

TC  
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BEYAZ ÇÜRÜKÇÜL FUNGUSLARLA TEKSTİL BOYALARININ  
RENGİNİN GİDERİMİ

SEVAL CİNG YILDIRIM

DOKTORA TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MALATYA  
TEMMUZ 2007

Tezin Başlığı: **Beyaz Çürükçül Funguslarla Tekstil Boyalarının Renginin Giderimi**

Tezi Hazırlayan: **Seval CİNG YILDIRIM**

Sınav Tarihi: 13.07.2007

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Biyoloji Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Sınav Jürisi Üyeleri**

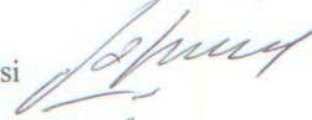
Prof. Dr. Kayahan FIŞKIN

Akdeniz Üniversitesi



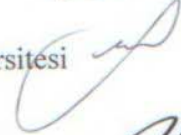
Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

İnönü Üniversitesi



Prof. Dr. Murat ÖZMEN

İnönü Üniversitesi



Doç. Dr. Hikmet GEÇKİL

İnönü Üniversitesi



Doç. Dr. Dilek ASMA

İnönü Üniversitesi



Prof. Dr. Ali ŞAHİN

Enstitü Müdürü

## Onur Sözü

Doktora Tezi olarak sunduğum “**Beyaz ürükül Funguslarla Tekstil Boyalarının Renginin Giderimi**” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı dūřecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

  
Seval CİNG YILDIRIM

**ÖZET**  
Doktora Tezi

**BEYAZ ÇÜRÜKÇÜL FUNGUSLARLA TEKSTİL BOYALARININ RENGİNİN  
GİDERİMİ**

Seval CİNG YILDIRIM

İnönü Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

224 + xiii sayfa

2007

Danışman: Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

Reaktif azo ve vat boyalar pamuklu dokuma işlemlerinde oldukça sık kullanılır. Biyolojik olarak çok az yıkılabildiklerinden dolayı ciddi çevre sorunlarına sebep olmaktadır. Tekstil sanayi atık suları dünyanın birçok yerinde çevre için bir tehdit oluşturmaktadır.

Burada, *Trametes versicolor*, *Funalia trogii* ve *Phanerochaete chrysosporium* peletleri ile Reaktif Kırmızı 141, Reaktif Kırmızı 120, Reaktif Mavi 171, Reaktif Mavi 198, Reaktif Yeşil 19 ve Asit Mavi 74'ün renginin giderimi çalışılmıştır. Boya konsantrasyonu (50-200 mg/L), pH (3-10), sıcaklık (10-40°C), pelet miktarı ve çalkalama (0-200 rpm) gibi çeşitli parametrelerin renk giderimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Renk giderimi spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. İki saat içinde rengi en iyi giderilen boyalardan Asit Mavi 74'ün başlangıç renginin % 89'u uzaklaştırılırken, Reaktif Mavi 198'in % 85 oranında rengi giderilmiştir. Renk giderimi çalışmaları tekrarlı kesikli süreçte serbest peletler, aktif karbon ve çam kozalağı üzerine ve aljinat içerisine tutuklanmış funguslarla yürütüldü. Aljinat içerisine tutuklanmış hücreler hariç serbest peletlerin renk giderimi verimi tutuklanmış hücrelerden daha yüksek olmuştur. Fungus peletleri tekrarlı kesikli süreçte birçok kez kullanılabilmiştir.

*Phanerochaete chrysosporium* hariç, fungusların boyaları adsorbe etmeleri çok önemli değildir. Glukoz ve melas *T. versicolor*'un renk giderimi verimini olumlu yönde etkilemiştir. Melas ve bakır ilavesi sonucu tekrarlı kesikli süreçte yüksek ve kararlı renk giderimi verimi elde edilmiştir.

*Trametes versicolor* ve *Funalia trogii* peletleri Reaktif Mavi 171, Reaktif Mavi 198, Reaktif Yeşil 19 ve Asit Mavi 74 karışımından oluşan sentetik atık suyun rengini tekrarlı kesikli süreçte özellikle etkili bir şekilde gidermiştir.

**ANAHTAR KELİMELER:** Reaktif azo boyalar, indigo boya, beyaz çürükçül funguslar, *Trametes versicolor*, *Funalia trogii*, *Phanerochaete chrysosporium*, fungal pelet, renk giderimi, lakkaz enzimi

## ABSTRACT

PhD. Thesis

### DECOLORIZATION OF TEXTILE DYES BY WHITE ROT FUNGI

Seval CİNG YILDIRIM

Inonu University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

224 + xiii pages

2007

Supervisor: Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

Reactive azo and vat dyes are largely employed on cellulosic fibers like cotton. Due to their low biodegradability, they cause serious environmental pollution. Wastewater from textile industries constitute a threat to the environment in large parts of the world.

Here, the decolorization rate of Reactive Red 141, Reaktif Red 120, Reaktif Blue 171, Reaktif Blue 198, Reaktif Green 19 and Acid Blue 74 by *Trametes versicolor*, *Funalia trogii* and *Phanerochaete chrysosporium* pellets was studied. The effects of various operational parameters, namely dye concentration (50–200 mg/l), pH (3–10), temperature (10–40°C), amount of pellets and agitation (0-200 rpm) on decolorization were investigated. Decolorization was measured spectrophotometrically. In 2 h, the most decolorized dyes were that of Acid Blue 74 which removed about % 89 of initial color, followed by Reactive Blue 198 with % 85 decolorization. Decolorization studies were carried out using free pellets, immobilized fungal cells on activated carbon and pinewood and also fungal cells entrapped in alginate beads in repeated batch mode. Decolorization rate of free pellets was higher than immobilized cells except that cells entrapped in alginate beads. The fungal pellets could be used for several times during repeated batch mode.

Adsorption of the dyes on fungi except *Phanerochaete chrysosporium* was insignificant. Glucose and molasses positively affected the dye decolorization of *T. versicolor*. Molasses and copper addition resulted in high and stable decolorization efficiency.

*Trametes versicolor* and *Funalia trogii* pellets efficiently decolorized artificial dyestuff containing mixtures of Reaktif Blue 171, Reaktif Blue 198, Reaktif Green 19 and Acid Blue 74 especially in first cycle of repeated batch mode.

**KEYWORDS:** Reactive azo dyes, indigo dye, white rot fungus, *Trametes versicolor*, *Funalia trogii*, *Phanerochaete chrysosporium*, fungal pellets, decolorization, laccase

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aşamasına değerli katkılarda bulunan, yardım, öneri ve desteğini esirgmeden beni yönlendiren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA'ya;

Deneysel çalışmalarımın çoğunluğunu donanımlı ve modern bir ortam olan Merkezi Araştırma Laboratuvarında gerçekleştirdiğimden bu merkezin kurulumunda başta Biyoloji Bölüm Başkanımız Prof. Dr. Murat ÖZMEN olmak üzere merkezin kurulumunda emeği geçen tüm hocalarıma;

Sonuçların görüntülenmesi işlemlerini büyük bir titizlikle yapan Yrd. Doç. Dr. Birol MUTLU ve Yrd. Doç. Dr. Bayram Murat ASMA'ya;

Sonuçların istatistiksel olarak analizlerinin yapılmasında görüşlerini bildirip yardımcı olan Doç. Dr. Saim YOLOĞLU'na;

Elektroforofez çalışmalarında her türlü bilgi ve deneyimini benimle paylaşan Atatürk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi öğretim üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Özgür KAYNAR'a;

Çalışmalarım boyunca bana destek olan Merkezi Araştırma laboratuvarı sorumlularından Uzman Ufuk Günay DOĞAN, Fen Edebiyat Fakültesi araştırma görevlilerinden Arş. Grv. Abbas GÜNGÖRDÜ ve Eğitim Fakültesi araştırma görevlilerinden Arş. Grv. Elif APOHAN'a;

Beyaz çürükçül funguslarla tekstil boyalarının renginin ve toksisitesinin giderimi (BAP 2004/92) projesini de destekleyen Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi'ne;

Ayrıca çalışmalarım boyunca sabırla ve sevgiyle beni destekleyen AİLEM'e ve EŞİM'e ;

en içten duygularıyla teşekkür ederim

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Çevre kirliliği.....	1
1.2. Su kirliliğinin kaynakları ve tanımı.....	1
1.2.1. Tekstil endüstrisi atık suları.....	2
1.3. Boyar maddeler.....	7
1.3.1. Boyar maddelerin tarihçesi.....	7
1.3.2. Boyar maddeler ile ilgili genel bilgiler ve boyar maddelerin sınıflandırılması.....	8
1.3.3. Boyalı atık sulardaki rengin ölçümü.....	15
1.3.4. Boyar maddelerin tekstil sanayinde kullanım yüzdeleri ve atık sulardaki bulunuşlukları.....	15
1.4. Biyoteknoloji.....	19
1.5. Beyaz çürükçül funguslar.....	20
1.5.1. Lakkaz enzimi.....	22
1.6. Beyaz çürükçül funguslarla yapılan çeşitli biyolojik iyileştirme çalışmaları.....	23
2. KAYNAK ÖZETİ.....	25
2.1. Tekstil boyar maddelerinin ve atık sularının renginin giderimi.....	25
2.2. Anaerobik sistemlerle tekstil boyar maddelerinin ve atık sularının renginin giderimi.....	27
2.3. Anaerobik/aerobik sistemlerle tekstil boyar maddelerinin ve atık sularının renginin giderimi.....	31
2.4. Aerobik sistemlerle tekstil boyar maddelerinin ve atık sularının renginin giderimi.....	34
2.4.1. Bakterilerle yürütülen çalışmalar.....	34
2.4.2. Beyaz çürükçül funguslarla yürütülen çalışmalar.....	35
2.4.3. Tutuklanmış beyaz çürükçül funguslarla yürütülen çalışmalar.....	46
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	52
3.1. Çalışmada kullanılan kimyasallar.....	52
3.2. Çalışmada kullanılan boyar maddeler.....	52
3.3. Çalışmada kullanılan boyar maddelerin hazırlanması.....	54
3.4. Çalışmada kullanılan funguslar.....	54
3.5. Çalışmada kullanılan fungusların üretimi ve saklanması.....	54
3.6. Çalışmada kullanılacak fungus kültürlerinin hazırlanması.....	55
3.7. Serbest fungus peletlerinin üretimi.....	55
3.8. Optimizasyon çalışmaları.....	55
3.8.1. Boya konsantrasyonun renk giderimi ve lakkaz aktivitesi üzerine etkisinin saptanması.....	55
3.8.2. Pelet miktarının renk giderimi ve lakkaz aktivitesi üzerine etkisinin saptanması.....	56
3.8.3. Sıcaklığın renk giderimi ve lakkaz aktivitesi üzerine etkisinin saptanması.....	56
3.8.4. Çalkalamanın renk giderimi ve lakkaz aktivitesi üzerine etkisinin saptanması.....	56

3.8.5.	Başlangıç pH'sının renk giderimi ve lakkaz aktivitesi üzerindeki etkisinin saptanması.....	56
3.8.6.	Muamele süresinin renk giderimine ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	57
3.9.	Serbest fungus peletleri ile yapılan tekrarlı kesikli çalışmalar .....	57
3.9.1.	Serbest fungus peletleri ile sentetik atık suyun renginin giderimi .....	57
3.10.	Besiyerine eklenen ek maddelerin renk giderimi verimi, pelet kullanım sayısı ve lakkaz aktivitesine etkisinin saptanması .....	58
3.11.	Tutuklanmış fungus peletleri ile yapılan tekrarlı kesikli çalışmalar .....	58
3.11.1.	Aktif karbona tutuklama .....	58
3.11.2.	Lignoselülozlu maddeye tutuklama .....	59
3.11.3.	Aljinat içerisinde tutuklama .....	59
3.12.	Analizler .....	59
3.12.1.	Boyar madde içeren besiyerlerinin renk değişiminin ölçümü .....	60
3.12.2.	Kültür ortamındaki lakkaz aktivitesinin saptanması .....	60
3.12.3.	Kültür ortamındaki biyokütle miktarının hesaplanması .....	60
3.13.	İstatistiksel analizler .....	60
3.14.	Poliakrilamid jel elektroforezi çalışmaları .....	61
3.14.1.	SDS veya doğal poliakrilamid jel elektroforezi öncesi yapılan işlemler ...	61
3.14.2.	SDS veya doğal poliakrilamid jel elektroforezinde jellerin hazırlanması ..	63
3.14.3.	Protein standartlarının ve örneklerin hazırlanması ve yükleme işleminin yapılması .....	64
3.14.4.	Elektroforez uygulaması .....	64
3.14.5.	Gümüş boyama uygulaması .....	65
3.14.6.	SDS poliakrilamid jel elektroforezi sonrası enzimin renaturasyonu .....	66
3.14.7.	Aktivite boyama .....	67
3.14.8.	Coomassie boyama .....	67
3.14.9.	Proteinlerin molekül ağırlıklarının hesaplanması .....	67
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....	69
4.1.	Optimizasyon Çalışmaları .....	69
4.1.1.	Boya konsantrasyonunun renk giderimi ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	69
4.1.2.	Pelet miktarının renk giderimine ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	77
4.1.3.	Sıcaklığın renk giderimine ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	83
4.1.4.	Çalkalamanın hızının renk giderimine ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	89
4.1.5.	Başlangıç pH'sının renk giderimine etkisi .....	95
4.1.6.	Renk giderim veriminin zamana bağlı değişimi .....	102
4.2.	Tekrarlı-kesikli süreçte renk giderimi çalışmaları .....	114
4.2.1.	Farklı fungus peletleri ve farklı boya konsantrasyonları ile yürütülen tekrarlı kesikli çalışmalar .....	114
4.3.	Ek maddelerin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	134
4.3.1.	Glukozun tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	135
4.3.2.	Maya özütünün tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	143
4.3.3.	Peptonun tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	149
4.3.4.	Melasmaın tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	155
4.3.5.	Peynir altı suyunun tekrarlı-kesikli süreçte renk giderimi verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	161



4.3.6.	Bakırın tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	167
4.4.	Tutuklamanın renk giderimi verimi, lakkaz aktivitesi ve pelet kullanım sayısı üzerine etkisi .....	171
4.4.1.	Aktif karbona tutuklanmış hücrelerin renk giderimi verimi ve lakkaz aktivitesi .....	171
4.4.2.	Lignosellülozik materyale tutuklanmış hücrelerin renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi .....	174
4.4.3.	Aljinat içerisine tutuklanmış hücrelerin renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi .....	178
4.5.	Sentetik atık suyun renginin giderimi .....	182
4.6.	Lakkaz enziminin elektroforetik analizi .....	187
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER .....	190
6.	KAYNAKLAR .....	193
7.	EKLER .....	204
8.	ÖZGEÇMİŞ .....	224

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	Pamuklu dokuma işlem basamaklarının ve bu basamaklarda açığa çıkan kirleticilerin şematik gösterimi. AOX: Adsorbe edilebilen organik halojenlar .....	5
Şekil 1.2.	İndigo boyar maddesinin kimyasal yapısı .....	7
Şekil 1.3.	Azo ve antrakinon boyalarda boya-oksokrom ve –kromofor grup örneklerinin gösterimi.....	9
Şekil 1.4.	Bazı boyaların yapısal formülleri .....	10
Şekil 1.5.	Triazol reaktif boya ile pamuklu boyama yöntemi .....	12
Şekil 1.6.	Reaktif boyanın hidrolizi .....	17
Şekil 1.7.	Peroksidadların (LiP ve MnP) katalitik döngüsünün genel şeması ..	21
Şekil 1.8.	Lakkazın katalitik şeması .....	23
Şekil 2.1.	Anaerobik azo boya indirgenmesinin şematik olarak gösterimi .....	28
Şekil 2.2.	Azo boyaların anaerobik/ aerobik arıtımı ve aromatik aminlerin yıkımı .....	32
Şekil 3.1.	Reaktif Kırmızı 141'in (Chrocion Kırmızı H-E7B) kimyasal yapısı	53
Şekil 3.2.	Reaktif Kırmızı 120'nin (Chrocion Kırmızı H-E3B) kimyasal yapısı .....	53
Şekil 3.3.	Reaktif Mavi 171'in (Chrocion Denizci Mavisini H-ER) kimyasal yapısı .....	53
Şekil 3.4.	Reaktif Mavi 198'in (Chrocion Mavi H-EGN) kimyasal yapısı .....	53
Şekil 3.5.	Reaktif Yeşil 19'un (Chrocion Yeşil H-E4BD) kimyasal yapısı .....	54
Şekil 3.6.	Asit Mavi 74'ün (İndigo Karmin) kimyasal yapısı .....	54
Şekil 3.7.	Akrilamid ve N,N'-metilen bisakrilamid' in kimyasal yapısı .....	61
Şekil 3.8.	Poliakrilamid jelin kimyasal yapısı .....	61
Şekil 3.9.	Moleküler ağırlıkları (kDa) belli olan proteinlerin standart eğri grafiği .....	68
Şekil 4.1.	Boya konsantrasyonunun <i>Trametes versicolor</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	70
Şekil 4.2.	Boya konsantrasyonunun <i>Trametes versicolor</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	71
Şekil 4.3.	Boya konsantrasyonunun <i>Funalia trogii</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	72
Şekil 4.4.	Boya konsantrasyonunun <i>Funalia trogii</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	73
Şekil 4.5.	Boya konsantrasyonunun <i>Phanerochaete chrysosporium</i> peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi .....	74
Şekil 4.6.	Boya konsantrasyonunun <i>Phanerochaete chrysosporium</i> peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi .....	75
Şekil 4.7.	Pelet miktarının ( <i>T. versicolor</i> ) renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	77
Şekil 4.8.	Pelet miktarının ( <i>T. versicolor</i> ) renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	78
Şekil 4.9.	Pelet miktarının ( <i>F. trogii</i> ) renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	79
Şekil 4.10.	Pelet miktarının ( <i>F. trogii</i> ) renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	85
Şekil 4.11.	Pelet miktarının ( <i>P. chrysosporium</i> ) renk giderimi (%) üzerine etkisi .....	81

Şekil 4.12.	Pelet miktarının ( <i>P. chrysosporium</i> ) renk giderimi (%) üzerine etkisi .....	82
Şekil 4.13.	Ortam sıcaklığının (°C) <i>T. versicolor</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	83
Şekil 4.14.	Ortam sıcaklığının (°C) <i>T. versicolor</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	84
Şekil 4.15.	Ortam sıcaklığının (°C) <i>F. trogii</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	85
Şekil 4.16.	Ortam sıcaklığının (°C) <i>F. trogii</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	86
Şekil 4.17.	Ortam sıcaklığının (°C) <i>P. chrysosporium</i> peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi .....	87
Şekil 4.18.	Ortam sıcaklığının (°C) <i>P. chrysosporium</i> peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi .....	88
Şekil 4.19.	Çalkalama hızının <i>T. versicolor</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	89
Şekil 4.20.	Çalkalama hızının <i>T. versicolor</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	90
Şekil 4.21.	Çalkalama hızının <i>F. trogii</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	91
Şekil 4.22.	Çalkalama hızının <i>F. trogii</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	92
Şekil 4.23.	Çalkalamanın <i>P. chrysosporium</i> peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi .....	93
Şekil 4.24.	Çalkalamanın <i>P. chrysosporium</i> peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi .....	94
Şekil 4.25.	Başlangıç pH'sının <i>T. versicolor</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	95
Şekil 4.26.	Başlangıç pH'sının <i>T. versicolor</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	96
Şekil 4.27.	Başlangıç pH'sının <i>F. trogii</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	97
Şekil 4.28.	Başlangıç pH'sının <i>F. trogii</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi .....	98
Şekil 4.29.	Başlangıç pH'sının <i>P. chrysosporium</i> peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi .....	99
Şekil 4.30.	Başlangıç pH'sının <i>P. chrysosporium</i> peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi .....	100
Şekil 4.31.	<i>T. versicolor</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesinin (U/ml) zamana bağlı değişimi .....	102
Şekil 4.32.	<i>T. versicolor</i> peletlerinin biyoteknolojik işlem öncesi (B.Ö.) ve sonrası (B.S.) görüntüsü .....	103
Şekil 4.33.	Boyalı atık suların biyoteknolojik işlem öncesi (B.Ö.) ve sonrası (B.S.) görüntüleri. Fungus türü: <i>Trametes versicolor</i> .....	104
Şekil 4.34.	<i>T. versicolor</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesinin (U/ml) zamana bağlı değişimi .....	105
Şekil 4.35.	<i>F. trogii</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesinin (U/ml) zamana bağlı değişimi .....	106
Şekil 4.36.	<i>F. trogii</i> peletlerinin biyoteknolojik işlem öncesi (B.Ö.) ve sonrası (B.S.) görüntüsü .....	107

Şekil 4.37.	Boyalı atık suların biyoteknolojik işlem öncesi (B.Ö.) ve sonrası (B.S.) görüntüleri. Fungus türü: <i>Funalia trogii</i> .....	108
Şekil 4.38.	<i>F. trogii</i> peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesinin (U/ml) zamana bağlı değişimi .....	109
Şekil 4.39.	<i>P. chrysosporium</i> peletlerinin renk gideriminin (%) zamana bağlı değişimi .....	110
Şekil 4.40.	<i>P. chrysosporium</i> peletlerinin biyoteknolojik işlem öncesi (B.Ö.) ve sonrası (B.S.) görüntüsü .....	111
Şekil 4.41.	<i>P. chrysosporium</i> peletlerinin biyoteknolojik işlem öncesi (B.Ö.) ve sonrası (B.S.) görüntüsü .....	112
Şekil 4.42.	<i>P. chrysosporium</i> peletlerinin renk gideriminin (%) zamana bağlı değişimi .....	113
Şekil 4.43.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin ile 50 mg/L Reaktif Kırmızı 141'in renginin giderimi .....	114
Şekil 4.44.	Tekrarlı-kesikli süreçte Reaktif Kırmızı 141'in (50 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	115
Şekil 4.45.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 50 mg/L Reaktif Kırmızı 120'nin rengini giderimi .....	116
Şekil 4.46.	Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Kırmızı 120'nin (50 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	116
Şekil 4.47.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 50 mg/L Reaktif Mavi 171'in rengini giderimi .....	117
Şekil 4.48.	Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Mavi 171'in (50 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	117
Şekil 4.49.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 50 mg/L Reaktif Mavi 198'in rengini giderimi .....	118
Şekil 4.50.	Tekrarlı süreçte Reaktif Mavi 198'in (50 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	118
Şekil 4.51.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 50 mg/L Reaktif Yeşil 19'un rengini giderimi .....	119
Şekil 4.52.	Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Yeşil 19'un (50 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	119
Şekil 4.53.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 50 mg/L Asit Mavi 74'ün rengi giderimi .....	120
Şekil 4.54.	Tekrarlı kesikli süreçte Asit Mavi 74'ün (50 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	120
Şekil 4.55.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 100 mg/L Reaktif Kırmızı 141'in rengini giderimi .....	122
Şekil 4.56.	Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Kırmızı 141'in (100 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	122
Şekil 4.57.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 200 mg/L Reaktif Kırmızı 141'in rengini giderimi .....	123
Şekil 4.58.	Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Kırmızı 141'in (200 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	123
Şekil 4.59.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 100 mg/L Reaktif Kırmızı 120'nin rengini giderimi .....	124
Şekil 4.60.	Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Kırmızı 120'nin (100 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	124
Şekil 4.61.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 200 mg/L Reaktif Kırmızı 120'nin renginin giderimi .....	125

Şekil 4.62.	Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Kırmızı 120'nin (200 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	125
Şekil 4.63.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 100 mg/L Reaktif Mavi 171'in renginin giderimi .....	126
Şekil 4.64.	Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Mavi 171'in (100 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	126
Şekil 4.65.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 200 mg/L Reaktif Mavi 171'in renginin giderimi .....	127
Şekil 4.66.	Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Mavi 171'in (200 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	127
Şekil 4.67.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 100 mg/L Reaktif Mavi 198'in renginin giderimi .....	128
Şekil 4.68.	Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Mavi 198'in (100 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	128
Şekil 4.69.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 200 mg/L Reaktif Mavi 198'in renginin giderimi .....	129
Şekil 4.70.	Tekrarlı-kesikli süreçte Reaktif Mavi 198'in (200 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	129
Şekil 4.71.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 100 mg/L Reaktif Yeşil 19'un renginin giderimi .....	130
Şekil 4.72.	Tekrarlı-kesikli süreçte Reaktif Yeşil 19'un (100 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	130
Şekil 4.73.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 200 mg/L Reaktif Yeşil 19'un renginin giderimi .....	131
Şekil 4.74.	Tekrarlı-kesikli süreçte Reaktif Yeşil 19'un (200 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	131
Şekil 4.75.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 100 mg/L Asit Mavi 74'ün renginin giderimi .....	132
Şekil 4.76.	Tekrarlı kesikli süreçte Asit Mavi 74'ün (100 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	132
Şekil 4.77.	Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 200 mg/L Asit Mavi 74'ün renginin giderimi .....	133
Şekil 4.78.	Tekrarlı kesikli süreçte Asit Mavi 74'ün (200 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi .....	133
Şekil 4.79.	Glukozun <i>T. versicolor</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	136
Şekil 4.80.	Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında glukozun <i>T. versicolor</i> peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi .....	137
Şekil 4.81.	Glukozun <i>F. trogii</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	139
Şekil 4.82.	Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında glukozun <i>F. trogii</i> peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi .....	140
Şekil 4.83.	Glukozun <i>P. chrysosporium</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	141
Şekil 4.84.	Maya özütünün <i>T. versicolor</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi verimine etkisi .....	144
Şekil 4.85.	Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında maya özütünün <i>T. versicolor</i> peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi .....	145
Şekil 4.86.	Maya özütünün <i>F. trogii</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	146

Şekil 4.87.	Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında maya özütünün <i>F. trogii</i> peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi .....	147
Şekil 4.88.	Maya özütünün <i>P. chrysosporium</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	148
Şekil 4.89.	Peptonun <i>T. versicolor</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	150
Şekil 4.90.	Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında peptonun <i>T. versicolor</i> peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi .....	151
Şekil 4.91.	Peptonun <i>F. trogii</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	152
Şekil 4.92.	Tekrarlı kesikli süreçle renk giderimi sırasında peptonun <i>F.trogii</i> peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi .....	153
Şekil 4.93.	Peptonun <i>P. chrysosporium</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	154
Şekil 4.94.	Melasın <i>T. versicolor</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	156
Şekil 4.95.	Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında melasın <i>T. versicolor</i> peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi .....	157
Şekil 4.96.	Melasın <i>F. trogii</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	158
Şekil 4.97.	Tekrarlı kesikli süreçle renk giderimi sırasında melasın <i>F.trogii</i> peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi .....	159
Şekil 4.98.	Melasın <i>P. chrysosporium</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	160
Şekil 4.99.	Peynir altı suyunun <i>T. versicolor</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	162
Şekil 4.100.	Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında peynir altı suyunun <i>T. versicolor</i> peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi .....	163
Şekil 4.101.	Peynir altı suyunun <i>F. trogii</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	164
Şekil 4.102.	Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında peynir altı suyunun <i>F.trogii</i> peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi .....	165
Şekil 4.103.	Peynir altı suyunun <i>P. chrysosporium</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi .....	166
Şekil 4.104.	Bakırın <i>T. versicolor</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	168
Şekil 4.105.	Bakırın <i>F. trogii</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi verimine ve lakkaz aktivitesine etkisi .....	170
Şekil 4.106.	Aktif karbona tutuklanmış <i>T. versicolor</i> hücrelerin tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi .....	172
Şekil 4.107.	Aktif karbona tutuklanmış <i>F. trogii</i> hücrelerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi .....	173
Şekil 4.108.	Çam kozalağına tutuklanmış <i>T. versicolor</i> hücrelerin tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi .....	175
Şekil 4.109.	Çam kozalağına tutuklanmış <i>F. trogii</i> hücrelerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi .....	177
Şekil 4.110.	Aljinat içerisine tutuklanan <i>T. versicolor</i> peletlerinin tekrarlı kesikli süreçle renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi .....	179
Şekil 4.111.	Aljinat içerisine tutuklanan <i>F. trogii</i> hücrelerin tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi .....	180

Şekil 4.112.	Aljinat içerisinde tutuklanan <i>P. chrysosporium</i> hücrelerin tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi .....	181
Şekil 4.113.	<i>T. versicolor</i> peletlerinin R. Mavi 71, R. Mavi 198, R.Yeşil 19 ve A. Mavi 74'den oluşan sentetik atık suyun (SAS4) tekrarlı kesikli süreçte renginin giderim verimi ve lakkaz aktivitesi .....	182
Şekil 4.114.	<i>F. trogii</i> peletlerinin R. Mavi 71, R. Mavi 198, R.Yeşil 19 ve A. Mavi 74'den oluşan sentetik atık suyun (SAS4) tekrarlı kesikli süreçte rengini giderim verimi ve lakkaz aktivitesi .....	183
Şekil 4.115.	<i>T. versicolor</i> peletlerinin R. Kırmızı 141, R. Kırmızı 120, R. Mavi 71, R. Mavi 198, R.Yeşil 19 ve A. Mavi 74'den oluşan sentetik atık suyun (SAS6) tekrarlı kesikli süreçte rengini giderim verimi ..	184
Şekil 4.116.	R. Kırmızı 141, R. Kırmızı 120, R. Mavi 71, R. Mavi 198, R.Yeşil 19 ve A. Mavi 74'den oluşan sentetik atık suyun (SAS6) tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında <i>T. versicolor</i> peletlerinin lakkaz aktivitesi .....	185
Şekil 4.117.	<i>F. trogii</i> peletlerinin R. Kırmızı 141, R. Kırmızı 120, R. Mavi 71, R. Mavi 198, R.Yeşil 19 ve A. Mavi 74'den oluşan sentetik atık suyun (SAS6) tekrarlı kesikli süreçte rengini giderim verimi .....	186
Şekil 4.118.	R. Kırmızı 141, R. Kırmızı 120, R. Mavi 71, R. Mavi 198, R.Yeşil 19 ve A. Mavi 74'den oluşan sentetik atık suyun (SAS6) tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında <i>F. trogii</i> peletlerinin lakkaz aktivitesi .....	186
Şekil 4.119	<i>F. trogii</i> lakkaz örneğinin doğal poliakrilamid jel elektroforezi sonrası aktivite boyama sonuçları .....	187
Şekil 4.120.	<i>Funalia trogii</i> lakkaz örneklerinin SDS-Poliakrilamid jel elektroforez analizleri .....	188
Şekil 4.121.	<i>Trametes versicolor</i> lakkaz örneklerinin SDS-Poliakrilamid jel elektroforez analizleri .....	189

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1.	Boyama Atık Sularının Karakteristikleri .....	3
Çizelge 1.2.	Boyama işlemlerinde sıklıkla kullanılan yardımcı kimyasallar ....	4
Çizelge 1.3.	Dünya çapında tekstil ve giyim ihracatı değerleri .....	6
Çizelge 1.4.	Tekstil sanayi atık sularının alıcı ortama deşarj standartları (pamuklu tekstil ve benzerleri) .....	6
Çizelge 1.5.	Boyaların kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması .....	11
Çizelge 1.6.	Yıllık selülozik boya tüketimi .....	16
Çizelge 1.7.	Farklı boyamalarda boyaların ipliğe tutunma yüzdeleri ve atık suda kalan boya miktarları .....	18
Çizelge 1.8.	Beyaz çürükçül fungusların ürettiği MnP, LiP ve lakkazın özelliklerinin kıyaslanması .....	22
Çizelge 2.1.	Çeşitli boya sınıflarının renginin gideriminde kullanılan başlıca arıtma yöntemlerinin etkililik dereceleri .....	25
Çizelge 3.1.	Renk giderimi işlemlerinde kullanılan tekstil boyaları ile ilgili bilgiler .....	52
Çizelge 3.2.	Poliakrilamid jel elektroforezindeki jellerinin kompozisyonları.....	64
Çizelge 3.3.	Kullanılan Protein Standartlarındaki Moleküler Ağırlık Dağılımları	65
Çizelge 3.4.	Gümüş boyama protokolü.....	66
Çizelge 3.5.	Standart proteinlerin Rf değerleri .....	68



# 1. GİRİŞ

## 1.1. Çevre Kirliliği

Çevre tüm canlıların yaşamında önemli bir rol oynamaktadır [1]. Dünyanın katman (atmosfer, hidrosfer ve litosfer) ve bölümleri arasında ekolojik çevrimler sayesinde madde alışverişi sürüp gitmektedir. Dünyanın katmanları arasındaki madde ve enerji alışverişi/hareketi, dünyanın doğal dengesini sağlar ve dünyanın katmanlarının bileşimi daima sabit kalır. Buna dünyanın ekolojik dengesi denmektedir. Dünyanın katmanlarında herhangi bir maddenin miktarının artması, o katmanın kompozisyonun bozulması halinde bu madde ekolojik çevrimler aracılığıyla derhal taşınarak, denge tekrar kurulmaktadır. Biriken madde tekrar olması gereken yere döner ve ekolojik denge korunmuş olur. Buna dünyanın/doğanın kendi kendini temizlemesi (otopürifikasyonu) denir [2]. Yoğun enerji kullanımı, ormanların yok edilmesi, çevrimleri yavaş olan bazı maddelerin insan çevresinde yoğunlaştırılması, doğada olmayan bazı yapay maddelerin üretimi sonucunda kendi kendini temizleme kapasitesi aşılmış ve azaltılmıştır. Bu olumsuz koşullara paralel çevre kirliliği ortaya çıkmaya başlamıştır. Çevre kirliliği, insanların etkinlikleri sonunda, ekolojik dengenin bozularak, bazı maddelerin dünyanın bazı katmanlarında birikmesi ve o katmanın doğal kompozisyonunun bozulmasıdır. Nüfusun artışı, kentleşme, sanayileşme gibi faktörler çevre kirliliğinin artmasına önemli katkılarda bulunmaktadır. Çevre sorunları özellikle geçen yüzyılın ikinci yarısından itibaren dünya gündemini işgal eden en önemli sorunlardan biri olmuştur. Bilinçsiz/aşırı üretim ve tüketim sonucunda çevreye bırakılan atıkların gerek miktarı gerekse türlerinde artış olmuştur. Çevre sorunlarının artması çevre kirliliğinin boyutlarını katı atık kirliliği olarak şekillenen yerel kirlilikten, asit yağmurları olarak şekillenen bölgesel kirliliğe ve küresel ısınma ve ozon tabakasının delinmesi olarak ortaya çıkan küresel kirlenmeye genişletmiştir. Çevre kirliliği başlıca hava kirliliği, su kirliliği, toprak kirliliği ve gürültü kirliliği olarak karşımıza çıkmaktadır.

## 1.2. Su Kirliliğinin Kaynakları ve Tanımı

Su genel alıcı ortamlardan birisidir. Yeryüzündeki sular güneşin sağladığı enerji ile sürekli bir döngü içinde bulunur. Bu döngüye “hidrolojik çevrim” adı verilir.

İnsanlar, yaşamsal ve ekonomik gereksinimleri için, suyu bu döngüden alır ve kullandıktan sonra tekrar aynı döngüye iade ederler. Bu süreçler sırasında suya karışan maddeler, suların fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirerek, “su kirliliği” olarak adlandırılan olguyu ortaya çıkarır. Söz konusu özellik değişimleri, aynı zamanda sulara yaşayan çeşitli canlı varlıkları da etkiler. Böylece su kirlenmesi sucul ekosistemlerin etkilenmesine, dengelerinin bozulmasına ve giderek doğadaki tüm suların sahip oldukları özümleme ve kendi kendini temizleme kapasitesinin azalmasına veya yok olmasına yol açabilir. Su kirliliğini, antropojen (insan kaynaklı) etkiler sonucunda ortaya çıkan, kullanımı kısıtlayan veya engelleyen ve ekolojik dengeleri bozan kimyasal ve biyolojik kalite değişimleri olarak tanımlamak mümkündür. Su kirliliği; evsel ve endüstriyel atıkların su ortamlarına arıtmaksızın boşaltılmaları, tarımda verimi arttırma amacıyla kullanılan doğal ve yapay maddelerin su ortamlarına taşınmaları gibi sebeplerle gerçekleşir. Endüstri atık suları, ayrışmaz ya da güç ayrışabilir türden maddelerin yanı sıra toksik bileşenleri de içerdiklerinden, bu suların alıcı ortamlara boşaltılmalarının etkileri çok daha olumsuz ve kalıcıdır [3].

Tekstil endüstrisi atık suları bu açıdan ele alındığında içerdiği renkli ve/veya toksik maddeler yönünden alıcı ortamlara verilmeden önce kesinlikle arıtılmalıdır. Alıcı su kaynaklarına verilen boyar maddeler organik yük olarak bu kirliliğin küçük bir kısmını oluşturmaktadır; ancak alıcı ortamda çok düşük konsantrasyonlarda boyar madde bulunması bile estetik açıdan istenmeyen bir durumdur. Bu nedenle boyar madde içeren tekstil endüstrisi atık sularından renk giderim işlemleri ekolojik açıdan önem kazanmaktadır [4].

### **1.2.1. Tekstil endüstrisi atık suları**

Tekstil endüstrileri, yaş dokuma işlemleri için çok büyük miktarlarda su ve kimyasal tüketmektedir. Gerek boyamada gerekse diğer işlemlerde kullanılan bu organik ve inorganik formdaki bileşiklerin çeşitliliğine bağlı olarak, ortaya çıkan atık suların özellikleri de farklı olmaktadır. Alıcı sulara verilen renkli atık sular su ortamındaki ışık geçirgenliğini azaltır ve fotosentetik aktiviteyi olumsuz yönde etkiler. Ayrıca boyar maddelerin bazı sucul organizmalarda birikmesi toksik ve kanserojenik ürünlerin meydana gelme riskini de beraberinde getirmektedir. Bu yüzden boyar madde içeren tekstil endüstrisi atık sularının renk giderim işlemleri ekolojik açıdan önem kazanmaktadır. Ancak kompleks kimyasal yapılarına ve sentetik kökenlerine bağlı

olarak, boyar maddelerin giderilmesi oldukça zor bir işlemdir. Tekstil endüstrisinde boyama işlemi kumaşa renk vermek için yapılır. Boyalı atık suların karakterizasyonu, boyaların kimyasal yapısındaki farklılıklardan ve boyama işlemlerinin değişim göstermesinden dolayı oldukça zordur. Çizelge 1.1’de farklı boyaların kullanıldığı ve farklı elyafların boyandığı boyahane atık sularının içeriğine ilişkin bazı değerler görülmektedir [5].

**Çizelge 1.1. Boyama Atık Sularının Karakteristikleri**

<b>Boya türü</b>	<b>Elyaf çeşidi</b>	<b>Renk ADMI</b>	<b>BOİ, mg/l</b>	<b>TOK, mg/l</b>	<b>AKM, mg/l</b>	<b>ÇKM, mg/l</b>	<b>pH</b>
<b>Asit</b>	Poliamid	4000	240	315	14	2028	5.1
<b>Metal Komp.</b>	Poliamid	370	570	400	5	3945	6.8
<b>Bazik</b>	Akrilik	5600	210	255	13	1469	4.5
<b>Direkt</b>	Viskoz	12500	15	140	26	2669	6.6
<b>Reaktif,kesikli</b>	Pamuklu	3890	0	150	32	12500	9.1
<b>Reaktif,sürekli</b>	Pamuklu	1390	102	230	9	691	11.2
<b>Vat</b>	Pamuklu	1910	294	265	41	3945	11.8
<b>Dispers</b>	Polyester	1245	198	360	76	1700	10.2

**ADMI** : Amerikan Boya İmalatçıları renk birimi

**BOİ** : Biyolojik Oksijen İhtiyacı

**TOK** : Toplam Organik Karbon

**AKM** : Askıda Katı Madde

**ÇKM** : Çözünmüş Katı Madde

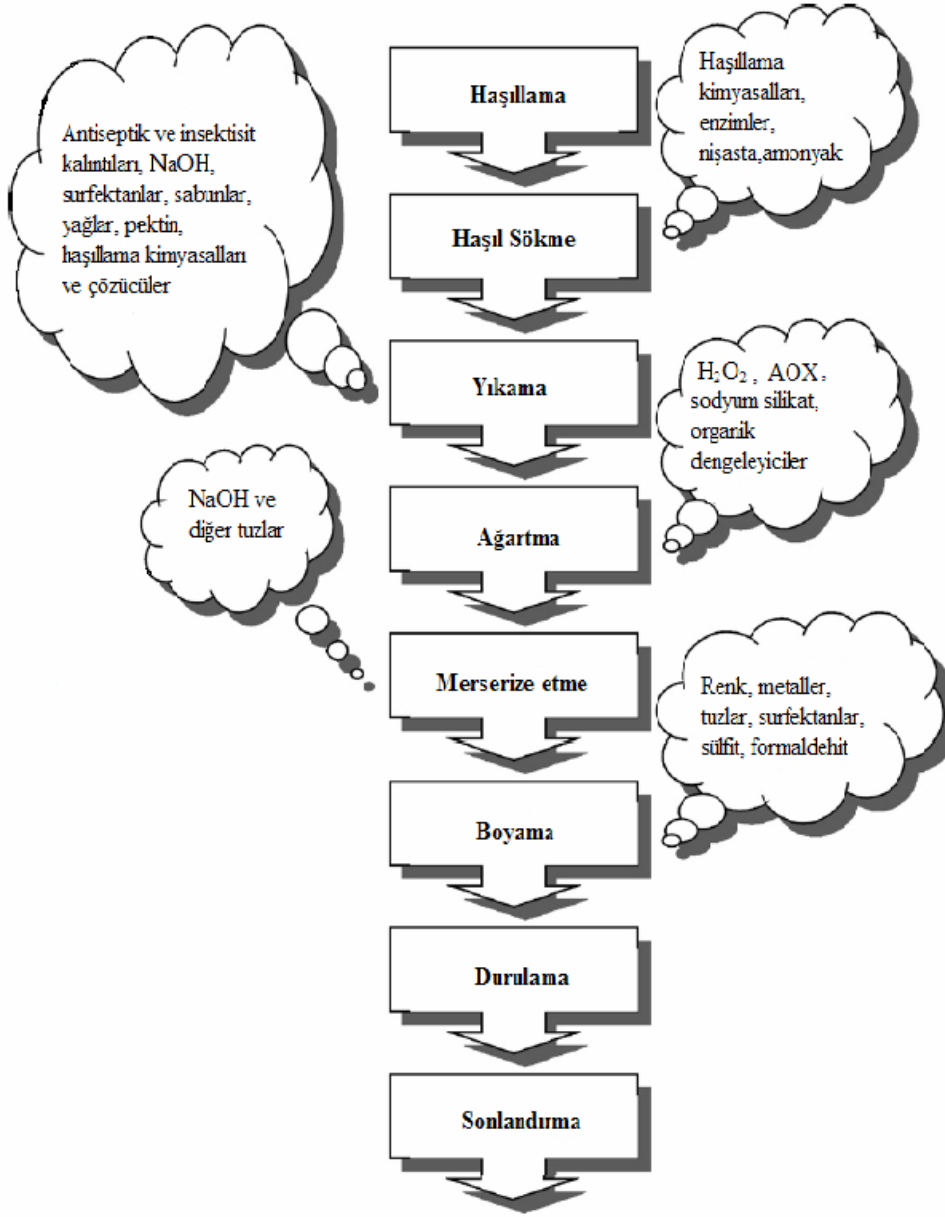
Boyanın iplik üzerine adsorbe olması tekstil ipliğine ve boyanın tipine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Adsorbsiyonun derecesi, zaman, sıcaklık, pH ve yardımcı kimyasallar gibi çeşitli faktörlerin de etkisi altındadır. Boyama işlemlerinde sıkça kullanılan yardımcı kimyasallar Çizelge 1.2’de listelenmiştir [6]. Çizelge 1.2. boyama işlemi çıkış sularında boyar maddeler dışında çok sayıda farklı bileşiklerin de bulunacağını göstermektedir. Boyama işlemi çıkış sularındaki kimyasal yük, işlemin kimyasının yanı sıra boyama işleminin kesikli veya sürekli olmasına bağlı olarak da farklılıklar göstermektedir.

**Çizelge 1.2.** Boyama işlemlerinde sıklıkla kullanılan yardımcı kimyasallar

<b>Kimyasal Madde</b>	<b>Bileşim</b>	<b>Fonksiyon</b>
<b>Tuzlar</b>	Sodyum klorür Sodyum sülfat	Elyafı nötralize edici
<b>Asitler</b>	Asetik asit Sülfürik asit	pH kontrolü
<b>Bazlar</b>	Sodyum hidroksit Sodyum karbonat	pH kontrolü
<b>Tamponlar</b>	Fosfat	pH kontrolü
<b>Kompleks yapıcılar</b>	EDTA	Kompleks yapma, yavaşlatıcı
<b>Dispers edici/düzgünleştirici ve yüzey aktif maddeler</b>	Anyonik, katyonik ve noniyonik	Boyaları dağıtma, boya uygulamasını düzene sokma
<b>Okside edici maddeler</b>	Hidrojen peroksit Sodyum nitrit	Boyaları çözünemez yapma
<b>İndirgeyici maddeler</b>	Sodyum hidrosülfid Sodyum sülfid	Boyaları çözünebilir yapma, reaksiyona girmemiş boyanın uzaklaştırılması
<b>Taşıyıcılar</b>	Fenil fenoller Klorlu benzenler	Adsorbsiyonun artırılması

Şekilde 1.1’de haşılama, haşıl sökme, yıkama, ağartma, merseze etme ve boyama basamaklarından oluşan en yaygın pamuklu tekstil işleme süreci görülmektedir. Süreç, ipliğin dayanıklılığını artırmak ve kırılmaları en aza indirmek için nişasta, polivinil alkol (PVA) ve karboksimetil selüloz gibi maddelerin eklendiği, hazırlık basamağı olan haşılama ile başlamaktadır. Daha sonra dokuma işleminden önce haşılama için ilave edilen maddelerin ortamdan uzaklaştırıldığı haşıl sökme basamağı gelmektedir. Yıkama basamağında alkali çözeltiler (sodyum hidroksit) kullanılarak iplik üzerinde bulunan atıklar (yağlar, surfektanlar vb.) uzaklaştırılmaktadır. Ağartma işlemleri sırasında sodyum hipoklorit ve hidrojen peroksit gibi kimyasal kullanılarak iplikteki istenilmeyen renkler uzaklaştırılmaktadır. Boyama işleminden önce mersezeasyon yapılarak ipliğin alkali çözeltilerde boyanabilirlik yüzdesi artırılmaktadır. Ayrıca asitli çözeltilerle de boyama öncesi iplik yıkanmaktadır. Boyama, çok miktarda su kullanılan, ipliğin boyandığı basamaktır. Çok miktarda su tüketimi sadece boyama tanklarında değil boyanın fazlasının alındığı durulama işlemlerinde de yapılmaktadır. Boyama işlemlerine bağlı olarak metaller, tuzlar, surfektanlar, organik maddeler, sülfid ve formaldehit gibi kimyasallar boyanın adsorbsiyonunu artırmak için ilave edilmektedir. Şekilde 1.1’de ayrıca haşıl

sökme/yıkama ve boyama/durulama işlemleri sonrası açığa çıkan organik ve renkli kirleticilerden oluşan potansiyel kirleticiler de görülmektedir [7].



**Şekil 1.1.** Pamuklu dokuma işlem basamaklarının ve bu basamaklarda açığa çıkan kirleticilerin şematik gösterimi. AOX: Adsorbe edilebilen organik halojenler (Santos vd’den [7] düzenlenerek alınmıştır)

Tekstil endüstrisi Türkiye’nin ekonomik kalkınmasında başta gelen sektörlerinden biridir. Ülkemiz toplam ihracat gelirlerinin % 36-39’u tekstil ürünlerinin ihracatından sağlanmaktadır. Türkiye’nin dünyada tekstil ve giyim ihracatında önemli bir yeri bulunmaktadır (Çizelge1.3.) [8].

