzenon34FilesWordpress, 2012). Bu açıdan değerlendirildiğinde reaktif boyama sonrası elde edilen KOİ:BOİ oranları 4-4,5 arasında iken, enzimatik renklendirme için bu oran 2-2,5 arasındadır. Dolayısı ile enzimatik renklendirmeye ait atıksuların sadece biyolojik olarak arıtılabilir olmasına karşın, reaktif boyama atıksularında mutlaka kimyasal arıtmaya da ihtiyaç duyulacaktır. Bu husus ekolojik açıdan önem taşımaktadır.

Tekstil atıksularında bir diğer önemli parametre klorür içeriği, başka deyişle tuzluluktur. Bu açıdan bakıldığında açık renklerde bile 30 g/L seviyelerinde sodyumklorür tuzu kullanılan reaktif boyama proseslerinin atıksularının klorür içeriğinin yüksek çıkması doğaldır. Enzimatik renklendirmede ise tuz kullanılmasına gerek olmaması, özellikle atıksuların arıtılıp yeniden kullanılması söz konusu olduğunda önemli bir avantaj haline gelecektir.

Toplam Çözünmüş Katı Madde (Total Dissolved Solids), su içinde çözünmüş halde bulunan ve kum filtresi gibi basit filtrasyon yöntemleri ile tutulamayan mineralleri, katyonları,

anyonları, ağır metal iyonlarını ve az miktarda organik maddeleri içermektedir. Su içerisinde TDS ne kadar yüksek ise o kadar çok yabancı madde var demektir. Bu açıdan değerlendirildiğinde yine enzimatik renklendirme atıksularının reaktif boyama atıksularına göre önemli avantaj arz ettiği söylenebilir.

Toplam Kjeldahi Azotu değerlerine bakıldığında ise enzimatik renklendirmede reaktif boyamaya göre çok daha yüksek çıktığı görülmektedir. N kaynağına bakıldığında boyarmaddenin molekül yapısındaki azotun yanı sıra aminoasitlerden oluşan enzimlerin yapısında da N bulunduğu dikkate alınmalıdır. Bu noktada enzimatik boyamalarda gerek çok daha yüksek konsantrasyonda boya kullanılıyor olması, gerekse de reaktif boyamadan farklı olarak proste lakkaz enzimi kullanılıyor olması, atıksuyun N içeriğinin yüksek olmasını açıklamaktadır. 3 enzimatik boyama kendi arasında karşılaştırıldığında ise en yüksek değer lila renkte elde edilmiştir. Sarı, kırmızı ve lila boyaların önceki bölümlerde verilen kimyasal yapıları incelendiğinde boya kromoforunda en yüksek N içeriğinin 2-2-azino-bis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) başlangıç maddesinden elde edilen lila renkli boyada olduğu anlaşılmaktadır.

Bunlara ek olarak, enzimatik renklendirmelerde atıksuların pH değerleri 5-5,5 arasında çıkarken, reaktif boyama atıksularının pH değerleri 10,5-11 aralığında çıkmıştır. Bu durum reaktif boyama atıksularının yüksek alkalinitesinin enzimatik boyama durumunda ortadan kalktığını göstermektedir. Bilindiği gibi çok yüksek (9,5'ten büyük) veya çok düşük (4,5'ten az) pH değerleri sularda yaşayan çoğu canlı için uygun değildir. Dolayısıyla, atık suyun pH değeri çok asidik veya çok alkaliyse, alıcı sulara deşarj edilmeden önce veya biyolojik arıtmadan önce mutlaka pH dengelemesi yapılmalıdır (Güneş ve Atav, 2015). Bu açıdan bakıldığında enzimatik renklendirme atıksularının avantajlı olacağı söylenebilir.