**Çizelge 1.3.** Dünya çapında tekstil ve giyim ihracatı değerleri (milyon ABD \$)

Ülke	Tekstil	Giyim	Toplam	Pay (%)
<b>Toplam</b>	169.4	225.9	395.36	100
<b>Avrupa Birliği (15 ülke)</b>	58.94	59.95	118.89	30.1
<b>Avrupa Birliği (diğer ülkeler)</b>	26.37	19.04	45.41	11.5
<b>Çin</b>	26.9	52.06	78.96	20
<b>Hong Kong</b>	13.08	23.15	36.23	9.2
<b>Hong Kong transit</b>	12.33	14.95	27.28	6.9
<b>Amerika</b>	10.92	5.54	16.46	4.2
<b>Türkiye</b>	5.24	9.94	15.18	3.8
<b>Kore</b>	10.12	3.61	13.73	3.5
<b>Hindistan</b>	6.51	6.46	13.73	3.5
<b>Meksika</b>	2.1	7.34	9.44	2.4
<b>Pakistan</b>	5.81	2.71	8.52	2.1
<b>Endonezya</b>	2.92	4.11	7.03	1.8

Ülkemiz açısından önemli bir yere sahip olan tekstil endüstrisinde hammadde ve kimyasal maddelerin, gerçekleştirilen işlemlerin, her işlem için uygulanan teknolojilerin çeşitliliği, su kullanımlarının çok farklı oluşu endüstride yapının son derece değişken olduğunu gösterir. Bu dinamik yapı, atık su karakterizasyonu ve uygulanan arıtma teknolojilerine de yansımakta, endüstri için tipik bir atık su ve standart arıtma teknolojisinden söz etmek zor olmaktadır [9]. Tekstil endüstrisi atık sularının alıcı ortamlara deşarj standartları Çizelge 1.4.'de verilmiştir [10].

**Çizelge 1.4.** Tekstil sanayi atık sularının alıcı ortama deşarj standartları (pamuklu tekstil ve benzerleri) (mg/L)

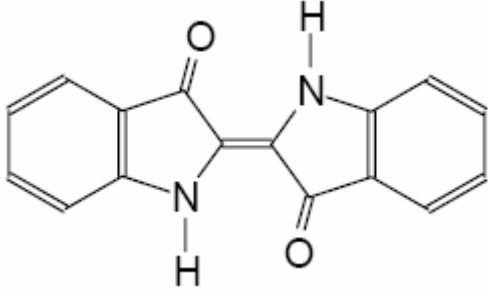
Parametre	Kompozit Numune 2 Saatlik	Kompozit Numune 24 Saatlik
<b>Kimyasal</b>		
<b>Oksijen İhtiyacı (KOİ)</b>	250	200
<b>Askıda Katı Madde (AKM)</b>	160	120
<b>Amonyum Azotu (NH<sub>4</sub>-N)</b>	5	-
<b>Serbest Klor</b>	0.3	-
<b>Toplam Krom</b>	2	1
<b>Sülfür (S<sup>-2</sup>)</b>	0.1	-
<b>Sülfid</b>	1	-
<b>Yağ ve Gres</b>	10	-
<b>Balık Biyodenyi (ZSF)</b>	4	3
<b>pH</b>	6-9	6-9

### 1.3. Boyar Maddeler

Tekstil ve kimya sanayisinde çok çeşitli boyar maddeler kullanılmaktadır [11].

#### 1.3.1. Boyar maddelerin tarihçesi

İlk çağlardan itibaren, insanlar boyaları giysilerini, derilerini ve eşyalarını boyamak için kullanmışlardır. 19. yüzyılın ortalarına kadar bütün boyalar, bitkilerden, böceklerden, funguslardan ve likenlerden gibi doğal kaynaklardan elde edilmekteydi (Şekil 1.2).



**Şekil 1.2.** İndigo boyar maddesinin kimyasal yapısı

1856 yılında William Henry Perkin dünyanın ilk ticari sentetik boyasını keşfetmiştir. 19. yüzyılın sonlarından itibaren on bin yeni sentetik boya geliştirilmiş ve imal edilmiştir. 2000’li yıllarda Hindistan, Doğu Avrupa, Çin, Güney Kore ve Tayvan’da yıllık olarak yaklaşık altı yüz bin ton boya tüketilmektedir. [12-15]. 1995’den itibaren Çin, yıllık 200 kilo ton boyalı atık üretimi ile lider durumdadır [16]. Dünyada yıllık tekstil boyası üretiminin yaklaşık 800 kilo ton olduğu tahmin edilmektedir [17]. 1999 yılında dünya çapındaki boya piyasası 6.6 milyar dolarken, Kuzey Amerika’da 1.2 milyar dolar, Orta ve Kuzey Amerika’da 0.7 milyar dolar, Batı Avrupa’da 1.2 milyar dolar ve Asya’da 2.7 milyar dolar olmuştur. Son on yılda boya piyasası dağılımı Asya’nın en büyük boya piyasası olmasıyla (% 42) değişmiştir. Buna rağmen Batılı firmalar piyasanın yaklaşık yarısını elinde tutmaktadır [12]. 1997 yılında Türkiye’de (İstanbul) bir tekstil fabrikasında açığa çıkan boyalı atık su miktarı 143 bin kg olurken, boyamada kullanılan yardımcı kimyasalların miktarı da 667 ton olmuştur [18]. Tek bir fabrika açısından düşünüldüğünde, ülke çapında tüm tekstil boya sanayinden açığa çıkan atık su miktarları oldukça fazla olmaktadır.

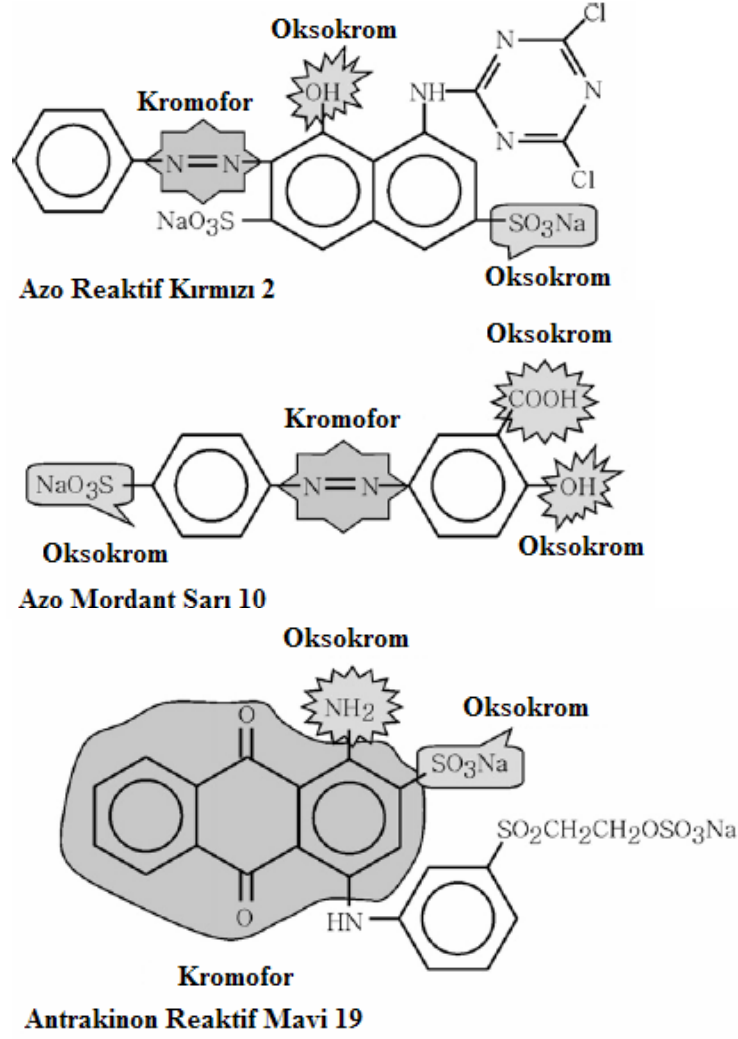
### 1.3.2. Boyar maddeler ile ilgili genel bilgiler ve boyar maddelerin sınıflandırılması

Bütün aromatik bileşikler elektromagnetik enerjiyi absorbe ederler. Ancak sadece görünür bölge dalga boylarındaki ışığın (~350-700 nm) emisyonunu yaparak renkli halde görünürler. Renklendiriciler, boyalar ve pigmentler olarak ikiye ayrılmaktadır. Boyalar, uygulandıkları ortamlarda çözünebilirken, pigmentler uygulama ortamında çözünmezler. Boyalar uygulandıkları kumaşa kalıcı bir renk kazandırır ve ışığa, suya ve deterjanlara karşı dayanıklıdır. Genellikle her boyar madde kömür katranın distilasyonu ile elde edilen bir ya da daha fazla bileşiklerden meydana gelir. Bunların en önemlileri; benzen ( $C_6H_6$ ), naftalin ( $C_{10}H_{10}$ ), antrasin ( $C_{14}H_{10}$ ), fenol ( $C_6H_5OH$ ), akridin ( $C_{13}H_9N$ ) ve kuinoline ( $C_9H_7N$ )'dir. Bu bileşikler gerçek boyalardan farklıdır ve ara ürün olarak adlandırılan diğer bileşiklere dönüşürler. Bu ara ürünler hidrokarbonlardır ve bir ya da daha fazla hidrojen atomları, nitro grup ( $-NO_2$ ), amino grup ( $-NH_2$ ), hidroksil grup ( $-OH$ ) ve sulfonik asit grup ( $-OSO_3H$ ) gibi gruplarla yer değiştirmektedir. Bu bileşiklere nitrobenzen ( $C_6H_5NO_2$ ) ve anilin ( $C_6H_5NH_2$ ) örnek verilebilir [15]. Renkli bileşiklerin boya gibi davranabilmesi için kromofor ve oksokrom grupları olmalıdır [19]:

**1. Kromofor grup:** Kromofor, görünür bölgedeki ışığı emisyon edebilme yeteneğinden dolayı rengin ortaya çıkmasını sağlayan gruptur. Bazı önemli kromoforlar;  $N=O$ ,  $-NO_2$  (nitro),  $-N=N-$  (azo),  $-C=O$  (karbonil),  $C=S$ ,  $-C=N$  ve  $(CH-CH)_n$

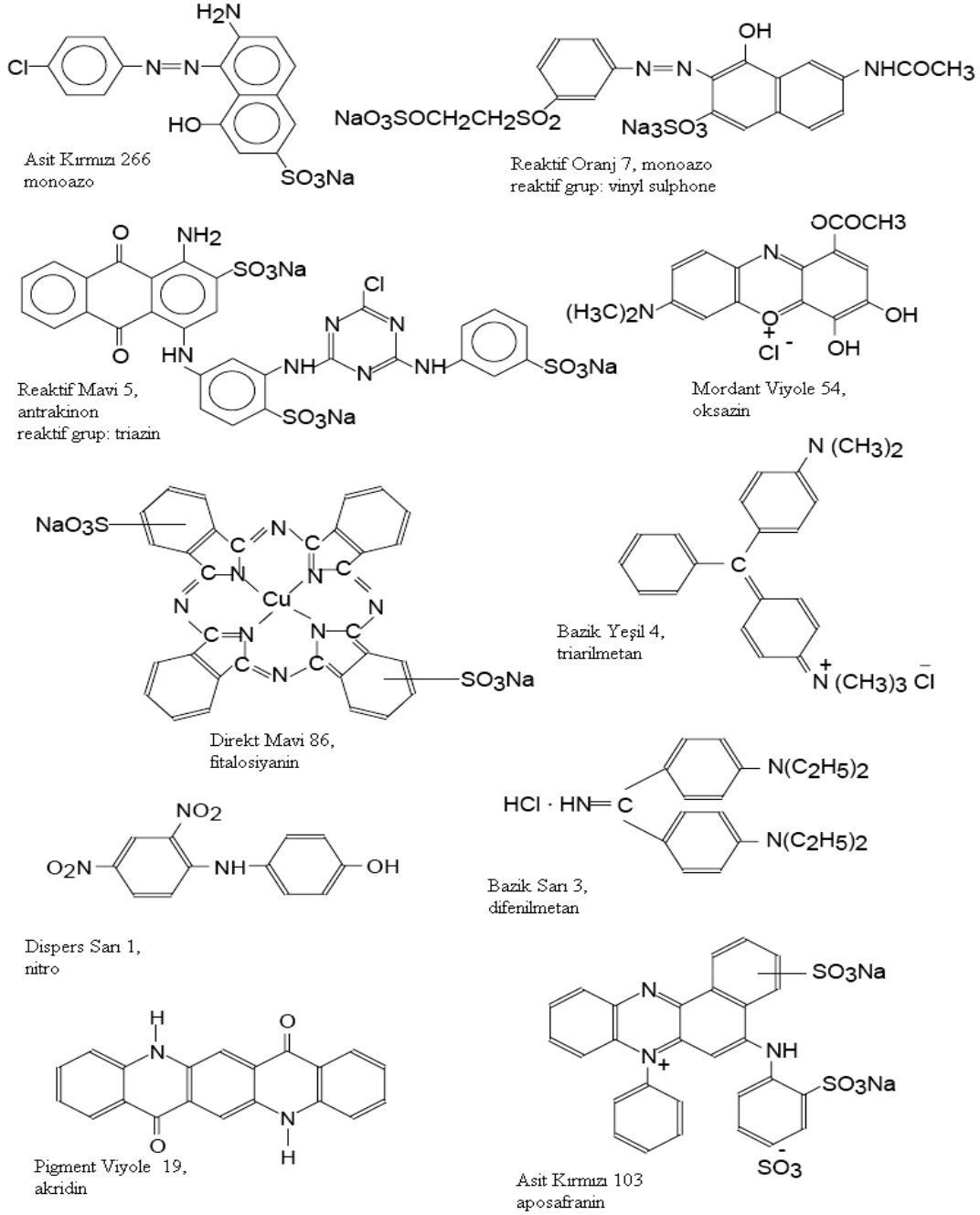
**2. Oksokrom grup:** Boya, kararlı kimyasal bağlar aracılığıyla kumaş veya ipliğe bağlanmaktadır. Bu kimyasal bağlar, asidik veya bazik gruplar tarafından oluşturulmaktadır. Böyle gruplar oksokrom olarak bilinmektedir. Bazı önemli oksokromlar;  $-OH$ ,  $-COOH$ ,  $-SO_3H$  (asidik) ve  $-NH_3$ ,  $-NHR$ ,  $-NR_2$  (bazik). Direkt boyalar kumaşa bağlanmak için mordanta ihtiyaç duymazlar. Sülfonat ( $-SO_3H$ ) grubu, boyaya suda çözünürlük kazandırır. Şekil 1.3'de boya moleküllerinin oksokrom-kromofor grupları görülmektedir [7]





**Şekil 1.3.** Azo ve antrakinon boyalarda boya-oksokrom ve –kromofor grup örneklerinin gösterimi

Kimyasal yapıya veya kromofor gruba bağlı olarak, 20-30 farklı boya grubu mevcuttur. Azo (monoazo, diazo, triazo ve poliazo), antrakinon, fitalosiyenin ve triarilmetan boyalar tüketim açısından en önemli olanlarıdır. Diğer grupların bazıları diarilmetan, indigoid, nitro, lakton, aminoketon ve hidrosiketon boyalardır. Şekil 1.4’de bazı boyaların yapısal formülleri görülmektedir.



**Şekil 1.4.** Bazı boyaların yapısal formülleri

Boyaların doğal ve sentetik olarak sınıflandırılmaları yeterli olmamaktadır. Tekstil, deri, kağıt ve gıda boyalarının sınıflandırılmasında en önemli unsurlardan biri renklendirici maddenin karakteristiğidir. Renk İndeksi'nde yer alan boyaların kimyasal yapılarına göre hazırlanmış sistematik sınıflandırma Çizelge 1.5.'de görülmektedir [12] En uygun sınıflandırma boyaların uygulanmalarına göre yapılandır.

**Çizelge 1.5.** Boyaların kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması [12]

Kod	Kimyasal Sınıf	Kod	Kimyasal Sınıf	Kod	Kimyasal Sınıf
10,000	Nitroso	42,000	Triarilmetan	53,000	Kükürt
10,300	Nitro	45,000	Ksanten	55,000	Lakton
11,000	Monoazo	46,000	Akridin	56,000	Aminoketon
20,000	Diazo	47,000	Quiniline	57,000	Hidroksiketon
30,000	Triazo	48,000	Methine	58,000	Antrakinin
35,000	Poliazo	49,000	Thiazole	73,000	İndigoid
37,000	Azoik	49,400	Indofenol	74,000	Fitalosiyenin
40,000	Stilben	50,000	Azin	75,000	Doğal
40,800	Karotenoid	51,000	Oksazin	76,000	Oksidasyon temelli
41,000	Difenilmetan	52,000	Tiazin	77,000	İnorganik

Society of Dyers and Colorists and American Association of Textile Chemists and Colorists tarafından 1924'den itibaren yayınlanan Renk İndeksi'nde (Color Indeks) boyalar renklerine, yapılarına ve uygulanma yöntemlerine göre sınıflandırılmaktadır. Renk İndeksi'nde (3. baskısında) 28,000 ticari boya ismi, yaklaşık 10,500 farklı boya bulunmaktadır. Boyaların uygulanmasına göre Renk İndeksi'nde 15 farklı sınıf vardır:

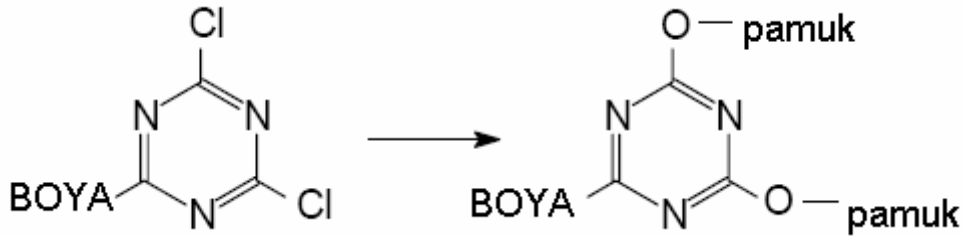
#### **Asidik Boyar Maddeler:**

Renk İndeksi'nde yer alan boya grupları içindeki en geniş gruptur. Yaklaşık 2300 farklı asidik boya bulunurken, bunların % 40'nın üretimi yapılmaktadır. Asidik boyalar anyonik bileşikler olup, esasen azot içeren yün, poliamid, ipek ve modifiye akril gibi kumaşları boyamada kullanılır. Boya, bu kumaşların katyonik  $\text{NH}_4^+$ -iyonlarına bağlanmaktadır. Birçok asidik boya azo, antrokinon ve triarilmetan bileşikler içermektedir. Bu sınıftaki boyalara asidik denmesinin sebebi moleküler yapılarındaki asit gruplarının (sülfonat, karboksil) varlığından ziyade, asit boya banyolarında kullanılmalarından olmaktadır [14,11].

### Reaktif Boyar Maddeler:

Reaktif boyalar, reaktif grupları ile kumaştaki (pamuk, yün, ipek ve naylon) OH-, NH- veya SH- gruplarına kovalent bağlanan boyalardır. Reaktif grup diklorotriazinde olduğu gibi üzerinde klor veya flor taşıyan heterosiklik aromatik halkalardan meydana gelmektedir. Diğer yaygın olan reaktif grup ise vinil sülfondur [20].

Reaktif boyaların kullanımı 1956 yılından itibaren özellikle endüstride ileri olan ülkelerde artmıştır. Reaktif boyalar Renk İndeks listesinde yayınlanan ikinci en geniş grup olarak, 1050 farklı reaktif boyadan yaklaşık 600 tanesinin üretimi yapılmaktadır. Reaktif boyalarla yapılan boyama işlemlerinde (Şekil 1.5) en sık rastlanılan problem reaktif grubun daha az oranda kumaşa fikse olması nedeniyle meydana gelen reaktif grup hidrolizidir. Fiksasyon oranını artırmak amacıyla yüksek miktarlarda (60-200 g/l) tuz ilave edilmesine rağmen boyanın %10-50'si kumaşla reaksiyona girmeden hidrolize olmuş şekilde boyama tanklarının içinde kalmaktadır. Renkli atık su problemi özellikle reaktif boya kullanımı ile ortaya çıkmıştır. Birçok reaktif boya azo veya metal kompleks bileşikler içerir. Fakat mavi ve yeşil boyama için antrakinin ve fitalosiyanın reaktif boyalar da kullanılmaktadır [14].



Şekil 1.5. Triazil reaktif boya ile pamuklu boyama yöntemi

### Metal Kompleks Boyar Maddeler:

Asidik ve reaktif boyalar içinde birçok metal kompleks boyalarda bulunmaktadır (Renk İndeksi'nde ayrı bir grup olarak listelenmemiştir). Bunlar, bir metal atomunun (genellikle krom, bakır, kobalt ve nikel) ve bir veya iki boya molekülünün sırasıyla 1:1 veya 1:2 oranında bir araya gelmesi ile oluşan metal kompleks boyalardır. Metal kompleks boyalar genellikle azo bileşiklerdir. Renk İndeksi listesinde yer alan azo

boyarların 1/6'sı metal kompleksleridir. Fakat fitalosiyenin metal kompleks boyalar da uygulanmaktadır [11,14].

### **Direkt Boyar Maddeler:**

Direkt boyalar özellikle selülozik liflere büyük affinite gösteren oldukça büyük moleküllerdir. Van der Waals bağı ile liflere bağlanmaktadır. Direkt boyalar çoğunlukla birden fazla azo bağı veya fitalosiyenin içeren azo boyalardır. Renk İndeksi'nde direkt boyalar ikinci en geniş boya sınıfını oluşturmalarına rağmen 1600 direkt boyanın sadece yaklaşık % 30'u üretilmektedir [11,14].

### **Bazik Boyar Maddeler:**

Bazik boyalar genellikle modifiye poliakrile benzeyen asit grubu içeren sentetik liflerin boyanmasında kullanılan katyonik bileşiklerdir. Bunlar liflerin asit gruplarına bağlanırlar. Çoğu bazik boyalar diarilmetan, triarilmetan, antrakinon veya azo bileşiklerdir. Bazik boyalar Renk İndeksi'ndeki boyaların % 5'ni temsil ederler [11,14].

### **Mordant Boyar Maddeler:**

Mordant boyalar, boyanın liflere bağlanmasını sağlayan bir kimyasal olan mordantın ortama ilave edilmesiyle kumaşa bağlanırlar. Mordant boyama en eski boyama yöntemi olmasına rağmen mordant boyaların kullanımı azalmaktadır. Renk İndeksi'nde yer alan yaklaşık 600 farklı mordant boyanın sadece % 23'ü üretilmektedir. Yün, deri, ipek, kağıt ve modifiye selüloz liflerinin boyanması için kullanılır. Pek çok mordant boya azo veya triarilmetan bileşiklerdir. Mordantlar genellikle dikromat veya krom kompleksleridir [11,14].

### **Dispers Boyar Maddeler:**

Dispers boyalar, sentetik liflere (selüloz asetat, poliester, poliamid, akril vb.) penetre olabilen suda zor çözünebilen boyalardır. Boyanın yayılabilmesi için liflerin, yüksek sıcaklıkla (>120 °C) veya kimyasal yumuşatıcıların kullanılması yardımıyla şişmesi gerekmektedir. Boyama, bu boyaların kaliteli dispers çözeltileri ile boyama

banyolarında olmaktadır. Dispers boyalar Renk İndeksi'ndeki üçüncü en büyük boya grubunu oluşturmaktadır. Listelenen 1400 farklı boyadan yaklaşık % 40'ı üretilmektedir. Bu boyalar genellikle küçük azo veya nitro bileşikler (sarıdan kırmızıya), antrakinonlar (mavi ve yeşil) veya metal kompleks azo bileşiklerdir (bütün renkler) [11,14].

### **Pigment Boyar Maddeler:**

Renk İndeksi'ndeki ticari boya isimlerinin yaklaşık % 25'i pigment boyalardır. Bu çözünmeyen, iyonik olmayan bileşikler veya çözünmeyen tuzlar uygulama boyunca kristalize veya partiküller yapılarını korurlar. Pek çok pigment boya azo bileşikler veya metal kompleks fitalosiyaninlerdir [11,14].

### **Vat Boyar Maddeler:**

Vat boyalar suda çözünmeyen ve yaygın olarak selüloz içerikli ipliklerin boyanmasında kullanılan boyalardır. Vat boyalar çözünebilmeleri için redükleyici kimyasallara ihtiyaç duyarlar. Sodyum ditionit ile redüklendikten sonra kumaşa bağlanabilirler. Daha sonra oksidasyon uygulanarak boya çözünmeyen biçimine dönüşür. Hemen hemen bütün vat boyalar antrakinon ve indigoiddir. İndigo boya 5000 yıllık tarihi ile vat boyalara iyi bir örnektir. Vat kelimesi indigo boyalarının elde edildiği çivitotunun fermentasyon sırasında redüklendiği fiçılardan kaynaklanarak kullanılmaktadır [11,14].

### **Aniyonik ve Ingrain Boyar Maddeler:**

Naftol, fenol gibi bileşenler ile diazo aromatik aminlerin reaksiyonları sonucunda açığa çıkan çözünmeyen bir üründür. Bu reaksiyon kumaş üzerinde meydana gelmektedir. Bütün naftol boyalar azo bileşiklerdir [11,14].

### **Kükürt Boyar Maddeler:**

Kükürt boyalar heterosiklik kükürt içeren halkalardan oluşan kompleks polimerik aromatiklerdir. Dünya çapında boya üretiminin % 15'ni temsil etmelerine

rağmen kükürtlü boyalar Batı Avrupa'da çok kullanılmazlar. Kükürtlü boyama da reduksiyon ve oksidasyon işlemleri gerektirmektedir. Selüloz içerikli kumaşların boyanmasında kullanılır [11,14].

### **1.3.3. Boyalı atık sulardaki rengin ölçümü**

Elektromagnetik spektrum üç farklı bölgeye ayrılmaktadır: mor ötesi (ultraviyole), görünebilen ışık ve kızılötesi. Görünebilir ışık dalga boyu 350-780 nm olmasına rağmen insan gözü genellikle 380-720 nm arasındaki ışınları fark edebilmektedir.

Tekstil, kimya ve ilaç sanayilerinden yüksek miktarda renkli atık sular su kaynaklarına boşaltılmaktadır [7]. Genellikle sudaki renk gerçek renk (örnekte bulanıklık yoksa) veya görünüşteki renk (örneğe ön işlemler yapılmamışsa) olarak sınıflandırılmaktadır. Sudaki veya atık sudaki rengin ölçümü için kullanılan en yaygın yöntemler, görsel olarak karşılaştırma ve spektrofotometrik ölçümlerdir. Görsel karşılaştırmada örneğin rengi, konsantrasyonu belli renkli standartlarla (platinyum-kobalt çözeltisi) veya kalibre edilmiş renk diskleri ile kıyaslanmaktadır. Bu yöntem atık su arıtma tesislerinde uygulama kolaylığından dolayı kontrol parametresi olarak kullanılmaktadır. Fakat yüksek renk konsantrasyonlarında uygulanamamaktadır. Spektrofotometrik yöntemde farklı renk ölçümü protokolleri uygulanmaktadır: tristimulus filtre yöntemi, Amerikan boya üreticileri enstitüsü (ADMI) tristimulus filtre yöntemi ve spektral kayıt (record) [7, 21].

### **1.3.4. Boyar maddelerin tekstil sanayinde kullanım yüzdeleri ve atık sulardaki bulunuşlukları**

Boyama işlemleri sırasında kimyasal yapısı farklı birçok boya kullanılırken sonuçta açığa içeriği kompleks olan atık sular çıkmaktadır. 1978 yılında dünya çapında üretilen 450 bin ton boyanın % 2'si veya 9000 tonu, boya imalatı sırasında atık su olarak atılırken % 9'u, veya 40 bin tonu, tekstil endüstrilerinden atık su olarak atılmaktadır. 1978 yılı itibarıyla atık su içerisinde doğaya salınan boya miktarı yaklaşık 50 bin tondur. 2000'li yıllarda bu rakamın 23 milyon ton olacağı tahmin edilmektedir. Tekstil endüstrisinde kullanılan kumaş ve ipliklere göre farklı tipte boya kullanımı yıllara göre değişmektedir. Pamuklu boyamanın popülaritesinin artmasına paralel olarak reaktif boyaların kullanımındaki artış atık su problemlerini tekrar gündeme getirmiştir

[22]. Türkiye’de yaklaşık on yıl önce benzidin içeren azo boyaların kullanımı yasaklanmış olmasına rağmen, bu tür boyalar daha ucuz olduğundan tekstil sanayinde halen tercih edilmektedir [23].

Reaktif azo ve vat boyalar pamuklu kumaş boyamasında yaygın olarak tercih edilen boya gruplarıdır. Azo boyalar bir veya birden fazla azo grubu (-N=N-) taşıyan bileşiklerdir. Sentetik boyalar içinde en fazla sayıda olan ve en fazla üretilen grup azo boyalardır. Yıllık üretilen 800 bin boyanın yaklaşık yarısı azo kromojen grubu içermektedir. Azo boyanın keşfi 1862 yılında İngiltere’de Peter Griess tarafından olmuştur [17]. Azo bağlarının sayısına göre azo boyalar mono-, dis-, tris ve tetrakis azo boyalar olarak adlandırılır. Azo grupları benzen veya naftalin halkasına bağlanmaktadır. Azo boyaların sentezinde kullanılan başlangıç maddeleri ucuz olmaktadır. Kolay ve ekonomik olarak sentezlendiğinden dolayı, çok amaçlı ticari boyalar olarak kullanılmaktadırlar [24]. Ayrıca azo boyaların kimyasal yapısı kolayca değiştirilebilmektedir, böylece azo boyalar birçok sentetik ve doğal kumaşa bağlanabilmektedir. Bu özelliklerinden dolayı azo boyalar, tekstil endüstrisinde en çok tercih edilen boyalar arasındadır. Mevcut üretilen boyaların % 50’si azo boya olmaktadır [25].

Reaktif boyalar tekstil boyalarının önemli bir sınıfını oluşturmaktadır. Yaklaşık % 80 'ni azo kromofor grubu içermektedir. Reaktif boyalar, ilk sentetik boyanın keşfinden 100 yıl sonra 1956 yılında tanınmaya başlamıştır. Günümüzde pamuklu boyamada kullanılan boyalar için harcanan paranın üçte biri reaktif boya üretimine gitmektedir [26]. 1988 yılında reaktif boya üretimi selülozik boya üretiminin % 20’si iken 1992’de % 38’e yükselmiştir. 2004 yılında yıllık reaktif boya üretimi 178 bin tona yükselerek selülozik boya üretiminin % 50’sini kapsamıştır (Çizelge 1.6.) [27].

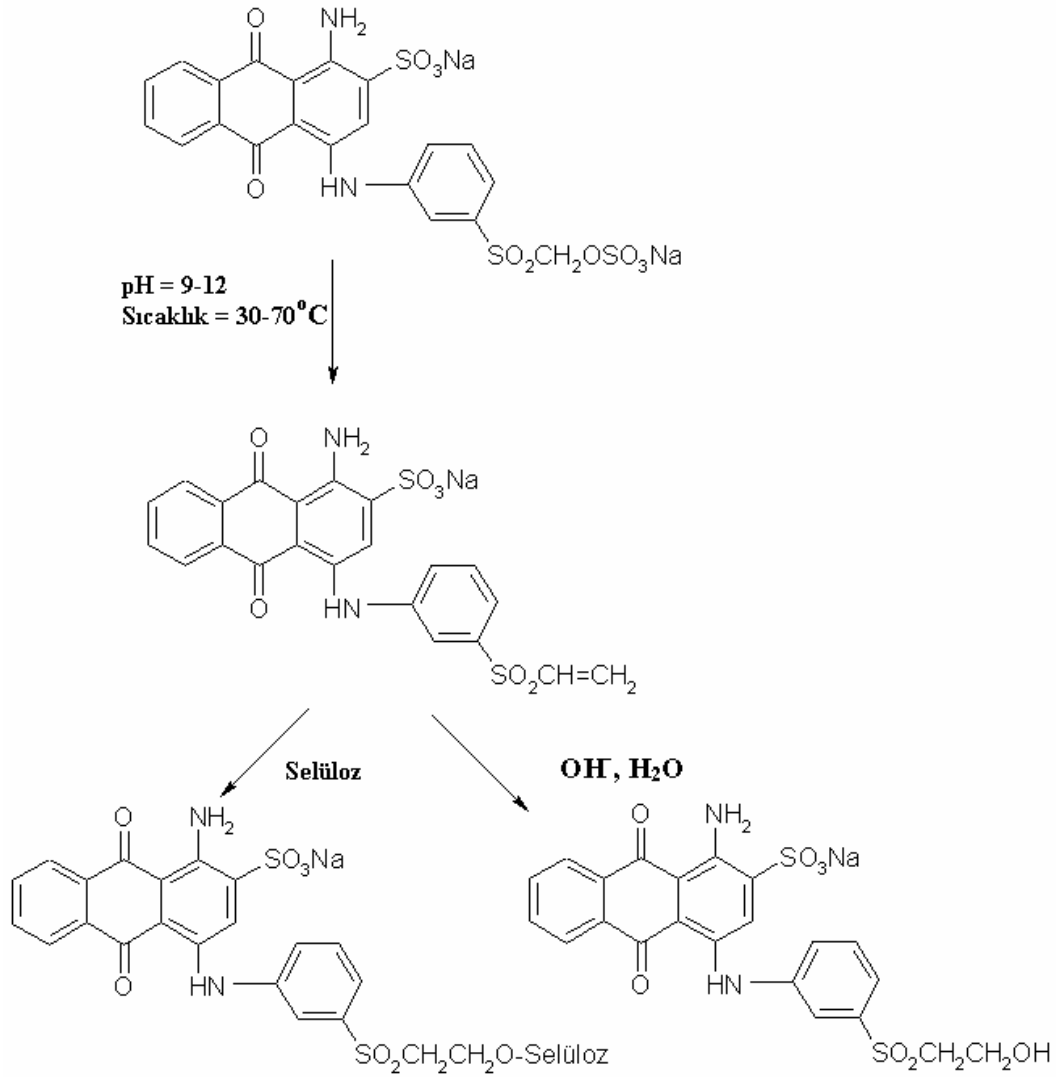
**Çizelge 1.6.** Yıllık selülozik boya tüketimi

Boya tipi	Yıllık kullanım (1000 ton)		
	1988	1992	2004
<b>Kükürt</b>	90	70	70
<b>Direkt</b>	74	60	68
<b>Vat</b>	36	21	2
<b>İndigo</b>	12	12	12
<b>Azoik</b>	28	18	13
<b>Reaktif</b>	60	109	178
<b>Toplam</b>	300	290	354



Vat boyalar içinde İndigo boyalar yaygın olarak tercih edilmektedir. Tekstil sanayinde reaktif azo ve vat boyalar yüksek miktarlarda kullanılmakta ve sıkça çevreye atık su içinde verilmektedir [25].

Reaktif boyama 30-85°C’de gerçekleşmektedir. Reaktif boyama teknelerinde 25-100 g/l tuz (NaCl ve Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ve 2-50 g/l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> bulunmaktadır. Reaktif boyama koşullarında, başlangıçtaki boyanın % 50’sinden fazlası boyamadan sonra kumaşa affinitesi olmayan hidrolize forma kalmakta ve sonuçta renkli çıkış suyu (atık su) oluşmaktadır. Boyama işlemleri sırasında önemli oranda kullanılmamış boyalar atık su içinde kalmaktadır. Özellikle bu durum reaktif boyalar için geçerli olmaktadır. Çünkü hidrolize formdaki reaktif boyanın kumaşa veya ipliğe karşı affinitesi yoktur. Alkali koşullarda reaktif vinili sulfon (-SO<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>) grubu kumaşa bağlanır (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. Reaktif boyanın hidrolizi

Fakat vinili sülfon grubu daha fazla hidrolize olursa bu hidrolize yan ürünler kumaşa bağlanmaz. Böylece uygulanan boyanın ortalama % 30'u hidrolize form olarak atık su içinde kalır. Boyama işleminden sonra boyama tanklarında kalan hidrolize boyaların miktarı litrede 800 mg'den fazla olmaktadır. Etkili arıtım işlemleri yapılmazsa bu boyalar doğada uzun bir süre karalı olarak kalmaktadır. Örneğin hidrolize Reaktif Mavi 19'un pH 7 ve 25°C'de yarılanma ömrü yaklaşık 46 yıl olmaktadır [28, 29]. Vat boyaların da % 5-20'si kumaşa tutunmadan direk çıkış suyuna geçmektedir [22, 25]. Çizelge 1.7'de farklı boyamalarda boyaların ipliğe tutunma yüzdeleri ve atık suda kalan boya miktarları verilmektedir [22]. Çıkış suyundaki renge ilaveten yüksek tuz konsantrasyonu ve yüksek pH (11-13) atık suyun içeriğini daha da kompleks hale getirmektedir [30, 32].

**Çizelge 1.7.** Farklı boyamalarda boyaların ipliğe tutunma yüzdeleri ve atık suda kalan boya miktarları

<b>Boya uygulama sınıfı</b>	<b>İplik</b>	<b>Tutunma derecesi (%)</b>	<b>Atık suda kalan boya miktarı (%)</b>
<b>Asidik</b>	Poliamid	89-95	5-20
<b>Bazik</b>	Akrilik	95-100	0-50
<b>Direkt</b>	Selüloz	70-95	5-30
<b>Dispers</b>	Polyester	90-100	0-10
<b>Metal kompleks</b>	Yün	90-98	2-10
<b>Reaktif</b>	Selüloz	50-90	10-50
<b>Kükürt</b>	Selüloz	60-90	10-40
<b>Vat</b>	Selüloz	80-95	5-20

İlk sentetik boyanın üretildiği 1856 yılından bugünlere kadar çeşitli endüstri alanlarında boya kullanımı dikkat çekici oranda artmıştır. Ticari olarak üretilen 10.000'den fazla boya vardır ve yıllık 700.000 tondan fazla boyalı atık su açığa çıkmaktadır [33]. Tekstil sanayinde ve boya imalatı endüstrisindeki hızlı büyümeye paralel olarak hacmi yüksek, içeriği kompleks olan atık sular ortaya çıkmaktadır.

Tekstil sanayinde kullanılan bütün boyalar ışık, su, okside edici ajanları içeren kimyasallara ve mikrobiyal bozulmalara karşı dayanıklı olarak üretilmektedirler. Boyama işlemleri sonucu açığa çıkan atık suyun içindeki boya konsantrasyonu 10-250 mg/l arasında değişmektedir [22]. Boya içeren renkli atıkların renk giderim işlemleri geleneksel biyolojik arıtma sistemleri ile zor olmaktadır. Tekstil atık sularının renklilik

ve yüksek kimyasal oksijen istemine ek olarak birçok sentetik boya toksik, mutajenik ve karsinojeniktir [34].

Tekstil sanayi atık sularının arıtımında birçok yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında biyoteknolojik olanlar hızla önem kazanmaktadır.

#### **1.4. Biyoteknoloji**

Biyoteknoloji, canlılar (biyolojik sistemler) aracılığıyla mal ve hizmet üretmek üzere bilim ve mühendislik ilkelerinin işlemlerde uygulanması olarak tanımlanabilir. Bu tanımda yer alan bilim ve mühendislik ilkeleri birçok dala hitap etmekle birlikte, mikrobiyoloji, genetik, biyokimya, kimya ve işlem mühendisliği gibi disiplinlerde yoğunlaşmıştır. Bu tanımda yer alan “canlı” kapsamına mikroorganizma, bitki ve hayvan hücreleriyle onların ürünleri olarak bilinen biyolojik katalizörler (enzimler); mal ve hizmet kapsamına ise, besin, ilaç, içecek, biyokimyasal maddelerle ilgili endüstriyel ürünler ve endüstriyel atıklar, gen terapisi vb. alınmaktadır. Modern biyoteknoloji kapsamında ki teknolojiler genetik mühendisliği; rekombinant mikroorganizma, hayvan ve bitki hücre kültürü; metabolik mühendislik; hibridoma teknolojisi; biyoelektronik; nanobiyoteknoloji; protein mühendisliği; transgenik bitkiler ve hayvanlar; doku ve organ mühendisliği; immunolojik yöntemler; genomikler ve proteomikler ve biyoreaktörleri içermektedir. Günümüzde artık biyoteknolojinin çevresel ve ekonomik yararları iyi bilinmektedir. Biyoteknolojinin yenilenemeyen yakıtların ve diğer kaynakların kullanımına yönelik bağımlılığın azaltılması, endüstriyel işlemler sonucu açığa çıkan kirleticilerin yarattığı olumsuzlukların giderilmesi, ekonomik ürünlerin imalatının desteklenmesi, yeni ürünlerin üretilmesi gibi faydaları bulunmaktadır [35, 36].

Biyoteknolojinin kullanımı, geleneksel endüstriyel işlemlere kıyasla çoğu kez daha ekonomik, daha az enerji gerektiren, daha güvenli ve ürün sonrası çevreyi kirletmeyecek atıkların söz konusu olduğu süreçlere dayanmaktadır. Bu nedenle, yakın bir gelecekte tıp, ziraat, hayvancılık, gıda, çevre korunması ve alternatif enerjilerin üretimi gibi konularda bu disiplinin çözüm önerileri getireceğine muhakkak gözüyle bakılmakta, birçok ülkede araştırma ve geliştirme faaliyetlerine bu yönde yer verilmektedir [36]. Çevre ve atık biyoteknolojisine yönelik çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır. Çünkü çevre ve atık biyoteknolojisinin amaçlarından birisi atıkların içeriğini doğanın özümleyeceği düzeye indirgemektir. Çevre kirliliğinin hızla arttığı bu

dönemde uygulanabilirliği yüksek ve etkili arıtım yöntemleri geliştirilmek zorundadır. Zaten normalde kullanılan arıtım sistemleri doğadakilerin modifiye şeklidir. Biyolojik olarak arıtım da bunu hedefler. Çünkü doğada mikroorganizmalar belirli bir hızda organik molekülleri yıkar. Biyoteknoloji bu modelleri erlenlere, havuzlara, fermentörlere uyarlar. Beyaz çürükçül funguslar da sahip oldukları birçok özelliğten dolayı çevre ve atık biyoteknolojisi çalışmalarında sıkça kullanılmaktadır.

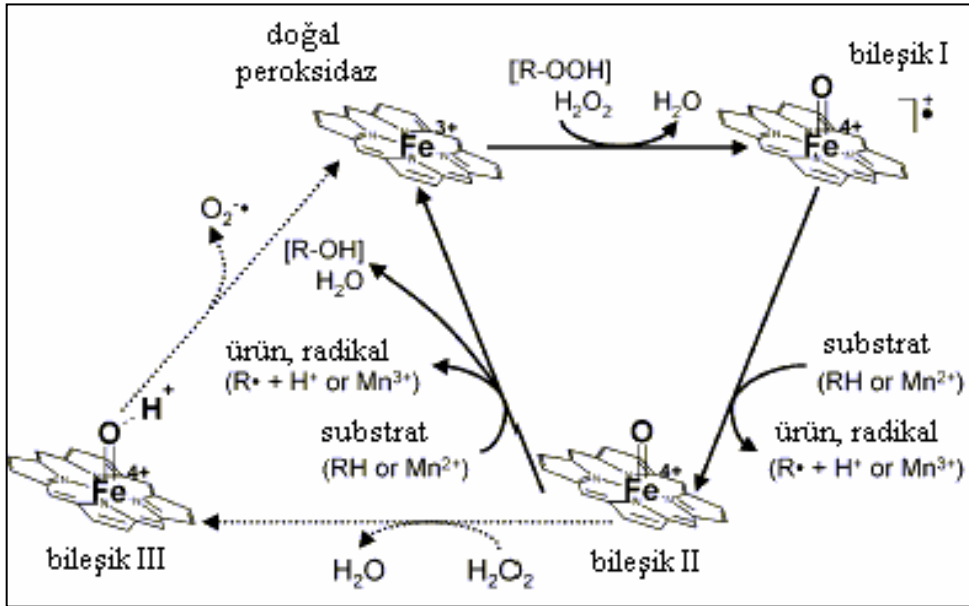
### 1.5. Beyaz Çürükçül Funguslar

Beyaz çürükçül funguslar, Basidiomycetes sınıfına dahil olup, yüksek enzim sentezleme yeteneğine sahiptir. Beyaz çürükçül funguslar doğada karbon döngüsünde önemli bir rol oynamaktadır [12]. Beyaz çürükçül funguslar, lignoselülozik materyalden ligninin uzaklaştırılması veya çeşitli çevre kirleticilerinin biyoremediasyonu için ekstraselüler oksidatif radikaller üretebilen enzim sentezleme potansiyeline sahip olduklarından biyoteknolojik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Ligninin depolimerizasyonunda fenolik bileşiklerin oluştuğu görülmektedir. Bu organizmaların lignolitik sistemlerinin (lakkaz, mangan peroksidaz ve lignin peroksidaz) nitroaromatikler ve klorofenoller gibi çevresel kirleticilerle olan reaksiyonu kinon oluşumu ve zincirleme polimerizasyon reaksiyonları ile sonuçlandığı bilinmektedir. Birçok *p*- ve *o*-benzokinon fungus miselleri tarafından hidrokinon ve kateşole indirgenmektedir. Hidrokinon ve kateşoller de lignin ve mangan peroksidaz ve lakkaz enzimleri için tekrar substrat olarak kullanılmaktadır. Kinon ve hidrokinonlar hem lignin hem de fenolik çevre kirleticilerinin yıkımında ortaya çıkan ara ürünlerdir. Sonuçta fenolik bileşiklerin yükseltgenme ve indirgenmesinde ekstra- ve intraselüler işlemleri içeren döngünün mevcut olduğu ortaya çıkmaktadır. Ligninolitik enzim sisteminin birçok enzimi ekstraselüler olmasına rağmen intraselüler lakkaz enzimin olduğu da tespit edilmiştir [37]. Lignini modifiye eden enzimler arasında:

- Lignin peroksidaz (LiP E.C.1.11.1.14)
- Mn-bağımlı peroksidaz (MnP E.C.1.11.1.13)
- Bakır içeren fenoloksidaz lakkaz (Lac E.C.1.10.3.2) bulunmaktadır.

Bu enzimlerle birlikte beyaz çürükçül funguslarda Mn-bağımsız peroksidaz da bildirilmektedir. Bazı beyaz çürükçül funguslar bu enzimlerin tümünü sentezlerken bazıları da bunlardan bir ya da ikisini sentezlemektedir. Ligninolitik enzimler kararlılıklarının artırılması amacıyla glikozillenmiştir. Ligninaz 38-47 kDa, MnP 32-

62.5 kDa ve lakkaz ise 60-80 kDa moleküler ağırlığındadır.  $H_2O_2$  varlığında LiP, fungus tarafından sentezlenen düşük moleküler ağırlığa sahip redoks mediator olan veratril alkolün oksidasyonunu katalizlemektedir (Şekil 1.7) [38, 39]. Bu olay aril katyon radikallerini meydana getirmek üzere ligninin fenolik olmayan aromatik bölgesinde bir elektron oksidasyonu ile gerçekleşmektedir. Daha sonra bunlar enzimatik olmadan aromatik ve alifatik ürünlere yıkılmaktadır ve intraselüler olarak mineralize edilmektedirler. Bu radikallerin oluşumu birçok reaksiyon ile meydana gelir; benzilik alkol oksidasyonu, karbon-karbon bağlarının yıkılması, hidroksilasyon, fenol dimerizasyon/polimerizasyon ve demetilasyon.