4.7 Optimum Reçetelerin Endüstriyel Ölçekli Üretim Koşullarında Denenmesine İlişkin Sonuçlar

Tüm çalışmalar tamamlandıktan sonra yeni geliştirilen enzimatik boyama prosesi sarı, kırmızı ve lila renkler için Setaş Kimya A.Ş.'de bulunan parça boyama makinesinde endüstriyel ölçekli üretim koşullarında denenmiştir. Kumaş numunelerinin renk verimi (K/S) ve CIEL*a*b* değerleri Çizelge 4.38'de, fotoğrafları ise Şekil 4.20'de verilmektedir.

Çizelge 4.38. Endüstriyel ölçekli üretim koşullarında enzimatik olarak renklendirilmiş kumaş numunelerinin renk verimi (K/S) ve CIEL*a*b* değerleri

Renk	L*	a*	b*	nm	K/S
Sarı	84,15	-3,46	55,94	440	2,29
Kırmızı	65,23	22,27	-5,88	540	1,01
Lila	69,03	2,77	1,28	550	0,56



Şekil 4.20. Endüstriyel ölçekli üretim koşullarında enzimatik olarak renklendirilmiş kumaş numunelerinin fotoğrafları

Şekil 4.22 incelendiğinde laboratuvar ölçeğinde elde edilen başarılı sonuçların işletme ölçeğinde de elde edilebildiği görülmektedir. Gözle yapılan görsel değerlendirmelerde kumaş numunelerinin boyama düzgünlüğünün de oldukça iyi olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen renk ölçüm sonuçlarına bakıldığında renk verimi olarak sarı ve lila renklerde laboratuvarda elde edilen ile benzer sonuçlar elde edilmişken kırmızı renkte laboratuvara göre bir miktar daha yüksek verim elde edilmiş olduğu görülmektedir.

Endüstriyel ölçekli üretim koşullarında enzimatik olarak renklendirilmiş kumaş numunelerinin yıkama, sürtünme ve ışık haslığı değerleri Çizelge 4.39’da, asidik ve alkali ter haslığı değerleri ise Çizelge 4.40’ta verilmektedir.

Çizelge 4.39. Endüstriyel ölçekli üretim koşullarında enzimatik olarak renklendirilmiş kumaş numunelerinin yıkama, sürtünme ve ışık haslığı değerleri

Renk	Yıkama Haslığı					Sürtünme Haslığı		Işık Haslığı	
	WO	PAC	PES	PA	CO	CA	Kuru		Yaş
Sarı	1	4	3-4	1	4	1	3	2-3	1
Kırmızı	1-2	4-5	3-4	1	2	1-2	4-5	3-4	1-2
Lila	4	4-5	4-5	2-3	4-5	2-3	4-5	4	1

Çizelge 4.40. Endüstriyel ölçekli üretim koşullarında enzimatik olarak renklendirilmiş kumaş numunelerinin asidik ve alkali ter haslığı değerleri

Renk	Asidik Ter Haslığı						Alkali Ter Haslığı					
	WO	PAC	PES	PA	CO	CA	WO	PAC	PES	PA	CO	CA
Sarı	1	3-4	3	1	2	1-2	1	3-4	3	1	2	1-2
Kırmızı	1	4	3	1	1	1	1	4	3	1	1	1
Lila	3	4-5	4	2-3	4	3	3	4-5	4	2-3	4	3

Çizelge 4.39 ve 4.40 incelendiğinde yıkama ve ter haslıklarının sarı ve kırmızı renklerde laboratuvar ölçekli boyamalara benzer şekilde oldukça düşük, lila renkte ise orta seviyelerde çıktığı görülmektedir. Işık haslıkları da yine tüm renklerde çok düşük çıkmıştır. Ancak işletme koşullarında yapılan boyama sonrası yıkama işlemlerinin laboratuvarda tüpte yapılan boyamalara kıyasla daha etkili olması nedeniyle kuru ve yağ sürtme haslıkları başta olmak üzere haslık değerleri laboratuvar boyamalarından bir miktar daha yüksek çıkmıştır.

5. GENEL SONUÇLAR

Bu tez çalışması kapsamında elde edilen genel sonuçlar şu şekilde sıralanabilir;

- ✓ Boyaların Fourier Dönüşümlü Kıızıl Ötesi Spektroskopisi (FTIR) ve Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR) ile yapısal analizleri gerçekleştirilmiş ve enzimatik reaksiyon mekanizmaları açıklanmıştır. Tek başına fenolik bileşik kullanılarak yapılan boyamalarda fenolik bileşiklerin kinonlara yükseltgendiği ama aynı zamanda oluşan radikallerin birbirine kenetlenmesiyle polifenolik bileşikler oluşturduğu görülmüştür. Aromatik aminlerin ise lakkaz-mediyatör sistemiyle oksidasyonu sonucu C-N bağı oluşumu ile kenetlenme reaksiyonu verdikleri ve yeni renkli bileşikler oluşturdukları ortaya koyulmuştur. Fenol ve amin bileşiklerinin bir arada kullanılması durumunda ise önce fenolik bileşiğin enzimatik olarak fenoksi radikaline yükseltgendiği ve bunun daha sonra enzimatik olmayan 1,4-Michael katılmasıyla aromatik aminle kenetlenerek substratların karbon ve azot atomları (C-N) arasında yeni kimyasal bağlar oluştuğu görülmüştür. 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu (ABTS) kullanıldığında ise lakkazın etkisiyle renkli bir katyon radikali (ABTS⁺) ve dikatyon (ABTS⁺²) oluştuğu saptanmıştır.
- ✓ Ultrason varlığında yapılan boyamalarda genel olarak boyama veriminin önemli ölçüde arttığı, buna karşın yıkama haslıklarının daha düşük çıktığı saptanmıştır.
- ✓ Enzim orijininin etkisine bakıldığında fungal orijinli Prima Green Ecofade LT100 (Dupont) enzimine kıyasla *Trametes versicolor*'dan elde edilen lakkaz enzimi ile daha yüksek verim elde edilebildiği ancak yapılan boyamaların düzensizlik problemi olduğu saptanmıştır. Bitkisel (lale ağacı) orijinli *Rhus vernicifera* (Sigma-Aldrich) enzimi ise en düşük renk verimi sonuçlarını vermiştir. Yalnız *Trametes versicolor* ve *Rhus vernicifera*'dan elde edilen enzimlerden maliyet nedeniyle sınırlı miktarda temin edilmiş olduğundan küçük çaplı bir deneme gerçekleştirilebilmiştir. Bu nedenle, enzim orijininin etkisi hakkında daha kesin yargılara ulaşabilmek adına farklı orijinli enzimlerle daha kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiğinin altını çizmekte fayda vardır.
- ✓ Başlangıç maddesi kullanılmadan doğrudan pamuğun yapısındaki renk veren pigmentlerle renk eldesine ilişkin denemelerin sonucunda tek başına pamuğun yapısındaki pigmentlerle renk elde edilemeyeceği saptanmıştır. Ancak pamuğun yapısındaki renk veren doğal flavonoidlerin ağartılmadan sadece bazik işlem görmüş kumaşların enzimatik renklendirmesinde daha yüksek renk verimleri elde edilmiştir.
- ✓ Sarı kantaron ve beyaz soğan kabuğunun ekstraktlarına lakkaz enzimi eklenerek bitkilerin içerisindeki aktif maddelerin doğal kaynaklı başlangıç maddesi olarak kullanılması durumunda

tek başına bitki ekstraktı ile yapılan boyamalara kıyasla elde edilen renklerin koyulaştığı ve verimin arttığı ve enzim kullanılarak yapılan boyamaların yıkama ve sürtme haslıklarının, kumaşın renginin daha koyu olmasına rağmen, enzim kullanılmadan yapılan boyama ile aynı ve hatta daha yüksek çıktığı, ışık haslıklarının ise 1/2 puan daha yüksek olduğu saptanmıştır.