Şekil 1.7. Peroksidazların (LiP ve MnP) katalitik döngüsünün genel şeması [12]

Lignini modifiye edici enzimlerin üretimi esas olarak sekonder metabolizma sırasında olmaktadır. Sınırlı besin seviyeleri ve özellikle azot miktarı ile indüklenmektedirler. Bazı fungusların azot yeterli koşullarda da LiP, MnP ve lakkaz ürettiği tespit edilmiştir. LiP ve MnP üretimi genellikle yüksek oksijen konsantrasyonunda optimal olurken sıvı kesikli kültürde üretilen fungusların çalkalama koşulları da bu enzimlerin üretimini baskılamaktadır. Fakat lakkaz üretimi çalkalama ile artmaktadır. LiP, MnP ve lakkaz enzimlerinin genetik şifreleri karakterize edilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalara göre azot seviyesi, mediator bileşikler ve gereksinim duyulan metallerin konsantrasyonu LiP ve lakkaz enzimlerinin transkripsiyon seviyesini etkilemektedir. Beyaz çürükçül fungusların bu özellikleri arıtma yöntemlerinin

tasarlanmasında ve optimize edilmesinde oldukça önemli olmaktadır [12, 40]. Swamy ve Ramsay (1999) enzimler tarafından yıkılan kirleticilerin ve ligninin funguslar tarafından üreme substratı olarak kullanılmadığını metabolik aktiviteler için ayrı karbon kaynaklarına gereksinim duyulduğunu belirtmiştir. Primer üreme fazından sonra azot ve/veya glukoz kaynakları sınırlandırıldığında sekonder metabolizmada ligninolitik enzimlerin sentezlenebildiği ileri sürülmüştür [41]. Beyaz çürükçül fungusların enzim sistemleri spesifik değildir ve çok çeşitli substratları vardır. Ligninolitik enzimler, yüksek oranda yıkıma dirençli organo kirleticilerin lignine olan yapısal benzerliğinden dolayı in vitro şartlarda bu kirleticilerin dönüştürülmesi veya mineralizasyonunu gerçekleştirmektedir [42]. Çizelge 1.8’de MnP, LiP ve lakkaz enzimlerinin özellikleri kıyaslanmaktadır.

**Çizelge 1.8.** Beyaz çürükçül fungusların ürettiği MnP, LiP ve lakkazın özelliklerinin kıyaslanması

<b>E.C.</b>	<b>MnP 1.11.1.13</b>	<b>LiP 1.11.1.14</b>	<b>Lak 1.10.3.2</b>
<b>Prostetik grup</b>	Hem	Hem	Cu
<b>MA (kDa)</b>	32-122	38-47	59-110
<b>Glikolizasyon</b>	N-	N-	N-
<b>Stabilizasyon</b>	+++	+	+++
<b>Doğal mediatörler</b>	Mn <sup>2+</sup> ;Mn <sup>3+</sup>	VA, 2 Cl-14DMB	3-HAA
<b>Spesifiklik</b>	Mn <sup>2+</sup>	geniş, aromatikler, fenolik olmayan	geniş, fenolikler ve fenolik olmayanlar
<b>İkincil ve sentetik mediatörler</b>	Tioller, doymamış yağ asitleri	yok	ABTS, HBT, şiringaldezin

VA: Veratril alkol

2 Cl-14 DMB : 2-kloro-1,4-dimetoksibenzen

3-HAA: 3-hidroksiantranilik asit

ABTS: 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)

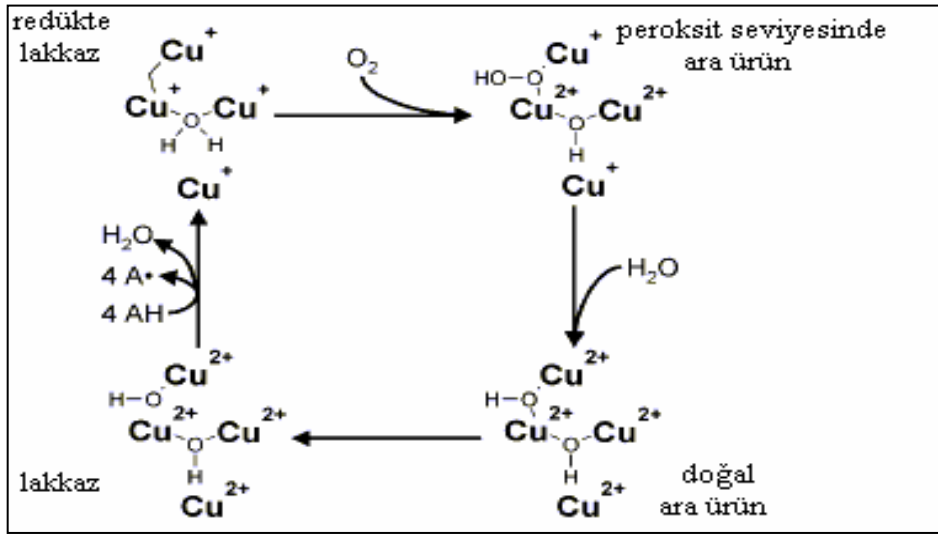
HBT: 1-hidroksibenzotriazol

(Wesenberg vd.’den [12] değiştirilerek alınmıştır.)

### 1.5.1. Lakkaz Enzimi

Fenolik ve fenolik olmayan bileşiklerin, aromatik aminlerin ve diğer elektron açısından zengin olan substratların fenol oksidaz olarak bilinen lakkaz enzimi tarafından oksidasyonu tek elektron reaksiyonudur. Bu reaksiyon sonucunda serbest radikaller oluşmaktadır. Aromatik bir çekirdekte tek elektron uzaklaştırılarak katyon radikaller oluşturulmaktadır. Oluşan ara ürün kararsızdır. Kararsız ara ürün daha sonra ikincil bir enzimatik oksidasyona veya enzimatik olmayan reaksiyonlara tabi tutulmaktadır.

Lakkaz enzimi, Mn (III) şelatları gibi lignindeki fenol birimlerinden aril -Ca bağlarını kırarak fenoksi radikalleri oluşturmaktadır. Lakkaz, dört defa 1 elektron oksidasyonu gerçekleştirip elektronları moleküler oksijene transfer eder ve suya indirgenmesini sağlayarak eski haline dönüp katalitik döngüyü tamamlamaktadır (Şekil 1.8). Lakkaz düşük moleküler ağırlıklı redoks mediatöründen de radikaller oluşturmaktadır. Fakat bu reaksiyon H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bağımlı değildir [43-45]. Bu enzim bitkisel ve fungal lakkaz olmak üzere iki ana gruba ayrılmasına rağmen bazı bakteri ve böceklerden de izole edilmiştir [40].



Şekil 1.8. Lakkazın katalitik şeması [12]

*Heterobasidion annosum*'un hif yüzeyinde fenolik monomerler ve makromoleküller için spesifik reseptörler bulunmaktadır. Hif yüzeyinde bulunan reseptör veya bağlanma bölgesi ekstraselüler lakkaz enziminin indüksiyonunu sağlamaktadır [37].

### 1.6. Beyaz Çürükçül Funguslarla Yapılan Çeşitli Biyolojik İyileştirme Çalışmaları

Biyolojik iyileştirme tehlikeli atıkların biyolojik olarak zararsız bileşiklere dönüştürülmesidir. Beyaz çürükçül funguslar çeşitli biyoremediasyon işlemlerinde başarılı şekilde kullanılmaktadır. Beyaz çürükçül funguslar ekstraselüler ligninolitik enzimleri ile polisiklik aromatik hidrokarbonlar [46-49], trinitrotoluenler [50-52], trikloroetilenler [53], klorofenoller [54,55], poliklorlu bifeniller [56-58] gibi pek çok organo kirleticileri ve sentetik boyaarı yıkabilmiştir. Tekstil boyaarının renginin giderimi süspanse hücre kültürleri, tutuklanmış hücreler ve ham enzim ekstratları ile

olmaktadır. Uygulamalar sırasında enzim kullanmanın en önemli dezavantajı enzimlerin inaktive olmaları veya aktivitelerin azalmasıdır. Fakat tüm hücre kültürü kullanıldığında enzimler sürekli aktif halde kalabilmektedir. Tutuklanmış kültürlerde de aktiviteler daha yüksek olurken pH ve toksik kimyasallar gibi çevre koşullarına karşı çok daha dayanıklı olmaktadır. Hücrelerin tutuklanacağı pahalı olmayan materyaller test edilmektedir [59]. Çeşitli atıkların biyolojik yıkımında beyaz çürükçül fungusların kullanımının birçok avantajları vardır. Bunları özetleyecek olursak:

1. Beyaz çürükçül fungusların ürettiği ligninolitik enzimlerin substrat özgüllükleri düşüktür. Bu yüzden çok çeşitli kirleticileri CO<sub>2</sub>'e kadar yıkabilirler;
2. Enzimler ekstraselüler olduğundan bakterilerde olduğu gibi substratın hücre içine difüze olması gibi sınırlamalar yoktur.
3. Beyaz çürükçül funguslarla kirleticilerin bulunduğu ortamlarda ön üreme çalışmalarının yapılmasına gerek yoktur. Çünkü üreme ve enzim salgılanması kirletici varlığından ziyade ortama ilave edilen azot ve/veya karbon kaynaklarına bağlı olmaktadır.
4. Beyaz çürükçül funguslar yüksek konsantrasyonlarda kirleticilere bile enzim sistemleri sayesinde dayanabilmektedir.
5. Fungal biyokütle ve tutuklanmış enzimler biyoremediasyon için kullanılabilir.
6. Beyaz çürükçül fungusların kültivasyonu için gerekli olan substratlar oldukça ucuzdur (örn: tarımsal atıklar)

Böylece beyaz çürükçül fungus kullanılarak yapılan arıtım işlemleri klasik boya arıtımı yöntemlerine göre pek çok açıdan daha uygun olabilmektedir [43, 60, 61].

Çalışmamızda kullanılan reaktif azo boyalar Türkiye'de tekstil sanayinde sıkça kullanılan boyalardır. Geleneksel biyolojik arıtım sistemlerinde atık suların rengi içerdikleri boyalardan dolayı tam olarak giderilememektedir. Türkiye'de atık su deşarj standartlarında hala renkle ilgili standartlar bulunmamaktadır.

Bu çalışmada amacımız tekstil fabrikalarında boyama işlemlerinde kullanılan reaktif azo ve vat boyaların renginin serbest ve tutuklanmış beyaz çürükçül fungus peletleri, *Trametes versicolor* ATCC 2008001, *Funalia trogii* ATCC 200800 ve *Phanerochaete chrysosporium* ME446, kullanılarak tekrarlı kesikli süreçle giderilmesi, renk giderim veriminin artırılması ve biyoteknolojik koşulların optimizasyonun yapılmasıdır. Çalışmada ayrıca lakkaz enziminin aktivite değişimi ve elektroforetik özellikleri de araştırılacaktır.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Tekstil Boyar Maddelerinin ve Atık Sularının Renginin Giderimi

Son yirmi yıldır atık sulardan rengin uzaklaştırmasına yönelik birçok çalışma yapılmıştır [21]. Tekstil sanayi atık sularının arıtımında kullanılan geleneksel arıtım işlemleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtımı içermektedir [42, 62]. Her bir arıtım aşamasında dört basamak vardır:

1. Öncül arıtım (dengeleme, nötrleştirme ve dezenfekte etme)
2. Birincil arıtım (kumaş veya iplik parçalarının uzaklaştırılması, flotasyon ve çöktürme)
3. İkincil arıtım (fiziksel/kimyasal ayrışma ve biyolojik oksidasyonla organik yükün indirgenmesi)
4. Teritari arıtım (Adsorbsiyon, kimyasal oksidasyon, elektroliz, ters ozmoz yoluyla boyanın uzaklaştırılması) [63].

Adsorpsiyon, iyon değiştirme, elektrokinetik koagülasyon ve ozonlama gibi birçok işlem maliyet ve seçilen tek bir boyaya uygulanabilirliklerinden dolayı etkili olamamaktadır. Çizelge 2.1'de çeşitli boya sınıflarına uygulanan başlıca arıtma yöntemlerinin etkililik dereceleri verilmiştir [19].

**Çizelge 2.1.** Çeşitli boya sınıflarının renginin gideriminde kullanılan başlıca arıtma yöntemlerinin etkililik dereceleri

Boya sınıfı	Çöktürme	Aktif karbon	Geleneksel biyolojik	Fiziko-kimyasal ve biyolojik	Ozon	Aktif çamur
Azoik	0	+	0	+	+	
Reaktif	0	+	0	+	+	0 (+)
Asit	0	+	0	+	+	0
Bazik	0	+	+	+	+	+
Disperse	+	0	0	+	0	0
Vat	+	0	0	+	+	
Kükürt	+	0	0	+	+	
Direkt				+		+

0 - uygun değil; + - iyi; \* - özellikle uygun

Tekstil atık sularının arıtımı için genellikle aktif çamur ve sonrasında kimyasal çökeltme işlemi uygulanmaktadır. Fakat azo boyaların hidrofilik özelliğinden dolayı kimyasal çökeltme işlemi azo boyalar için uygun olmamaktadır. Vat boyaların arıtımında ise kimyasal çökeltme işlemi yaygın olarak kullanılmaktadır. Suda

çözünmeyen vat boyalar aktif çamurdan sonra çeşitli çöktürücülerle çöktürülebilmekte fakat çöktürme işlemlerinin hem maliyeti yüksek olmakta hem de işlem sonrası yüksek miktarda çamur açığa çıkmaktadır. Biyolojik yöntemler diğer yöntemlerden daha ucuzdur. Biyolojik işlemlerin yatırım maliyeti ozonlama ve hidrojen peroksit gibi kimyasal yöntemlere göre 5-20 kat, işletme maliyeti de 3-10 kat daha azdır [42, 64]. Wilmott vd. [65] göre biyoteknolojik çözümler, hem boyalı atık suların yıkımını gerçekleştirmekte, hem de KOİ ve BOİ değerlerini düşürmektedir. Mikrobiyal renk giderimi işlemleri günlük düşük maliyetlere ihtiyaç duyarken, kimyasal yöntemlere göre daha az atık çamur açığa çıkmaktadır. 1990'lardan günümüze kadar mikrobiyal renk giderimi ile ilgili olarak birçok makale yayınlamıştır [66-70]. Fungus, alg ve bakterileri içeren mikrobiyal kültürler renk giderimi işlemlerinde kullanılmıştır. Bu kültürlerin arasında beyaz çürükçül funguslar dikkat çekmektedir. *Phanerochaete chrysosporium* ilk kez kağıt sanayi atıkların arıtımında kullanılmış ve tekstil atıklarının arıtımında kullanılan en aktif mikrobiyal kültür olmuştur [71]. Daha sonraları diğer funguslar; *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* ve *Pycnoporus cinnabarinus*'un boyaları yıktığına ilişkin çalışmalar yapılmıştır. Boyaların beyaz çürükçül funguslar tarafından yıkımı oksidasyon işlemi ile olmaktadır. Böylece indirgenme yoluyla yapılan renk giderimi işlemlerinde olduğu gibi azo boya yıkımı sırasında toksik aromatik aminler oluşmamaktadır. Bu oksidatif renk gideriminin redüktif renk giderimine göre en önemli avantajıdır [72].

Renk giderimi tekniklerinin hızı ve uygulama kolaylığı tekstil endüstrisindeki en önemli sorundur. Diğer önemli sorunlar da renk giderimi verimi, yatırım ve uygulamaların maliyeti, arıtılan atık suyun yeniden kullanımı ve çevresel etkiler olmaktadır [73].

Aerobik, anaerobik ve anaerobik/aerobik arıtma işlemleri bakteriyal ve fungal biyosorpsiyonu ve biyolojik yıkımı içermektedir. Her bir boyar maddenin renginin giderim işleminin teknik ve ekonomik olarak uygulanabilirliğini birçok faktör belirlemektedir:

1. Boyar madde tipi
2. Atık su içeriği
3. Kullanılan kimyasalların dozu ve maliyeti
4. İşlemin maliyeti
5. Açığa çıkan atık ürünlerin çevresel etkisi

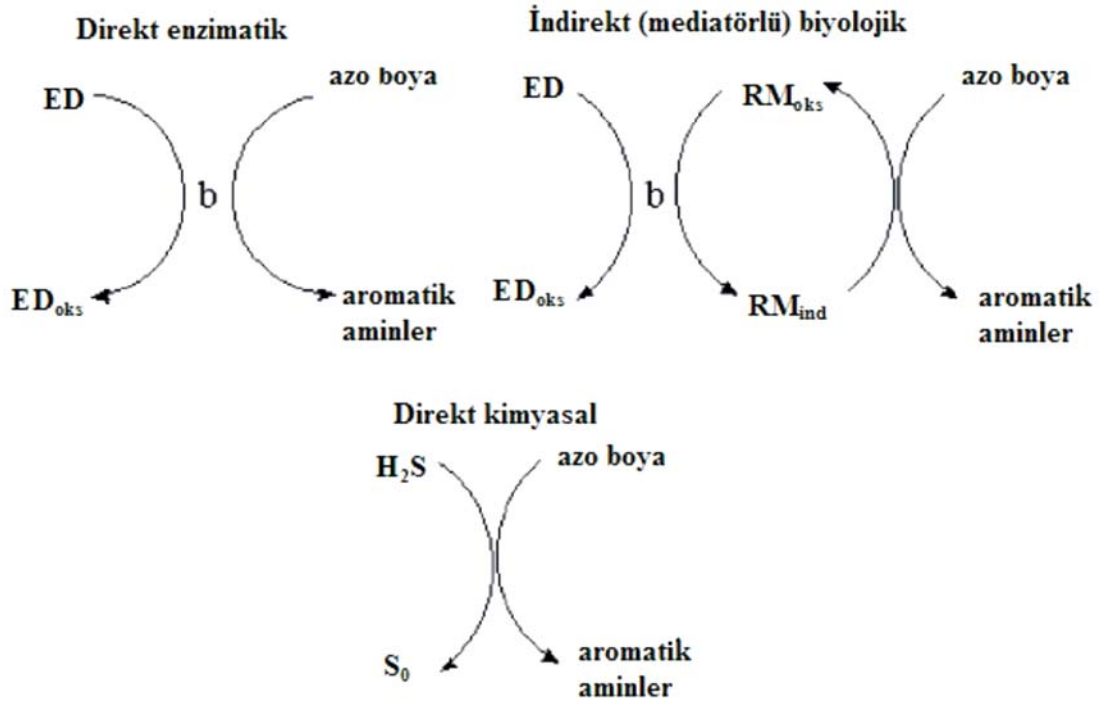
Genelde her bir tekniğin sınırlamaları vardır. Ayrıca tekniklerin tek başına uygulanması sonucunda tam bir renk giderimi elde edilememektedir. Yapılan uygulamalarda birkaç teknik bir arada kullanılmaktadır [14]. Son yıllarda pek çok çalışma atık sulardaki boyar maddenin biyolojik yıkımını ve biyosorpsiyonunu aerobik, anaerobik ve anaerobik/aerobik koşullarda yapabilen mikroorganizmalar üzerine odaklanmıştır.

Boyanın biyolojik olarak renginin giderimi, kromofor grubun canlı bir organizma tarafından yıkılması sonucu renkteki azalma veya yok olmasıdır. Boyanın biyolojik olarak yıkımı ise kromoforun yıkılması sonucu daha küçük moleküler ağırlıklı bileşiklerin oluşmasıdır. İdeal koşullarda, CO<sub>2</sub> ve su oluşmaktadır ki buna mineralizasyon denilmektedir. Biyolojik renk giderimi işleminde boyanın kromofor grubu yıkılırken karbon yapısının mineralizasyonu olmamaktadır. Fakat literatürde her iki terim de birbirinin yerine kullanılarak karışıklığa neden olmaktadır [63].

## **2.2. Anaerobik Sistemlerle Tekstil Boyar Maddelerinin ve Atık Sularının Renginin Giderimi**

Anaerobik arıtımda azo grubu içeren boyar maddelerin birincil yıkımı ve renginin giderimi azo bağlarının (-N=N-) indirgenmesi ile gerçekleşmektedir. Doğal bileşiklerde bulunan azo grubuna tek örnek 4,4'-dihidroksiazobenzendir. Endüstriyel olarak üretilen azo boyar maddelerin tümü ksenobiyotik bileşiklerdir [62]. Azo boyalarda bir azot atomu aromatik (fenol, naftalen) veya heterosiklik (pirazol) halkasına bağlanırken diğer azot atomu doymamış bileşiğe (alifatik, karbosiklik veya heterosiklik) bağlanmaktadır [63].

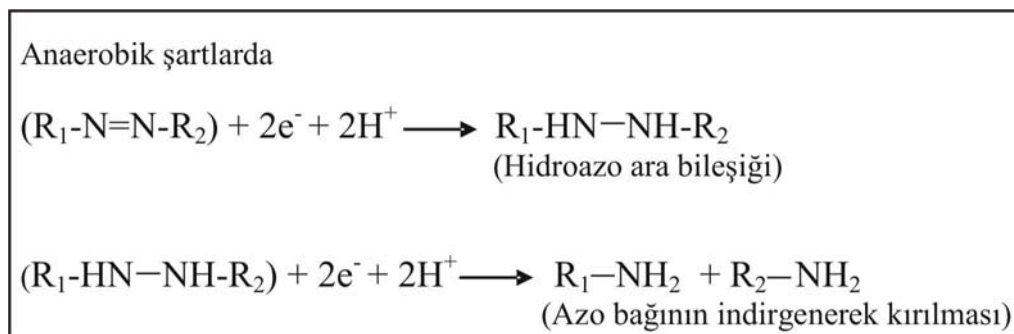
Azo boyaların indirgenme mekanizmasında aerobik ya da anaerobik koşullarda bakteriyel yıkımında ilk basamak olan -N=N- bağının indirgenmesi enzimler, düşük moleküler ağırlıklı redoks mediatörleri, kimyasal indirgenme ile olmaktadır (Şekil 2.1). Ayrıca reaksiyonlar intrasellüler veya ekstrasellüler olmaktadır [74].



**Şekil 2.1.** Anaerobik azo boya indirgenmesinin şematik olarak gösterimi  
 RM: Redoks mediatör, ED: Elektron donörü (vericisi), b: bakteri

**A) Direkt enzimatik azo boya indirgenmesi:** Organik substrat veya koenzimlerin oksidasyonu sonucu oluşan indirgeyici ajanlar enzim tarafından azo boyalara transfer edilmektedir. Spesifik olan enzimler sadece azo boya indirgenmesini gerçekleştirirken spesifik olmayanlar azo boya içeren bütün bileşiğin yıkımını gerçekleştirmektedir [14, 74].

Anaerobik koşullarda, azo boyalarının azo bağları dört elektron indirgenmesi ile kırılır ve aromatik aminler oluşur. İhtiyaç duyulan elektronlar elektron vericisi olan nişasta, sıvı yağ asitleri ve glukoz gibi karbon kaynaklarından elde edilir. Ayrıca anaerobik mikroorganizmalar içinde metanojenik ve asetojenik bakteriler, azo bağlarını yıkabilen tek indirgeyici enzim kofaktörlerine (F<sub>430</sub> ve B<sub>12</sub> vitamini) sahiptirler. Bu basamaklar boyar maddenin rengini giderebilmekte fakat azo bağı yıkılması sonucu açığa çıkan aromatik aminleri tamamen mineralize edememektedir [75,76].



**B) İndirekt (mediatörlü) biyolojik azo boya indirgenmesi:** Anaerobik koşullarda bakteriyal azo boya yıkımı redükte koenzimler (elektron vericisi olarak NADH ve NADPH) kullanılarak azoredüktazlar aracılığıyla azo bağların yıkılmasını içeren enzimatik biyotransformasyonla olmaktadır [77].

**C) Azo boyaların direkt kimyasal yolla yıkımı:** Azo boyaların yıkımı ditionit, ferrus demir gibi kimyasal ve sülfat gibi biyogenik indirgenicilerle olmaktadır. Boyalı atık sular genellikle yüksek konsantrasyonda sülfat içerirler. Sülfat, boya tanklarına dışardan ilave edildiği gibi boyama işlemleri sırasında indirgenmiş sülfür türlerinin oksidasyonu sonucu sülfid, hidrosülfid ve ditionit olarak açığa çıkmaktadır. Ayrıca sülfid, kükürdü indirgeyen bakteriler tarafından atık suların arıtımı sırasında anaerobik biyoreaktörlerde de üretilmektedir [14, 74, 78].

Anaerobik şartlarda azo boya yıkımı sonucu açığa çıkan aromatik aminler yine anaerobik şartlarda ileri bir yıkıma genellikle uğrayamamaktadır [62]. Birkaç basit aromatik aminin metajenik şartlarda yıkılabildiğine ilişkin çalışmalar bulunmaktadır. Yemashova vd. (2004) yaptığı çalışmada Asit Orange 6, 7 ve 52 boyalarının metanojenik şartlarda yıkımı yapılmıştır. Açığa çıkan aromatik aminlerin de kısmi mineralizasyonu aynı şartlarda gerçekleştirilmiştir [79, 80].

Anaerobik arıtımda kullanılmak üzere birçok reaktör tasarlanmıştır. Anaerobik karıştırmalı reaktörde, 3-8 bölmeden oluşan reaktörün içine sıvı üsten veya alttan verilerek akışkanlık sağlanmıştır. Bu reaktörün en önemli avantajı toksik sentetik boyar madde bileşikleri içeren atıkların arıtımını başarılı bir şekilde gerçekleştirebilmesidir. KOİ giderimi % 90, TOK giderimi % 70-80 olurken 100 gün boyunca alınan altı farklı yapıdaki boyar maddenin bulunduğu atık suyun rengi bu süreçte tamamen giderilmiştir [81].

Pilot fabrika ölçeğinde tasarlanmış yukarı doğru akışkan anaerobik çamur kaplı reaktör ve asidifikasyon tankından oluşan iki fazlı reaktörde hem gerçek atık suyun hem de üç farklı renkteki reaktif boyar maddeden hazırlanan sentetik atık suyun renk giderimi çalışmaları yapılmıştır. Renk giderimi çalışmaları ortama ek karbon kaynağı (nişasta) ilave edilerek ve ilave edilmeden gerçekleştirilmiştir. Ortama optimum karbon kaynağı ilave edildiğinde renk giderim yüzdelerinde artış tespit edilmiştir. Bu tarz yapılan uygulamaların sonuçlarının aksine sadece metan oluşturan bakterilerin renk gideriminden sorumlu olmadığı ayrıca asit oluşturan bakterilerin de bu olayda rol oynadığı görülmüştür. Ayrıca kükürdü indirgeyen bakterilerin sistemin karbon tüketimini artırdığını ve renk gideriminde önemli bir rol oynamadığı görülmüştür [82].

Sünger taşı (pumice, ponza) ile doldurulmuş akışkan yataklı reaktörde gerçek pamuklu tekstil atık suyu kullanılmıştır. Bu atık su pamuklu boyamada boyama kolaylıklarından dolayı sıkça tercih edilen reaktif azo grubu boyar maddeler içermektedir. Reaktör atık su ile doldurulduktan sonra farklı konsantrasyonlarda karbon kaynakları ortama eklenmiştir. Ortama eklenen karbon kaynaklarında dolayı ekstra KOİ yüklemesi olmasına rağmen KOİ % 82 ve BOİ % 94 oranında azalmış ve ayrıca % 59 oranında renk giderimi elde edilmiştir. Ortama ilave edilen karbon kaynakları miktarlarının artırılması renk giderimi yüzdesini etkilememiştir [83].

Türkiye’de yaygın olarak kullanılan Reaktif Turuncu 16 boyasını içeren sentetik atık suyun rengi PDW olarak adlandırılan fakültatif anaerobik bakteri karışımı ile giderilmiştir. Beslemeli kesikli reaktörde ortama boyalı atık dışında karbon kaynağı olarak 3 g/L maya özütü verildiğinde % 90 renk giderimi elde edilmiştir. Fakat KOİ önemli oranda değişmemiştir. İşlem sonrası ortamı havalandırarak bu problem giderilmeye çalışılmıştır [84].

Kapdan vd. (2003) [84] göre anaerobik sistemler, aerobik olanlarla kıyaslandığında, anaerobik olanların havalandırma istememesi, daha az çamur üretimi ve metan gazı üretimi gibi avantajları vardır. Fakat azo boyaların bakteriyal yıkımında boyanın hücre içine alınması gerekmektedir. Bu da bazı zorlukları beraberinde getirmektedir. Fungal yıkımda bu gibi sorunlarla karşılaşmamaktadır [85]. İşlem süresi açısından bakteriyal yıkım fungal yıkımdan daha hızlı olmaktadır. Fakat yaygın olarak kullanılan azo boyalar sitotoksik, mutajenik veya karsinojenik etkiler göstermemesine rağmen azoredüktazların azo bağlarını kırmaları sonucu açığa çıkan aromatik aminler insanlarda kanser ve bazı deney hayvanlarında tümör oluşumuna neden olmuştur [86]. Anaerobik renk gideriminin diğer bir sorunu da anaerobik yıkım ürünlerinin oksijene maruz kalmaları durumunda tekrar renklenmeleridir [87]. Reaktif vinil sulfon diazo C.I. Reaktif Siyah 5 boyası anaerobik şartlarda tamamen indirgenmiş ve *p*-ABHES ve TAHNDS metabolitleri oluşmuştur. Anaerobik reaktörde indirgenmiş durumda metabolitler renksiz haldeyken aerobik reaktörde ortama hava verildiğinde TAHNDS metaboliti kendiliğinden okside olmuştur. Bunun sonucunda spektrofotometrik analizde 595 nm’de Reaktif Siyah 5’e ait bir pik tespit edilememiştir Fakat Reaktif Siyah 5’e benzer geri renklenmeye neden olan bir pik elde edilmiştir [88]. Van der Zee vd. (2001) tarafından yapılan çalışmada anaerobik şartlarda, seçilen 20 azo boyanın rengi giderilmiştir. Ancak ortama hava verildiğinde Sarı 12, Direkt Sarı 50 ve Direkt Sarı 2 boyası hariç bütün rengi giderilmiş azo boya çözeltilerinde oksijene maruz

kalmaya dayalı olarak (otooksidasyon) renkli ürünler açığa çıkmıştır [89]. Sadece metanojik bakterilerle yapılan bir çalışmada farmakolojik azo boya olan azodisalislatın anaerobik ortamda tam olarak biyolojik yıkımı gerçekleştirilebilmiştir [90]. Ayrıca bazı çalışmalar anaerobik şartlar altında yapılan renk giderim işlemlerinin boyalı atık suyun yapısından etkilendiğini göstermektedir. Azo tipi boyalar biyolojik olarak yıkılmasına rağmen metal kompleks, antrakinin, indigo ve triazin grubu boyalar yıkılamamaktadır [91]. Bazı durumlarda da boyalı atık sular tek karbon kaynağı olarak kullanılmadığından ek karbon kaynaklarına da ihtiyaç duyulmaktadır [92, 93].

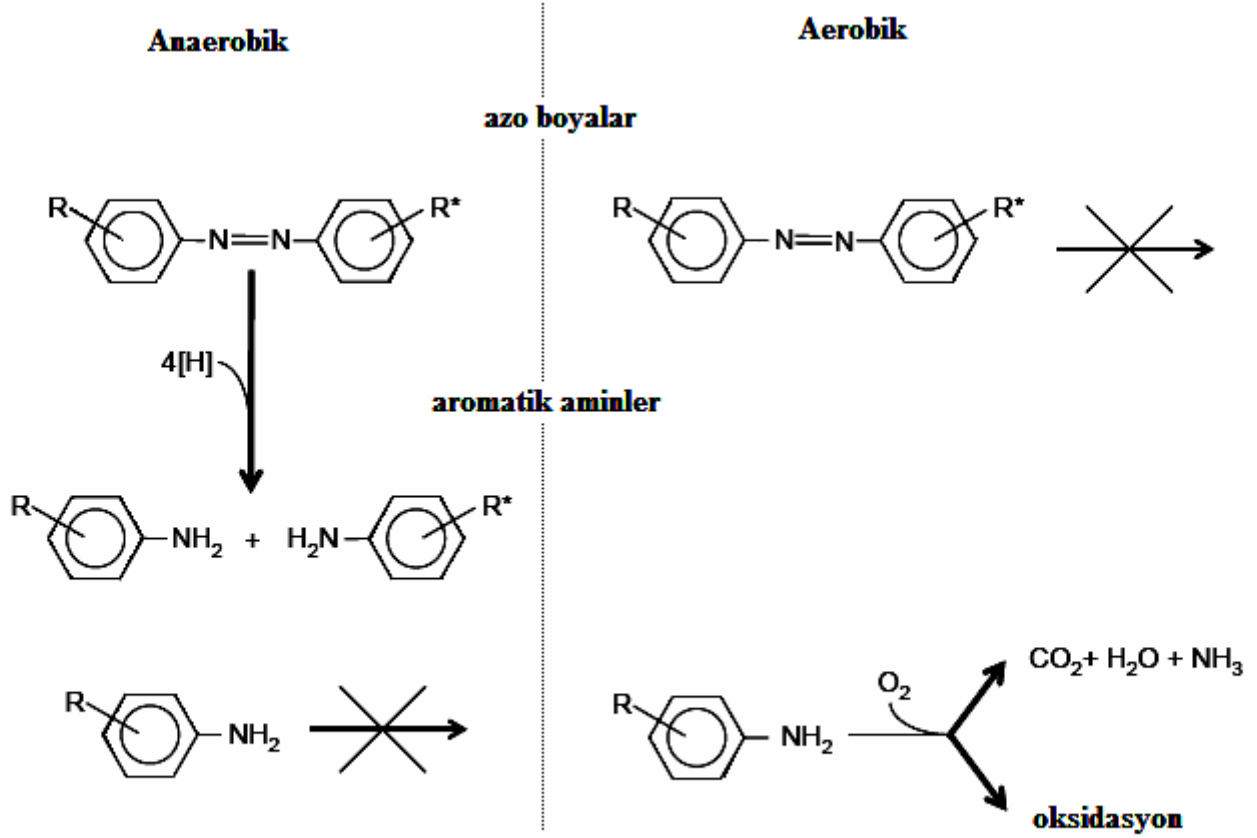
### **2.3. Anaerobik/Aerobik Sistemlerle Tekstil Boyar Maddelerinin ve Atık Sularının Renginin Giderimi**

Azo boyaların bakteriyal biyolojik yıkımı genellikle iki basamakta olur. Birinci basamakta, boyaların azo bağlarının kırılması sonucunda renksiz ama potansiyel olarak tehlikeli aromatik aminler açığa çıkmaktadır. İkinci basamakta aromatik aminlerin yıkımı gerçekleştirilmektedir. Azo boya indirgenmesi anaerobik koşullarda olurken aromatik aminlerin bakteriyal yıkımı aerobik koşullarda olmaktadır (Şekil 2.2). Anaerobik ve aerobik şartların birleştirildiği atık su arıtma sistemlerinde atık sudan azo boya uzaklaştırılması yapılmıştır. Azo boya içeren atık suların arıtımda birleşik, zincirleme ve entegre edilmiş anaerobik-aerobik biyoreaktörler kullanılan pek çok çalışma vardır [13].

Anaerobik/aerobik yıkımın ilk aşamasında anaerobik biyofiltre ile Dispers Mavi 19 boyası aminlere biyotransforme edilirken, 72 saatte % 95'den fazla renk giderimi elde edilmiştir. Açığa çıkan aminler, aerobik biyofiltre sisteminde 24 saatte % 65 oranında yıkılmıştır [94].

Reaktif Kırmızı 195 boyası Türk tekstil sanayinde sıkça kullanılan bir boyadır. Bu boyayı içeren sentetik atık suyun anaerobik-aerobik ardışık reaktör sisteminde arıtımı araştırılmıştır. Anaerobik reaktörde *Alcaligenes faecalis* ve *Commomonas acidourans* kültürlerinden oluşan ve PDW olarak adlandırılan anaerobik bakteri kültürü kullanılırken aerobik reaktörde aktif çamur kültürü kullanılmıştır. Her iki arıtımında da ortama karbon kaynağı olarak melas ilave edilmiştir. Atık suyun anaerobik reaktörde renginin giderimi, reaktörde kalma süresine bağlı olarak artmıştır. Anaerobik mikroorganizmalar yüksek boya konsantrasyonlarını tolere edebildiği fakat aerobik olanların tolere edemediği rapor edilmiştir. Bu muhtemelen yüksek boya

konsantrasyonun aerobik organizmalar üzerine toksik etkisinden dolayıdır. Anaerobik işlemden rengin % 85'i, aerobik arıtımda ise sadece % 15'i giderilmiştir. Toplam KOİ giderimi ise en yüksek % 88 olarak saptanmıştır [84].



**Şekil 2.2.** Azo boyaların anaerobik/ aerobik arıtımı ve aromatik aminlerin yıkımı

Reaktif boya içeren tekstil suyunun arıtımı için volkanik taşlarla doldurulmuş ardışık kesikli reaktör sisteminde anaerobik arıtım sonrası atık suyun spektrofotometrik analizinde aminlerin varlığına dayalı olarak yeni bir pik tespit edilmiş ve aerobik arıtım işlemini sonrası aminler yıkılmış ve ayrıca toksisite düşmüştür. Süreç sonunda renk % 96 oranında giderilmiştir [95].

Mono, di ve bakır kompleks vinilisulfon reaktif azo boyalardan oluşan suni tekstil atık suyunun rengi ve KOİ'sinin ardışık anaerobik ve aerobik reaktörde karışık bakteri kültürü ile giderimi çalışmasında azo boyaların rengi anaerobik koşullarda giderilirken açığa çıkan metabolitlerin biyolojik yıkımı gerçekleşmemiştir. Fakat bu metabolitlerin yıkımı aerobik arıtımda biyolojik yıkımla veya ootoksidasyonla olmuştur. Diazo boya olan Remazol Siyah B boyasının yıkımı monoazo boya olan Remazol



Brillant Turuncu 3R ve Remazol Brilliant Viyolet 5R'den daha yavaş olmuştur. Azo boyaların renginin giderimini boyanın moleküler ağırlığı, yan grupların varlığı, azo ve hidroksi gruplar arasındaki hidrojen bağları etkilemektedir [96].

Gerçek atık su kullanılan anaerobik reaktör çalışmasında PDW olarak adlandırılan fakültatif anaerobik bakteriler metal parçalara tutuklanmış ve ortama atık su dışında ek maddeler ilave edilmeden 24 saatte atık suyun renginin % 60'ı anaerobik arıtımda giderilmiştir. KOİ aerobik arıtımda daha fazla giderilirken, havalandırma süresi ihtiyacı da kısalmıştır [97].

Asidik yünlü boyama atık suyunun renginin giderimi yukarı akışkan anaerobik çamur reaktöründe ve aerobik karıştırmalı tank tipi reaktörde test edilmiş ve atık suya glukoz,  $\text{NaHCO}_3$  ve azo boyalar ilave edildikten sonra anaerobik arıtım gerçekleştirilmiştir. 17 saatlik uzun bir anaerobik inkübasyondan sonra renk % 81-96 ve KOİ % 51-84 oranında giderilmiştir. Atık suyun her iki reaktörde arıtımdan sonra en yüksek renk giderimi % 97 olurken KOİ en yüksek % 87 oranında giderilebilmiştir. Anaerobik basamakta üretilen aromatik aminler aerobik basamakta mineralize edilmiştir [98]. Aynı reaktör sistemi ile Direkt Kırmızı 28 boyasının da rengi giderilmiştir. Anaerobik arıtımında renk etkili bir şekilde giderilirken KOİ hem anaerobik hem de aerobik koşullarda giderilmiştir. Sistemden çıkan sular HPLC'de ve gaz kromatografisi-kütle spektrumunda analiz edilerek ortamda oluşan ara ürünler tespit edilmeye çalışılmış ve boyanın tamamen mineralize olduğu saptanmıştır. Yapılan farklı toksisite testlerine göre boyanın toksisitesinde belirgin azalmalar olduğu bildirilmiştir [99].

Hollanda'da 1999 yılında ilk kez bir tekstil fabrikasının boyama ve beyazlatma atık suyunu arıtmak için büyük ölçekli aerobik/anaerobik arıtma sistemi kurulmuştur. Bu süreçte rengin % 80-95'i giderilmiştir. Reaktif ve dispers boyalar içeren atık suyun rengi anaerobik olarak giderilirken vat, antrakinon ve indigoid boyalar içeren atık suyun rengi de esas olarak aerobik arıtımda giderilmiştir. Mikrotoks yöntemine göre ölçülen toksisite sonuçları göre anaerobik arıtımdan sonra aerobik arıtımda toksisite giderilebilmiştir. Boyanın renginin hem anaerobik (reaktif azo boyaların biyolojik indirgenmesi) hem de aerobik reaktörde (aromatik aminlerin mineralizasyonu) gerçekleştiği rapor edilmiştir [100].

Anaerobik/aerobik arıtımın bazı sınırlamaları vardır. Öncelikle anaerobik yıkım süreci daha yavaş olduğu için boyaların anaerobik yıkımı uzun sürede olmaktadır. Ayrıca anaerobik arıtımda yüksek miktarda biyokütleye ihtiyaç duyulmaktadır. Çünkü biyokütle miktarının az olduğu durumlarda daha düşük oranda renk giderimleri elde

edilmiştir. Azo boya indirgenmesi primer elektron kaynağına ihtiyaç duymaktadır. Bu elektron vericilerin (organik substratlar) konsantrasyonu ve tipi de önemlidir. Anaerobik arıtım sonrası oluşan aromatik aminlerin mineralizasyonu genellikle anaerobik şartlarda gerçekleştirilememektedir ve aerobik arıtımda aromatik aminlerin tümü de yıkılamamaktadır. Özellikle Reaktif Siyah 5 ve Reaktif Viyolet 5'in yıkım ürünlerinin aerobik olarak yıkılamadığı HPLC ölçümlerinde ortaya çıkmıştır. Aromatik aminlerin aerobik yıkımı sadece özgül mikroorganizmalarla mümkündür. Aromatik aminlerin otooksidasyonu çoğu durumda renkte artışa neden olmuştur [13,14].

## **2.4. Aerobik Sistemlerle Tekstil Boyar Maddelerinin ve Atık Sularının Renginin Giderimi**

### **2.4.1. Bakterilerle yürütülen çalışmalar**

Santos vd. [7] tarafından bildirildiğine göre aromatik bileşikler hem aerobik hem de anaerobik koşullarda biyolojik yıkıma uğrayabilirler [101]. Aerobik koşullarda mono- ve di-oksijenaz enzimleri O<sub>2</sub>'den gelen oksijen atomlarının organik bileşiklerin aromatik halkası ile birleşmesini katalizleyerek halkanın kırılmasını sağlar. Birçok monooksijenazlarda elektron vericisi NADH veya NAD(P)H'dir [102]. Azo redüktaz olarak adlandırılan oksijen katalizli enzimler varlığında bazı aerobik bakteriler azo bileşiklerin indirgenmesini sağlarlar. İzole edilen pek çok bakteri soyu azo boyalarının rengini aerobik koşullarda giderebilmektedir. Fakat birçok tür, boya üremeleri sırasında substrat olarak kullanmadığından ek organik karbon kaynaklarına ihtiyaç duymaktadır [62]. *P. aeuriginosa* ortama glukoz ilave edildiğinde Denizci Mavisı S5R boyasının ve birçok azo boyasının rengini gidermiştir [103]. Pandey vd. [74] tarafından bildirildiğine göre sadece birkaç bakteri, azo bileşiklerini tek karbon kaynağı olarak kullanılıp üreyebilmektedir. Bu bakteriler -N=N- bağlarını indirgemekte ve açığa çıkan aminleri karbon ve enerji kaynağı olarak kullanmaktadırlar. Bu mikroorganizmalar substratlarına karşı oldukça özgüdürler. Örneğin *Xenophilus azovorans* (*Pseudomonas* KF46) ve *Pigmentiphaga kullae* K24 sırasıyla karboksitüruncu I ve karboksitüruncu II bulunan ortamlarda aerobik olarak üreyebilmişlerdir. Bu bakteriler sülfonat boyaların yapısal benzeri olan Asit Turuncu 20 (Turuncu I) bulunan ortamda ise üreyememişlerdir [104,105]. *Hydrogenophaga palleronii* S1 soyu 4-karboksi-4'-sulfoazobenzeni tek karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılıp

üreyebilmiştir. Bu soyun 4-aminobenzenesulfonat içeren ortamda uzun süre adaptasyonundan sonra 4-karboksi-4'-sulfoazobenzeni indirgeyen ve iki amino metaboliti mineralize edebilen yeni bir soyu (S5) izole edilmiştir [106]. Zorunlu aerobik *Sphingomonas* sp. 1CX soyu sadece AO7 azo boyasının bulunduğu ortamda üreyebilmekte ve boyayı karbon, enerji ve azot kaynağı olarak kullanabilmektedir. Bu soy AO7'nin renk giderimini sonucu oluşan aminlerden sadece birini yıkabilmektedir (1-amino 2-naftol). 1-amino-2-naftol veya 2-amino-1-naftol içeren boyaların rengini giderebilirken bu yapıyı taşımayan boyaların rengini giderememektedir [107]. Metil Kırmızıyı karbon kaynağı olarak kullanabilen dört bakteri türü 2004 yılında izole edilmiştir. Bu türlerden ikisi *Vibrio logei* ve *Pseudomonas nitroreducens* olarak tanımlanmıştır. Kültür ortamında yıkım sonrası aromatik aminlere rastlanmamıştır [108]. Rai vd. (2007) [109] tarafından bildirildiğine göre trifenilmetan grubu boyaların rengini giderebilen bazı türler toprak ve su örneklerinden izole edilmiştir ve bu izolatlardan *Bacillus* sp. MTCC B0006 400 mg/L Malaşit yeşili, Kristal viyola ve Etil viyole boyalarının rengini giderebilmiştir. Boyaların toksisiteleri araştırıldığında Kristal viyolanın toksik olduğu tespit edilmiştir. Fakat *Bacillus* sp. ile muamele sonrası toksisiteleri azalmıştır [110].

Azo boyaları karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilen az sayıda aerobik bakteri izole edilmiştir. Bu mikroorganizmaların da substrat özgülükleri çok yüksektir ve ayrıca substrat çeşitlilikleri sınırlıdır. Aromatik aminlerin yıkımı kimyasal yapılarına ve çevre şartlarına bağlı olmaktadır. Bu durum anaerobik bakteriler için de geçerlidir [74]. Mevcut arıtma yöntemlerinin sınırlamaları ve olumsuzlukları araştırmacıları farklı yöntemler ve mikroorganizmalara yönlendirmiştir.

#### **2.4.2. Beyaz çürükçül funguslarla yürütülen çalışmalar**

Beyaz çürükçül fungusların aromatik bileşikler yıkımı kometabolik bir işlemdir ve ek karbon kaynaklarına ihtiyaç duyulmaktadır. Funguslar, boyanın rengini sekonder metabolizmada gidermekte ve üremede (primer fazda) boyalar primer karbon kaynağı olarak kullanılamamaktadır. Renk giderimini primer karbon kaynağı olarak glukoz gibi kaynaklar indüklemekte ve uygulamalarda lignosellülozik materyaller pahalı olmayan kosubstratlar olarak kullanılabilir [37, 111].