- ✓ Yapılan çalışmaların sonuçlarına göre tüm renklerde hem enzimatik renklendirme hem reaktif boyama için yapılan tekrarlı boyamalarda elde edilen renk ölçüm değerlerinin standart sapması ve varyasyonu oldukça düşük çıkmıştır. Bu nedenle, hem enzimatik renklendirme hem reaktif boyamanın tekrarlanabilirliğinin çok iyi olduğunu söylemek mümkündür.
- ✓ Reaktif boyamada elde edilen yıkama, sürtme ve ter haslıklarının tüm renklerde çok iyi, ışık haslıklarının ise orta ila iyi seviyelerde olduğu söylenebilir. Enzimatik renklendirmede elde edilen haslık değerlerine bakıldığında ise sarı ile kırmızı renklerde yıkama, sürtme ve ter haslıklarının oldukça düşük olduğu; lila renkte ise orta seviyelerde olduğu görülmüştür. Fiksatorle ard işlem yapılması durumunda ise tüm renklerde yıkama haslıklarında önemli bir iyileşme sağlanamazken, özellikle yaş sürtme haslıklarında ciddi iyileşmeler sağlanmıştır. Işık haslıkları ise genel olarak tüm renklerde çok düşüktür.
- ✓ Aynı rengin reaktif boyama ve enzimatik renklendirme ile eldesi durumu için elde edilen kumaş numunelerinin UV koruma özellikleri de incelenmiş ve UV koruma sınıfı olarak bakıldığında aslında aralarında kritik bir farklılık olmadığı, yani gerek enzimatik renklendirme gerekse reaktif boyama işlemi görmüş numunelerin hepsinin UV koruma özelliklerinin iyi ila mükemmel arasında değiştiği görülmüştür.
- ✓ 1 kg pamuklu örme kumaşı jet boyama makinesinde aynı renge (sarı, kırmızı veya lila) enzimatik yöntemle ve reaktif boyalarla boyamak için gerekli maliyetin karşılaştırılması için su, boyarmadde (reaktif boya veya başlangıç maddesi), kimyasal, elektrik, doğal gaz ve işçilik maliyetleri ayrı ayrı hesaplanmıştır. Boyarmadde dışındaki bütün maliyet kalemleri enzimatik renklendirmede daha düşük çıkmıştır. Ancak enzimatik renklendirme çalışmaları halen laboratuvar ölçekli çalışmalar olduğu için analitik saflıkta kimyasallar kullanıldığından reaktif boyaya göre maliyeti daha yüksek görünmektedir. Ancak ileride enzimatik renklendirmede kullanılmak üzere başlangıç maddelerinin tekstil alanında kullanım için uygun fiyatlı olanları da piyasada mevcut olduğunda bu dezavantaj ortadan kalkabilecektir.
- ✓ Bunun ötesinde enzimatik renklendirmeye ait atıksuların sadece biyolojik olarak arıtılabilir olmasına karşın, reaktif boyama atıksularında mutlaka kimyasal arıtmaya da ihtiyaç duyulacağı saptanmıştır. Bu nedenle, çevresel açıdan enzimatik boyamaların reaktif boyamaya göre daha avantajlı olduğu söylenebilir. Ayrıca enzimatik renklendirmede tuz kullanılmasına gerek

olmaması, özellikle atıksuların arıtılıp yeniden kullanılması söz konusu olduğunda önemli bir avantaj haline gelecektir.

- ✓ Çalışmanın son bölümünde gerçekleştirilen numune ölçekli üretim denemelerinde pamuklu kumaşların sarı, kırmızı ve lila renklere başarılı bir şekilde boyanabildiği ve boyamaların oldukça düzgün bir şekilde gerçekleştiği görülmüştür. Bu durum projede elde edilen bulguların laboratuvar ölçeği ile sınırlı olmadığını, istenildiğinde üretim ölçeğinde de başarılı sonuçlar elde edilebileceğini açık bir şekilde ortaya koymaktadır.

Bütün bu değerlendirmelerin ışığı altında pamuğun ve hatta boyanma özellikleri benzer olduğundan diğer doğal ve rejenere selülozik liflerin sarı, kırmızı, lila ve kahverengi tonlarında enzimatik olarak renklendirilebileceği söylenebilir. Yapılan çalışmalar enzimatik renklendirmenin daha az su ve daha az enerji tüketerek daha kısa sürede daha düşük maliyetli boyamaya imkân veren reaktif boyamaya alternatif çevre dostu bir proses olduğunu, ancak performans özellikleri açısından halen geliştirilmesi gereken yönlerinin de bulunduğunu ortaya koymuştur.