Beyaz çürükçül fungusların azo boyaları indirgeme kapasitelerinin peroksidaz ve fenoloksidaz gibi ekzoenzimlerle ilişkili olduğu da belirtilmiştir. Peroksidazlar, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

varlığında reaksiyonları katalizleyen hemoproteinlerdir [112]. Lignin (LiP) ve mangan peroksidaz (MnP) enzimlerinin, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oksidasyonlarıyla başlayan benzer reaksiyon mekanizmaları vardır. Daha sonra azo boyalar gibi substratlara iki elektron transferi sonucunda enzimler indirgenir ve eski hallerine dönerler [62]. Lignin peroksidaz hem fenolik hem de fenolik olmayan aromatik bileşikleri yıkmasına rağmen mangan peroksidaz fenolik maddeleri okside edebilmek için Mn<sup>2+</sup>'yi Mn<sup>3+</sup>'e dönüştürmesi gerekmektedir. Fenoloksidazlar kofaktör kullanmadan fenolik maddelerin ve aromatik bileşiklerin oksidasyonunu katalizleyen oksidoredüktazlardır. Lakkaz ve tirozinaz olmak üzere iki gruba ayrılırlar [112]. Lakkaz, elektron vericileri açısından geniş bir substrat özgülüğü (örneğin boyalar) olan ve bakır içeren enzimdir [113]. *T. versicolor*, *Polyporus pinisitus* ve *Myceliophthora thermophila* antrakinin ve indigoid boyaların rengini yüksek oranda gidermelerine rağmen Kırmızı 29 (azo boya) lakkaz için iyi bir substrat olamamıştır. Chivukula ve Renganathan, *Pyricularia oryzae* lakkazının substratı oksitleyebilmesi için substratın elektron açısından zengin olmasının gerekli olduğunu belirtmiştir [114]. Fu vd. (2001) [19] belirttiğine göre canlı fungus hücreleri için esas mekanizma biyolojik yıkımdır. Fakat renk gideriminde rol alan funguslar açısından etkili olan enzim yada enzimler farklılıklar göstermektedir. *Phanerochaete chrysosporium* için LiP boyaların renginin gideriminden sorumlu enzim olabilir [115]. Wong vd. (1999) *Trametes versicolor*'un ekstraselüler enzimler içinde en fazla lakkaz sentezlediğini ve antrakinin, azo ve indigo boyaların renginin gideriminde esas yıkımın lakkaz tarafından gerçekleştiğini belirtmiştir [116]. Yesilada ve Özcan (1998) *T. versicolor* ham kültür filtratı ile turuncu II boyasının rengini gidermiştir. Kültür filtratının alındığı periyotla renk giderimi aktivitesi ilişkisinin araştırıldığı çalışmada en yüksek renk giderimi sekonder fazda olurken primer fazda da belirli düzeyde renk giderimi olmuştur. Reaksiyon karışımına MnSO<sub>4</sub>, veratril alkol ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenerek, bu üç maddenin renk giderim aktivitesi üzerine etkileri test edilmiştir. Katalaz eklenmesi sonucu renk giderim yeteneğinin tümüyle sonlanmaması H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e bağımlı olan ve olmayan enzimlerin renk gideriminde rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca ham kültür filtratına enzim inhibitörü siyanid ve asit eklendiğinde ve ısıtma işlemi yapıldığında renk giderim yeteneği inhibe olmuştur. Renk gideriminin pH değişikliğine bağlı olmadığı da rapor edilmiştir [117]. Potansiyel lakkaz üreticisi olarak bilinen *Funalia trogii* ile yapılan renk giderimi çalışmalarında ise lakkaz enzimi ve MnP aktiviteleri tespit edilmiştir [118, 119]. Diğer funguslarla yapılan pek çok çalışma bulunmaktadır. Her bir çalışmada fungusa bağlı olarak farklı enzimler aktiviteleri ile ön plana

çıkılmaktadır. Fakat 2007 yılına kadar olan çalışmalar ışığı altında funguslarla yapılan biyolojik yıkım mekanizması henüz tam olarak aydınlanamamıştır. Bu tarz çalışma yapan grupların üzerinde durdukları mekanizmalara göre enzimler çeşitlilik göstermektedir.

Funguslar tarafından gerçekleştirilen renk giderimi işlemleri birçok faktöre bağlı olmaktadır. Bu faktörler genel olarak fungusun üreme koşulları ve boyalı atık suyun veya boyanın özelliği olarak karşımıza çıkmaktadır. Funguslar karbon, azot ve çeşitli besinlerin olduğu ortamlarda üreyebilmektedir. Renk giderim işlemlerinde karbon kaynakları ko-substrat olarak kullanılmış ve kullanılan karbon kaynaklarının renk giderimini nasıl etkilediği araştırılmıştır. Farklı çalışmalarda glukoz, nişasta ve maltoz iyi birer karbon kaynakları olurken sukroz, laktoz, ksiloz ve metanolda aynı etki görülmemiştir. Swamy ve Ramsay vd. (1999) renk giderimi için 0.13 g/L'den fazla glukozun ortama ilave edilmesinin gerekli olduğunu belirtmiştir [41]. Azot kaynağı olarak da çeşitli inorganik ve organik azot kaynaklarının test edildiği çalışmalarda, azot kaynağının renk giderimi üzerindeki etkisiyle birlikte azot kaynağının miktarı yani ortamının azot bakımından sınırlı ya da zengin oluşunun renk giderimi ve enzim sentezi üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. pH, fungal üreme için oldukça önemlidir. Funguslar düşük pH'da (pH 4-5) üreyebilmektedir. Bu yüzden yapılan birçok renk giderimi çalışmalarında boyalı test ortamlarına pH'yı dengeleyici kimyasallar ilave edilmiştir. Ortamın pH'sını dengelemeden yapılan çalışmalar da bulunmaktadır. Ek kimyasal madde kullanılmaması açısından bu çalışmalar oldukça önemli olmaktadır. Astrazon Kırmızı FBL boyasının rengi kullanılan tüm başlangıç pH'sı değerlerinde (pH 6-11) kolayca giderilmiştir [120]. Renk gideriminde ve enzim sentezinde statik ve çalkamalı inkübasyonun etkisi de araştırılmıştır. Yeşilada vd. (1995) zeytin fabrikası atık suyunun renk gideriminde statik ve çalkamalı kültürler arasında fark olmadığını belirtirken [121], boya giderim çalışmalarında çalkamalı koşullarda Turuncu II boyasının rengi F29 peletleri ile daha iyi giderilmiştir [122]. Poli R-478 boyasının renginin giderimi üzerine çalkamalı koşullar daha etkili olmuştur [123]. *T. versicolor* ve *Bjerkandra* sp. BO55 Amaranth boyasının rengini statik ortamda % 5-8 oranında giderirken çalkamalı ortamda renginin tamamı 24 saatte giderilmiştir [68]. Farklı funguslar farklı optimal üreme sıcaklıklarına sahiptir. Birçoğu 25-35°C'de üremektedir. Ayrıca fungusların pelet ya da misel morfolojisi de genetik faktörlerden ve fiziksel kültür koşullarından etkilenmektedir. İnkübasyon süresi de önemli olmaktadır. Renk gideriminde boyanın sınıfının ve kimyasal yapısının etkisi ile ilgili olarak iki farklı

görüş bulunmaktadır. Bazı araştırmacılar boyanın özelliklerinin renk giderimini doğrudan etkilediğini belirtirken bazıları da renk giderimi ile boya yapısı arasında doğrudan bir ilişki bulamamıştır. Fungusların renk giderimini en iyi şekilde gerçekleştirebilmesi için en uygun koşullar saptanmalıdır [19, 124]. Renk giderimi için en uygun koşulların saptanmasını amaçlayan birçok çalışma vardır.

Düşük ve yüksek glukoz ve  $\text{NH}_4^+$  konsantrasyonlarının hem fungus peletlerinin üremesi hem de renk giderimi işlemlerindeki rolü ile ilgili pek çok araştırma yapılmıştır. *Trametes versicolor* peletleri kullanılarak tek bir boyanın ve birçok boyanın karışımından oluşan atık suyun rengi ortama farklı miktarlarda glukoz ve amonyum tartarat ilave edilerek giderilmiştir. Kesikli işlemde peletlerin bulunduğu ortama farklı zamanlarda 14 kez 50 ppm Amaranth Mavi boyası ilave edilmiş ve boyanın rengi giderilmiştir. Boya ilk ilave edildiğinde yaklaşık 24 saatlik bir lag fazından sonra rengin yalnızca % 35'i giderilirken sonraki 24 saatte kalan boyanın rengi hızla giderilmiştir. 15. günde başlangıçta ilave edilen glukoz tükendiği için hem renk giderimi yüzdesi azalmış hem de süresi uzamıştır. Ortama tekrar 5-10 g/L glukoz ilave edildiğinde renk giderimi tekrar hızlanmıştır. Fakat 25. günde glukoz miktarı yeterli olmasına rağmen renk giderimi yüzdesi düşmüştür. Bu düşüşün, ortamdaki diğer kaynakların ve eser elementlerin tükenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu düşüşün nedeni pH değişimi değildir. Ortama sürekli glukoz ilave edildiği durumda daha uzun süre yüksek renk giderimleri elde edilmiştir. Sürekli glukoz ilave edilen ortamlardaki toplam renk giderimi yüzdeleri sürekli glukoz ilave edilmeyenlere oranla iki kat daha yüksek olmuştur. Fakat renk giderimi karbon kaynağı sınırlaması ile düzenlenmemiştir. Renk giderimi için düşük miktarlarda (0.1-0.3 g/L) glukoz ilavesi yeterli olmuş ve glukoz olan gereksinimin, metabolik aktiviteyi hızlandırmaktan ziyade renk giderimi süresi ya da hızı ile ilişkili olduğu ifade edilmiştir. Azotça zengin ve sınırlı ortamlara 50 ppm Amaranth Mavisi boyası ilave edildiğinde glukoz ilave edilen ortamda olduğu gibi ancak 48 saatte tam renk giderimi elde edilirken 8. günde fazla azotun renk giderimi üzerindeki inhibisyon etkisi ortaya çıkmıştır. Çünkü renk giderimi yüzdesi sadece % 27 olmuştur. Farklı boya karışımlarından oluşan atık suyun rengi de azot sınırlı ortamda hızla giderilirken azot miktarı on kat artırıldığında renk giderimi gerçekleştirilememiştir. Azot sınırlamasına olan gereksinimin renk gideriminin sekonder metabolizmada gerçekleştiğini göstergesi olduğu belirtilmiştir. Çünkü ortamda yeterli miktarda glukoz olmasına rağmen azotça zengin ortamlarda renk giderimi inhibe

olmuştur. Buna bağlı olarak renk gideriminden sorumlu enzimlerin sentezinde azot sınırlamasının anahtar rol oynadığı belirtilmiştir [41].

Shahvali vd. *Phanerochaete chrysosporium* peletleri kullanılarak azot ve redükte şeker içeren atık suyun rengini 28 saatte, % 10'luk fungus inokulasyonu ile, 35°C'de, ortam pH'sı 3 olduğunda % 96 oranında gidermiştir. Test ortamına % 0.3 oranında glukoz ilave edildiğinde renk giderimi yüzdesi artmış ve atık su içindeki azot miktarı yeterli olduğundan ek azot kaynaklarına ihtiyaç duyulmadan yüksek renk giderimleri elde edilmiştir. Yüksek miktarda azot bulunduğu durumlarda azotun olumsuz etkileri şöyle belirtilmiştir: (I) azot renk giderimi için gerekli olan substratların hızlı tükenmesine sebep olmaktadır ve (II) azot boya moleküllerine bağlanabilmektedir. Ortamın havalandırması arttıkça renk giderimi de artmaktadır [125].

Azo, antrakınon, thiazin ve vat boylarının renk gideriminde *Phanerochaete chrysosporium* peletleri kullanıldığında en iyi renk giderimi pH 4-5'de olmuştur. pH 4'ün altında ve pH 5'in üstünde kullanılan boyaların özelliklerine bağlı olarak renk giderimi yüzdeleri azalmıştır. Bu sonuca bağlı olarak *Phanerochaete chrysosporium*'un optimum pH'sının kullanılan substratın yapısına bağlı olduğu belirtilmiştir. Renk giderimi için optimum sıcaklık 35°C olarak tespit edilmiş ve test ortamına 5 g/L glukoz ilave edildiğinde renk giderimi artarken, 5 mg/L glukoz miktarının üzerinde glukoz ilave edildiğinde renk giderimi verimi azalırken fungus üremesi artmıştır. Test ortamına azot ilave edilmeden elde edilen renk giderimi % 45 olurken, ortama 0.05 g/L amonyum klorit ilave edildiğinde renk giderimi % 96 olmuştur. Optimum değerden fazla azot ilave edildiğinde renk giderimi azalmıştır. Bu azalışın ortama ilave edilen fazla azottan ve boya yıkımı sırasında açığa çıkan boyada mevcut olan azottan kaynaklandığı belirtilmiştir. Renk giderimi esnasında yüksek oranda LiP ve MnP aktiviteleri tespit edilirken çok düşük seviyelerde lakkaz aktivitesi tespit edilmiştir. Bu sonucu bağlı olarak renk giderim işlemlerinde LiP ve MnP enzimlerinin renk gideriminden sorumlu oldukları belirtilmiştir [126].

Reaktif Siyah 5 boyasının rengi *Funalia trogii* tarafından giderildiğinde en iyi renk giderimi yüzdeleri 28°C'de ve başlangıç pH'sı 6.5 olduğunda elde edilmiştir. Farklı karbon (fruktoz, gliserol ve glukoz) ve azot (pepton, maya özütü ve amonyum tartarat) kaynakları ayrı ayrı kullanıldığı durumlarda renk giderimi yüzdeleri % 70'nin üzerinde olmuştur. Sonuçlara göre en yüksek renk giderimi fruktoz, pepton ve Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>'ün ilave edildiği ortamlarda tespit edilmiştir. Daha sonra tespit edilen azot ve karbon kaynağının ve fosfat tuzunun beraber kullanıldığı ortamda renk giderimi 250

mg/L boya kullanıldığında % 93 olurken, 350 mg/L boya kullanıldığında % 96 olmuştur. Farklı ortamlardaki renk giderim yüzdeleri Latin-square yöntemine göre hesaplanmıştır. Optimum koşullarda yapılan kesikli işlemlerde kontrol grubuna göre renk giderimi hem daha yüksek hem de daha hızlı olmuştur. Lakkaz aktivitesi kontrol grubuna göre optimum ortamda daha yüksek olurken 7 günlük kesikli işlemde optimum ortamda 4. günde en yüksek olmuştur. Pelet boyutu kontrol grubunda hızla atarken optimum ortamda artış daha yavaş olmuştur [119].

Türkiye’de pamuklu boyamada sıkça kullanılan Reaktif fitalosiyenin (Everzol Turkuaz Mavi G) boyasının rengi *Coriolus versicolor* MUCL ile 28°C’de ve çalkalamalı koşullarda giderilmiştir. Kültürler her 3 dakikada bir saf oksijenle oksijenlenmiştir. Glukoz ve üre içeren ve pH’sı 4.5 olan besiyerinde en yüksek renk giderimi yüzdeleri elde edilmiştir. Denenen farklı birçok karbon (melas, fruktoz, nişasta ve glukoz) ve azot kaynakları (amonyum tuzları ve üre) içinde glukoz (5 g/L) ve üre (0.036g/L) ortama ilave edildiğinde daha iyi renk giderimi elde edilmiştir. Daha ucuz karbon kaynağı olan melas ortama ilave edildiğinde sadece % 14 oranında renk giderimi elde edilmiş ve yüksek toplam karbon/azot oranı (TOC/N >20) veya düşük azot konsantrasyonu renk giderimi için daha etkili olmuştur. Boya konsantrasyonunun 500 mg/L’den düşük olduğunda boyanın rengi tamamen giderilirken yüksek olduğunda kısmi renk giderimleri elde edilmiştir. Boyanın % 20’sinden azının fungus yüzeyine adsorbe olduğu rapor edilmiştir [127]. Melas içeren ortamlarda üreyen *Candida tropicalis* hücreleri yüksek oranda reaktif boya birikimi yapmıştır [30].

Altı farklı boyanın karışımı sonucu son konsantrasyon 100 mg/L olacak şekilde hazırlanan suni tekstil atık suyunun renginin *Bjerkandera adusta* ve *Phlebia tremellosa* ile gideriminde azotça zengin ve sınırlı ortamlar test edilmiş ve bu çalışmada ortama farklı miktarlarda pepton ilave edilmiştir. Azotça zengin ortamda en yüksek renk giderimi yüzdeleri sırasıyla 7. günde % 85 ve 9. günde % 79 olmuştur. Lakkaz aktiviteleri de *Bjerkandera adusta* için 9. günde, *Phlebia tremellosa* için 11. günde en yüksek olmuştur. Azotça sınırlı ortamda en yüksek renk giderimi yüzdeleri sırasıyla 9. günde % 85, 11. günde % 74 olarak bulunmuş ve her iki ortam için renk giderimi yüzdeleri kıyaslandığında benzer sonuçlar alınmasına rağmen azot ilavesi renk giderim süresini kısaltmıştır. Ortamlar, lakkaz enzim aktivitesi açısından kıyaslandığında enzim aktivitesi azotça zengin ortamda çok daha yüksek olmuş ve azotça zengin ortamda daha erken safhada lakkaz enzimi üretilmeye başlanmıştır. Azotça zengin ortamda boya yıkımı için lag fazı, fermentasyonun başlangıcında oluşurken, azotça sınırlı ortamda 1-5



günlük uzun bir lag fazı iki fungus için de gözlenmiş ve lag fazından sonra boyaların çoğunluğu yıkılmıştır [128].

Boyaların kimyasal yapıları renk giderimini etkilemektedir. Amaranth (monoazo), Remazol Siyah B (reaktif diazo) ve Remazol Brilliant Mavi R (reaktif antrakinon), *Phanerochaete chrysosporium*, *Bjerkandera* sp. BOS55 ve *Trametes versicolor* tarafından hızlı bir şekilde yıkılırken Tropaeolin O (monoazo), Remazol Turuncu (reaktif monoazo) ve Reaktif Mavi 15 (reaktif fitalosiyenin) boyalarının *Trametes versicolor* ile giderimi için uzun süre gerekmektedir. *Phanerochaete chrysosporium* ve *Bjerkandera* sp. BOS55. bu boyaları yıkamamıştır. Reaktif Mavi boyasının renginin yavaş giderilmesinin kompleks fitalosiyenin kromofor yapısından kaynaklandığı belirtilirken diğer azo boyalarının renginin neden giderilemediği veya neden yavaş giderim olduğu açıklanamamıştır. Ayrıca en küçük boya olan Tropaeolin O, daha büyük (kompleks) boyalardan (Amaranth ve Remazol Siyah) daha yavaş yıkılmıştır. Ayrıca daha büyük ve kompleks moleküler yapıya sahip olan Remazol Turuncu boyasının rengi Tropaeolin'den daha hızlı ve yüksek oranda giderilmiştir. Bu çalışmada boyaların renginin gideriminin uzun sürede olmasının veya yıkılamamalarının sadece boyanın yapısının kompleksliğine bağlı olmadığı belirtilmiştir. Azo boyalarının renginin giderimi öncelikle azo bağlarının yıkımına bağlı olmaktadır. Azo bağı yıkımının, azo bağının sayısına ve aromatik bölgedeki fonksiyonel grupların yerleşimine bağlı olarak değişiklik gösterdiği ifade edilmiştir. Azo boyaların ileri yıkımında, fenolik, amino, asetamido ve 2 metoksifenol gibi fonksiyonel grup içeren aromatik bağların kırılması da gerçekleşmektedir. Sonuçta boyaların renginin gideriminin ve/veya yıkımının birçok faktöre bağlı olabileceği bildirilmiştir [68].

Sentezlenen sekiz farklı azo boyanın *Phanerochaete chrysosporium* ile renginin gideriminde ön üreme koşullarının, glukozun ve boyanın kimyasal yapısının renk giderimi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Tekstil azo boyalarının sentezinde, 2-metoksifenol (guaiakol) ve 2,6-dimetoksifenol (şiringol) gibi beyaz çürükçül funguslar tarafından parçalanabilen diazo bileşikler olarak kullanılan farklı aminobenzoik ve aminosülfonik asitler kullanılmıştır. *P. chrysosporium* ilk olarak öncül üreme ortamı olarak adlandırılan ve 50 mg/L boya içeren katı adaptasyon ortamlarına ekilmiş ve 7 gün 30°C'de inkübe edilmiştir. Ayrıca boya içermeyen farklı katı ortamlarda da fungus üretilmiş ve farklı katı ortamlardan alınan kültürler boyalı test ortamlarına inoküle edilmiştir. 28 günlük inkübasyonda en iyi renk giderimi boyalı katı ortamdan alınan fungusla olmuştur (14. günde % 83). Sıvı ortamda azo boyaların biyolojik yıkımı için

ortama ek karbon kaynağı ilave edilmiş ve 5 g/L sukroz ilave edilen ortamlarda en yüksek renk giderimi elde edilmiştir. İlk 7 günlük inkübasyonda biyokütle artışı görülürken sukroz tamamen tüketilmiştir. Sülfonik grup içeren boyalı ortamlarda ön üremeye tabi tutulan *P. chrysosporium*, sülfonik grup içeren boyaları en yüksek oranda yıkmıştır. Bu sonucun, fungusun kometabolitik aktivitesinden dolayı meydana geldiği ileri sürülmüştür [129]. Adosinda vd. (2003) sentezledikleri şiringol türevi boyalardan oluşan karışımın rengini *Trametes versicolor* ile gidermişler ve biyoteknolojik işlemde sonra GC-MS analizlerinde 3-hidroksibenzoikasit-TMS (trimetilsilil ester yada eteri) türevleri saptamışlardır. Bu bileşikler kateşol türevi olup metabolik yollarda kullanılabilme olasılığı vardır. Bu tarz çalışmalar ileride mikroorganizmalar tarafından yıkılabilen ve metabolik yollarda kullanılabilen çevreye dost tekstil boyalarının sentezine yönelik çalışmalara da öncülük edecektir [130].

Peynir altı suyu (PAS) peynir üretimi sırasında yan ürün olarak açığa çıkmaktadır. Her bir kilogram peynir üretiminde yaklaşık 9 kg peynir altı suyu açığa çıkmaktadır ve yüksek miktarda kimyasal oksijen isteminden dolayı peynir altı suyu çevresel kirletici durumundadır. Fakat günümüzde peynir altı suyu zengin içeriğinden dolayı atık su olmaktan çıkıp doğrudan hayvan yemlerine ve birçok gıda maddelerine katkı maddesi olarak ilave edilmekte veya laktoz şekeri ve protein kaynağı olarak kullanılmaktadır. Yine de büyük bir kısmı atık su durumundadır. Tipik bir peynir altı suyu yaklaşık % 5-6 laktoz, % 0.8-1 protein, % 0.8 mineraller, % 1 tuz, % 0.8-1 laktik asit, % 0.06 yağ ve az miktarda vitamin içerir [131]. Tekrarlı kesikli işlemlerde *Funalia trogii* peletleri ile Astrazon mavi boyasının renginin gideriminde ortama peynir altı suyu (% 20 v/v) ilave edildiğinde peletlerin tekrarlı kullanım sayısı 10, renk giderimi yüzdesi % 85 ve üzerinde olurken ortama sadece glukoz ilave edildiğinde peletlerin 7. kullanımından sonra renk giderimi hızla düşüp % 33 olmuştur. Kültür ortamına 264 mg/L Astrazon kırmızısı ve peynir altı suyu (% 20 v/v) ilave edildiğinde, peletlerin 10 defa tekrarlı kullanımı sonucu elde edilen renk giderimi % 95 ve üzerinde olurken ortama ilave edilen PAS miktarı iki katına çıkarıldığında bu oran % 99 olmuştur [132,133]. Aksu vd. (2007) Remazol Siyah B boyasının renginin *Trametes versicolor* ile giderildiği çalışmada renk giderimi ortamına ek karbon ve azot kaynağı olarak peynir altı suyu (% 29 v/v) ilave etmiş ve peynir altı suyu içeren ortamlarda diğer ek maddeler ilave edilen ortamlara göre daha fazla renk giderimi elde edilmiştir [134]. Melas, sukroz üretimi sırasında şeker kamışı veya pancar suyunun buharlaştırılması, kristalleştirilmesi ve santrifüjü sonucu açığa çıkan yoğunlaştırılmış yan üründür.

Pancardan elde edilen melas % 48 toplam şeker, % 6 ham protein, % 0.2 kalsiyum, % 0.03 fosfor, % 4.7 potasyum, % 0.1 sodyum, % 0.5 kükürt ve vitaminler (biyotin, riboflavin vd.) içermektedir [135].

Fungusların renk giderim mekanizmalarının aydınlatılmasına yönelik çalışmalarda renk giderimi ve enzim ilişkisi de tartışılmıştır. *Trametes versicolor* ATCC425 peletleri, lakkaz üretebilen ortam içeren hava üfleli akışkan yataklı biyoreaktörde metal kompleks Gri Lanaset G boyasının renginin gideriminde kullanılmıştır. Boya yıkımı üzerine enzimin etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, fungus peletleri ile yürütülen kesikli işlemde başlangıç boya konsantrasyonu 150 mg/L olduğunda renk giderimi % 90'dan fazla olurken, doğrudan enzim kullanılan in vitro çalışmalarda renk giderimi % 35 olmuştur. Başlangıçta renk giderimi adsorpsiyon şeklinde olmasına rağmen işlem sonucunda biyokütle ve kültür sıvısı renksiz olmuştur. *T. versicolor* peletlerinin aynı boyanın biyolojik yıkımındaki ve adsorpsiyonundaki rolünü saptamak üzere yapılan çalışmada da canlı peletlerin ölü peletlere göre boyayı daha fazla adsorbe ettiği saptanmıştır. Fakat adsorbe edilen boya daha sonra enzim aktivitesine bağlı olarak biyolojik yıkıma uğramıştır [136]. Kesikli işlemlerde boya yıkım kapasitesinin iyileştirilme olasılığını araştırmak üzere, başlangıçta ilave edilen boyanın rengi tamamen giderildikten sonra ortama lakkaz aktivitesinin değerine bağlı olarak tekrar tekrar farklı konsantrasyonlarda boya ilavesi yapılmıştır. Yüksek konsantrasyonda boya ilavesi, yüksek enzimatik aktivasyona neden olmuştur. Üretilen lakkaz miktarı ile yıkılan boya miktarı arasında sıkı bir ilişki bulunmuştur. Ortamdaki glukozun tamamı tükendiğinde (2 g/L) renk giderimi % 90'na ulaşmıştır. 25 günlük sürekli işlemde toplam 560 mg/L'dan fazla boya yıkılmıştır. Ortama yeni boya ilave edildiğinde lakkaz aktivitesinde meydana gelen artışın boyanın kimyasal yapısından kaynaklandığı sanılmaktadır. Çünkü Gri Lanaset G'nin yapısı, ligninin alt ünitesine benzemektedir. Yapılan her iki paralel çalışma sonucunda biyolojik arıtımında adsorpsiyon ve yıkımı içeren iki basamağın yer aldığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca boya yıkımından sonra açığa çıkan yıkım ürünlerin enzim aktivitesini inhibe ettiği ve bunun da in vivo ve in vitro çalışmalar arasındaki renk giderimi yüzdeleri farklılığına neden olduğu ileri sürülmüştür. Fungus kullanılan in vivo çalışmalarda yıkım ürünlerinin metabolize veya mineralize edilerek ileri yıkımlara uğradığı ve bu sebepten dolayı enzim inhibisyonunun olmadığı da belirtilmiştir [137].

Blanquez vd. (2004) tarafından *Trametes versicolor* peletleri ile Gri Lanaset G'nin renginin giderildiği kesikli çalışmada yüksek renk giderimi (% 90.6 22. saat

sonra) bildirmiştir fakat ekstraselüler lakkaz enzimi ile renk giderimi arasında bir ilişki saptanamamıştır. Başlangıçta boya adsorbsiyonundan sonra boyanın hücre içine alındığı, metal kompleks boya bağlarının yıkıldığı ve ekstraselüler lakkaz enziminin aksine intraselüler lakkaz aktivitesinin yüksek olduğu rapor edilmiştir [138].

*Coriolous versicolor* peletlerinin Remazol B. Viyole boyasının rengini giderim aktivitesi tekrarlı kesikli işlemde araştırılmış ve bunun için farklı iki ortam test edilmiştir. Birinci ortam (M1) sadece glukoz ve malt özütü içerirken ikinci ortam (M2) glukoz,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pepton,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ve  $\text{CaCl}_2$  içermektedir. Öncelikle, fungus peletlerinin her kullanımından sonra ortam değiştirilmiş ve yeni ortam ve boya test ortamına ilave edilmiştir. Birinci ortamda peletlerin ilk 4 kez kullanımı sonucunda (7 günde) toplam renk giderimi % 84 olurken sonraki 3 kullanımda renk giderimi % 50-60'a düşmüştür. İkinci ortamda toplam renk giderimi aktivitesi aynı peletlerin sekiz kez kullanımı sonucunda % 80 olmuştur. Tekrarlı kesikli işlemlerde M1 ve M2 ortamlarına sadece yeni glukoz ve taze boya ilave edildiği durumlarda peletlerin ilk üç kullanımından sonra renk giderimi düşmüştür. Buna ortamda biriken metabolitlerin sebep olduğu ileri sürülmektedir. Ortama glukoz ilave edilmediğinde iki kez pelet kullanımı sonucunda renk giderimi düşmüştür. Ayrıca birçok esansiyel amino asit içeren organik azot kaynağı pepton besiyerine ilave edildiğinde üreye göre çok daha fazla renk giderimi elde edilmiştir. Fakat çalışma sonucunda boya bileşiğinin detoksifiye veya mineralize olduğuna dair aydınlatıcı bir bilgi bulunmamaktadır [139].

Yapılan renk giderimi çalışmalarının büyük çoğunluğunda, besiyeri içeren ortamlarda seçilen boyaların renginin giderimi üzerinedir. Fakat gerçek veya yapay tekstil atık su ile yapılan çalışma sayısı daha sınırlıdır. Mohorcic vd. boyama tanklarındaki oranlara göre hazırlanan ve  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ve  $\text{NaOH}$  ve Reaktif Siyah 5 içeren yapay tekstil atık sularının renginin giderimi için öncelikle 25 fungus türü içinden en iyi renk giderimini gerçekleştirebilen fungus türlerini boyalı katı ortamda yapılan ön çalışmalarla tespit etmiştir. *Bjerkandera adusta* ve *Trametes versicolor* tüm agar plağının rengini giderebilirken *Geotrichium candidum* boyalı plakların rengini koyu maviden kırmızı ve mora dönüştürebilmiştir. Bu türler yapay tekstil atık suyunun içinde çok yavaş üreyebilmişler fakat yapay atık su sulandırıldığında hem funguslar üreyebilmiş hem de renk giderimi olmuştur. Önceki çalışmalarda da, atık suların sulandırılmasının gerekli olduğu belirtilmektedir [12, 140]. Üç günlük inkübasyondan sonra ilk renk değişimi *G. candidum* ile elde edilirken en yüksek renk giderimi *B. adusta* ile 7. günde % 94 olmuştur [70]. Tekstil atık suları sulandırılmadığında atık su

öncelikle *P. chrysosporium* ile muamele edilmiş sonra ozonlanmıştır. Atık sudaki büyük moleküler ağırlıklı bileşikler biyolojik işlemler sırasında azalırken, ozonlama sırasında düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerle birlikte toplam fenol miktarı azalmıştır. *Scenedesmus subspicatus* ve *Escherichia coli* ile yapılan akut toksisitesi testlerine göre hem fungusla yapılan ön arıtmada hem de ozonlama sonrası atık suyun toksisitesi azalmıştır [141]. *Thelephora sp.* miselleri sulandırılmamış tekstil atık suyunun rengini sürekli işlemde % 50 oranında giderirken kesikli işlemde % 61 oranında gidermiştir [142]. İndigo boyama atık suyunun rengi, *Phanerochaete chrysosporium* peletleri ile inkübasyonun ikinci saatinde % 61 ve 24. saatinde % 95 oranında giderilmiştir. Başlangıç pH'sı 11 olan atık suyun pH ayarlanması yapılmadan yapılan renk giderimi işleminde yüksek renk giderimleri elde edilmiştir [143]. Sulandırılmış yapay ya da gerçek atık suların rengi *Trametes versicolor* [144], *Phlebia tremellosa* [145], *Clitocybula duseinii* [146] ve *Irpex lacteus* [140, 147] gibi beyaz çürükçül funguslarla başarı ile giderilebilmiştir.

Steril olmayan koşullarda yapılan renk giderimi çalışmalarının sayısı da sınırlıdır. Reaktif Siyah 5 (diaz) NaOH içinde çözülmüş ve 100°C'de 10 dakika hidrolize edilmiştir. Fosforik asit ile muamele edilip nötürleştirilmiştir. Böylece reaktif boyama işlemlerinden sonra açığa çıkan ve kumaşa tutunma yeteneği olmayan hidrolize boya yapısı elde edilmiştir. Tekrarlı kesikli biyoreaktörde azot içermeyen ve steril olmayan koşullarda serbest veya tutuklanmış *Trametes versicolor* peletleri ile hidrolize boyanın rengi % 80-95 oranında giderilmiştir. Ortama sadece boya ilave edilip ek besiyeri ilave edilmediğinde enzim aktivitesi hızlı bir düşüş gösterirken renk giderimi daha yavaş azalmıştır [69]. Altı farklı beyaz çürükçül fungus ve *Geotrichium sp.* ile yapılan çalışmada öncelikle mikroorganizmaların katı boyalı ortamda renk giderimi verimine bakılmıştır. Reaktif azo (siyah, sarı ve kırmızı) ve mavi antrakinon boya renklerinde mavi boyanın rengi en hızlı şekilde giderilmiştir. Bunu siyah boya takip etmiştir. Beyaz çürükçül funguslardan hiçbiri sarı ve kırmızı boya renklerini giderememiştir. Sadece *Phanerochaete magnoliae*'nin yavaş ve çok az oranda rengini giderilmiştir. Buna karşılık yeni izole edilen *Geotrichium* izolatları bütün boya renklerini giderilebilmiştir. Daha sonra hazırlanan sıvı *Geotrichium* izolatlarında lignin peroksidaz aktivitesi görülmemiştir. Çalışılan boya renklerinin transformasyonunun bu enzim tarafından yapılmadığı sanılmaktadır. Siyah boyanın biyotransformasyonundan sorumlu enzimlerin Mn bağımlı-bağımsız peroksidaz ve/veya lakkaz olduğu ileri sürülmüştür. Sarı ve kırmızı boya renklerinin transformasyonunda ilave enzim ve faktörlerin rol oynadığı

sanılmaktadır [85]. Fungusun morfolojisi, serbest ya da tutuklanmış kullanılması ve aynı biyokütlenin tekrar kullanılması renk giderimi verimi ve işlemin maliyeti açısından önemli olmaktadır.

### 2.4.3. Tutuklanmış beyaz çürükçül funguslarla yürütülen çalışmalar

Hücreler belirli maddeler içerisine alınarak veya madde yüzeyine tutuklanabilir. Mikroorganizma tutuklanacağı materyalin gözenekli iç yapısına tutunur veya jel yada membran içine alınır. Diğer tutuklama yönteminde ise hücreler tutuklanacağı materyalin yüzeyine tutunurlar veya kimyasal bağ ile bağlanırlar. Mikroorganizmalar kitosan, kitin ve selülozik maddeler gibi doğal polimerlere veya poliüreten köpük ve naylon gibi sentetik maddelere tutunurken polivinil alkol hidrojel kapsülü ve aljinat jel içine alınmaktadırlar.

*Phanerochaete chrysosporium* gözenekli köpüğe tutuklandığında biyokütle miktarı 4-5 günlük inkübasyondan sonra 2-3 g/L'ye ulaşmıştır. Tutuklanmış *P. chrysosporium* hücreleri kullanılan tekrarlı kesikli renk giderimlerinde 16 günde 1-2 günlük tekrarlı-kesikli işlemler sonucunda 50-500 ppm Kırmızı 533 boyasının rengi % 80'nin üzerinde giderilmiştir [148]. *P. chrysosporium* hücreleri sabit film reaktörüne tutuklandığında sürekli sistemde Kırmızı 533 boyasının rengini 20 günden fazla giderebilmiştir. Renk giderimi % 80'den fazla olmuştur [149].

1-2 mm çapındaki polivinil alkol hidrojel kapsülü (PVAL) içine alınarak tutuklanan *Trametes versicolor* miselleri sürekli, karıştırmalı ve havalandırılmalı fermentörde steril olmayan koşullarda Poli R-478 boyasının rengini gidermiştir. Kapsül *Trametes versicolor*'u mikrobiyal kontaminasyondan ve mekanik baskıdan korumuş ve. PVAL kapsül içine alınan miseller 7°C'de besin takviyesi olmadan 6 ay canlılıklarını sürdürmüşlerdir. 65 günden sonra PVAL kapsüllerinin dış tabakasında 50 µm kalınlığında kontaminasyon tabakası tespit edilmiştir. Fakat Poly R-478 boyasının renginin giderimi devam etmiş ve tutuklanmış fungus hala ligninolitik enzim üretebilmiştir. Çabuk parçalanan ve fungusların bakteriyel kontaminasyona maruz kaldığı aljinat kapsüllerinin [150] aksine PVAL kapsülleri fungusu bakteri inhibisyonundan veya ligninolitik enzim inaktivasyonundan koruduğu rapor edilmiştir [151].

Na-aljinata tutuklanmış ve serbest *F. trogii* misellerinin 100 mg/L Asit Siyah 5 boyasının rengini tekrarlı kesikli olarak giderdiği çalışmada tutuklanmış misellerin renk

giderim yüzdeleri serbest misellere göre daha yüksek olmuştur. Tutuklanmış *F. trogii*'nin renk giderimi aktivitesi uzunluğunun tayin edildiği tekrarlı-kesikli çalışmalarda ilk ve sonraki (toplam 5 kez kullanım) kullanımlarda renk giderimi % 90 ve üzerinde olmuştur. Tutuklanmış hücrelerin enzim üretimini (5. kullanımdan sonra) kesildiğinde renk giderimi azalmaya başlamıştır. Enzim üretimi, ortama ek maddeler ilave edildiğinde 300 saatlik inkübasyondan sonra da tespit edilmiş ve lakkaz aktivitesi, Na-aljinat konsantrasyonu arttıkça artmıştır. Bu durum MnP ve LiP aktivitesinde görülmemiştir. % 1'lik aljinat kullanıldığında hücre ağırlığı artmış fakat düşük aljinat konsantrasyonunda oluşan yumuşak peletler karıştırılmalı tip biyoreaktörde ve çalkalamalı koşullarda parçalandığından ve ayrıca peletlerde aşırı üreme problemi görüldüğünden % 4'lük aljinat ile tutuklama yapılmıştır [152].

Na-aljinata tutuklanmış *Trametes versicolor* peletleri kullanılarak ortamda kaynak olarak sadece 0.5 g/L glukoz olduğunda 50 mg/L Amaranth boyasının rengi altı kez giderebilmiştir. Fakat peletler, birinci, üçüncü ve beşinci kullanımından sonra kompleks besiyeri içinde 18 saat inkübe edilmiş ve tazelenmiştir. Reaktif Siyah 5, Reaktif Mavi 19, Direkt Siyah 12 ve Amaranth'dan oluşan boya karışımının rengi de tutuklanmış peletlerin 4 kez kullanımda giderilebilmiştir. Renk giderimi işlemlerinden sonra tutuklanmış peletler 6°C'de 48 gün saklandıktan sonra bu peletlerle daha hızlı renk giderim verimi elde edildiği rapor edilmiştir. Çalışmada glukozun peroksidazların aktivitesi için gerekli olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumunu sağlayan glukoz oksidaz için substrat olabileceği belirtilmiş ve kültür ortamında lakkaz ve MnP enzimleri tespit edilirken lignin peroksidaz tespit edilememiştir [153].

Libra vd. (2003) steril olmayan koşullarda beyaz çürükçül fungusların bakterilere karşı üreme şanslarını artırabilmek için üreme ortamına fungusun doğal habitatındakilere benzer lignosellülozik materyaller ilave etmişlerdir. Birçok katı organik materyal, *T. versicolor* için substrat ve tutuklama ajanı olarak test edilmiştir. Steril nişasta içeren lignosellülozik substratlar kullanıldığı durumlarda birkaç günlük inkübasyondan sonra *T. versicolor*'un kalınca bir tabaka halinde ürediği tespit edilmiş ve nişasta içermeyen lignosellülozik materyaller kullanıldığında 4 haftalık inkübasyondan sonra az veya hiç üreme görülmemiştir. Fakat bu üremeler substrat yüzeyinden ziyade sıvı besiyeri yüzeyinde olmuştur. Buğday samanı olan ortama buğday ilave edildikten sonra fungus substratların üzerinde üreyebilmiştir. Substrat miktarının artışına bağlı olarak enzim aktivitesinde artış olurken renk giderimi yüzdeleri benzer olmuştur (% 85-90). Ortamdaki enzim aktivitesi buğdayın ve samanın varlığına

dayalı olmaktadır. Bu da boyalı kültür sıvısında ölçülen enzim aktivitesinin fungusun renk giderimi kapasitesini değerlendirmede güvenilir bir parametre olmadığını göstermektedir. Çünkü aktif enzimlerin birçoğu fungusun yapışkan tabakasında alıkonulmaktadır [69].

Verimli ve yüksek renk giderimi elde edebilmek için bitki hücrelerini ve mikroalgleri tutuklamada kullanılan kabak lifine (*Luffa cylindrica*) *Funalia trogii* tutuklanarak Reaktif 5 boyasının rengi giderilmiş ve farklı misel yaşlarının boyanın renk giderimindeki ve adsorbsiyonundaki etkisi test edilmiştir. Fungus misellerinin, 24 saatlik inkübasyondan sonra kabak lifine tutunduğu tespit edilmiştir. Kültürün ilk gününde ortama boya ilave edildiğinde boyanın rengi ancak 4 gün sonra giderilebilmiştir. Ayrıca boya misele adsorbe olmuştur. Ancak inkübasyonun ileri dönemlerinde adsorbe olan ve ortamda bulunan boyanın rengi giderilmiştir. 3 günlük ve 6 günlük kültürlerde misel tamamen kabak lifini sardığında ortama boya ilave edildiğinde miseller boyayı tutmamıştır. Bu kültürlerde renk giderim yüzdeleri benzer olmasına rağmen misellerin her bir gramının (kuru gram ağırlığının) uzaklaştırdığı boya miktarı hesaplandığında 3 günlük kültürlerin daha fazla renk giderdiği tespit edilmiştir. Boya bulunmayan kontrol ortamında tutuklanmış misellerin kuru ağırlıkları günlere bağlı olarak artmasına rağmen boyalı ortamlarda bu artış görülmemiştir. Bu durumun boyanın, fungus üremesi üzerindeki negatif etkisinden dolayı olduğu sanılmaktadır. Lakkaz aktivitesi, ortama boya ilave edildiğinde günlere bağlı olarak artmıştır. Ortamda kabak lifinden veya boyadan dolayı yeterince azot ve karbon olduğundan ortama ekstra karbon ve/veya azot kaynağı ilave edilmemiştir [154].

Shin vd. *Trametes versicolor* ATTC 20869 serbest ve tutuklanmış peletleri ile Amaranth'ın renginin giderilebilirliğini çalışmışlar ve tutuklama için doğal (buğday samanı, hint keneviri, akcağaç odunu) ve sentetik (naylon ve polietilen parçalar) ajanlar kullanmışlardır. Fungus misellerinin statik besiyeri ortamında ajanlara tutuklanması sağlanmıştır (5 gün ve oda sıcaklığında). Naylon ve polietilen parçaların üzerinde yeterli üreme olmazken akcağaç odununa da miseller tutunamamıştır. Daha sonra tutuklanmış miseller yeni besiyeri ortamında çalkalamalı koşullarda peletler haline gelmiştir (250 rpm'de 23°C'de). Elde edilen tutuklanmış peletler sadece 50 mg/L boya ve glukoz içeren (1 g/L) veya içermeyen ortamlarda inkübe edilmiştir. En iyi üreme ve en yüksek renk giderimi (8.4 mg/L/saat) buğday samanı ve hint keneverine tutuklanmış peletlerle olmuştur. Fakat buğday samanına tutuklanmış peletler 2 hafta içinde parçalanmaya başlamıştır. Buna karşılık hint keneverine tutuklanmış peletler en



az 4 hafta renk giderimi işlemlerinde kullanılmıştır. Glukoz bulunmayan ortamlarda saman ve kenevire tutuklanmış peletler boyanın rengini giderirken (5.62 mg/L/saat) sentetik ajanlara tutuklanan ve serbest peletler boyanın rengini giderememiştir. Daha yüksek konsantrasyonda glukoz ilave edildiğinde daha yüksek renk giderimi elde edilememiştir. 16-20 saat içinde boyanın rengi tamamen giderilirken peletlerin tekrarlı kullanım sayıları arttıkça renk giderimi oranı azalmıştır. Glukoz olmayan ortamlarda karbonun, hint kenevirinde ve samanda bulunan selüloz ve/veya hemiselülozun enzimatik yıkımından dolayı açığa çıkan karbondan karşılandığı ileri sürülmüştür. Bu sonuçlar tekstil boyama işlemlerinde kullanılan pamuklu ipliklerden ve haşılama işlemlerinde kullanılan nişastadan renk giderimi için gerekli olan karbonhidratların elde edilebileceğini göstermektedir. Bu şekilde ek karbon kaynaklarına ihtiyaç duyulmayacak ve renk giderimi işlemlerinin maliyeti azaltacaktır. Renk giderimi sonrası toksisite değişmemiş veya azalmıştır [59].

Fungus peletlerinin morfolojisi incelendiğinde pelet büyüklüğü belirli bir boyuta ulaştıktan sonra merkeze doğru oksijen ve transferi yavaş olmaya başladığı tespit edilmiştir. Bundan dolayı merkezdeki hifler ölerek peletler içeri doğru çökmeye başlamıştır. Bu yüzden Zhang vd. merkezinde aktif karbon tozları olan kompleks pelet diye adlandırılan peletleri üretmişlerdir. *Trametes versicolor* fungusunun üreme ortamına aktif karbon tozları (1-3 mg/L) ilave edilerek merkezinde aktif karbon tozları bulunan ve çapı 1-5 mm arasında değişen kompleks peletler elde edilmiştir. Serbest peletler boyanın rengini 11 saatte tamamen giderirken, kompleks peletler sadece 6 saatte gidermiştir. Kesikli sistemde en yüksek ve en kararlı renk giderimi kompleks peletlerle elde edilmiştir. Başlangıçta serbest peletlerin lakkaz aktivitesi yüksekken, pelet kullanım sayısına bağlı olarak aktivite de düşmüştür. Fakat kompleks peletlerinin lakkaz aktivitesi, sentezlenen lakkazın aktif karbona tutuklanmasından dolayı başlangıçta düşükken, peletlerin sonraki kullanımlarında yükselmiştir. Aktivitedeki artışın, fungusun merkezindeki aktif karbona tutuklanmış olan lakkazın serbest hale geçmesinden kaynaklandığı sanılmaktadır. Boya konsantrasyonu 50 mg/L'den 100 mg/L'ye çıktığında serbest peletlerin lakkaz aktivitesi artmıştır. Fakat serbest peletlerin ikinci ve üçüncü kullanımlarda enzim aktivitesi hızla düşmüştür. Akışkan yataklı reaktörde kompleks peletlerin (tekrarlı-kesikli üretim) renk giderimi ilk iki günde % 95 iken sonraki günlerde % 55'lere düşmüştür. Renk giderimindeki düşüşün aksine lakkaz aktivitesinde artış görülmüştür. Azo boya yıkımında *Trametes versicolor* lakkazı anahtar rol oynamasına rağmen Asit Viyola 7 boyası lakkaz için uygun bir substrat

değildir. Boya molekülü ile lakkaz arasında ilişki kurması için bazı düşük moleküler ağırlıklı mediatörlere ihtiyaç duyulmaktadır. Fakat akışkan yataklı reaktörde kompleks peletler metabolitleri yeterince adsorbe edememekte ve enzim için gerekli olan bu mediatörler ortamdan uzaklaştırılmaktadır. Fakat tekrarlı kesikli sistemde *T. versicolor*'un gerekli maddeleri sentezleyebilmesi için uygun süre verilmiştir. Bu yüzden aynı peletler 9 kez yüksek ve kararlı şekilde boyanın rengini giderebilmiştir [158]. Astrazon kırmızı boyasının rengini, aktif karbona tutuklanmış *Funalia trogii* peletleri etkili ve kararlı şekilde gidermiştir [133].