6. KAYNAKÇA

- Alcalde, M. (2007). Laccases: Biological functions, molecular structure and industrial applications. Julio Polaina ve Andrew P. MacCabe (ed.), *Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications* (böl. 26, s. 461-476). Dordrecht, Hollanda: Springer.
- Bai, R., Yu, Y., Wang, Q., Shen, J., Yuan, J., ve Fan, X. (2019). Chitosan-templated biocoloration of cotton fabrics via laccase-catalyzed polymerization of hydroquinone. *Engineering in Life Sciences*. doi:10.1002/elsc.201800132
- Bai, R., Yu, Y., Wang, Q., Yuan, J., Fan, X., ve Shen, J. (2015). Laccase-catalyzed in-situ dyeing of wool fabric. *The Journal of The Textile Institute*, 1–9. doi:10.1080/00405000.2015.1077039.
- Bai, R., Yu, Y., Wang, Q., Yuan, J., ve Fan, X. (2016). Effect of laccase on dyeing properties of polyphenol-based natural dye for wool fabric. *Fibers and Polymers*, 17(10), 1613–1620. doi:10.1007/s12221-016-5598-5
- Baird, R.B., Eaton, A.D., ve Rice, E.W. (2017). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 23th ad. Washington: American Public Health Association.
- Bertrand, G. (1895). Sur la laccase et sur le pouvoir oxydant de cettediastase. *CR Acad. Sci. Paris* 120: 266-269.
- Blanco, C.D., González, M. D., Monmany, J. M. D., ve Tzanov, T. (2009). Dyeing properties, synthesis, isolation and characterization of an in situ generated phenolic pigment, covalently bound to cotton. *Enzyme and Microbial Technology*, 44(6-7), 380–385. Alındığı Yer: doi:10.1016/j.enzmictec.2009.02.003
- Bozkurt, Ö. (2019). Tekstilde Temiz Üretim Çerçevesinde Pamuklu Örme Kumaşların Enzimatik Renklendirilmesi (*Yüksek Lisans Tezi*). Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, Türkiye.
- Calafell, M., Díaz, C., Hadzhiyska, H., Gibert, J. M., Dagà, J. M., ve Tzanov, T. (2007). Biocatalyzed coloration of cellulose fibers. *Biocatalysis and Biotransformation*, 25(2-4), 336–340. Alındığı Yer: doi:10.1080/10242420701379874
- Choudhury, A. K. R. (2011). Pre-treatment and preparation of textile materials prior to dyeing. *Handbook of Textile and Industrial Dyeing* (böl. 3 s. 64-149). İngiltere: Woodhead Publishing Limited.