*Phanerochaete chrysosporium* misellerini gözenekli ve gözenekli olmayan çeşitli materyallere tutuklanmış ve fungusun üreme ortamına polivinilklorit (PVC), paslanmaz çelik parçaları, poliüretan köpük ve bulaşık sünger parçacıkları ilave edilerek 38°C'de 100 rpm'de 8 gün inkübasyona bırakılmıştır. Tutuklanmış peletlerin morfolojileri taramalı elektron mikroskopunda araştırılmıştır. TEM sonuçlarına göre fungus miselleri gözenekli yapıya sahip olan poliüretan köpük ve bulaşık sünger yüzeyinde ve kısmen içinde daha iyi ürerken gözenekli olmayan polivinilklorit (PVC) ve paslanmaz çelik parçalarına miseller iyi tutunamamışlardır. Tutuklama ajanlarının morfolojik özelliklerinin fiziko-kimyasal özelliklerinden daha önemli olduğu belirtilmiştir [156]. *Trametes hirsuta* miselleri en iyi paslanmaz çelik süngerine tutunmuş ve ortama 1 mM bakır sülfat eklendiğinde lakkaz aktivitesi 2200 U/L olmuştur. Bu çalışmada indigo karmin boyası 3 gün içinde tamamen yıkılabilmektedir. Renk giderimi işleminin sadece lakkaz enzimine ve/veya üremeye ilişkili mekanizma ile bağlantılı olup olmadığını anlamak için sadece kültür filtratı içeren ortamlarda da renk giderimi işlemleri yapılmıştır. Tüm hücre ile rengin % 96'sı giderilirken kültür filtratı ile rengin % 74'ü giderilebilmiştir. Renk giderimi işleminden sonra kültür filtratının aktivitesi % 80 oranında azalmıştır. *T. hirsuta* ile yapılan renk gideriminde hem ekstraselüler lakkazın hem de üremeye ilişkili mekanizmanın rol oynadığı belirtilmiştir. Ayrıca fungus Ca-aljinat içerisine tutuklandığında da inkübasyonun ilk iki gününde yüksek lakkaz aktivitesi elde edilmiştir [157].

Beyaz çürükçül fungusların canlı veya ölü, tutuklanmış veya serbest misellerinin veya peletlerinin ya da ham kültür filtratlarının veya kısmi/tam saflaştırılmış enzimlerinin renk giderimi çalışmalarında kullanıldığı durumlarda hala kompleks besiyerleri kullanılmaktadır. Birçok çalışmada renk giderimi işlemleri hala uzun zaman gerektirmektedir. Ortama ek kaynaklar ilave edilmeden renk giderimi

gerçekleşmemektedir. Kullanılan fungusların tekstil atık su arıtımda tekrarlı kullanımı ile ilgili olarak yapılan çalışmalar az sayıdadır.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

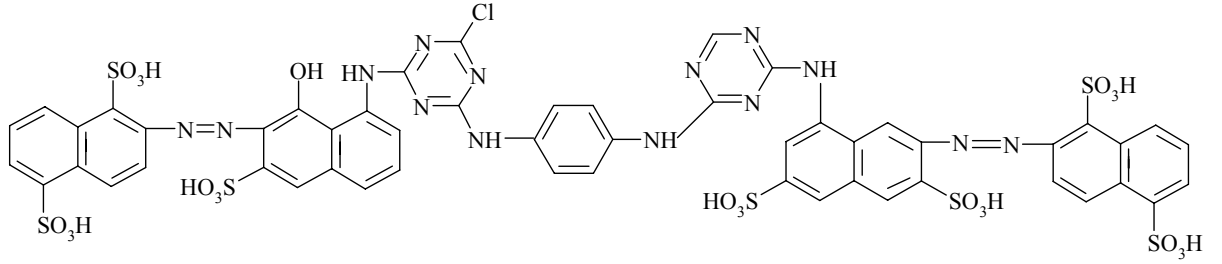
İndigo Karmin, Sabouraud dekstroz agar ve broth, HCl, NaOH, pepton, CaCl<sub>2</sub>, Na-asetat, asetik asit, akrilamid, SDS, 2-β-merkaptotanol, Brom fenol mavisi, metanol, gümüş nitrat, sodyum tiyosülfat, glutardaldehit, Tween 80, Coomassie Brilliant Blue R-250 Merck firmasından, glukoz, bis-akrilamid, tris, gliserol, APS, TEMED, Standart protein, Triton X-100, Tris-HCl, Tris-base, aljinik asit, ABTS Sigma firmasından, maya özütü Difco firmasından, glisin, sodyum karbonat J.T Backer firmasından, aktif karbon Riedel de Haen ve formaldehit Cal Biochem firmasından temin edildi. İndigo Karmin hariç diğer boyalar maddeler Pet-Sel Tekstil Kimya'dan temin edildi.

#### 3.2. Çalışmada Kullanılan Boyar Maddeler

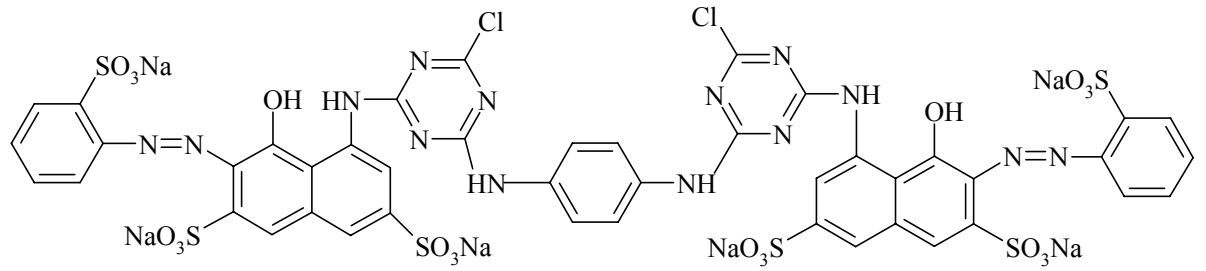
Çalışmada kullanılan tekstil boyalarının Renk İndeks isimleri ile kimyasal yapıları Çizelge 3.1'de ve Şekil 3.1-6'da verilmiştir. Boyar maddelerin maksimum ışık emilimi yaptıkları dalga boyu spektrofotometre (UV-1601 Shimadzu) kullanılarak saptanmıştır.

**Çizelge 3.1.** Renk giderimi işlemlerinde kullanılan tekstil boyaları ile ilgili bilgiler

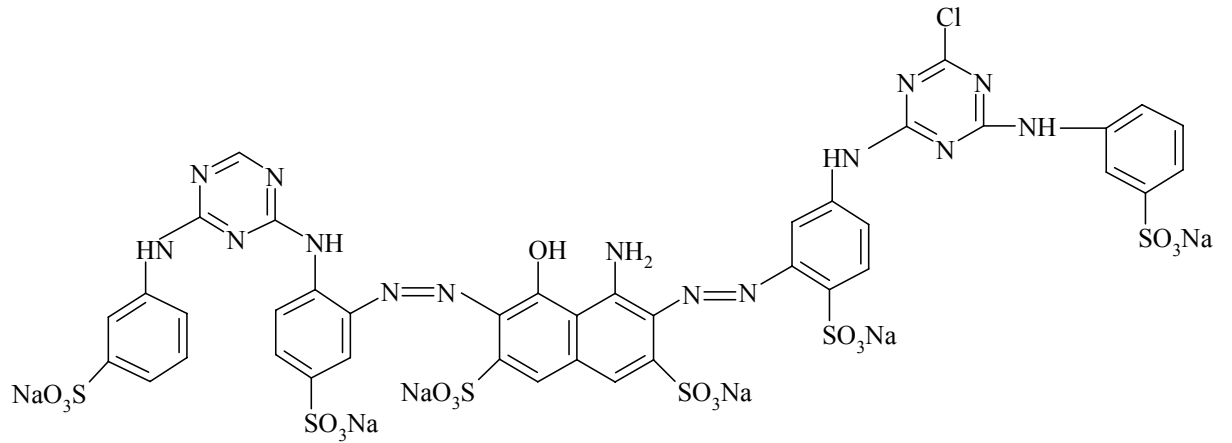
Ticari İsmi	Renk İndeks İsmi	Kimyasal Yapısına Göre Sınıflandırılması	Dalga Boyu (nm)
Chrocion Kırmızı H-E7B	Reaktif Kırmızı 141	Diazo	511
Chrocion Kırmızı H-E3B	Reaktif Kırmızı 120	Diazo	544
Chrocion	Reaktif Mavi 171	Diazo	605
Denizci Mavisi H-ER	Reaktif Mavi 198	Azo	624
Chrocion Mavi H-EGN	Reaktif Yeşil 19	Diazo	628
Chrocion Yeşil-HE4BD	Asit Mavi 74	İndigo	610



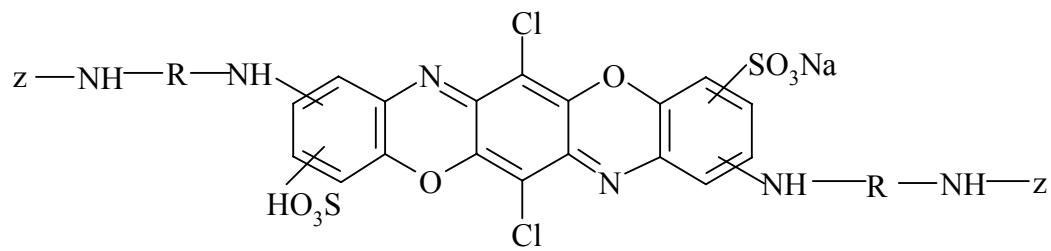
**Şekil 3.1.** Reaktif Kırmızı 141'in (Chrocion Kırmızı H-E7B) kimyasal yapısı [158]



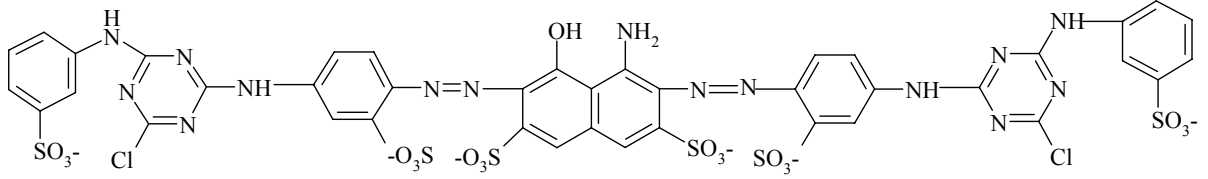
**Şekil 3.2.** Reaktif Kırmızı 120'nin (Chrocion Kırmızı H-E3B) kimyasal yapısı [159,160]



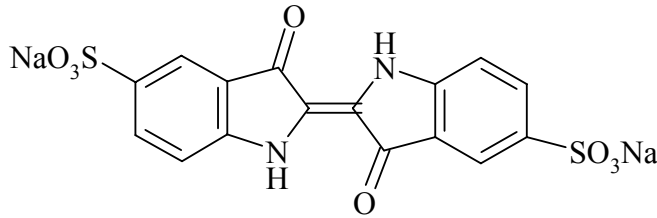
**Şekil 3.3.** Reaktif Mavi 171'in (Chrocion Denizci Mavisi H-ER) kimyasal yapısı [161]



**Şekil 3.4.** Reaktif Mavi 198'in (Chrocion Mavi H-EGN) kimyasal yapısı [162]



**Şekil 3.5.** Reaktif Yeşil 19'un (Chrocion Yeşil H-E4BD) kimyasal yapısı [163]



**Şekil 3.6.** Asit Mavi 74'ün (İndigo Karmin) kimyasal yapısı [164, 165]

### 3.3. Çalışmada Kullanılan Boyar Maddelerin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan stok boyar maddeler 0.25 g/100 ml distile su olacak şekilde hazırlandı. Otoklavda (120°C'de 1 atm basınç) 15 dakika otoklavize edildikten sonra çalışmalarda belirlenen boya konsantrasyonlarına bağlı olarak besiyerlerine ilave edildi.

### 3.4. Çalışmada Kullanılan Funguslar

Çalışmada *Basidiomycetes* sınıfına dahil olan beyaz çürükçül funguslardan *Trametes versicolor* ATCC 2008001, *Funalia trogii* ATCC 200800 ve *Phanerochaete chrysosporium* ME446 kullanıldı.

### 3.5. Çalışmada Kullanılan Fungusların Üretimi ve Saklanması

Funguslar, sabouraud dekstroza agar (SDA) plaklarında 30°C'de, 4-6 gün inkübe edildi. Funguslar 3-4 haftada bir taze besiyerlerine aktarıldı. Fungus kültürleri +4°C'de buzdolabında saklandı.

### **3.6. Çalışmada Kullanılacak Fungus Kültürlerinin Hazırlanması**

SDA ortamında üretilen fungus kültürlerinden fungus parçaları alınarak tüplerdeki sabouraud dekstroz agar eğik besiyerine ekildi. Tüplerdeki kültürler 30°C'de 3-7 gün inkübe edildi. Sabouraud dekstroz agar eğik besiyeri tüplerinde üretilmiş olan fungus kültürlerine 10 ml distile su ilave edildi ve misel süspansiyonları hazırlandı. Misel süspansiyonları (2 veya 5 ml) olacak şekilde steril koşullarda, 100 ml Sabouraud dekstroz sıvı besiyeri içeren 250 ml'lik erlenlere eklendi. Hazırlanan fungus kültürleri 30°C'de 150 rpm'de çalkalamalı inkübatörde (Unitron Infors ve Nüve ES110) 2-6 süreyle üretildi.

### **3.7. Serbest Fungus Peletlerinin Üretimi**

Bölüm 3.6'da belirtildiği gibi hazırlanan fungus kültürleri homojenizatör (Kinematica Gmdh) kullanılarak steril koşullarda çok düşük devirde homojenize edildi. 600 ml Sabouraud dekstroz sıvı besiyeri/1000 ml'lik erlenlere 6-8 ml homojenize edilmiş fungus kültürü ekildi ve çalkalamalı etüvde 30°C'de 150 rpm'de 3-6 gün inkübasyona bırakıldı. Fungus kültürleri çalkalamalı koşullarda pelet haline geldikten sonra peletler aseptik koşullarda ortamdan süzülerek alındı. Çalışmalarda belirlenen fungus miktarlarına göre, fungus peletleri aseptik koşullarda tartılıp 250 ml'lik erlenlere aktarıldı.

### **3.8. Optimizasyon Çalışmaları**

#### **3.8.1. Boya konsantrasyonun renk giderimi ve lakkaz aktivitesi üzerine etkisinin saptanması**

Çalışmalarda son konsantrasyon olarak 50-200 mg/L farklı boyar madde içeren distile su ortamlarına 0.59 g/50 ml *T. versicolor*, 0.82 g/50 ml *F. trogii* ve 0.83 g/50 ml *P. chrysosporium* peletleri eklendi. Kültürler 30°C'de 150 rpm'de 24 saat süresince çalkalamalı olarak inkübe edildi.

### **3.8.2. Pelet miktarının renk giderimi ve lakkaz aktivitesi üzerine etkisinin saptanması**

Pelet miktarının renk giderimine etkisinin saptanabilmesi için 50 ml distile su içeren 250 ml'lik erlenlere son konsantrasyon 50 mg/L olacak şekilde boyar madde ilave edildi. Boyar madde içeren besiyerlerine daha sonra 0.21, 0.37 ve 0.59 g/50 ml *T. versicolor*, 0.28, 0.36 ve 0.82 g/50 ml *F.trogii*, 0.31, 0.60 ve 0.83 g/50 ml *P. chrysosporium* peletleri ayrı ayrı eklendi ve 30°C'de 150 rpm'de 24 saat süresince çalkalamalı olarak inkübe edildi.

### **3.8.3. Sıcaklığın renk giderimi ve lakkaz aktivitesi üzerine etkisinin saptanması**

Sıcaklığın renk giderimine etkisinin saptanması amacıyla 50 mg/L farklı boyar maddeler içeren distile su ortamlarına 0.59 g/50 ml *T. versicolor*, 0.82 g/50 ml *F. trogii* ve 0.83 g/50 ml *P. chrysosporium* peletleri eklendi ve 10°C, 20°C, 30°C ve 40°C'de 150 rpm'de çalkalamalı olarak 24 saat süresince inkübasyona bırakıldı.

### **3.8.4 Çalkalamanın renk giderimi ve lakkaz aktivitesi üzerine etkisinin saptanması**

Çalkalamanın renk giderimi üzerine etkisinin saptanması amacıyla 50 mg/L farklı boyar maddeler içeren distile su ortamlarına 0.59 g/50 ml *T. versicolor*, 0.82 g/50 ml *F. trogii* ve 0.83 g/50 ml *P. chrysosporium* peletleri eklendi ve 0, 50, 100, 150 ve 200 rpm, 30°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı.

### **3.8.5. Başlangıç pH'sının renk giderimi ve lakkaz aktivitesi üzerindeki etkisinin saptanması**

Besiyerleri başlangıç pH'sı ortama 0.1 N HCl ve 0.1 N NaOH ilave edilerek ayarlandı. Başlangıç pH'ları 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 olarak ayarlanan besiyerlerine 50 mg/L boyar madde ile 0.59 g/50 ml *T. versicolor*, 0.82 g/50 ml *F. trogii* ve 0.83 g/50 ml *P. chrysosporium* peletleri steril koşullarda eklendi. Bu kültürler 30°C, 150 rpm'de 24 saat inkübasyona bırakıldı.



### **3.8.6. Muamele süresinin renk giderimine ve lakkaz aktivitesine etkisi**

50 ml distile su, 50 mg/L boyar madde ve 0.59 g/50 ml *T. versicolor*, 0.82 g/50 ml *F. trogii* ve 0.83 g/50 ml *P. chrysosporium* peletleri içeren kültürler 30°C'de 150 rpm'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. Boyalı test ortamlarından inkübasyonun ilk saatinden itibaren 12. saat dahil olmak üzere ikişer saat aralıklarla örnekler alınarak örneklerin renk giderimi verimine ve lakkaz aktivitesine bakıldı.

### **3.9. Serbest Fungus Peletleri ile Yapılan Tekrarlı Kesikli Çalışmalar**

Tekrarlı kesikli çalışmalarda kullanılacak peletler bölüm 3.7'de olduğu gibi hazırlandı. 50 mg/L boya içeren 50 ml distile sulu besiyerlerine çalışmanın amacına göre 0.21 ve 0.59 g/50 ml *T. versicolor*, 0.28 ve 0.82 g/50 ml *F.trogii*, 0.31 ve 0.83 g/50 ml *P. chrysosporium* peletleri ayrı ayrı eklendi. Yüksek boya konsantrasyonlarının (100 ve 200 mg/50ml) denendiği çalışmalarda ise sadece en yüksek miktarda fungus peletleri ile tekrarlı kesikli renk giderimi yapıldı. Kültürler 30°C'de 150 rpm'de 24 saat inkübe edildikten sonra peletler aseptik koşullarda ortamdan alındı. Aynı miktarda boya içeren taze besiyerlerine aynı peletler aseptik koşullarda eklendi ve aynı şartlarda tekrar inkübasyona bırakıldı. Boyalı ortamlarda fungus peletlerinin tekrarlı kesikli olarak kullanım sayısı boyar maddeye, boyar madde miktarına ve fungus miktarına bağlı olarak değişiklik gösterdi. Fungus içermeyen abiyotik kontroller de aynı koşullarda hazırlanıp inkübasyona bırakılmıştır.

#### **3.9.1. Serbest fungus peletleri ile sentetik atık suyun renginin giderimi**

Stok R. Mavi 71, R. Mavi 198, R.Yeşil 19 ve A. Mavi 74 boyaarı son konsantrasyonu 50-100 mg/L olacak şekilde her bir boyadan eşit konsantrasyonlarda karıştırılarak dört farklı boyadan oluşan sentetik atık su hazırlandı. Dört farklı boyanın karışımından oluşan sentetik atık suyun içine son konsantrasyon 50-100 mg/50ml olacak şekilde RK 141 ve RK 120 ilave edilerek altı farklı boyadan oluşan sentetik atık su hazırlandı. Sentetik atık sulu ortamlara Bölüm 3.9'da belirtilen en yüksek miktardaki fungus peletleri aseptik koşullarda eklendi. Kültürler 30°C'de 150 rpm'de 24 saat inkübe edildikten sonra peletler aseptik koşullarda ortamdan alındı ve işlemler tekrarlı kesikli şekilde devam ettirildi.

### **3.10. Besiyerine Eklenen Ek Maddelerin Renk Giderimi Verimine, Pelet Kullanım Sayısına ve Lakkaz Aktivitesine Etkisinin Saptanması**

Distile su içeren besiyerlerine ayrı ayrı son konsantrasyonları 1-2 g/L glukoz, 0.1-1 g/L maya özütü, 0.1-1 g/L pepton, 0.5-10 g/L melas, 50-100 ml/L olacak şekilde peyniraltı suyu ilave edildi. Ayrıca besiyerine son konsantrasyonu 0.5 mM olacak şekilde  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  de ilave edildi. Bölüm 3.7’de belirtilen şekilde hazırlanan peletler (0.59 g/50 ml *T. versicolor*, 0.82 g/50 ml *F. trogii* ve 0.83 g/50 ml *P. chrysosporium*) ek kaynak ve 50 mg/L boya içeren 50 ml besiyerlerine steril koşullarda eklendi. Kültürler 30°C’de 150 rpm’de inkübasyona bırakıldı. Çalışmalar Bölüm 3.9’da belirtildiği gibi tekrarlı kesikli olarak yürütüldü. Fungus içermeyen ek maddeleri içeren besiyerleri de kontrol olarak hazırlandı.

### **3.11. Tutuklanmış Fungus Peletleri ile Yapılan Tekrarlı Kesikli Çalışmalar**

Renk giderim yeteneği ve fungus kullanım sayısı üzerine tutuklamanın etkisinin saptanması amacıyla çeşitli ajanlara tutuklanmış hücreler kullanılmıştır.

#### **3.11.1. Aktif karbona tutuklama**

Aktif karbonlar boyutları 0.710-1.18 mm olacak şekilde hazırlandı. Bölüm 3.6.’da belirtildiği gibi hazırlanan 2 ml misel süspansiyonu, 121°C’de 20 dakika steril edilmiş 100 ml sabouraud dekstroz sıvı besiyeri ve aktif karbon içeren 250 ml’lik erlenlere aseptik koşullarda transfer edildi. Kültürler 30°C’de 150 rpm’de 5 gün inkübasyona bırakıldı [133, 155]. Aktif karbona tutuklanmış peletler steril koşullarda ortamdan süzülerek alındı ve tekrarlı kesikli renk giderimi işlemlerinde (boya miktarı 50 mg/L) ortama ek madde ilave edilmeden kullanıldı. Aktif karbona tutuklanmış peletlerin renk giderim verimi, pelet kullanım sayısı ve lakkaz aktivitesinin serbest peletlerle kıyaslanabilmesi için aktif karbona tutuklanmamış serbest peletler aynı koşullar altında tekrarlı kesikli renk giderimi işlemlerinde kontrol grubu olarak hazırlanmıştır.

### **3.11.2. Lignoselülozlu maddeye tutuklama**

Çam kozalakları öğütücüde öğütüldü. Öğütülmüş çam kozalakları boyutları 0.710-1.18 mm olacak şekilde hazırlandı. Bölüm 3.6.'da belirtildiği gibi hazırlanan 2ml homojenize misel süspansiyonu 121°C'de 20 dakika steril edilmiş 40 ml Sabouraud dekstroz sıvı besiyeri ve 0.2 g çam kozalağı içeren 250 ml'lik erlenlere steril koşullarda transfer edildi. Statik olarak 30°C'de 2-5 saat bekletilen kültürler bir gece 110 rpm'de inkübe edildi. Daha sonra pelet oluşana kadar (4-5 gün) kültürler 30°C'de 150 rpm'de inkübe edildi. Çam kozalağına tutuklanmış peletler steril koşullarda ortamdan süzülerek alındı ve tekrarlı kesikli renk giderimi işlemlerinde (boya miktarı 50 mg/L) ortama ek madde ilave edilmeden kullanıldı [140]. Lignoselülozlu maddeye tutuklanmamış serbest peletler de kontrol grubu olarak hazırlanıp aynı şartlar altında tekrarlı kesikli renk giderimi işlemlerinde kullanılmıştır.

### **3.11.3. Aljinat içerisinde tutuklama**

Bölüm 3.7.'de belirtildiği gibi üretilen fungus peletleri % 1'lik aljinat çözeltisi içine alındı. Aljinat guluronik asit ve mannuronik asit monomerlerinden oluşan doğal bir polisakkarittir [166]. Aljinat çözeltisi içine alınan fungus peletleri, homojenizatörle düşük devirde homojenize edildi. Steril pastör pipetleri ile alınan karışım, soğuk 0.1 M CaCl<sub>2</sub> çözeltisi içerisine damlatıldı. Daha sonra aljinat içerisinde tutuklanan peletler serum fizyolojik çözeltisi içine alınıp 1-2 saat bekletildi. Bu işlemde sonra tutuklanmış peletler steril distile su ile iyice yıkandı. Tutuklanmış peletler, sabouraud dekstroz sıvı besiyerine aktararak 1 gün 30°C ve 150 rpm'de inkübe edildi [122]. Ortamdan süzülerek alınan tutuklanmış peletler daha sonra tekrarlı kesikli renk giderimi işlemlerinde (boya miktarı 50 mg/L) ortama ek madde ilave edilmeden kullanıldı [152, 153, 167]. Aljinat boyayı adsorbe ettiğinden fungus içermeyen aljinat kürecikler abiyotik kontrol olarak hazırlanıp boyalar ile tekrarlı kesikli olarak muamele edildi. Ayrıca aljinat içerisine tutuklanmamış serbest peletler de aynı koşullar altında tekrarlı kesikli renk giderimi işlemlerinde kontrol grubu olarak hazırlandı.

### **3.12. Analizler**

#### **3.12.1. Boyar madde içeren besiyerlerinin renk değişiminin ölçümü**

Boyar madde içeren ortamların renk değişimi absorbans değişimi olarak tayin edildi. Funguslarla muamele sonucunda fungusun aktivitesine bağlı olarak gözlenen renk değişimi her boyanın maksimum dalga boyunda spektrofotometrik ölçüldü. Renk değişimi kontrole karşı % renk giderimi olarak ifade edildi.

#### **3.12.2 Kültür ortamındaki lakkaz aktivitesinin saptanması**

Lakkaz aktivitesi (E.C. 1.10.3.2), 420 nm dalga boyunda absorbans artışı olarak belirlendi ve unite/ml olarak ifade edildi. Bir unite, 1 dakikada 1µmol ABTS'i (2,2'-azino-bis(etilbenziazolin-6-sulfonik asit) oksitleyen enzim miktarı olarak ifade edildi [168, 169].

#### **3.12.3. Kültür ortamındaki biyokütle miktarının hesaplanması**

Kültür ortamındaki biyokütle miktarını saptamak için öncelikle 50°C'de 24 saat pastör fırınında kurutulan boş filtre kağıtları (Whatman No:1, Toyo Advantec, 125 mm çap) 1 saat desikatörde bekletildi ve hassas terazide ağırlıkları tespit edildi. Biyokütle miktarını ölçmek için kültür, darası alınmış filtre kağıdından süzöldü. Fungus+filtre kağıdının da yukarıda belirtildiği şekilde ağırlığı saptandıktan sonra biyokütle miktarı g/50 ml cinsinden ifade edildi.

### **3.13. İstatistiksel Analizler**

Tekrarlı kesikli renk giderimi işlemlerinde elde edilen bulguların istatistiksel olarak değerlendirilebilmesi için istatistik paket programı (SPSS 10.0 Inc., USA) kullanıldı. Gruplar arası farklılık Mann Whitney-U testi kullanılarak  $p < 0.05$  önemlilik düzeyine göre belirlendi.

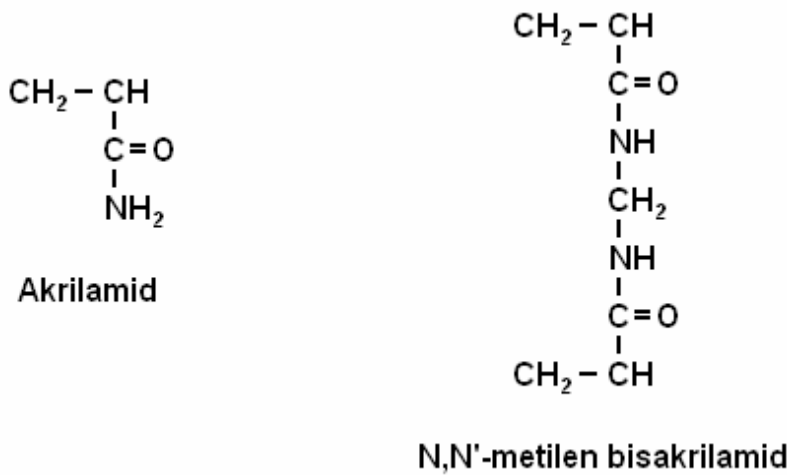
### 3.14. Poliakrilamid Jel Elektrofrez Çalışmaları

#### 3.14.1. SDS veya doğal poliakrilamid jel elektrofrez öncesi yapılan işlemler

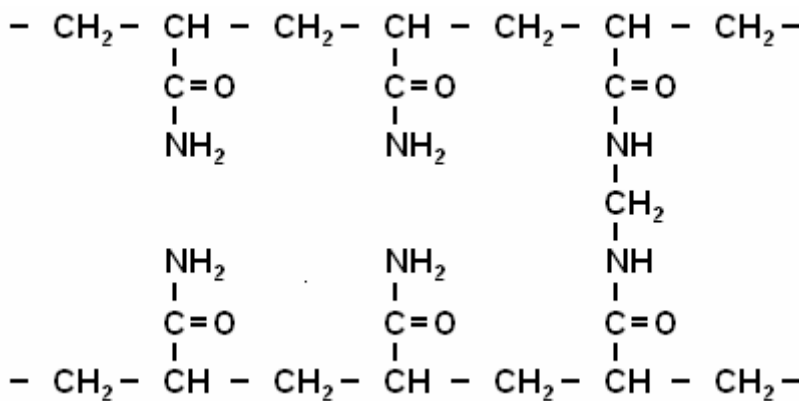
SDS veya doğal poliakrilamid jel elektrofrez çalışmaları için öncelikle bazı stok ve tampon çözeltileri hazırlandı:

#### Akrilamid-bisakrilamid Stok Çözeltisi (% 30)

14.6 g akrilamid ve 0.4 g N,N'-metilen bisakrilamid üzerine son hacim 50 ml olacak şekilde distile su eklendi. Hazırlanan çözeltili manyetik karıştırıcıda 30 dakika süreyle karıştırıldı ve süzgeç kağıdından süzöldü. Süzöntü daha sonra kullanılmak üzere koyu renkli şişede +4 °C' de en fazla 2 hafta muhafaza edildi.



şekil 3.7. Akrilamid ve N,N'-metilen bisakrilamid' in kimyasal yapısı



şekil 3.8. Poliakrilamid jelin kimyasal yapısı

### **Ayırma Jel Tamponu (1.5 M tris-HCl (pH 8.8))**

Ayırma jel tamponu hazırlamak için 18.15 g tris 90 ml distile suda eritildi ve pH'sı 1 N HCl ile 8.8' e ayarlandı. Daha sonra toplam hacim 100 ml'ye distile su ile tamamlandı. Hazırlanan tampon +4 °C' de saklandı.

### **Sıkıştırma Jel Tamponu (0.5 M tris-HCl (pH 6.8))**

90 ml distile suda 6.1 g tris eritildi ve 1 N HCl ile pH'sı 6.8' e ayarlandı. Toplam hacim 100 ml olacak şekilde distile su ile tamamlanarak kullanılmak üzere +4 °C' de muhafaza edildi.

### **Tris-Glisin Elektrod Tamponu (pH 8.3)**

Toplam hacim 500 ml olacak şekilde 1.515 g tris, 7.2 g glisin ve 0.25 g sodyum dodesil sülfat (SDS) distile su içerisinde hazırlandı. Tampon çözelti taze hazırlanarak kullanıldı.

### **Örnek Tamponu**

4 ml distile su, 1 ml 0.5 M tris-HCl (pH 6.8) (sıkıştırma jeli tamponu), 0.8 ml gliserol, 1.6 ml % 10 SDS, 0.4 ml 2-β-merkaptotanol, 0.2 ml % 0.05 bromfenol mavi içerecek şekilde hazırlanan çözelti koyu renkli şişeye konularak oda ısısında muhafaza edildi. Bu çözelti en fazla 3 ay süreyle saklandı. Doğal poliakrilamid jel elektroforezi için hazırlanan örnek tamponuna SDS ve 2-β-merkaptotanol içermeyecek şekilde hazırlandı.

### **Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (% 10 (v/w)) Çözeltisi**

Yaklaşık 50 ml distile su içerisinde 10 g SDS hafifçe karıştırılarak çözüldü ve toplam hacim distile su ile 100 ml' ye tamamlandı.

### **Amonyum Persülfat (APS) (% 10 (v/w)) Çözeltisi**

Amonyum persülfat çözeltisi taze olarak 100 mg amonyum persülfat/1 ml distile su olacak şekilde hazırlandı.

### **Bromfenol Mavisi Çözeltisi**

50 mg bromfenol mavisi yaklaşık 5 ml distile suda çözülerek 10 ml' ye tamamlandı.

### **3.14.2. SDS veya doğal poliakrilamid jel elektroforezinde jellerin hazırlanması**

Cam ve alüminyum plakaların (10 x 10.5 cm) iki kenarına 1.5 mm kalınlığındaki plastik şeritler (spacer), yerleştirilerek sıkıştırıldı. İlk önce ayırma jeli 10 ml' lik bir enjektör ile cam ve alüminyum plakaların arasına hava kabarcığı oluşturmadan dolduruldu. Çizelge 3.2'de ayırma jelinin içeriği verilmiştir. Doldurma işlemine üst kenara yaklaşık 3 cm kalıncaya kadar devam edildi. Jelin dökülmesinden sonra 1 ml' lik bir enjektör ile jel yüzeyi üzerinde ince bir tabaka oluşacak şekilde distile suyla doyurulmuş bütanol eklenerek düz bir polimerizasyon yüzeyi oluşturuldu. En az 2 saat polimerizasyon için beklendikten sonra su ile doyurulmuş butanol süzgeç kağıdıyla uzaklaştırıldı ve sıkıştırma jeli hazırlanıp (Çizelge 3.2.) hava kabarcığı oluşturmadan bir enjektör yardımı ile döküldü. Hemen ardından 1,5 mm kalınlığındaki taraklar yerleştirildi ve polimerizasyon için en az 1 saat süreyle beklendi. Polimerizasyon sonrası taraklar çıkarıldı ve polimerizasyon artıklarını uzaklaştırmak için numunelerin uygulanacakları 10 kuyucuk 3 defa tris-glisin elektrod tamponuyla (pH 8.3) yıkandı. Yıkama sonrası kuyucuklar aynı tampon ile dolduruldu. Doğal poliakrilamid jel elektroforezi jel kompozisyonunda % 10'luk SDS çözeltisinin yerine ortama aynı miktarda distile su ilave edildi [170, 171].

**Çizelge 3.2.** Poliakrilamid jel elektroforezindeki jellerinin kompozisyonları

	<b>Ayırma Jeli (% 10)</b>	<b>Sıkıştırma Jeli (% 4)</b>
Distile su (ml)	4.1	6.04
Tris-HCl pH 8.8 (ml)	2.5	-----
Tris-HCl pH 6.8 (ml)	-----	2.5
% 10 SDS (µl)	100	100
Akrilamid stok (ml)	3.34	1.3
APS (µl)	50	50
TEMED (µl)	5	10

### **3.14.3. Protein standartlarının ve örneklerin hazırlanması ve yükleme işleminin yapılması**

Bir vial protein standardı (3.5 mg protein), 1750 µl 2x konsantre Laemmli örnek tamponu ile sulandırıldı. Protein standart çözeltisi 20 µl' lik kısımlara (2 µg/µl) bölünerek -20 °C' de muhafaza edildi. Elektroforez öncesi ham lakkaz filtratı 15000 moleküler cut-off membran konsantratörlerle konsantre edildi. Örnekler ve protein standartları 1:1 (v/v) örnek tamponu ile karıştırılarak, 2-3 dakika 95 °C' lik suda bekletildi. Oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra kuyucuklara 10-25 µl pipetlendiler. Gümüş boya yapılan protein elektrofezi uygulamalarında, protein standartları örnek tamponu ile 50 kez sulandırıldıktan sonra kuyucuklara pipetlendi.

### **3.14.4. Elektroforez uygulaması**

Örnekler ve protein standartları kuyucuklara yüklendikten sonra ikili jel dökme aparatı (Hofer Dual Gel Caster-Amersham) içinde yürütme tamponu bulunan yürütme tankının (UVB) içine alındı ve 40 mA/jel sabit akımda yaklaşık 180 dakika süreyle elektroforez işlemine devam edildi. Elektroforez sonrası jeller gümüş boyama ile boyandı. Ayrıca elektroforez sonrası renaturasyon işlemine tabi tutulan jellere aktivite boyaması veya Coomassie Brilliant Blue R-250 boyaması da yapıldı.



**Çizelge 3.3.** Kullanılan Protein Standartlarındaki Moleküler Ağırlık Dağılımları.

<b>PROTEİNLER</b>	<b>Moleküler Ağırlık (kDa)</b>
MİYOZİN	205
β-GALAKTOZİDAZ	116
FOSFORİLAZ-B	97.4
ALBUMİN (BSA)	66
OVALBUMİN	45
KARBONİK ANHİDRAZ	29
TRİPSİN İNHİBİTÖR	20
α-LAKTALBUMİN	14.2

### **3.14.5. Gümüş boyama uygulaması**

Protein bantlarının görülebilmesi için gümüş boyama işlemi yapıldı. Boyamada kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları ile ve boyama protokolü Çizelge 3.4’de verildi [187]. Çözeltileri taze hazırlanıp kullanıldı.

#### **Sabitleyici (Fiksatif) çözelti**

400 ml metanol ve 100 ml asetik asit deiyonize su ile 1 L’ye tamamlandı.

#### **Gümüş nitrat çözeltisi**

0.1 g gümüş nitrat ve 0.05 ml % 37’ lik formaldehid karıştırılarak deiyonize su ile 100 ml’ ye tamamlandı.

#### **Duyarlılaştırıcı çözelti**

6.8 g sodyum asetat, 0.3 g sodyum tiosülfat, 2.0 ml % 25’ lik glutardialdehit, 30.0 ml etanol karıştırılarak deiyonize su ile 100 ml’ ye tamamlandı.

#### **Geliştirici çözelti**

30 g sodyum karbonat, 1 ml % 37’ lik formaldehid karıştırılarak deiyonize su ile 1 L’ ye tamamlandı.

### **Durdurma ayıracı**

10 g glisin üzerine son hacim 1 litre olacak şekilde deiyonize su eklendi.

### **Asetik asit çözeltisi (% 5)**

50 ml asetik asit son hacim 1 litre olacak şekilde deiyonize su ile tamamlandı.

Gümüş boyama işlemindeki basamaklar protokole göre yapıldıktan sonra bantlaşmalar net şekilde görülünce jelin fotoğrafları çekildi. Daha sonra jeller % 5 asetik asit içinde saklandı.

**Çizelge 3.4.** Gümüş boyama protokolü (1.5 mm kalınlığındaki jel için).

<b>Adım</b>	<b>Çözelti</b>	<b>Süre</b>
Sabitleme	Sabitleyici	30 dk
Yıkama	Deiyonize su	30 dk
Duyarlılaştırma	Duyarlılaştırıcı	60 dk
Yıkama	Deiyonize su	6 x 10 dk
Gümüş	Gümüş nitrat	30 dk
Yıkama	Deiyonize su	30 sn
Geliştirme	Geliştirici	5 dk
Yıkama	Deiyonize su	5 x 20 sn
Durdurma	Durdurma ayıracı	5 dk
Yıkama	Deiyonize su	2 x 10 dk

### **3.14.6. SDS poliakrilamid jel elektroforezi sonrası enzimin renaturasyonu**

SDS poliakrilamid jel elektroforezinden sonra elektroforetik ayırım yapılan protein bantlarından lakkaz enzimine ait olan protein bandının saptanması için enzimin substratı ile aktivite boyaması yapıldı. Bunun için öncelikle proteinin renaturasyon işlemi gerçekleştirildi. Renaturasyondaki amaç ortamdaki SDS'ı ortamdan uzaklaştırmak ve denature olan proteinlerin tekrar katlanmasını sağlamaktır. Renaturasyon işleminde öncelikle jel, distile su içinde % 2.5 (v:v) Triton X-100 içeren 100 ml çözelti içine alındı ve 30 dakika oda sıcaklığında çok yavaş çalkalandı. Daha

sonra renaturasyon birinci çözeltisi boşaltıldı. Jelin üzerine 1.21 g/L Tris-base, 6.30 g/L Tris- HCl, 11.7 g/L NaCl, 0.74 g/L CaCl<sub>2</sub> ve % 0.02 (v:v) Tween 80 içeren 100 ml yeni bir tampon ilave edildi. İkinci çözelti içinde jel 30 dakika oda sıcaklığında çalkalandı. Sonraki aşamada çözelti, 100 ml aynı tamponla değiştirildi ve 37°C'de 16 saat inkübe edildi [188]. Renaturasyondan sonra aktivite boyaması [174] ve Coomassie Brilliant Blue R-250 ile tek basamaklı boyama işlemi [175] yapıldı.

### **3.14.7. Aktivite boyama**

Renaturasyon işleminden sonra jeller Na-asetat pH 5 tamponuyla yıkandı. Daha sonra jeller % 0.3 ABTS (w:v) içeren 100 ml Na-asetat pH 5 tamponu içine alındı [174, 176, 177]. ABTS ile lakkaz enzimi reaksiyona girene kadar beklenildi. Reaksiyonun gerçekleştiği anda jelin fotoğrafları çekildi.

### **3.14.8. Coomassie boyama**

SDS veya doğal poliakrilamid jel elektroforezlerinden sonra protein bantları Zehr vd. tarafından oluşturulan protokole göre tek adımda Coomassie Brilliant Blue R-250 ile boyandı [175]. Bu protokole göre % 10 etanol (v:v) ve % 5 asetik asit (v:v) çözeltisi içine son konsantrasyon % 0.0004-0.0016 olacak şekilde Coomassie Brilliant Blue R-250 ilave edildi. Çözelti boya çözünene kadar iyice karıştırıldı. Daha sonra jel bu çözelti içine alındı. Jel oda sıcaklığında bir gece çalkalandı ve bantlar belirginleştikten sonra jelin fotoğrafları çekildi.

### **3.14.9. Proteinlerin molekül ağırlıklarının hesaplanması**

Molekül ağırlıkları bilinen standart proteinlerin, molekül ağırlıkları ve jeldeki göç mesafeleriyle ilişkili olarak Microsoft Office Excel 2003 programında çizilen doğrusal bir grafik yardımıyla örnek proteinin molekül ağırlığı hesaplandı.

#### **Hesaplama Yöntemi**

1. Boyanın (bromfenol mavi) uygulama noktasından elektroforez sonunda göç ettiği noktaya kadar olan mesafesi ölçüldü.
2. Molekül ağırlıkları bilinen standart proteinlerin uygulama noktasından elektroforez sonunda göç ettiği noktaya kadar olan mesafeleri ölçüldü.

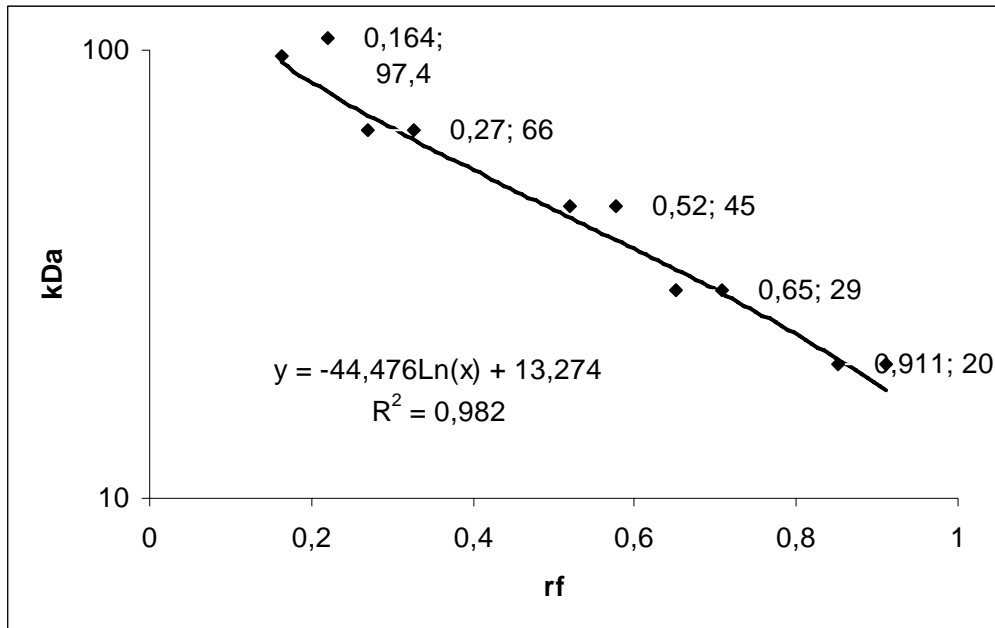
3. Her standart protein için Rf değeri hesaplandı (Çizelge 3.5). Bunun için aşağıdaki formül kullanıldı:

$$Rf = \frac{\text{Proteinin göç ettiği mesafe}}{\text{Boyanın göç ettiği mesafe}}$$

4. Microsoft Office Excel 2003 programında, X eksenini Rf, Y eksenini moleküler ağırlık olmak üzere standart eğri grafiği çizildi (Şekil 3.9).
5. Bilinmeyen proteinin Rf değeri hesaplanarak grafik yardımıyla moleküler ağırlığı hesaplandı [178].

Çizelge 3.5. Standart proteinlerin Rf değerleri

Protein	Moleküler Ağırlık (kDa)	Rf değerleri
FOSFORİLAZ-B	97.4	0.16
ALBUMİN (BSA)	66	0.27
OVALBUMİN	45	0.52
KARBONİK ANHİDRAZ	29	0.65
TRİPSİN İNHİBİTÖR	20	0.91



Şekil 3.9. Moleküler ağırlıkları (kDa) belli olan proteinlerin standart eğri grafiği

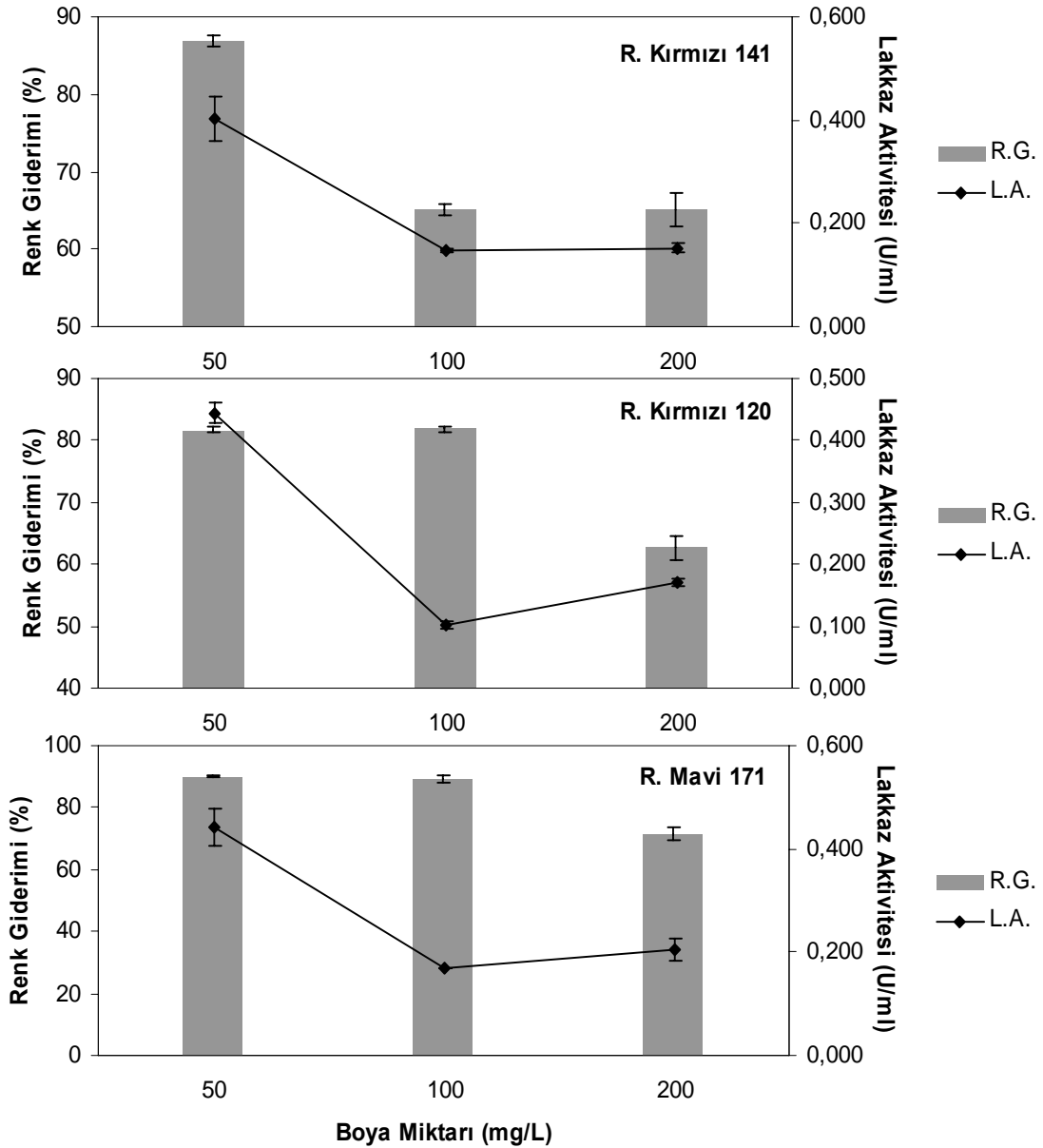
## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

### 4.1. Optimizasyon Çalışmaları

Biyoteknolojik işlemlere bağlı renk giderimi verimi üreme koşulları, boyanın miktarı ve yapısına bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle, çalışmanın ilk aşamasında boya yapısı ve konsantrasyonun, kullanılan fungus türü ve miktarının, ortamın sıcaklığı ve başlangıç pH'sının, çalkalama hızı ve inkübasyon süresinin renk giderimi üzerine etkisi araştırılmıştır.

#### 4.1.1. Boya konsantrasyonun renk giderimi ve lakkaz aktivitesine etkisi

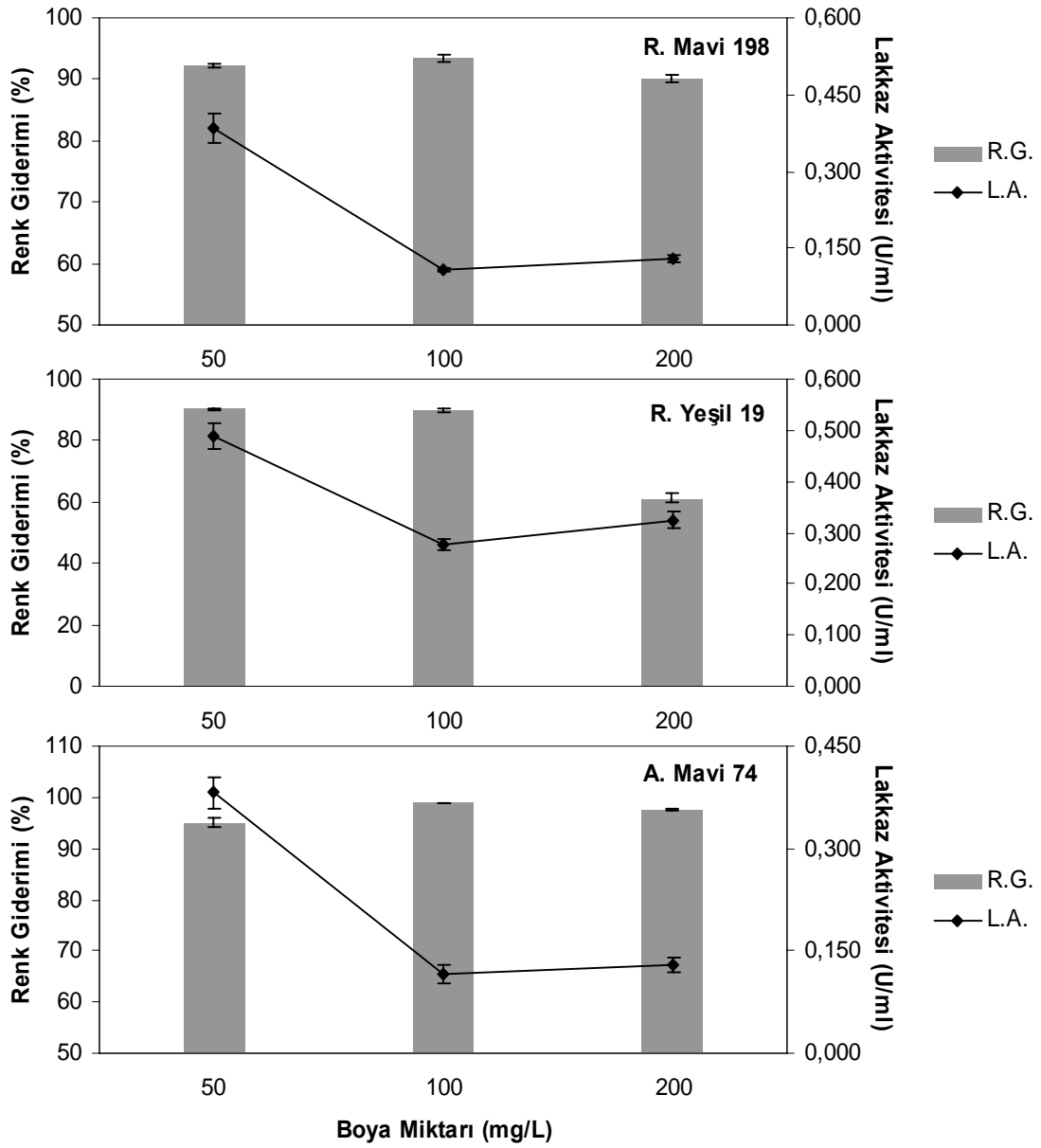
Öncelikle fungusların tolere edebileceği boya konsantrasyonları tespit edildi. Bunun için *Trametes versicolor*, *Funalia trogii* ve *Phanerochaete chrysosporium* peletleri farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki boyalar (50-200 mg/L) ile muamele edilerek peletlerin renk giderim verimi ve lakkaz aktiviteleri (*P. chrysosporium* hariç) araştırıldı. Bölüm 3.8.1'de belirtildiği gibi hazırlanan *T. versicolor* peletleri 50 mg/L Reaktif Kırmızı 141 (RK 141), Reaktif Kırmızı 120 (RK 120) ve Reaktif Mavi 171'in (RM 171) rengini sırasıyla % 89.93±0.75, % 81.76±0.36 ve % 89.93±0.35 oranında giderdi (Şekil 4.1). En yüksek renk giderimi verimleri 50 mg/L boya içeren ortamlarda tespit edildi. RK 141'in 100 mg/L olduğu durumlarda rengin giderimi daha düşükken, diğer boyaların renk giderim yüzdelerinin 50 mg/L boya sonuçları ile benzerlik gösterdiği tespit edildi. Boya konsantrasyonu iki katına çıkarılınca (200 mg/L), funguslarla tüm boyaların renk giderim yüzdelerinin düştüğü saptandı. Benzer sonuçlar Kapdan vd. [127] tarafından farklı konsantrasyonlardaki Everzol Turkuaz Mavi G boyası ile yapılan çalışmada rapor edilmiştir. En yüksek lakkaz aktivitesi, 50 mg/L boya içeren ortamlarda saptanırken, boya konsantrasyonunun artışına bağlı olarak lakkaz aktivitesinin hızla düştüğü saptandı.



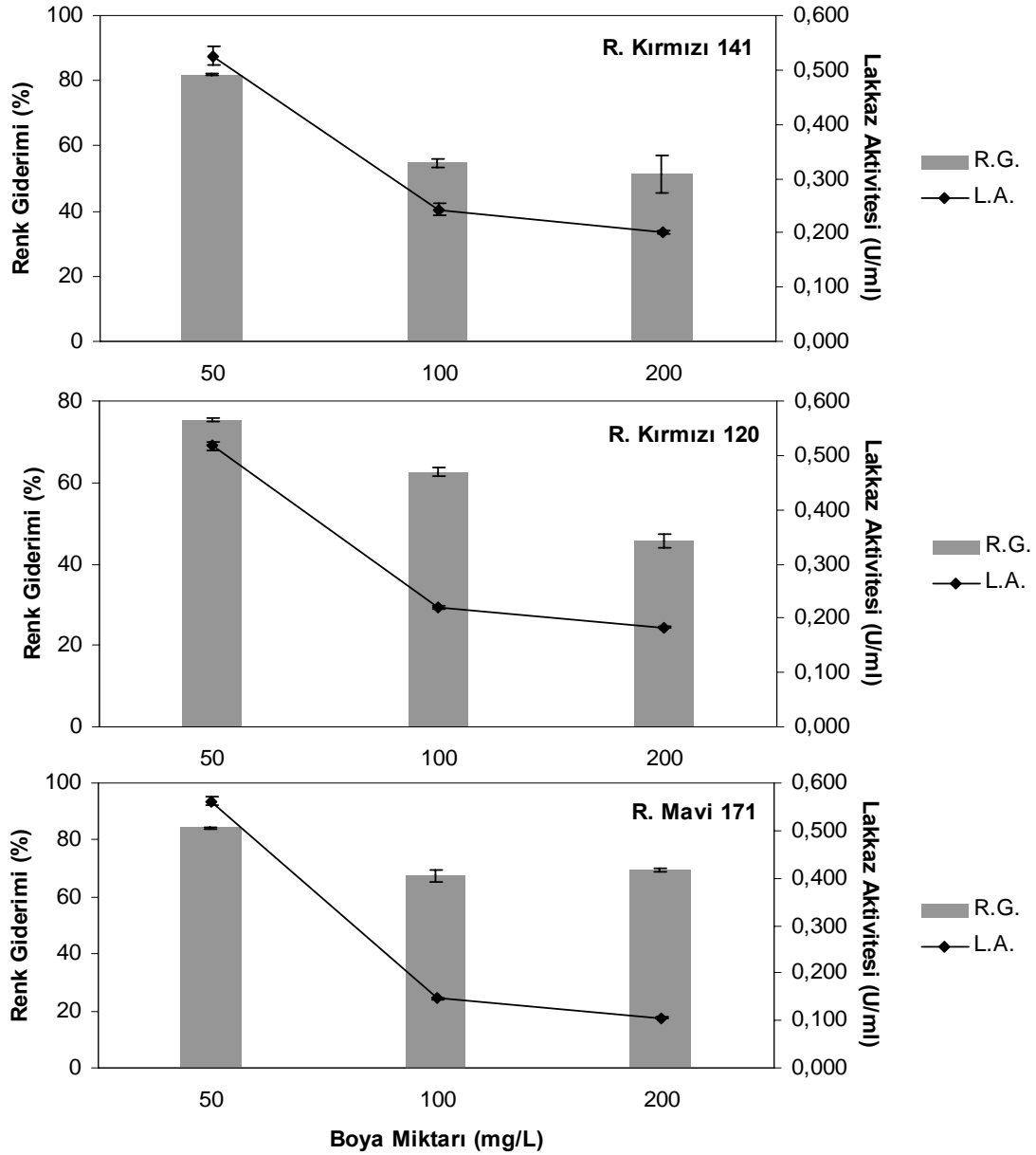
**Şekil 4.1.** Boya konsantrasyonunun *Trametes versicolor* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml ve inkübasyon süresi: 24 saat

A. Mavi 74 ve R. Mavi 198'in (RM 198) miktarının artışı, *T. versicolor* peletlerinin renk giderim aktivitesini etkilemedi. Her iki boyanın tüm konsantrasyonları için % 90'nın üzerinde renk giderimi elde edildi. 50-100 mg/L Reaktif Yeşil 19 (RY 19) içeren ortamlarda renk giderimi sırasıyla % 90.20±0.38 ve % 89.97±0.050 olurken boya miktarı 200 mg/L'e çıkarılınca renk giderimi % 61.34±1.30 olarak saptandı (Şekil 4.2). Benzer sonuçlar Eichlerova [179] tarafından yüksek konsantrasyonlarda Turuncu G, Amaranth ve Poli R-478 içeren katı ortamlarda da elde edilmiştir. *T. versicolor*

peletlerinin en yüksek lakkaz aktivitesi 50 mg/L boya içeren kültürlerde elde edilirken konsantrasyon artışına bağlı olarak lakkaz aktivitesinin düştüğü tespit edildi (Şekil 4.2).



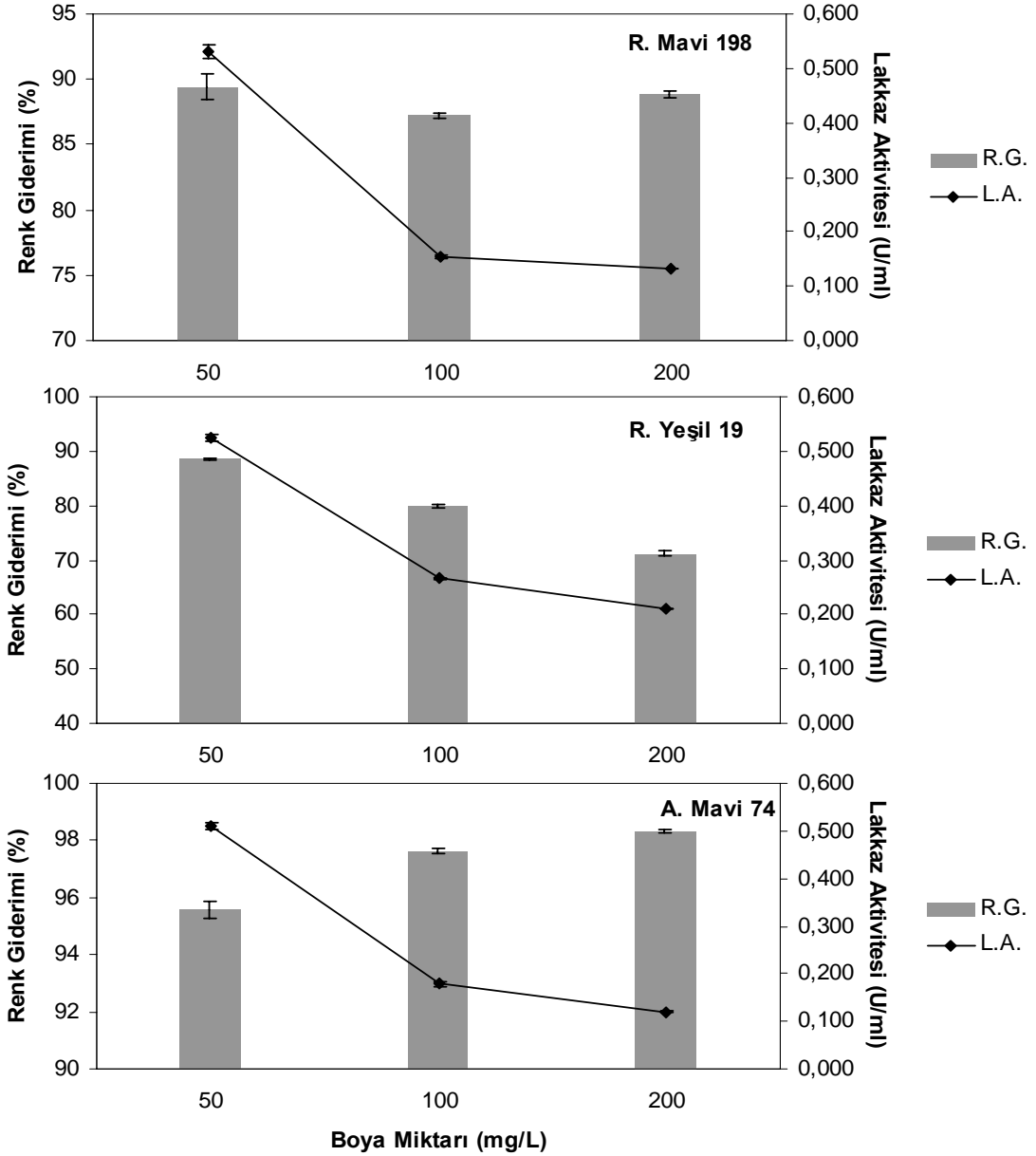
**Şekil 4.2.** Boya konsantrasyonunun *Trametes versicolor* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml ve inkübasyon süresi: 24 saat



**Şekil 4.3.** Boya konsantrasyonunun *Funalia trogii* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml ve inkübasyon süresi: 24 saat

*F. trogii* peletlerinin boya renk giderim aktivitesinin (A. Mavi 74 hariç) *T. versicolor* peletlerinden daha düşük olduğu tespit edildi. A. Mavi 74 ve RM 198 hariç diğer boyaların renginin giderimi boya konsantrasyonunun artışına bağlı olarak azaldı (Şekil 4.3-4.4). *F. trogii* peletleri 50, 100 ve 200 mg/L A. Mavi 74'ün rengini sırasıyla % 95.57±0.31, % 97.36±0.34 ve % 98.32±0.08 ve RM 198'in rengini de sırasıyla % 89.41±0.95, % 87.22±0.15 ve % 88.84±0.24 oranında giderdi. *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi boya miktarının artışına bağlı olarak düştü (Şekil 4.3-4.4).

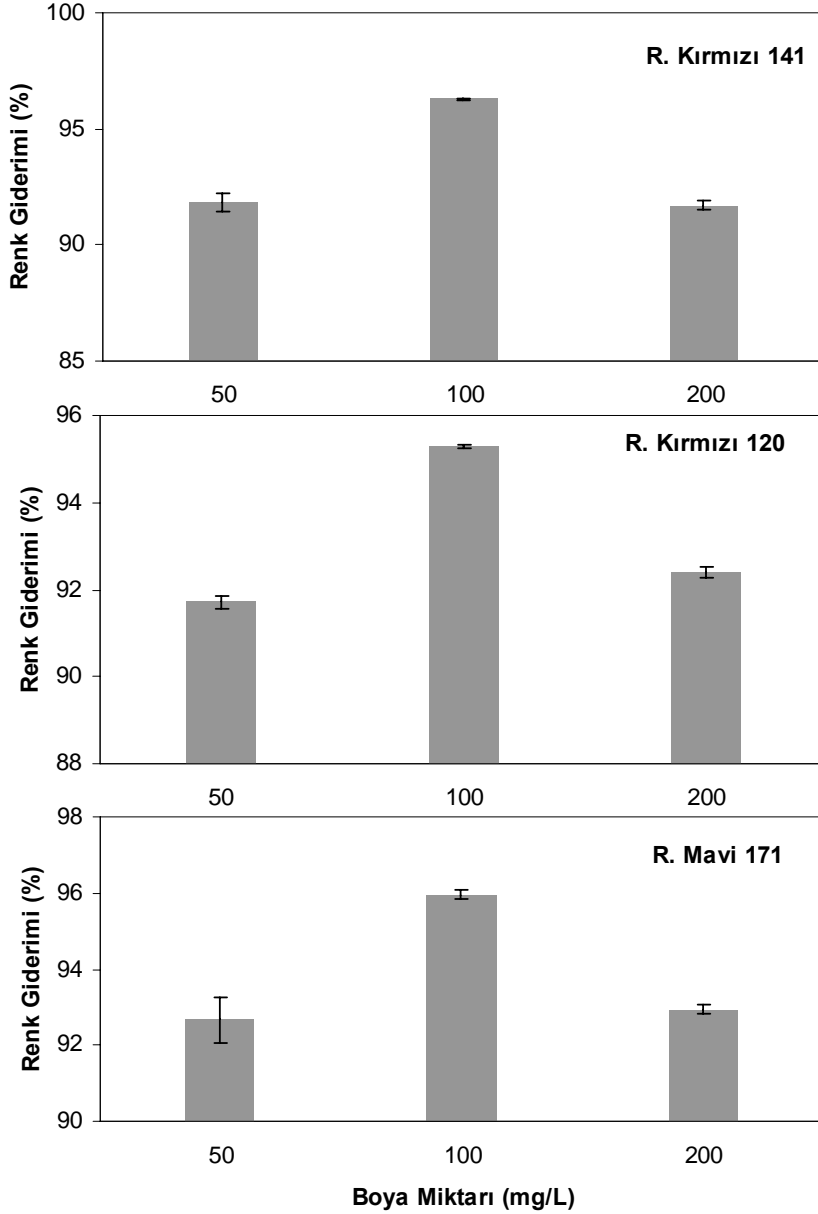




**Şekil 4.4.** Boya konsantrasyonunun *Funalia trogii* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml ve inkübasyon süresi: 24 saat

Farklı miktarlardaki *P. chrysosporium* peletleri reaktif boyaların rengini diğer funguslardan daha yüksek oranda giderdi. Bölüm 3.8.1’de belirtildiği gibi hazırlanan *P. chrysosporium* peletleri RK 141, RK 120 ve RM 171’in rengini hangi konsantrasyonda olursa olsun ilk 24 saatte en az % 92 oranında giderebildi (Şekil 4.5). Ayrıca 100 mg/L reaktif mono-diazo boyaların renkleri 50 mg/L’den daha fazla giderilirken, boya miktarı 200 mg/L olduğunda renk gideriminde önemli olmayan azalmalar tespit edildi (Şekil 4.5-4.6). Glenn ve Gold [115] *P. chrysosporium*’un boyar maddelerin renk giderimden lignin peroksidazın sorumlu olabileceğini bildirmiştir.

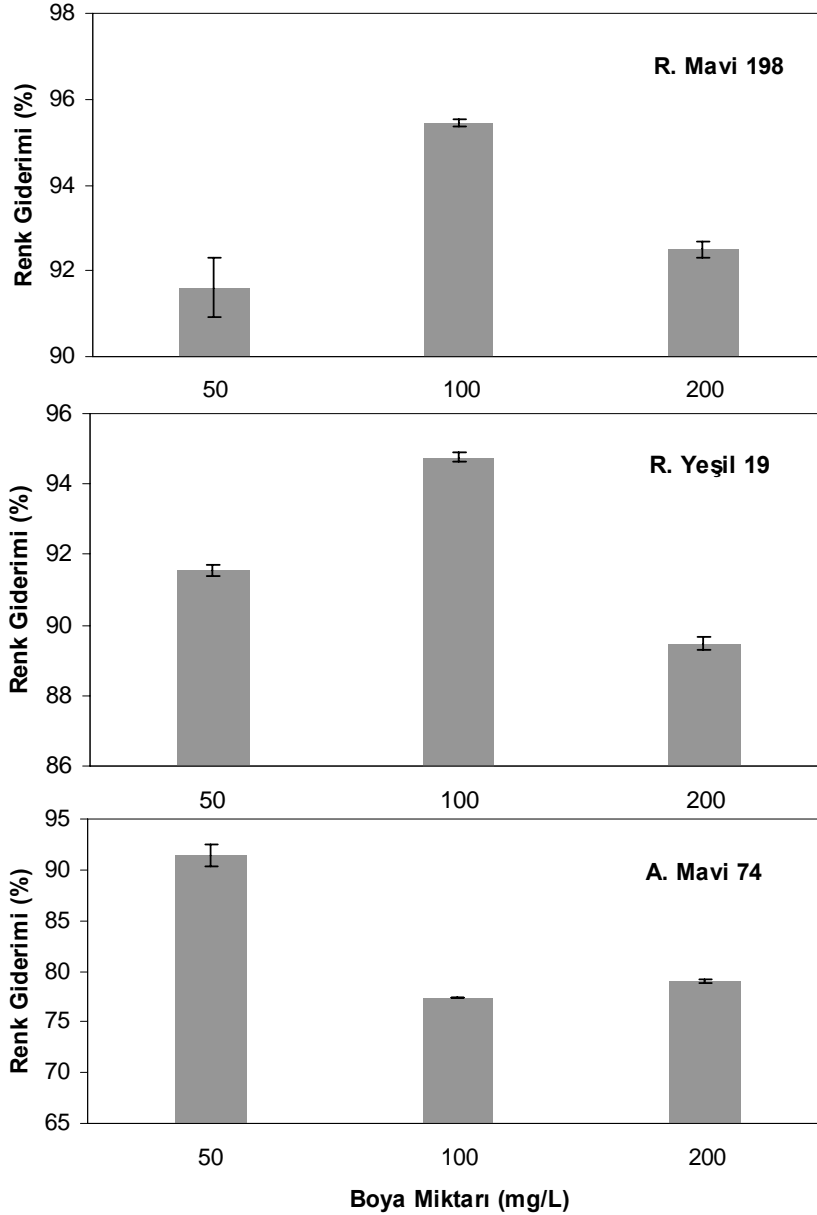
*P. chrysosporium* ile yapılan birçok çalışmada ortamda LiP ve MnP enzim aktivitesi tespit edilirken, lakkaz aktivitesi ya hiç ya da çok az oranda tespit edilmiştir [126]. *P. chrysosporium* peletleri ile yürütülen renk giderimi çalışmalarımızda lakkaz aktivitesi tespit edilemedi.



**Şekil 4.5.** Boya konsantrasyonunun *Phanerochaete chrysosporium* peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml ve inkübasyon süresi: 24 saat

*P. chrysosporium* peletleri ile A. Mavi 74'ün rengi diğer fungusların aksine 100 ve 200 mg/L konsantrasyonlarda daha az giderilebildi. A. Mavi 74'ün rengi 50 mg/L'de % 91.40±1.10 oranında giderilirken, 100 mg/L'de % 77.41±0.05 ve 200 mg/L'de % 79.07±0.20 oranında giderildi. RM 171 ve RY 19'un 100 mg/L konsantrasyonunda en yüksek renk giderimi elde edildi ve boya konsantrasyonu iki

katına çıkarılınca renk giderimi verimi hızla düştü (Şekil 4.6). Benzer sonuçlar Radha vd. [126] tarafından Metil Viyola boyasının başlangıç konsantrasyonunun iki katına çıkarıldığı zaman renk gideriminin hızla düşmesi şeklinde rapor edilmiştir. Bunun nedeni fungusların boyalara karşı yüksek duyarlılıkları ve düşük tolerans göstermeleri olabilir [180].



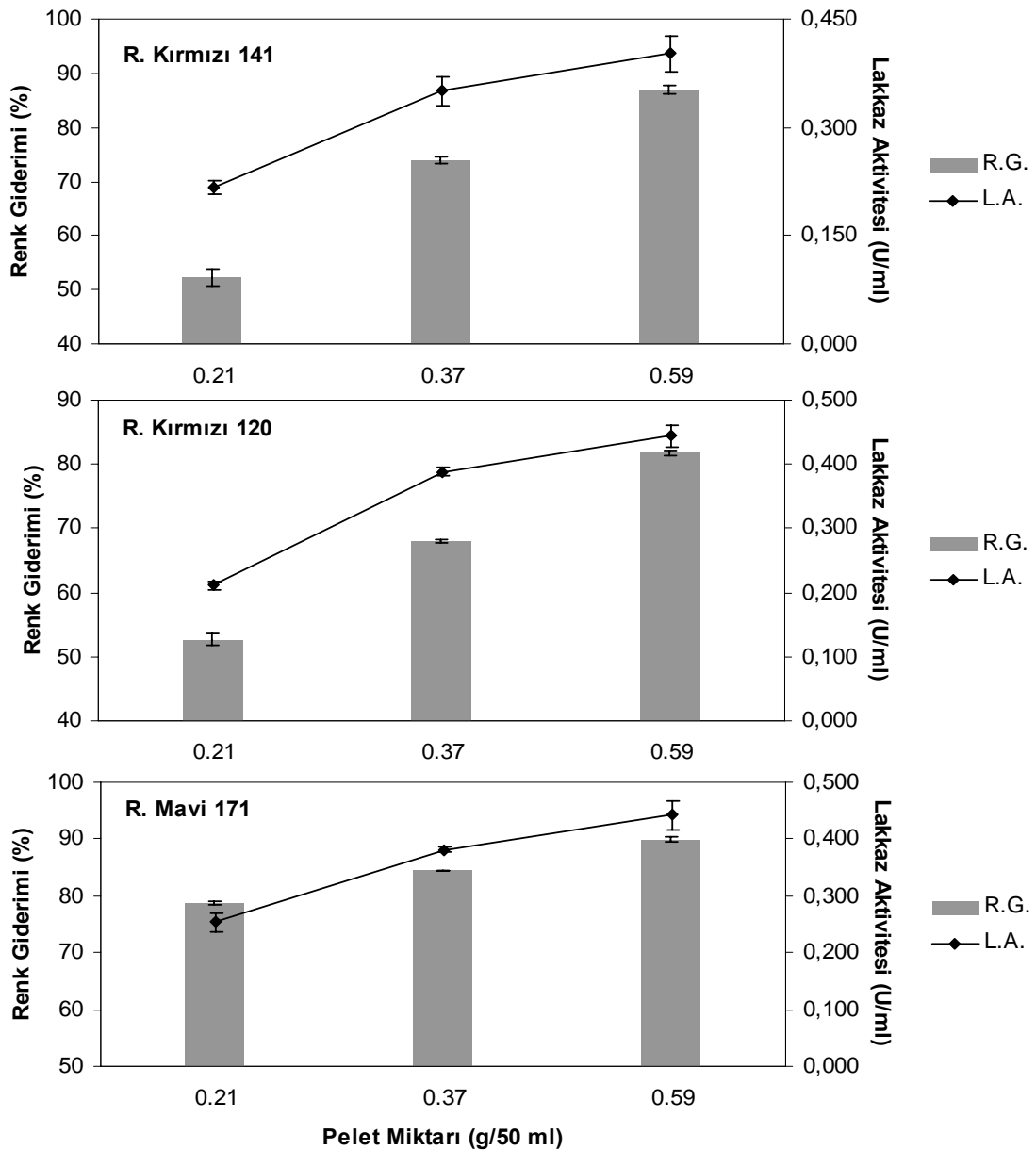
**Şekil 4.6.** Boya konsantrasyonunun *Phanerochaete chrysosporium* peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml ve inkübasyon süresi: 24 saat

Boya içeren, fakat fungus peletleri eklenmemiş kontrollerin renginde inkübasyon süresince herhangi bir değişiklik gözlenmedi. Boya konsantrasyonunun etkisi kullanılan boya ve fungus türüne göre farklılık gösterdi. Reaktif mavi ve yeşil boyalar ile indigo boyanın rengi konsantrasyon artışına bağlı olarak daha çok giderilirken reaktif kırmızı

boyaların rengi daha az giderildi. Farklı konsantrasyonlardaki boyaların renginin gideriminde en etkili fungus *P. chrysosporium* olurken, ikinci sırada *T. versicolor* üçüncü sırada da *F. trogii* gelmektedir. En iyi renk giderimleri 50 mg/L boya içeren ortamlarda elde edildiğinden, yapılan diğer optimizasyon çalışmalarında 50 mg/L boya kullanıldı.

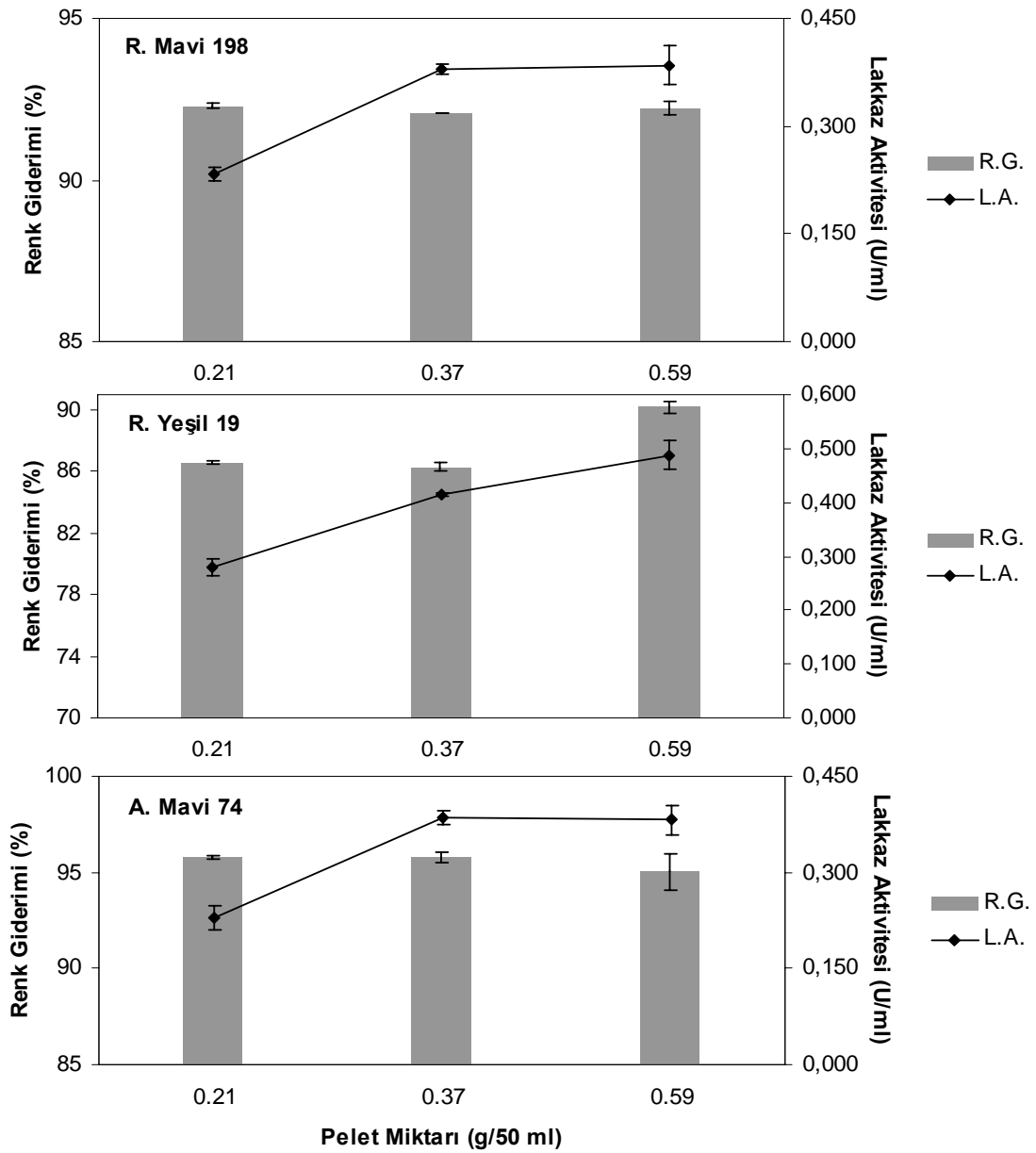
#### 4.1.2. Pelet miktarının renk giderimine ve lakkaz aktivitesine etkisi

Hem anaerobik hem de aerobik renk giderimi işlemlerinde, kullanılan biyokütle miktarı önemlidir. Çalışmamızda fungus miktarının renk giderimi üzerindeki etkisini saptamak üzere her bir fungus türü için üç farklı pelet miktarı tespit edildi. *T. versicolor* 0.21±0.01, 0.37±0.01 ve 0.59±0.02 g/50 ml kuru ağırlık olarak kullanıldı. *T. versicolor* peletlerinin miktarı arttıkça RK 141, RK 120 ve RM 171'in renk giderim yüzdeleri ve peletlerin lakkaz aktivitesi de arttı (Şekil 4.7).



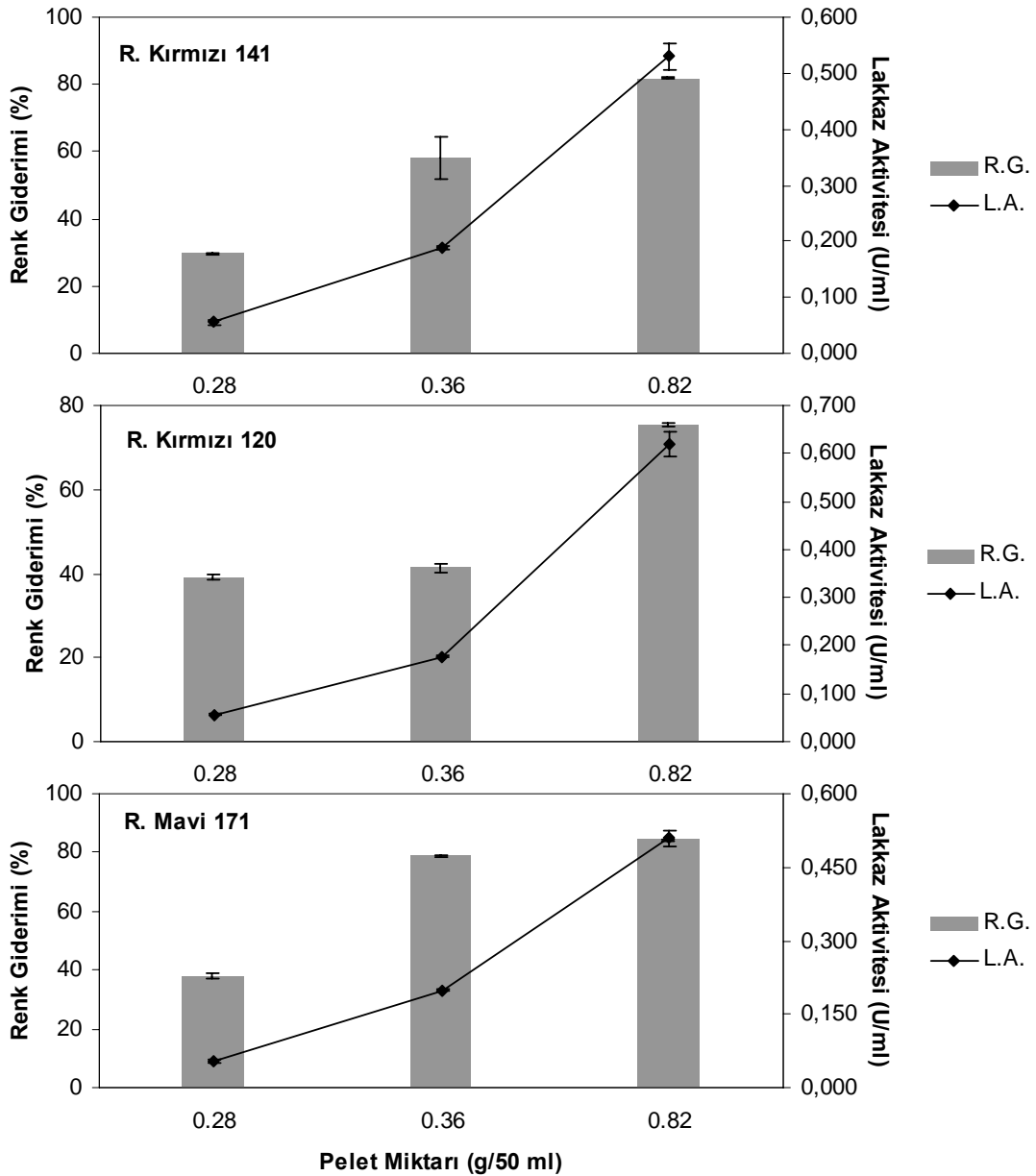
Şekil 4.7. Pelet miktarının (*T. versicolor*) renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, boya miktarı 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

RY 19'un renginin gideriminde 0.21 ve 0.37 g/50 ml pelet kullanıldığında renk giderimi sırasıyla % 86.58±0.13 ve % 86.34±0.23 olurken, pelet miktarı 0.59/50 ml olduğunda renk giderimi % 90.20±0.38'e yükseldi. Pelet miktarındaki artış RM 198 ve A. Mavi 74 boyalarının renk giderim yüzdelerini değiştirmede. RM 198'in rengi ortalama % 92 oranında giderilirken A. Mavi 74'ün rengi % 95 oranında giderildi. *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesi RY 19 bulunan ortamda pelet miktarının artışına bağlı olarak artarken RM 198 ve A. Mavi 74 bulunan kültürlerde 0.37 ve 0.59 g/50ml pelet kullanıldığında benzer sonuçlar alındı (şekil 4.8).



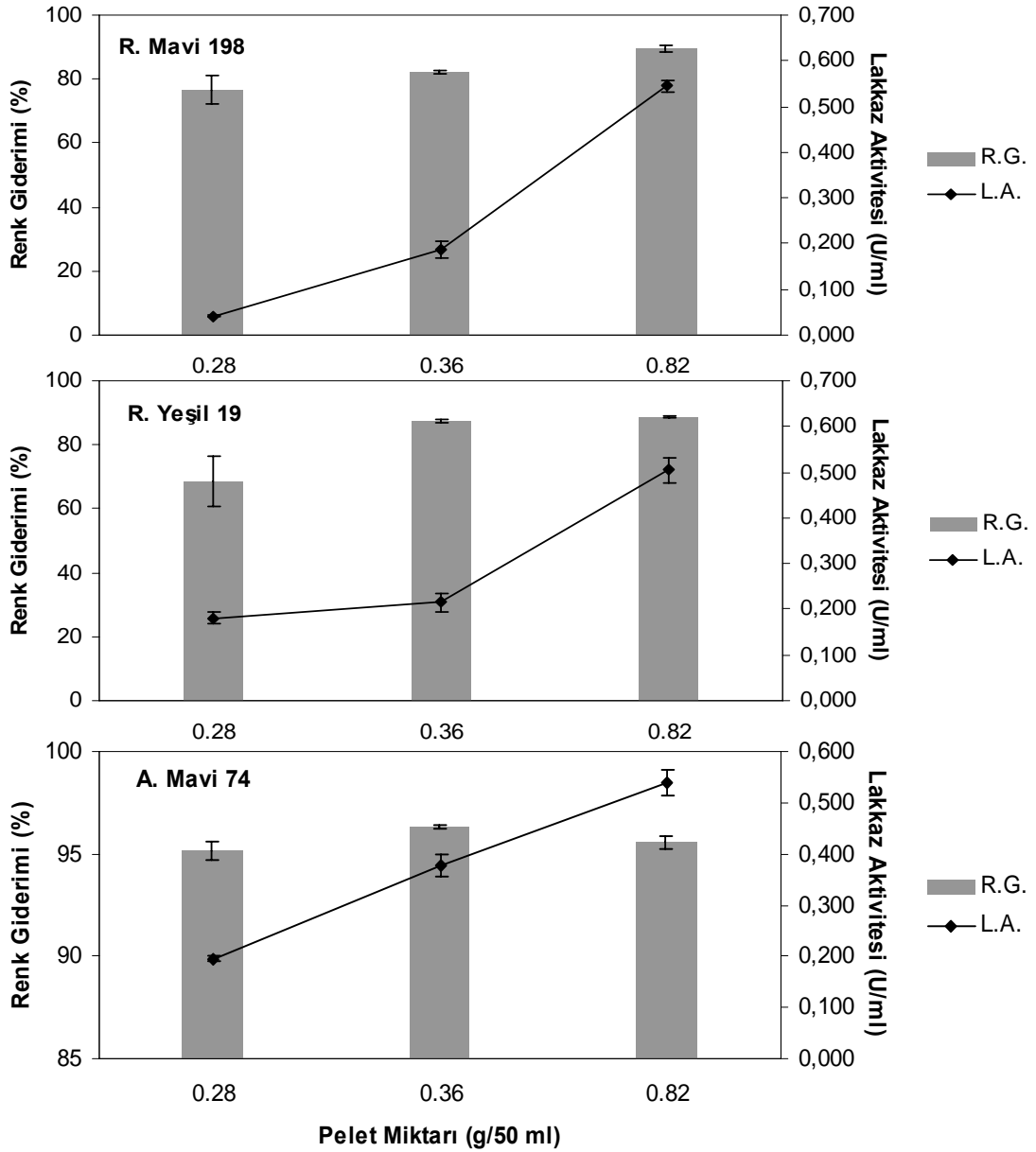
**şekil 4.8.** Pelet miktarının (*T. versicolor*) renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. alkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, boya miktarı 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

Çalışmada  $0.28 \pm 0.01$ ,  $0.36 \pm 0.09$  ve  $0.82 \pm 0.07$  g/50 ml kuru ağırlıktaki *F. trogii* peletleri kullanıldı. En düşük miktarda pelet ile RK 141, RK 120 ve RM 171'in renkleri % 37'nin altında giderebilirken pelet miktarının artışına bağlı olarak renk giderim yüzdeleri arttı. Fakat bu üç boyanın rengi yüksek miktarda *F. trogii* peleti kullanımında bile *T. versicolor*'dan daha az giderildi. 0.82 g/50 ml pelet kullanıldığında RK 141, RK 120 ve RM 171'in renkleri sırasıyla %  $81.89 \pm 0.17$ , %  $75.34 \pm 0.28$  ve %  $84.15 \pm 0.27$  oranında giderildi. En yüksek lakkaz aktivitesi 0.82 g/50 ml pelet kullanıldığında  $0.62 \pm 0.02$  U/ml olarak saptandı (Şekil 4.9).



**Şekil 4.9.** Pelet miktarının (*F. trogii*) renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, boya miktarı 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

A. Mavi 74'ün rengi tüm pelet miktarlarında etkili şekilde giderildi. Kullanılan tüm pelet miktarlarında renk giderimi yüzdesi en düşük % 96'dır. RM 198 ve RY 19'un 0.28 g/50 ml *F.trogii* peletleri ile muamelesi sonucu, renk giderimi sırasıyla % 76.59±4.42 ve 68.70±7.91 olarak saptanırken pelet miktarı 0.82/50 ml olduğunda bu oranlar sırasıyla % 89.41±0.95 ve % 88.54±0.23'e yükseldi. Lakkaz aktivitesi pelet miktarı artışına bağlı arttı (Şekil 4.10).