- Coates, J., ve Meyers, R.A. (2006). Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach, *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd.
- Couto, S.R., ve Toca-Herrera, J.L. (2006). Lacasses in the textile industry. *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 1(4), 115-120.
- Cristea, D., ve Vilarem, G. (2006). Improving light fastness of natural dyes on cotton yarn. *Dyes and Pigments*, 70(3): 238–245.
- Çevre Kimyası Laboratuvarı Dersi- II Dönem (2012). *Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ)*, Erciyes Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü.
- Çevre Kimyası Laboratuvarı Dersi Notları 2014. *BOİ (Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı)*, Erciyes Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü.
- Díaz Blanco, C., González, M. D., Monmany, J. M. D., ve Tzanov, T. (2009). Dyeing properties, synthesis, isolation and characterization of an in situ generated phenolic pigment, covalently bound to cotton. *Enzyme and Microbial Technology*, 44(6-7), 380–385. doi:10.1016/j.enzmictec.2009.02.003
- El-Hennawi, H. M., Ahmed, K. A., ve El-Thalouth, I. A.(2012). A Novel BioTechnique Using Laccase Enzyme in Textile Printing to Fix Natural Dyes. *Indian Journal of fiber & Textile Research*, (37), 245-249.
- Erdik, E. (2008). *Organik kimyada spektroskopik yöntemler*. Ankara: Gazi Kitapevi.
- Eren, H. (2004). *Kjeldahl Yöntemi ile Azot Miktarı Tayini Deney Raporu*.
- Fu, J., Nyanhongo, G.S., Gübitz, G.M., Cavaco-Paulo, A., ve Kim, S. (2012). Enzymatic colouration with laccase and peroxidases: Recent progress. *Biocatalysis and Biotransformation*, 30(1): 125–140.
- Gianfreda, L., Xu, F.,ve Bollag, J.M. (1999). Laccases: A Useful Group of Oxidoreductive Enzymes. *Bioremediation Journal*, 3(1), 1–26. Alındığı Yer: doi:10.1080/10889869991219163.
- Gioia, L., Manta, C., Ovsejevi, K., Burgueño, J., Menéndez, P., ve Rodriguez-Couto S. (2014). Enhancing laccase production by a newly-isolated strain of *pycnoporus sanguineus* with high potential for dye decolouration. *The Royal Society of Chemistry*, 4(64), 34096-34103. Alındığı Yer: doi:10.1039/c4ra06039c

- Gregory, P. (2007). Toxicology of textile dyes. *Environmental Aspects of Textile Dyeing*, 44–73.
- Guimarães, C., Kim, S., Silva, C., ve Cavaco-Paulo, A. (2011). In situ laccase-assisted overdyeing of denim using flavonoids. *Biotechnology Journal*, 6(10), 1272–1279. doi:10.1002/biot.201100201
- Güneş, E., ve Atav, R. (2015). Ecological Comparison of Natural Dyeing and Reactive Dyeing of Cotton Fabrics, ICNF 2015- 2nd International Conference on Natural Fibers, Book of Abstracts, 121-122, Sao Miguel Azores- Portekiz.
- Hadzhiyska, H., Calafell, M., Gibert, J. M., Dagà, J. M., ve Tzanov, T. (2006). Laccase-assisted Dyeing of Cotton. *Biotechnology Letters*, 28(10), 755–759. doi:10.1007/s10529-006-9043-5
- Hesse, M., Meier, H., ve Thime, B.Z. (2008). Spectroscopic Method in Organic Chemistry. Ludwigshafen: Thieme.
- Jenkins, R.O. (2003). Enzymes. A. Cavaco-Paulo ve G. M. Gübitz (ed.), *Textile processing with enzymes* (böl. 1, s. 1-40). Cambridge, İngiltere: Woodhead Publishing Limited.
- Jeon, J.-R., Kim, E.-J., Murugesan, K., Park, H.-K., Kim, Y.-M., Kwon, J.-H., ... Chang, Y.-S. (2010). Laccase-catalysed polymeric dye synthesis from plant-derived phenols for potential application in hair dyeing: Enzymatic colourations driven by homo- or heteropolymer synthesis. *Microbial Biotechnology*, 3(3), 324–335. doi:10.1111/j.1751-7915.2009.00153.x
- Kim, S., Moldes, D., ve Cavaco-Paulo, A. (2007). Laccases for enzymatic colouration of unbleached cotton. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(7), 1788–1793. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.01.002>.
- Kim, S., ve Cavaco-Paulo, A. (2011). Laccase-catalysed protein–flavonoid conjugates for flax fibre modification. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(2), 585–600. doi:10.1007/s00253-011-3524-8
- Kumar S.P., ve Saravanan, A. (2017). Sustainable wastewater treatments in textile sector. *Sustainable Fibres and Textiles* (böl. 11, s. 323-346). İngiltere: Elsevier Limited.