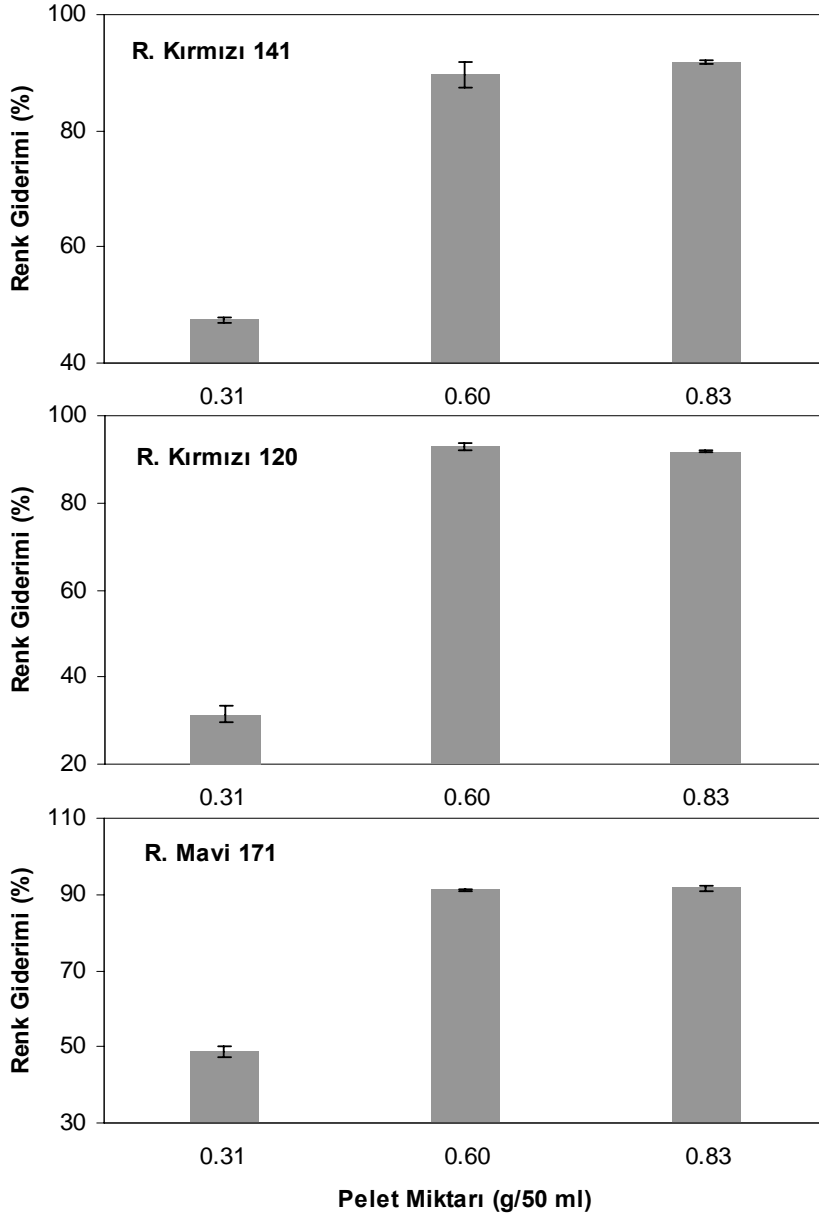


**Şekil 4.10.** Pelet miktarının (*F. trogii*) renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, boya miktarı 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

*P. chrysosporium* pelet miktarının renk giderimine etkisinin araştırıldığı çalışmada 0.31±0.03, 0.60±0.04 ve 0.83±0.09 g/50 ml *P. chrysosporium* peletleri

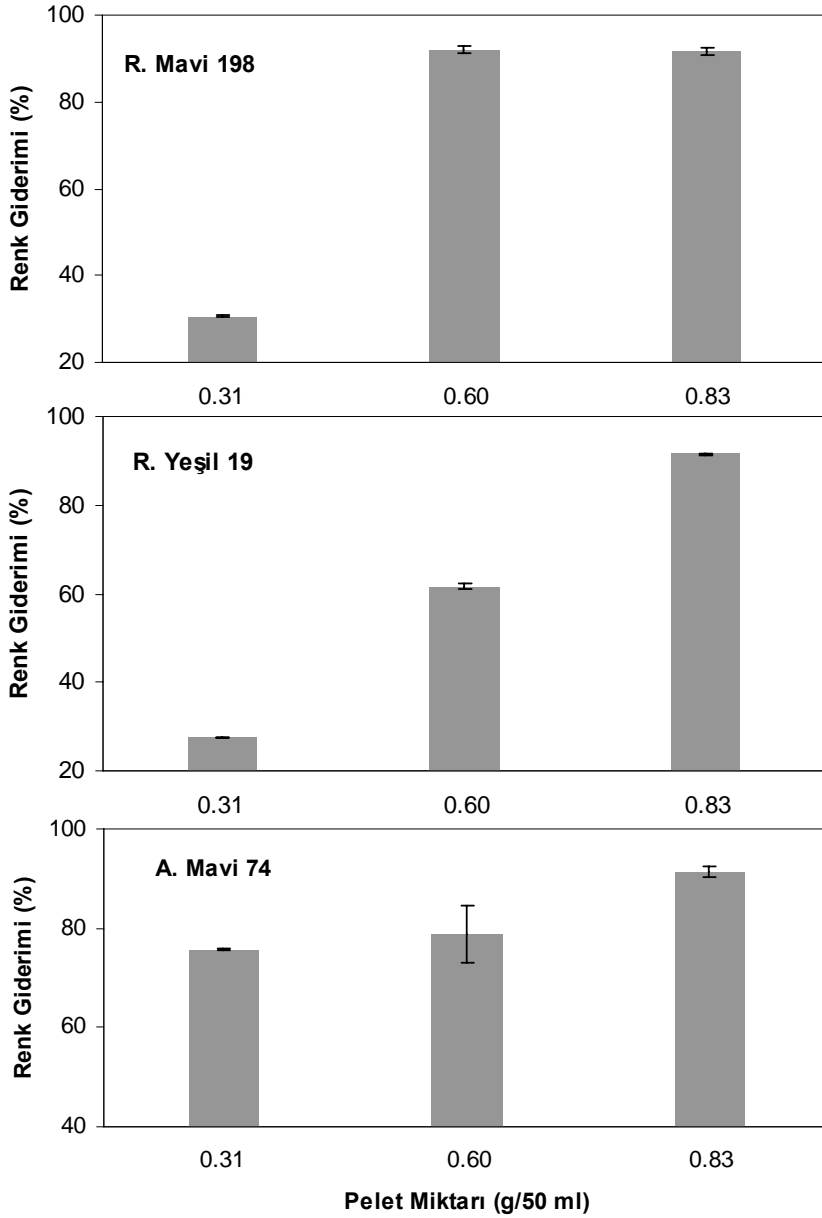


kullanıldı. Pelet miktarı 0.31 g/50 ml'den 0.60 g/50 ml'e çıkarıldığında RK 141 ve RM 171'in renk giderimi yüzdesi yaklaşık iki kat, RK 120'in ise üç kat arttı. 0.60 ve 0.83 g/50 ml pelet kullanıldığı durumlarda renk giderimi yüzdelерinin benzer olduğu tespit edildi (Şekil 4.11).



**Şekil 4.11.** Pelet miktarının (*P. chrysosporium*) renk giderimi (%) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, boya miktarı 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

*P. chrysosporium* peletlerinin miktarı arttıkça RY 19 ve A. Mavi 74'ün renginin giderimi artarken 0.60 ve 0.83 g/50 ml pelet kullanıldığında RM 198'in rengi sırasıyla % 91.88±0.90 ve % 91.61±0.70 oranında giderildi (Şekil 4.12).

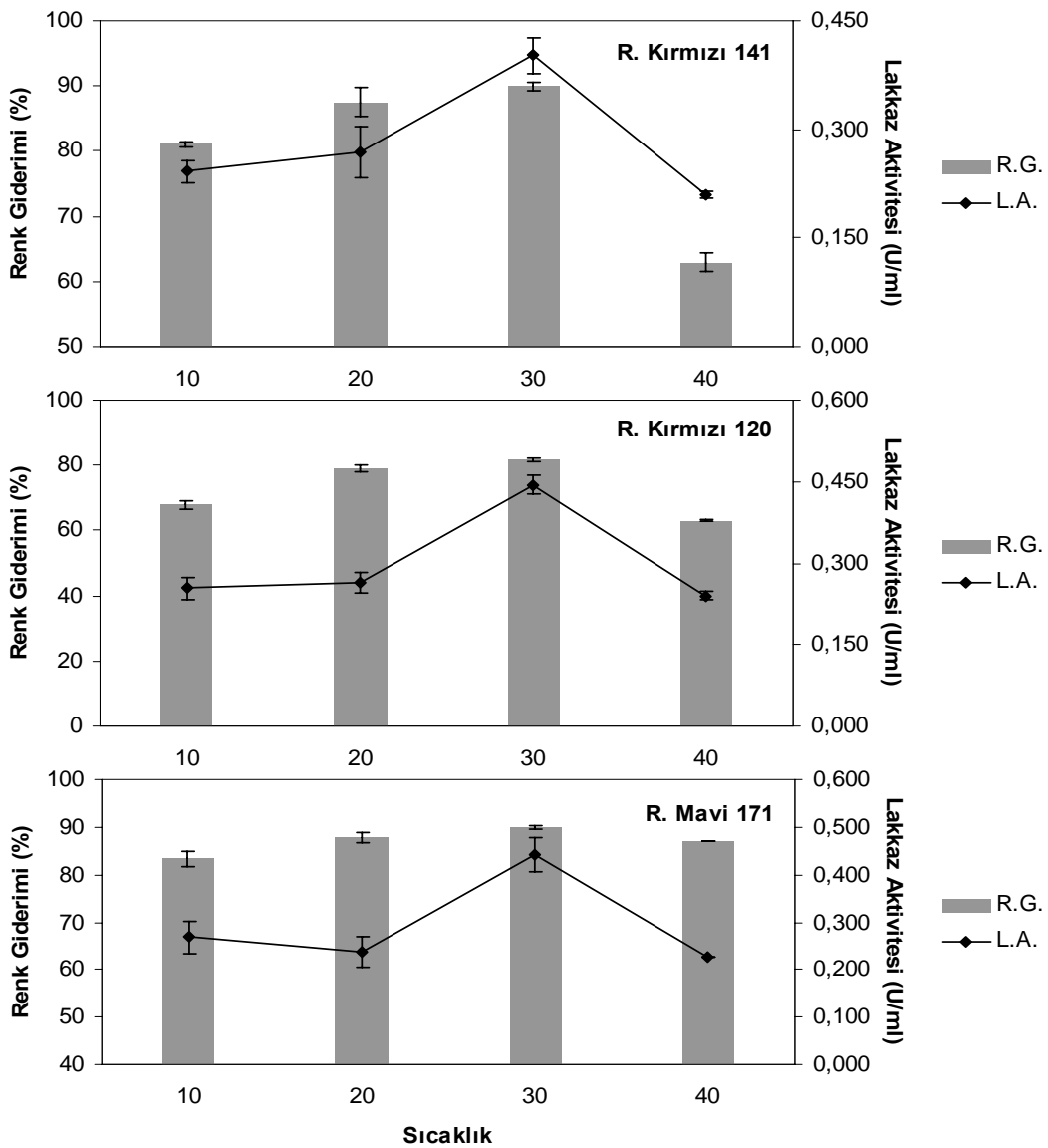


**Şekil 4.12.** Pelet miktarının (*P. chrysosporium*) renk giderimi (%) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, boya miktarı 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

Pelet miktarının artışı *P. chrysosporium*'un renk giderim aktivitesini önemli oranda artırdı. Benzer sonuçlar Radha vd. [126] tarafından 0.05 g/L Metil Viyola boyasının renginin gideriminde elde edilmiştir. Boyalı ortama ilave edilen fungus miktarı arttıkça renk giderimi hızla artarken maksimum renk giderimi elde edilen fungus miktarının üzerinde ortama fungus ilave edildiğinde renk giderimi yüzdeleri değişmemiştir. Aynı şekilde Shahvali vd. [125] % 10'luk fungus inokulasyonunun tekstil atık sularının renginin gideriminde yeterli olduğunu belirtmiştir.

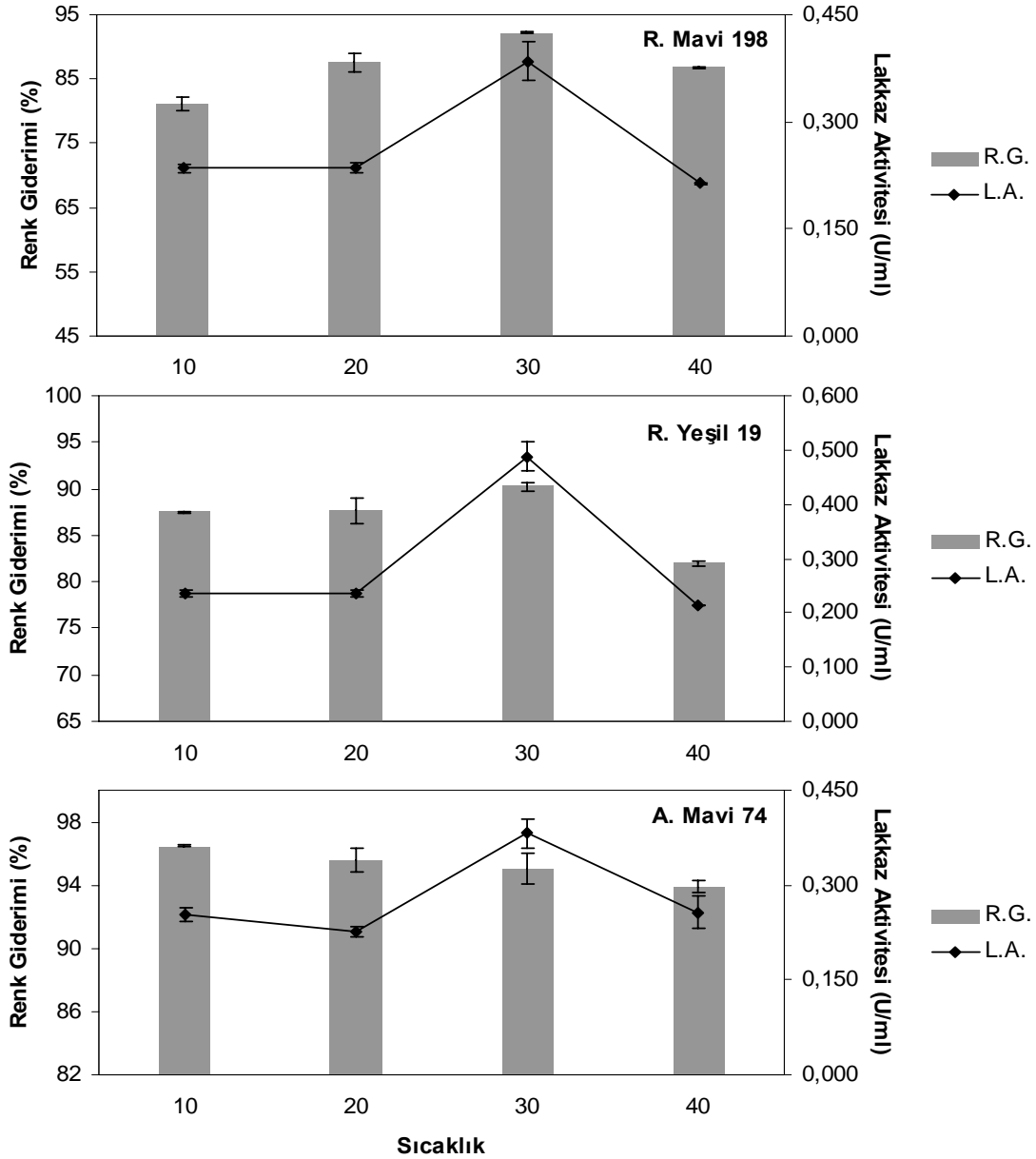
#### 4.1.3. Sıcaklığın renk giderimine ve lakkaz aktivitesine etkisi

Fungusların en iyi üredikleri sıcaklıklar türe göre farklılık göstermektedir. Birçok fungus 25-35°C'de üremektedir [19]. Bölüm 3.8.3'de belirtildiği gibi hazırlanan renk giderimi çalışması değişik sıcaklıklarda yürütüldü (10-40°C). Renk giderim verimi 30°C'de maksimum değerlere ulaştı (Şekil 4.13). Fakat test edilen tüm sıcaklıklarda RM 171'in renk giderim yüzdeleri (>% 78) benzerlik gösterirken RK 120 ve RK 141'in sadece 20°C ve 30°C'de renk giderimleri benzerlik göstermektedir. Lakkaz aktivitesi sıcaklık artışına bağlı artış gösterip maksimum aktivite 30°C'de elde edilirken sıcaklığın 40°C olmasıyla lakkaz aktivitesinde azalmalar tespit edildi (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Ortam sıcaklığının (°C) *T. versicolor* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

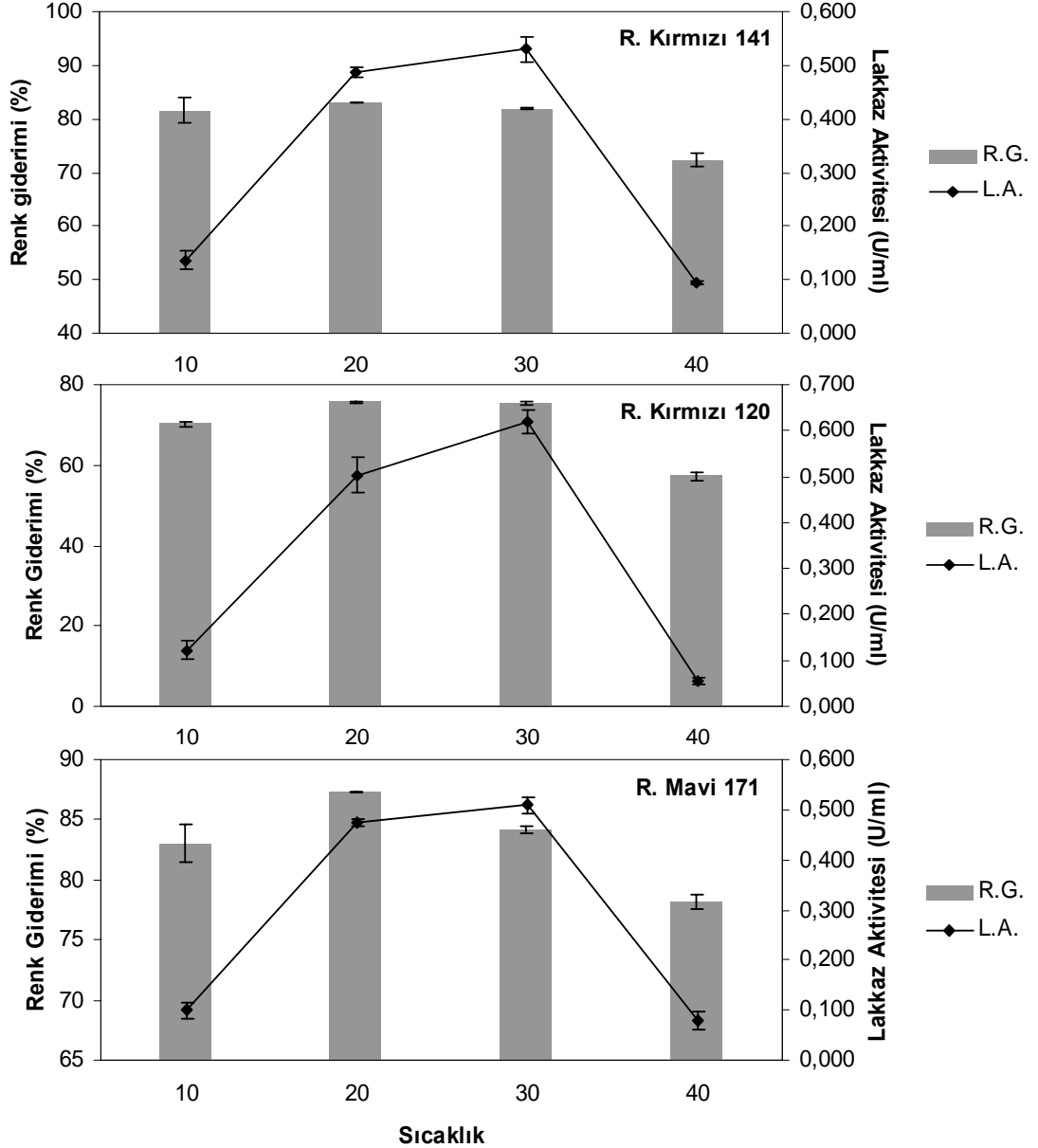
Sıcaklık değişimi Şekil 4.14’de belirtilen boyların renginin gideriminde önemli farklılıklara neden olmadı. Çünkü test edilen tüm sıcaklıklarda renk giderim yüzdeleri % 80’nin üzerinde oldu. Lakkaz aktivitesi değerleri düşük sıcaklıklarda benzer olurken maksimum aktivite 30°C’de tespit edildi. Fakat sıcaklık 40°C’ye yükselince lakkaz aktivitesi düştü (Şekil 4.14).



**Şekil 4.14.** Ortam sıcaklığının (°C) *T. versicolor* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. alkalama hızı: 150 rpm, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

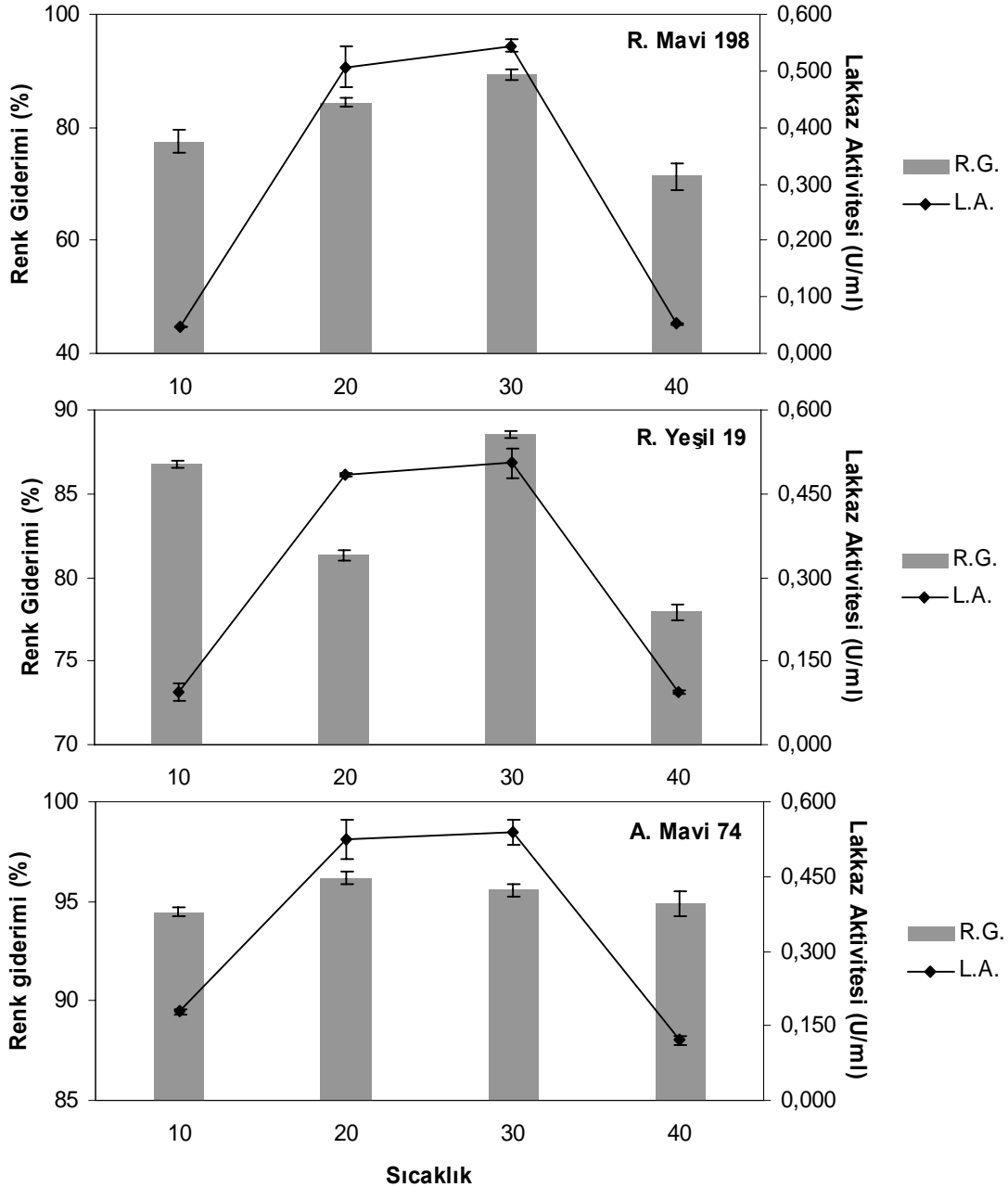
Farklı sıcaklıkların *F. trogii* peletlerinin renk giderimine etkisinin boya türüne göre farklılık gösterdiği tespit edildi. RK 120’nin maksimum renk giderimi yüzdeleri 20-30°C’de sırasıyla 75.62±0.29 ve 75.34±0.27 olurken RK 141 ve RM 171’in rengi en

iyi 20°C’de giderildi. Fakat 30°C’de elde edilen renk giderimi sonuçları da 20°C ile benzerlik göstermektedir. RK 141 hariç diğer boyaların renk giderim yüzdesi 40°C’de düştü (Şekil 4.15). Benzer sonuçlar Park vd. [119] tarafından Reaktif Siyah 5’in renginin gideriminde rapor edilmiştir. Ortalama lakkaz aktivitesinin 10°C’de 0.119 U/ml olurken ortam sıcaklığı 20°C olduğunda 0.488 U/ml, 30°C’de ise 0.552 U/ml olduğu saptandı. Sıcaklık 40°C’ye ulaştığında ortalama lakkaz aktivitesinin 0.076 U/ml’ye düştüğü tespit edildi (Şekil 4.15).



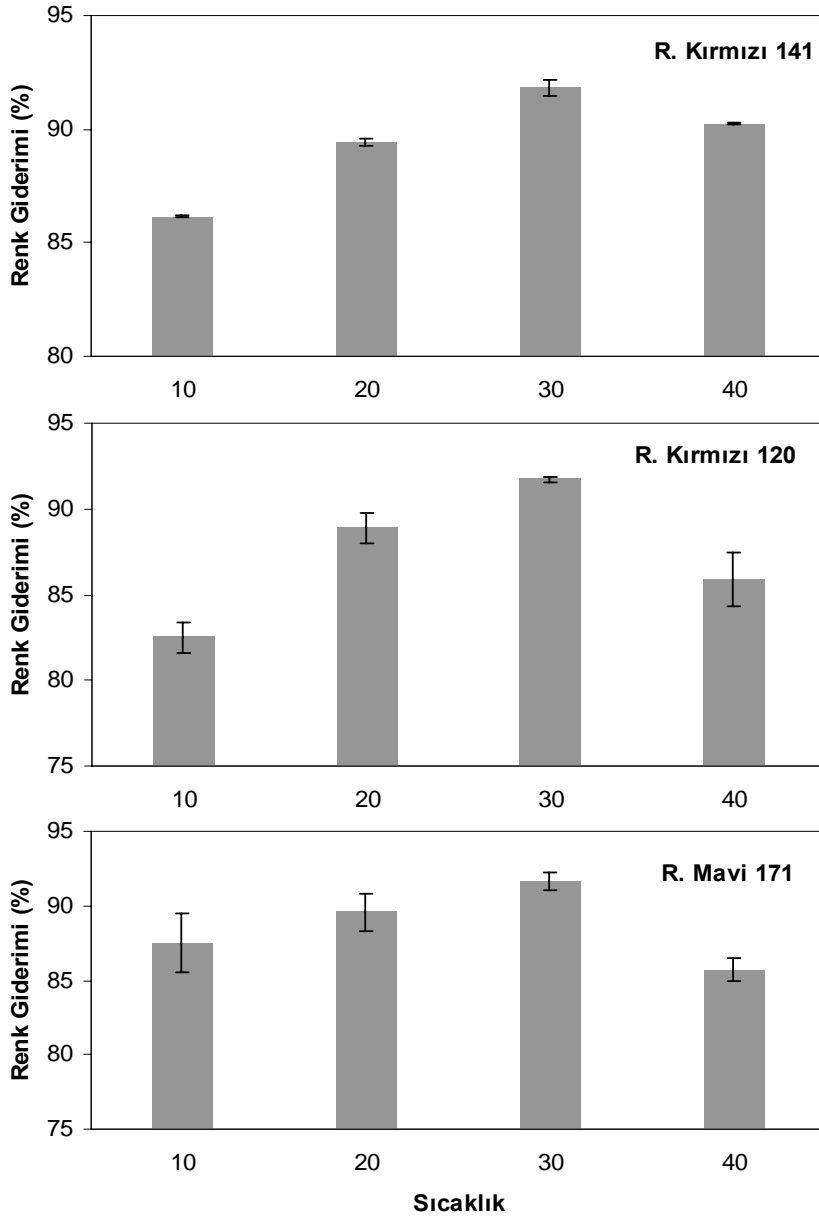
**Şekil 4.15.** Ortam sıcaklığının (°C) *F. trogii* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

RY 19'un rengi 10°C'de % 86.72±1.70 oranında giderilirken 20°C'de bu oran % 81.32±0.38'e düştü. RM 171 ve RY 19'un rengi *F. trogii* peletleri ile en iyi 30°C'de giderildi. Farklı sıcaklık aralığı, A. Mavi 74'ün renk gideriminde değişikliklere sebep olmadı. En düşükten en yüksek sıcaklığa doğru renk giderimi yüzdeleri sırasıyla % 94.47±0.19, % 96.17±0.31, % 95.57±0.308 ve % 94.88±0.65'dir. En yüksek lakkaz aktivitesi 20-30°C'de elde edildi (Şekil 4.16).



**Şekil 4.16.** Ortam sıcaklığının (°C) *F. trogii* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

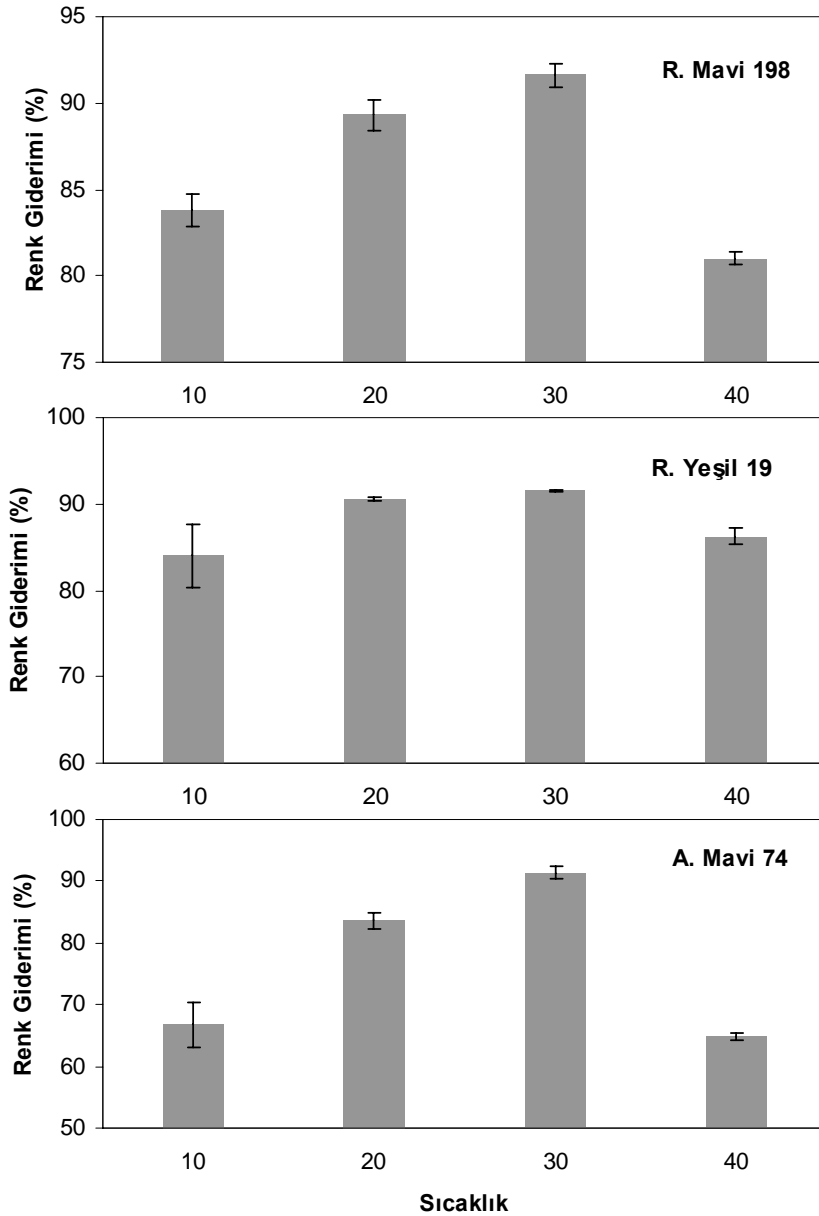
*P. chrysosporium* peletleri ile RK 141, RK 120 ve RM 171'in renklerinin gideriminin sıcaklık artışına bağlı olarak arttığı tespit edildi. En iyi renk giderimi 30°C'de elde edilirken ortam sıcaklığı 40°C olduğunda renk giderimi düştü. Bununla birlikte 40°C'deki en düşük renk giderimi % 82'dir (Şekil 4.17). Radha [126] *P. chrysosporium* peletlerinin renk giderim aktivitesinin 35°C'nin altında ve üstünde düştüğünü bildirmiştir.



**Şekil 4.17.** Ortam sıcaklığının (°C) *P. chrysosporium* peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

RM 198, RY 19, A. Mavi 74'ün renginin en iyi giderildiği sıcaklık aralığının 30°C olduğu saptandı. Bu boyaların renkleri sırasıyla % 91.61±0.68, % 91.55±0.17 ve

% 91.40±1.10 oranında giderildi. Test edilen tüm sıcaklıklarda RM 198 ve RY 19'un renklerinin giderimi benzer olmasına rağmen A. Mavi 74'ün rengi 10°C'de % 66.77±3.70, 20°C'de % 83.64±1.25, 30°C'de % 91.40±1.10 ve 40°C'de % 64.80±0.61 oranında giderilebildi (Şekil 4.18). Benzer sonuçlar Assadi vd. [181] tarafından tekstil atık sularının gideriminde rapor edilmiş ve bu çalışmada 35°C'de en iyi renk giderimi elde edilmiştir.

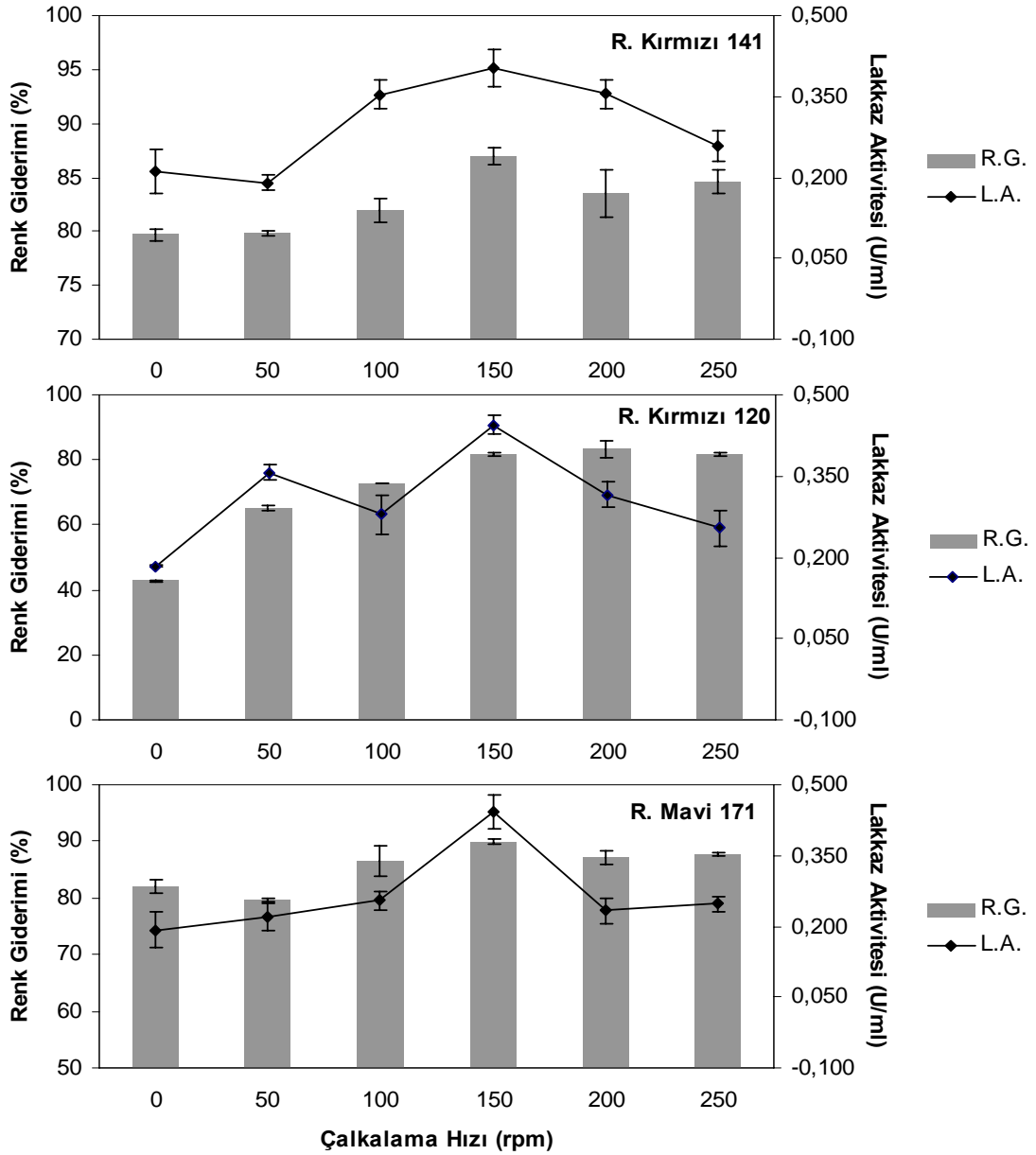


**Şekil 4.18.** Ortam sıcaklığının (°C) *P. chrysosporium* peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat



#### 4.1.4. Çalkalamanın hızının renk giderimine ve lakkaz aktivitesine etkisi

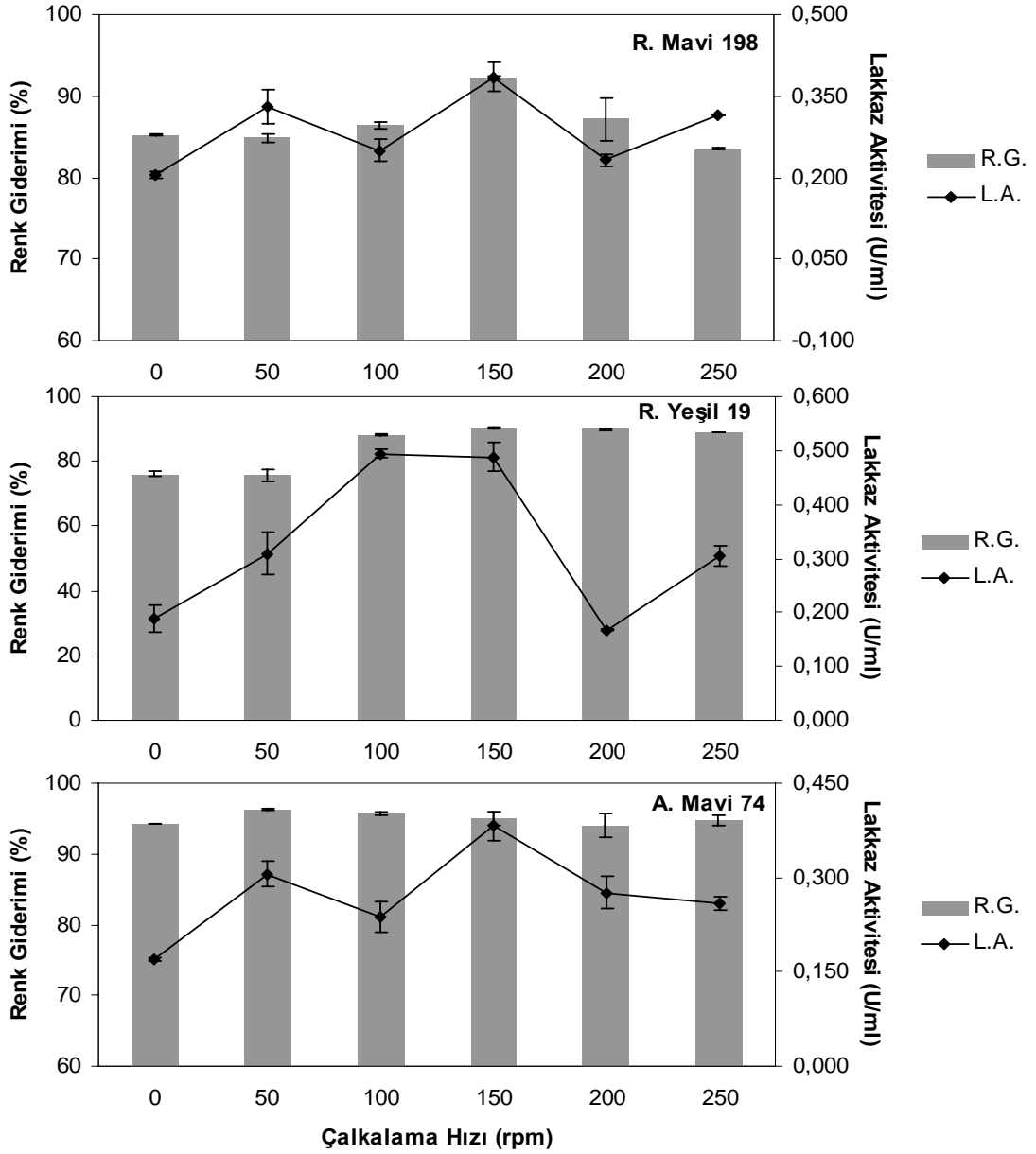
Renk gideriminde ve enzim sentezinde çalkalama hızının etkisini tespit etmek üzere kullanılan fungus peletleri statik ve farklı çalkalama hızlarında inkübe edildi.



**Şekil 4.19.** Çalkalama hızının *T. versicolor* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

RK 141 ve RM 171'in rengi *T. versicolor* peletleri ile en iyi 150 rpm'de giderilirken en yüksek lakkaz aktivitesi de 150 rpm'de tespit edildi (Şekil 4.19). Statik koşullarda bu boyaların rengi en düşük % 80 oranında giderilirken RK 120'nin renginin giderilebilirliği % 42.72±0.09'dur. RK 120'nin rengi en iyi 200 rpm'de giderildi. Renk

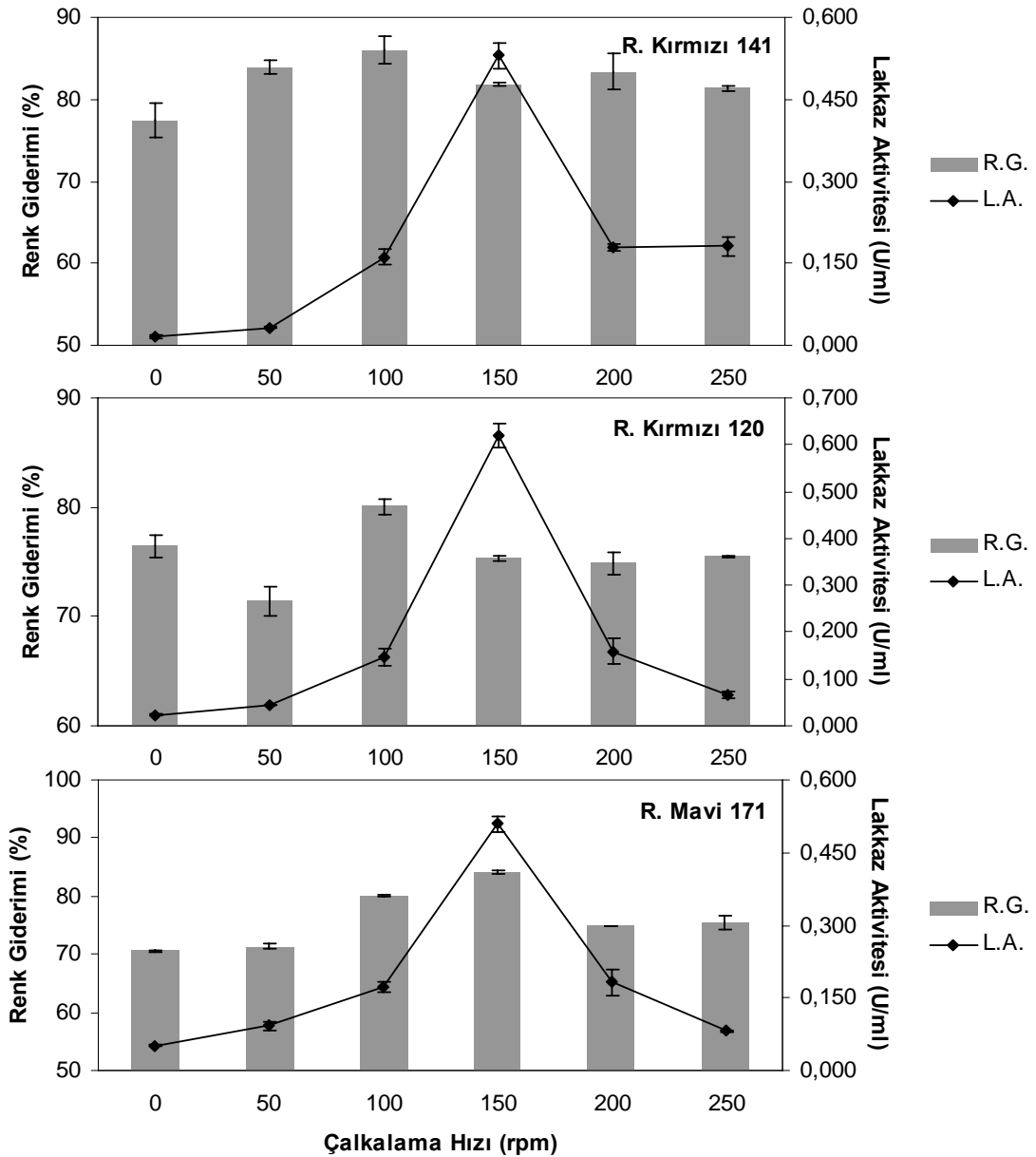
giderim verimi statik koşul hariç denen bütün çalkalama hızlarında yüksek oldu. Sonuçlarımız Swamy ve Ramsay [41] tarafından elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir. Çalkalama hızının değişimi peletlerin RM 198, RY 19 ve A. Mavi 74'ün renginin giderim aktivitesi üzerine değişen oranlarda etkisi oldu. Bununla birlikte tüm inkübasyon koşullarında renk giderimi verimi en düşük % 75'dir (Şekil 4.20).