- Malmström, B.G. (1997). Early and more recent history in the research on multi-copper oxidases. A. Messerschmidt (ed.), *Multi-copper Oxidases* (böl. 1, s. 1-22). Londra, İngiltere: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.
- Mendoza, L. (2011). Laccases from New Fungal Sources and Some Promising Applications. Lund University, Sweden: Media-Tryck.
- Mishra, R. K., Cherusseri, J., Bishnoi, A., ve Thomas, S. (2017). Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization*, 369–415. doi:10.1016/b978-0-323-46140-5.00013-3
- Mojsov, K. (2011). Application of enzymes in the textile industry: A review. Conference: II International Congress "Engineering, Ecology and Materials in the Processing Industry", 230-239.
- Mondal, S., Purkait, M.K., ve De, S. (2018). Introduction. *Advances in Dye Removal Technologies* (böl. 1, s. 1-48). Singapur: Springer.
- Montazer, M., Parvinzadeh, M., ve Kiumarsi, A. (2004). Colorimetric properties of wool dyed with natural dyes after treatment with ammonia. *Coloration Technology*, 120(4), 161–166. doi:10.1111/j.1478-4408.2004.tb00223.x
- Munteanu, F.-D., Basto, C., Gübitz, G. M., & Cavaco-Paulo, A. (2007). Staining of wool using the reaction products of ABTS oxidation by Laccase: Synergetic effects of ultrasound and cyclic voltammetry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14(3), 363–367. doi:10.1016/j.ultsonch.2006.07.008
- Mustafa, R., Muniglia, L., Rovel, B., ve Girardin, M. (2005). Phenolic colorants obtained by enzymatic synthesis using a fungal laccase in a hydro-organic biphasic system. *Food Research International*, 38(8-9), 995–1000. doi:10.1016/j.foodres.2005.02.019
- Orhan, İ.K., ve Kartal, M. (2015). LC-DAD-MS-Assisted Quantification of Marker Compounds in *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort) and its Antioxidant Activity, *Turk J Pharm Sci* 12 (3), 279-286.
- Özgen, H. (2018). Farklı yöntemlerle pamuklu örme kumaşın enzimatik hidrofilleştirilmesi (*Yüksek Lisans Tezi*). T.C. Bartın Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekstil Mühendisliği Anabilim Dalı.

- Pezzella, C., Giacobbe, S., Giacobelli, V.G., Guarino, L., Kylic, S., Sener, M., Sannia, G., ve Piscitelli, A. (2016). Green routes towards industrial textile dyeing: A laccase based approach. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 134, 274–279.
- Polak, J., Jarosz-Wilkolazka, A., Szuster-Ciesielska, A., Wlizlo, K., Kopycinska, M., Sojka-Ledakowicz, J., ve Lichawska-Olczyk, J. (2016). Toxicity and dyeing properties of dyes obtained through laccase-mediated synthesis. *Journal of Cleaner Production*, 112, 4265–4272. doi:10.1016/j.jclepro.2015.07.044
- Polak, J., ve Jarosz-Wilkolazka, A. (2012). Fungal laccases as green catalysts for dye synthesis. *Process Biochemistry*, 47(9), 1295–1307. Alındığı Yer: doi:10.1016/j.procbio.2012.05.006
- Räisänen, R. (2009). Dyes from lichens and mushrooms. T. Bechtold, ve R. Mussak (ed.), *Handbook of natural colorants* (böl. 11, s.183-198). Chichester: Wiley.
- Setti, L., Giuliani, S., Spinozzi, G., & Pifferi, P. G. (1999). Laccase catalyzed-oxidative coupling of 3-methyl 2-benzothiazolinone hydrazone and methoxyphenols. *Enzyme and Microbial Technology*, 25(3-5), 285–289. doi:10.1016/s0141-0229(99)00059-9
- Sherif, M. (2015). Using Esterase and Laccase Enzymes to Derivatize Bioactive Plant Phenolics for Altered Chemistry. Department of Cell and Systems Biology University of Toronto.
- Shin, H., Guebitz, G., ve Cavaco-Paulo, A. (2001). “In Situ” Enzymatically Prepared Polymers for Wool Coloration. *Macromolecular Materials and Engineering*, 286(11): 691 – 694. DOI: 10.1002/1439-2054(20011101)286:11<691::AID-MAME691>3.0.CO;2-A.
- Smith, B.C. (1999). *Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach*. Boca Raton: CRC Press.
- Spinelli, D., Fatarella, E., Di Michele, A., ve Pogni, R. (2013). Immobilization of fungal (*Trametes versicolor*) laccase onto Amberlite IR-120 H beads: Optimization and characterization. *Process Biochemistry*, 48(2), 218–223. doi:10.1016/j.procbio.2012.12.005
- Sun, S., Xing, T., ve Tang, R. (2015). Enzymatic dyeing and functional finishing of textile fibres with ferulic acid. *Indian Journal of Fibre and Textile Research*, 40(1), 62-69.
- Tuncay, T. (2014). Trakya Bölgesi'nde Yetişen *Boletus Edulis* Mantarından İzole Edilen Lakkaz Enziminin Çeşitli Desteklere İmmobilizasyonu ve Tekstil Atık Sularındaki

Boyarmaddelerin Renksizleştirilmesinde Kullanılması (*Doktora Tezi*). Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Fakültesi, Edirne.

Türk Standardları Enstitüsü (TSE) (2002). Su kalitesi- N günden sonra biyokimyasal oksijen ihtiyacının tayini (BOİn) -Bölüm 1: Seyreltme ve allitiyoüre ilavesi ile aşılama metodu. Alınan:<https://intweb.tse.org.tr/Standard/Standard/Standard.aspx?081118051115108051104119110104055047105102120088111043113104073100069116069090112118100072079109>

Tzanov, T., Silva, C. J., Zille, A., Oliveira, J., ve Cavaco-Paulo, A. (2003). Effect of some process parameters in enzymatic dyeing of wool. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 111(1), 1–14. Alındığı Yer: doi:10.1385/abab:111:1:1

Vankar, P.S. (2017). Newer natural dyes for cotton. *Natural Dyes for Textiles* (böl. 1, s. 1-15). İngiltere: Elsevier Limited.

Vinayan, B. P., Zhao-Karger, Z., Diemant, T., Chakravadhanula, V. S. K., Schwarzburger, N. I., Cambaz, M. A., ... Fichtner, M. (2016). Performance study of magnesium–sulfur battery using a graphene based sulfur composite cathode electrode and a non-nucleophilic Mg electrolyte. *Nanoscale*, 8(6), 3296–3306. doi:10.1039/c5nr04383b

Wellington, K.W., ve Luque, R. (2014). Application of Laccase in Organic Synthesis: a review. *Green Chemistry*. Modderfontein: Nova Science Publishers.

Widsten, P., ve Kandelbauer, A. (2008). Adhesion improvement of lignocellulosic products by enzymatic pre-treatment. *Biotechnology Advances*, 26(4), 379–386. doi:10.1016/j.biotechadv.2008.04.003

Xu, Y., Li, D., Liu, M., Niu, F., Liu, J., ve Wang, E. (2017). Enhanced-quantum yield sulfur/nitrogen co-doped fluorescent carbon nanodots produced from biomass *Enteromorpha prolifera*: synthesis, posttreatment, applications and mechanism study. *Scientific Reports*, 7(1). doi:10.1038/s41598-017-04754-x

Xzenon34FilesWordpress(2012).https://xzenon34.files.wordpress.com/2012/03/6cakmakci_ipek_ozkaya_ders_notu.pdf

Yakın, İ.(2015). Enzimler ile Boyarmadde Sentezleri, Sentezlenen Bio-Boyarmaddelerin Karakterizasyonları ve Boyarmadde Özelliklerinin İncelenmesi. İstanbul Üniversitesi,

Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Organik Kimya Programı, Yüksek Lisans Tezi.

Yoshida, H. (1883). Chemistry of Lacquer (Urushi). *Journal of the Chemical Society*, 43, 472-486.

Zarkogianni, M., Mikropoulou, E., Varella, E., ve Tsatsaroni, E. (2010). Colour and fastness of natural dyes: revival of traditional dyeing techniques. *Coloration Technology*, 127(1): 18–27.