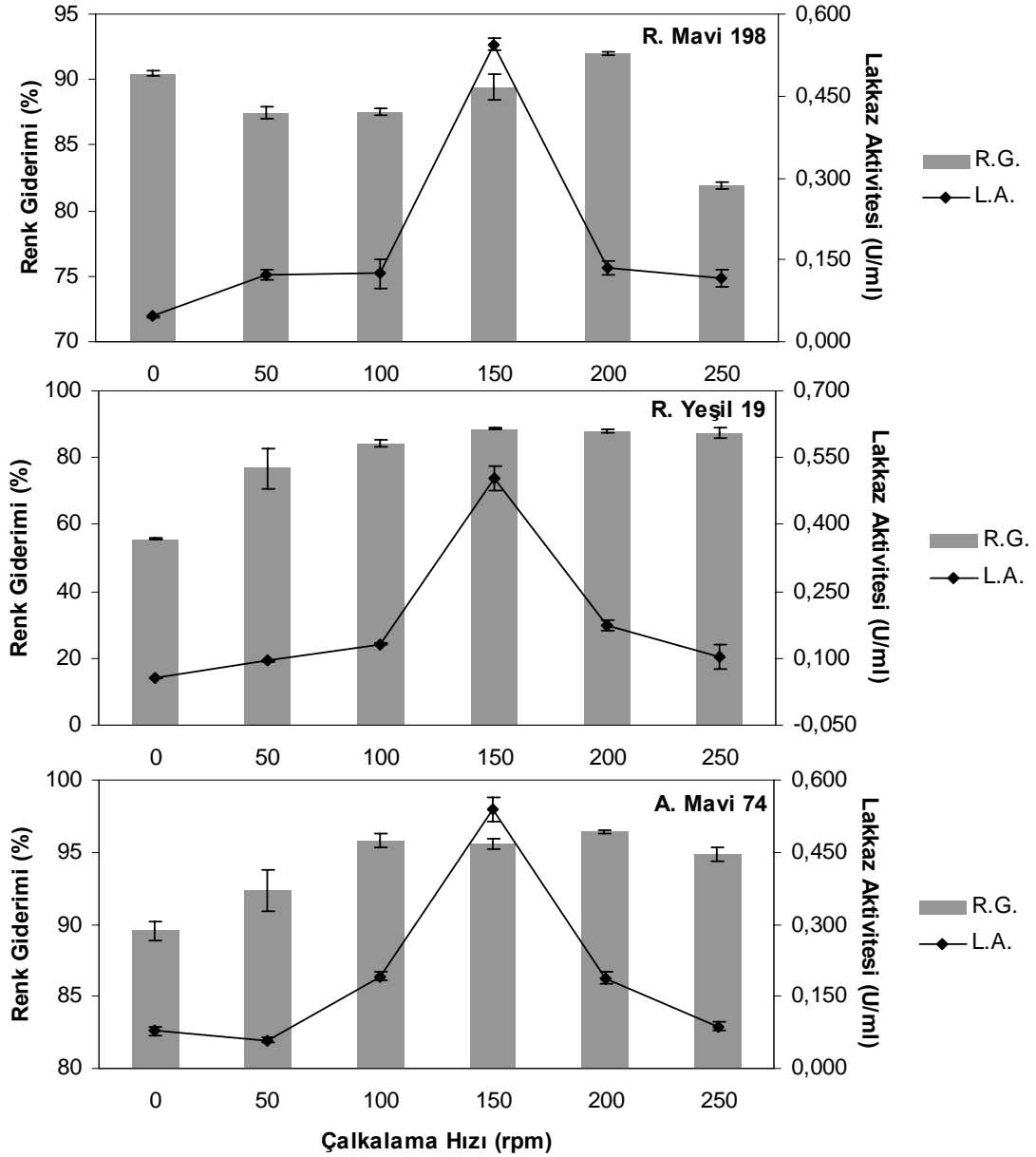
**Şekil 4.20.** Çalkalama hızının *T. versicolor* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

*F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi statik koşullarda düşük değerlerdeyken çalkalama hızının artışına bağlı olarak artış göstererek 150 rpm'de tüm boyalı ortamlarda maksimum değerlere ulaştı. Wesenberg vd. [12] çalkama hızı arttığında

kültür ortamında oksijen transferinin daha iyi olduğunu ve buna bağlı olarak hem renk giderimi veriminin hem de lakkaz aktivitesinin arttığını rapor etmiştir. Çalkama hızı 200-250 rpm olduğunda lakkaz aktivitesi değerlerinde hızlı bir düşüş tespit edildi (Şekil 4.21). Renk giderimi verimi RK 141 ve RK 120 için en iyi 100 rpm’de olurken statik koşullarda da en düşük % 76 oranında renk giderimi elde edildi. RM 198’in renk giderim yüzdeleri, çalkalama hızına bağlı olarak küçük artışlar gösterirken 150 rpm’de maksimuma değerlere ulaştı. 200-250 rpm’de renk giderimde önemli olmayan azalışlar tespit edildi (RK 141 hariç) (Şekil 4.21).



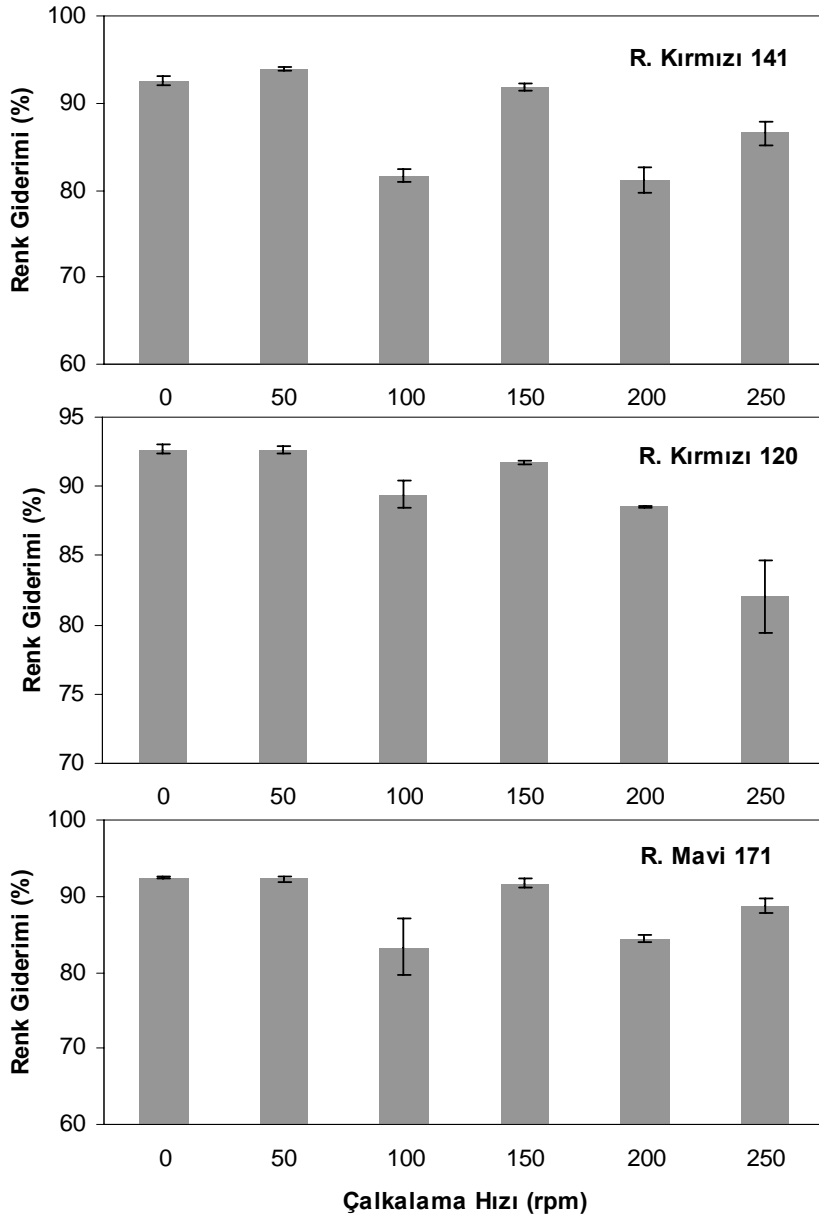
**Şekil 4.21.** Çalkalama hızının *F. trogii* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat



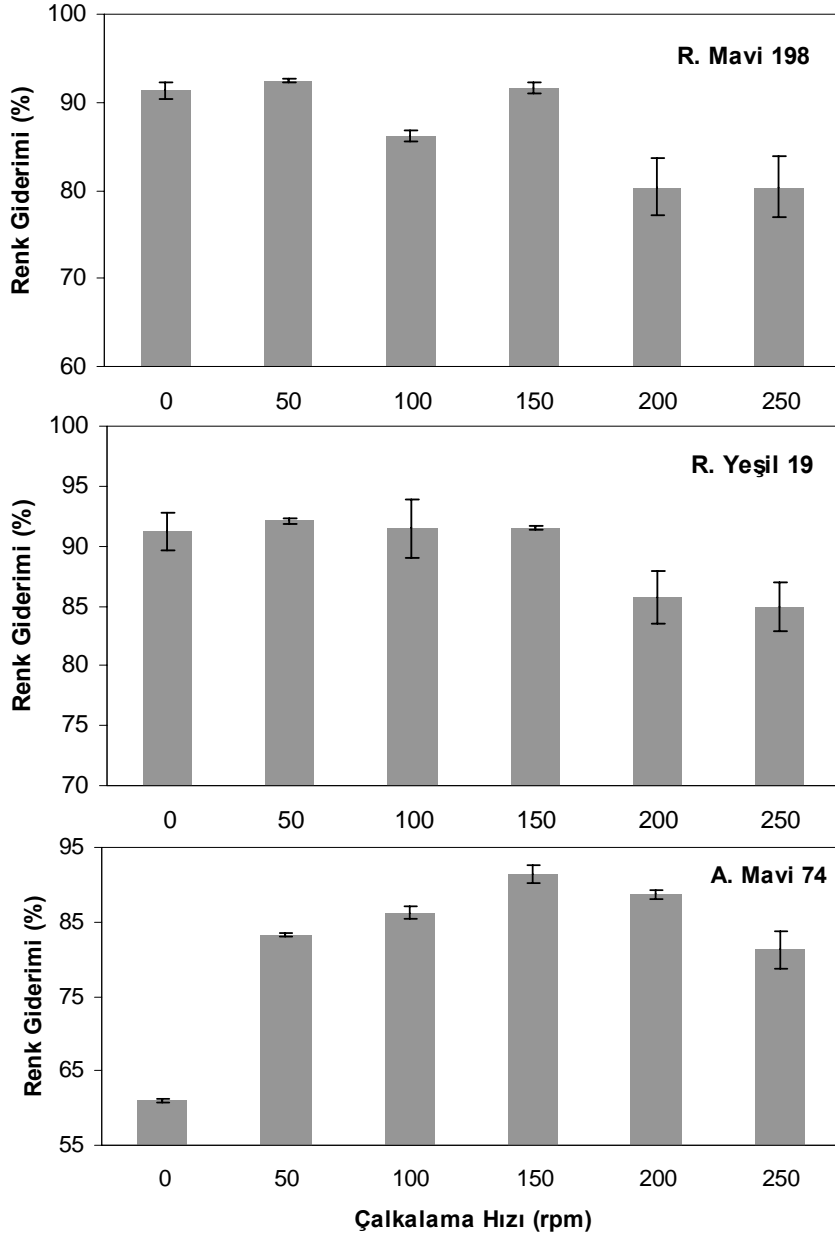
**Şekil 4.22.** Çalkalama hızının *F. trogii* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

*F. trogii* peletlerinin RM 198 ve A. Mavi 74 içeren ortamlarda renk giderim verimleri çalkalama hızının değişiminden çok fazla etkilenmedi. RM 198 ve A. Mavi 74'ün en iyi renk giderimi 200 rpm'de sırasıyla % 91.95±0.11 ve % 96.38±0.09'dur (Şekil 4.22). Statik inkübasyon koşullarında RY 19'un renk giderimi sadece % 55.75±0.27 iken çalkama hızı arttıkça artarak 150 rpm'de maksimum değere ulaştı (% 88.54±0.23). Wilkolazka vd. [182] çalkalamalı kültürde elde edilen renk giderimi veriminin statik kültürlerden daha yüksek olduğunu rapor etmiştir. Bununla birlikte çalışmamızda bazı boya renkleri statik koşullarda bile yüksek oranda giderildi. En yüksek lakkaz aktiviteleri 150 rpm'de tespit edildi.

*P. chrysosporium* peletlerinin statik koşullarda ve 50 rpm'de boyayı adsorbe ettiği gözlemlendi (Şekil 4.23-4.24). Bu yüzden diğer fungusların aksine statik koşullarda ve 50 rpm'de, *P. chrysosporium* peletleri ile reaktif boyaların rengi en iyi giderilirken çalkalama hızının artmasıyla (100 rpm'de) RK 121, RK 140 ve RM 198'in renk giderim yüzdeleri % 2-5 oranında düştü. Fakat renk giderimi verimi 150 rpm'de tekrar arttı (Şekil 4.23). Benzer olarak statik koşullarda *P. chrysosporium*'un Amaranth boyasını adsorbe ettiği bildirilmiştir [ 68].



**Şekil 4.23.** Çalkalamanın *P. chrysosporium* peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi. Sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

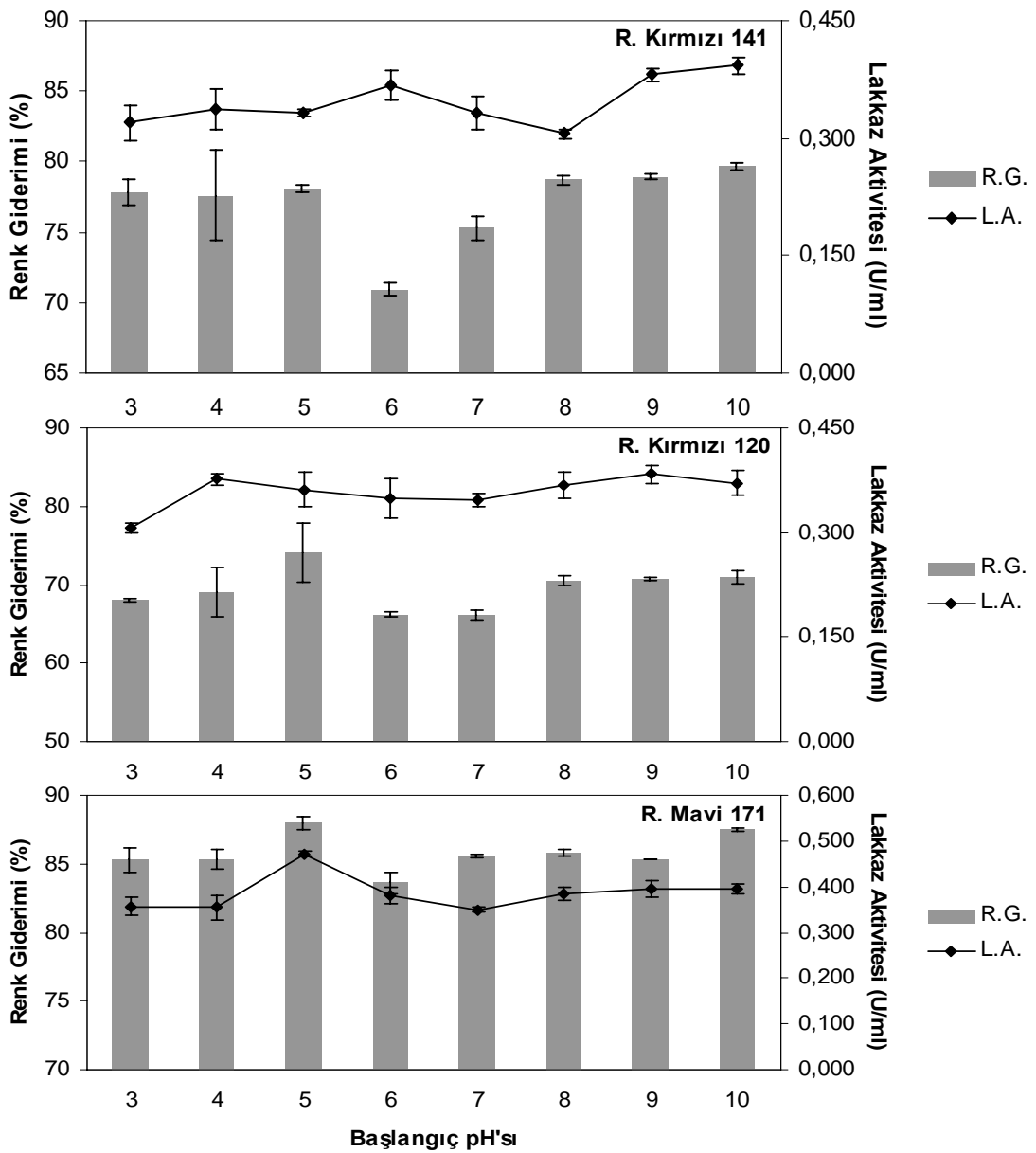


**Şekil 4.24.** Çalkalamanın *P. chrysosporium* peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi. Sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

A. Mavi 74'ün rengi diğer boya renklerine aksine statik ortamda sadece % 61.02±0.31 oranında giderilirken çalkalama hızının artışına bağlı olarak renk giderimi arttı. RM 198, RY 19 ve A. Mavi 74 boya renklerinin rengi 100-150 rpm'de en yüksek oranda giderilirken, 200-250 rpm'de boya renklerinin giderim yüzdeleri düştü (Şekil 4.24). Park vd. [152] *F. troglia* peletlerinin boya renklerini en iyi 100 rpm'de giderdiğini rapor etmiştir.

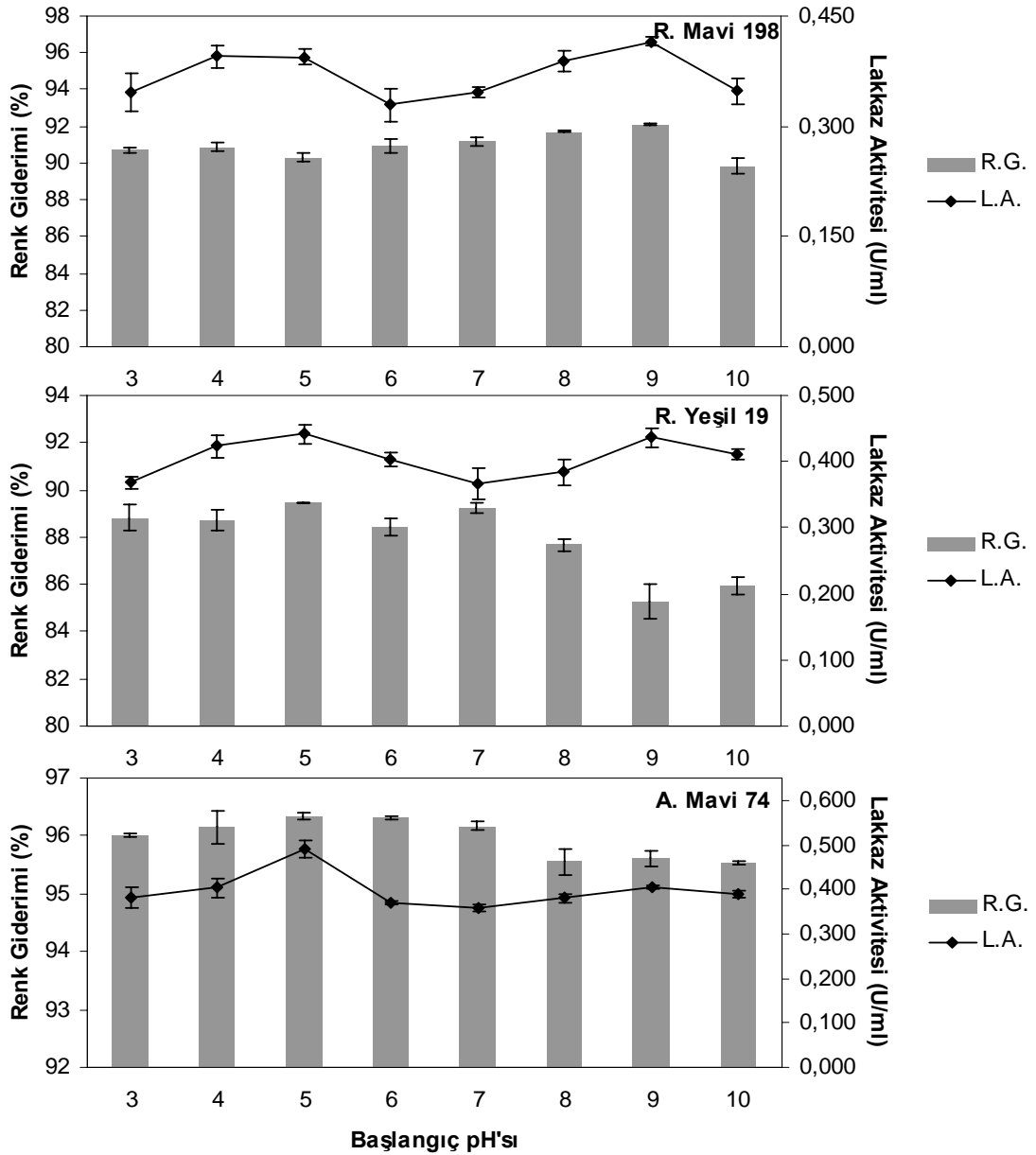
#### 4.1.5. Başlangıç pH'sının renk giderimine etkisi

pH, fungal üreme için oldukça önemlidir. Funguslar düşük pH'da (pH 4-5) üreyebilmektedir. Bu yüzden yapılan birçok renk giderimi çalışmalarında öncelikle boyalı test ortamlarına pH'yı dengeleyici kimyasallar ilave edilmektedir. Bu yüzden çalışmamızda bölüm 3.8.5'de belirtildiği gibi başlangıç pH'ları farklı boyalı ortamlar hazırlandı. *T. versicolor* peletleri ile RK 141'in renginin giderim verimi pH 6 ve 7'de % 75'in altında olurken diğer başlangıç pH'larında en düşük renk giderimi % 78 oldu (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. Başlangıç pH'sının *T. versicolor* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

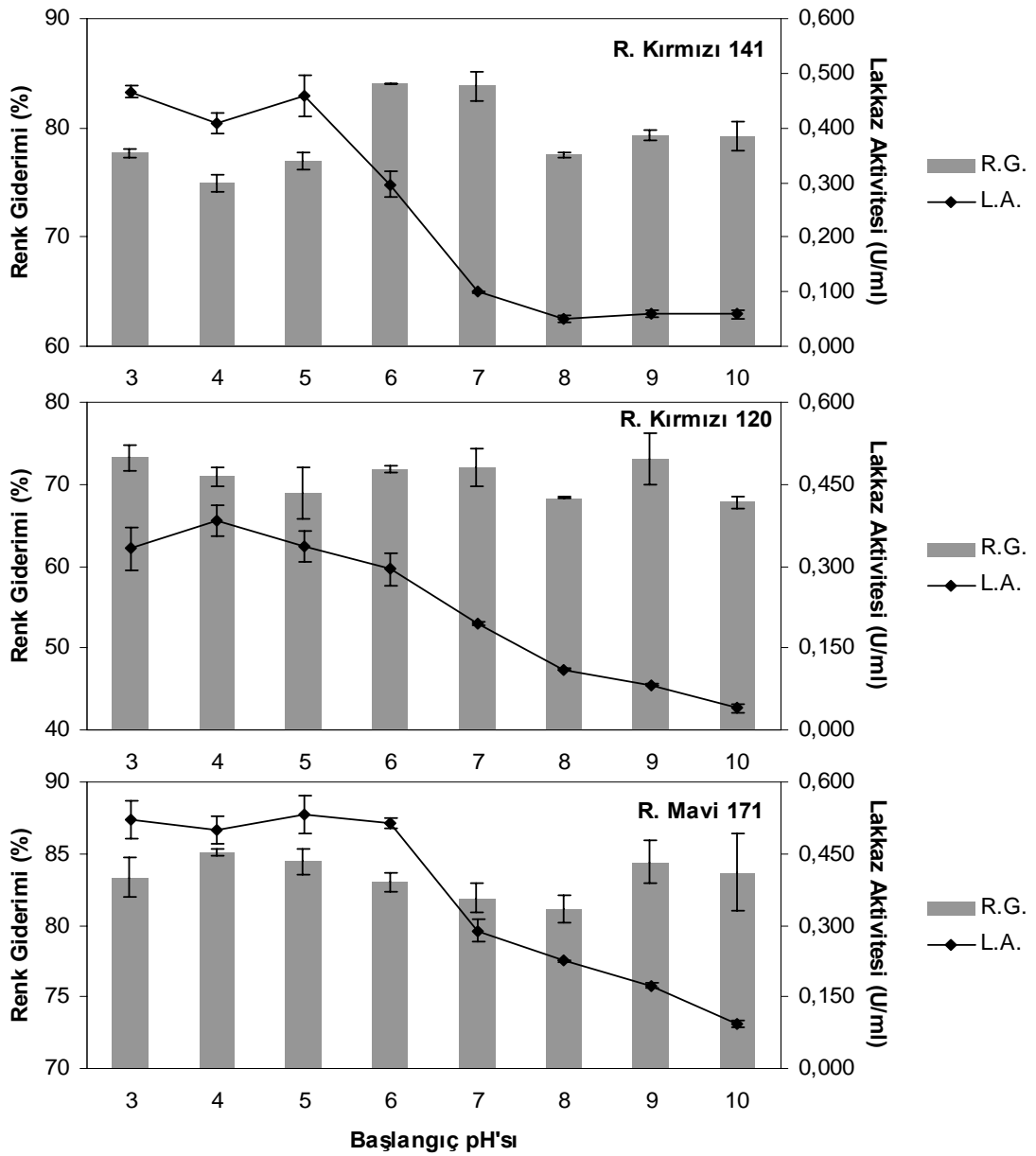
RK 120 içeren ortamının başlangıç pH'sı 5 olduğunda en yüksek (% 74.05±3.73) renk giderimi elde edildi. RM 171'in renginin gideriminde ise ortamın başlangıç pH'sı 5 ve 10 olduğunda en yüksek renk giderimleri sırasıyla % 87.97±0.44 ve % 87.53±0.13'dir. Lakkaz aktivitesi tüm pH koşullarında benzerlik gösterdi (Şekil 4.25). RM 198 ve A. Mavi 74'ün renginin *T. versicolor* peletleri ile gideriminde, ortamın başlangıç pH'sının değişiminin renk giderim verimini üzerine etkili olmadığı tespit edildi. Ortamın başlangıç pH'sı 9 olduğu duruma kadar RY 19'un renk giderim yüzdesi ortalama % 88-89 iken, pH 9-10 olduğunda % 86'ya düştü. Başlangıç pH'sının lakkaz aktivitesi üzerinde de etkili olmadığı saptandı (Şekil 4.26).



**Şekil 4.26.** Başlangıç pH'sının *T. versicolor* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

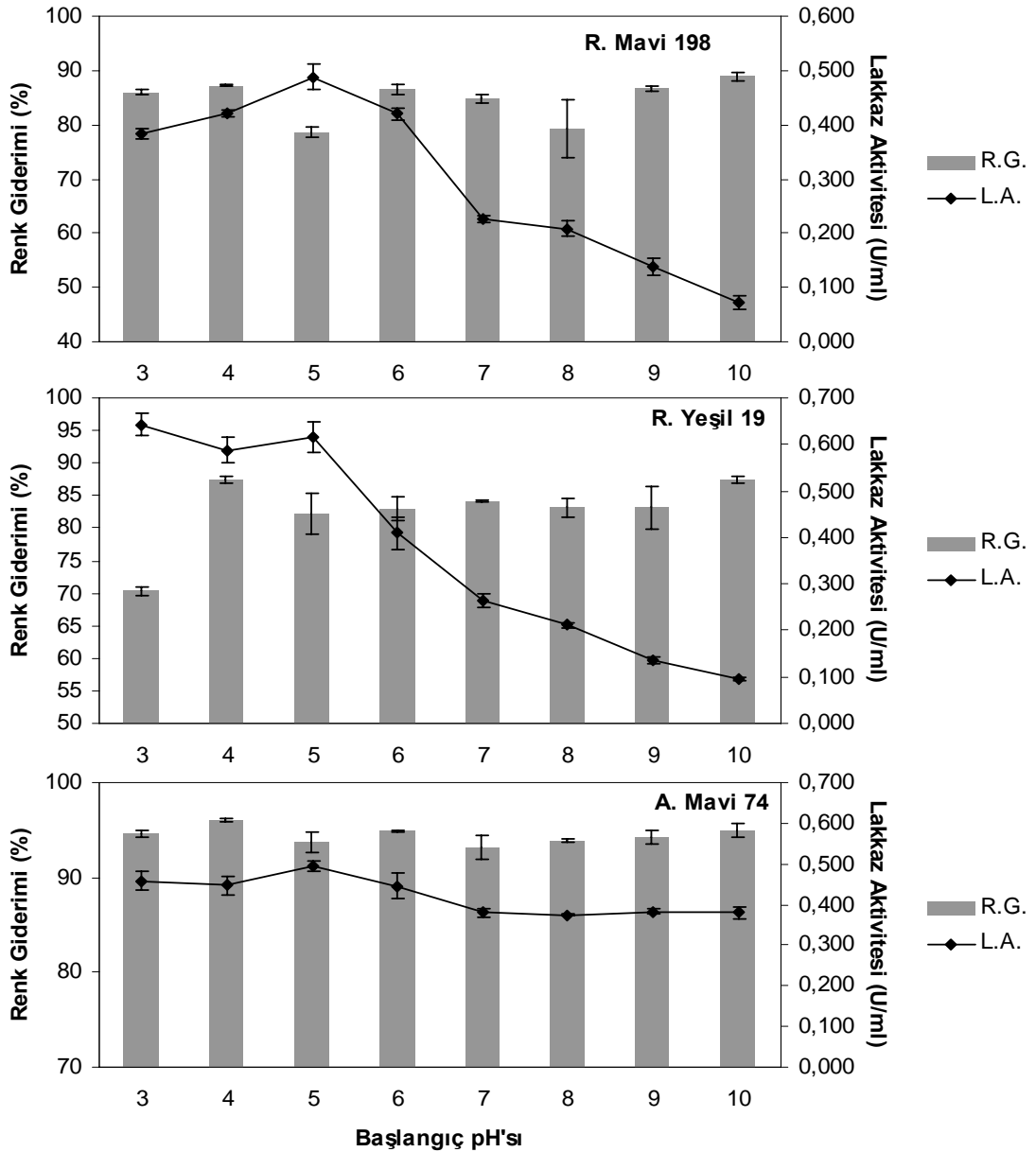


*F. trogii* peletleri ile RK 141'in renginin giderim veriminin, ortamın başlangıç pH'sı 6-7 olduğunda en yüksek olduğu tespit edildi. Renk giderimi sırasıyla % 84.04±0.05 ve % 83.87±1.34'dir. Reaktif Siyah 5 boyasının rengi de pH 6.5'de % 96'luk renk giderimi verimi ile giderilmiştir [119]. RK 120 ve RM 171'in rengi tüm başlangıç pH değerlerinde kolaylıkla giderilirken, *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi *T. versicolor* peletlerinin aksine ortamın başlangıç pH'sından etkilenmedi. En yüksek lakkaz aktiviteleri pH 4-5'de elde edilirken (RM 171 için pH 6 dahil) pH değerleri arttıkça lakkaz aktiviteleri hızlı bir şekilde düştü (Şekil 4.27).



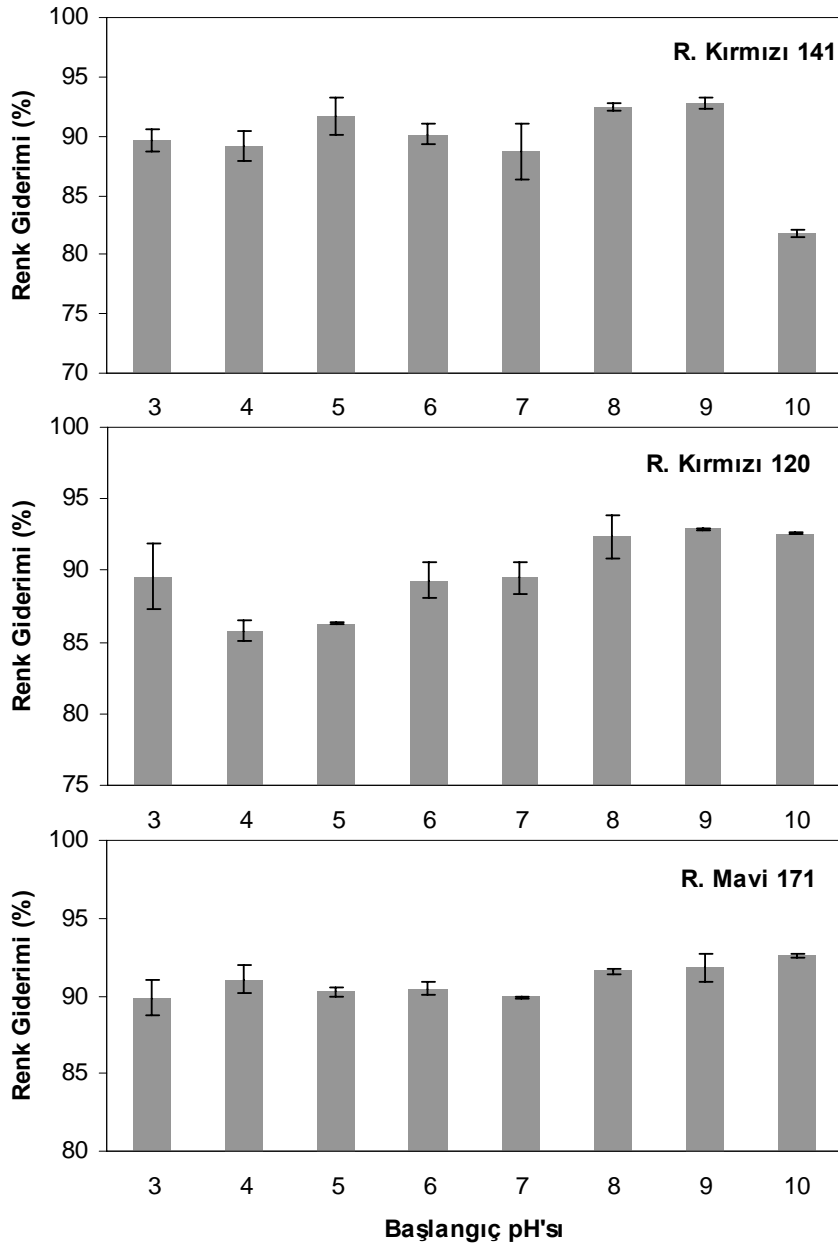
**Şekil 4.27.** Başlangıç pH'sının *F. trogii* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

RM 198 ve A. Mavi 74'ün renk giderim yüzdeleri tüm başlangıç pH'larında benzer oldu. *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi pH 5'den sonra ortam pH'sının artışına bağlı olarak düştü. RY 19'un renk giderimi pH 3'de % 70,33±0,63 iken diğer farklı başlangıç pH'sı koşullarında en düşük % 82'dir (Şekil 4.28.). Park vd. [119] düşük başlangıç pH'larında renk giderimi veriminin de düşük olduğunu bildirmiştir. Bununla birlikte çalışmamızda başlangıç pH'sının renk giderim aktivitesine etkisinin boyaya bağlı olarak değiştiği saptandı.



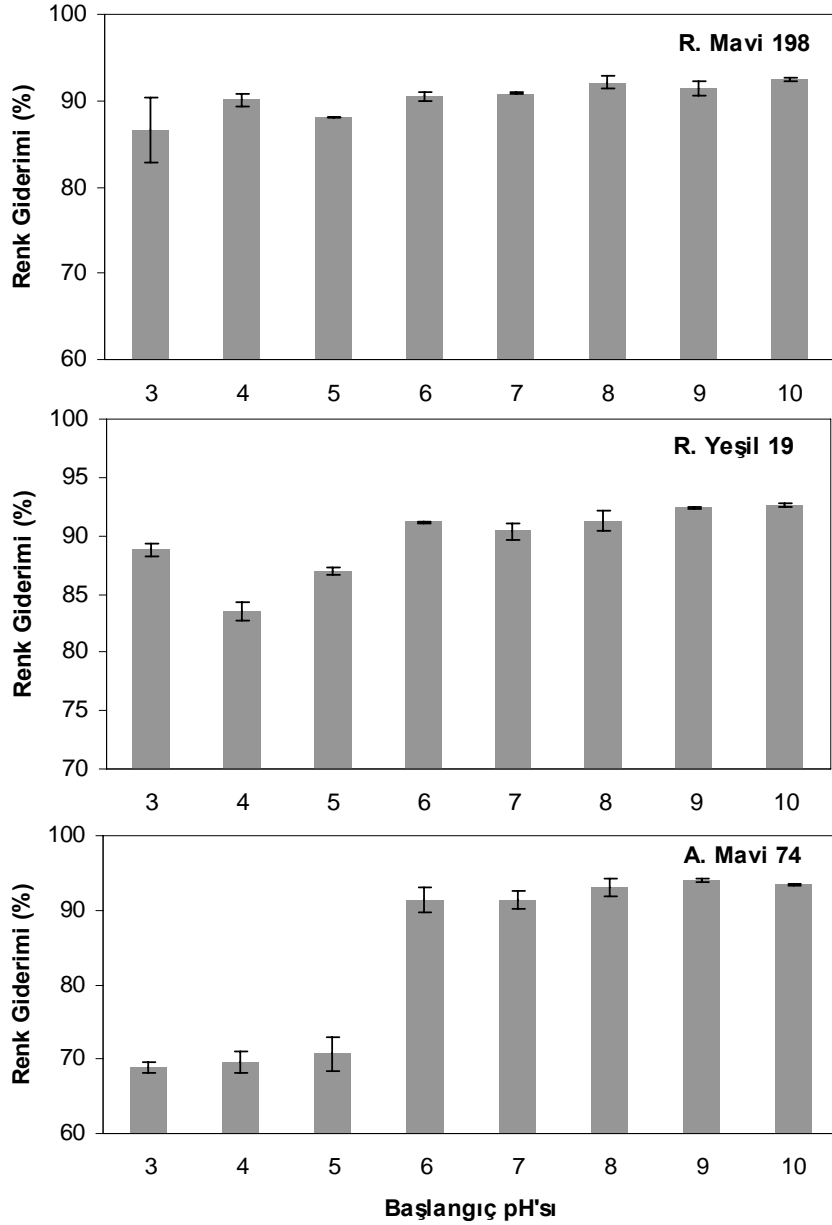
**Şekil 4.28.** Başlangıç pH'sının *F. trogii* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesi (U/ml) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

*P. chrysosporium* peletleri RK 120 ve RM 171'in rengini başlangıç pH'sı 8-10 olduğunda en iyi giderdi. RK 141'in (pH 10 hariç) farklı başlangıç ortam pH'larında en düşük renk giderimi % 89'dur. Farklı başlangıç pH değerlerinde benzer ve iyi renk giderimi sonuçları alındı (Şekil 4.29). Radha vd. [126] ortamın başlangıç pH'sının 4-5 olduğunda boyaların renginin daha iyi giderildiğini belirtmiştir.



**Şekil 4.29.** Başlangıç pH'sının *P. chrysosporium* peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi. Çalışma hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

*P. chrysosporium* tarafından RM 198 ve RY 19'un renginin giderimi ortamın başlangıç pH'sının değişiminden etkilenmedi. En düşük renk giderimi % 84'dür. A. Mavi 74'ün rengi pH 3, 4 ve 5'de sırasıyla % 68.98±0.74, % 69.62±1.51 ve % 70.74±2.25 oranında giderilirken başlangıç pH değerlerinin artışına bağlı olarak renk giderimi verimi de arttı (Şekil 4.30).



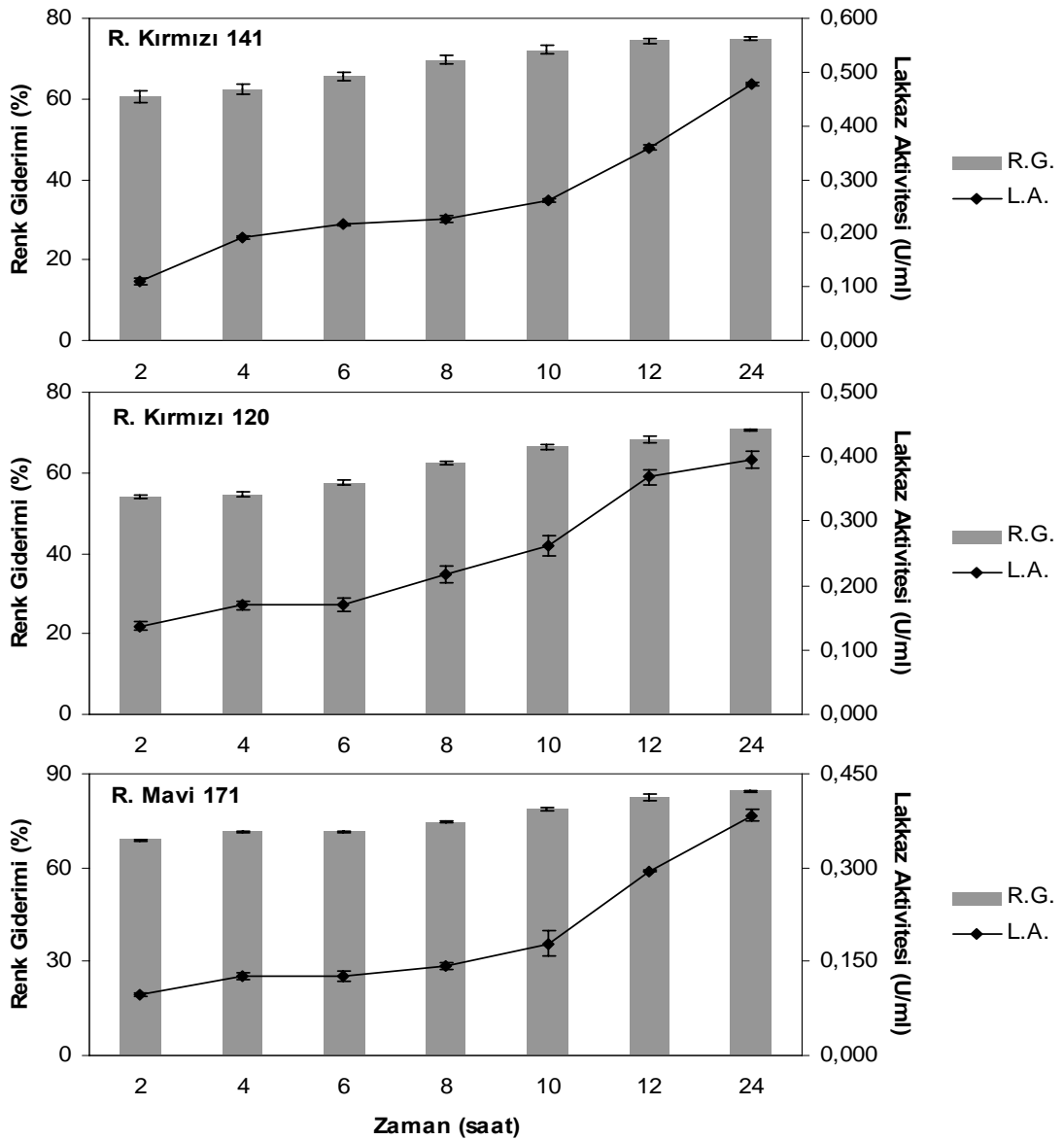
**Şekil 4.30.** Başlangıç pH'sının *P. chrysosporium* peletlerinin renk giderimi (%) üzerine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

Başlangıç pH'sının fungusların renk giderim aktivitesini değişen oranlarda etkilediği fakat genellikle bu etkinin sınırlı olduğunu söyleyebiliriz (tüm funguslar için). Başlangıç pH değerleri 3-10 olduğu durumda iyi renk giderimi yüzdeleri elde edildi.

Benzer sonuçlar Yeşilada vd. [120] tarafından Astrazon Kırmızı FBL boyasının renginin gideriminde rapor edilmiştir Knapp vd. [122] tekstil atık suyunun ve Shahvali vd. [125] Turuncu II boyasının renginin giderimi için ortamın pH'sının kimyasallarla ayarlanmasının gerektiğini belirtmiştir. Çalışmamızın sonucunda ortamın başlangıç pH'sının işlem öncesi ayarlanmasının gerekli olmadığı gözlemlendi. Boyalarla muamele edilen fungusların metabolik reaksiyonuna bağlı olarak asidik veya bazik maddelerin üretimi veya tüketimi pH'nın değişmesine sebep olabilmektedir [41]. Pelet içermeyen kontrol erlenlerinde renk değişimi olmadı.

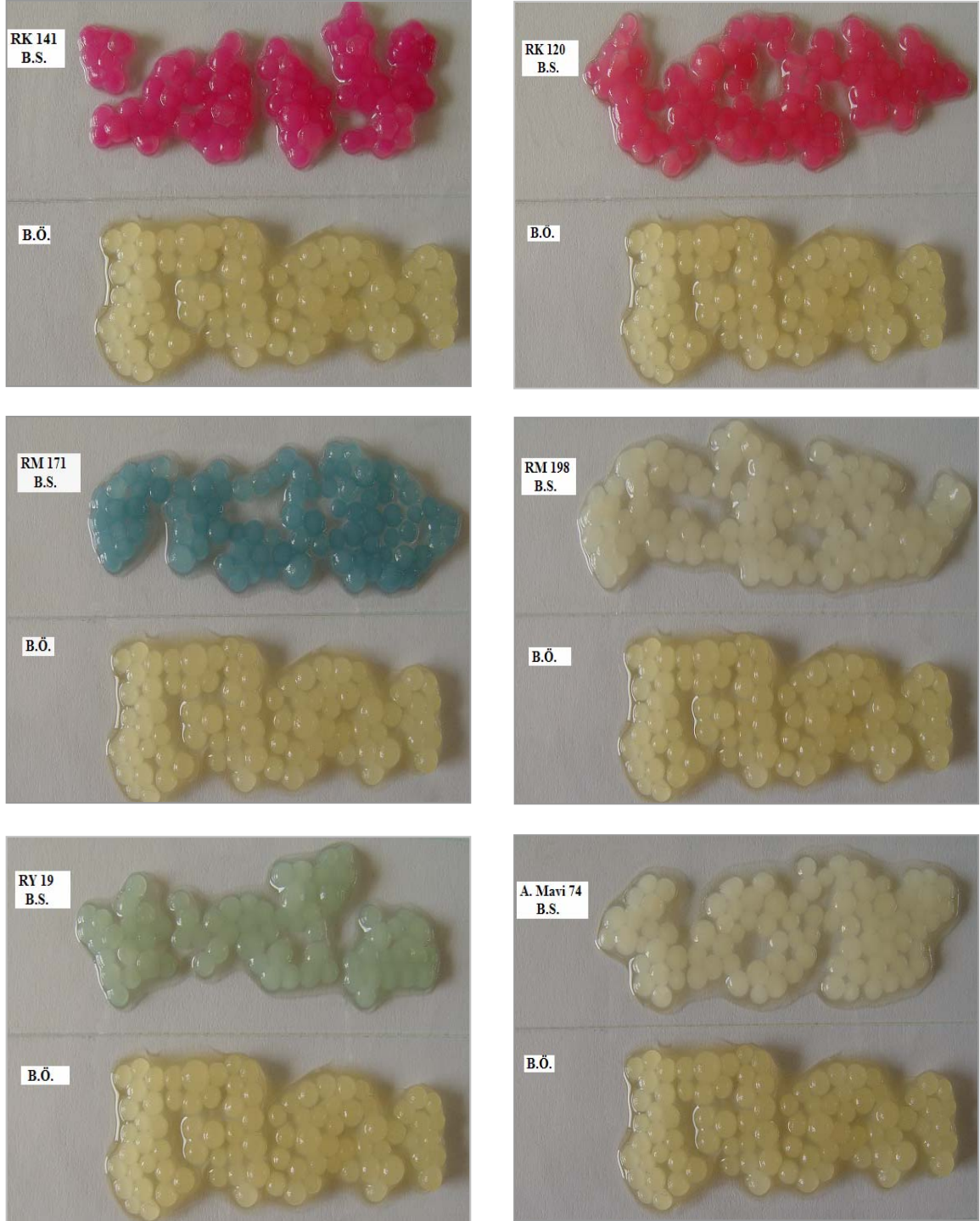
#### 4.1.6. Renk giderim veriminin zamana bağlı değişimi

Renk giderimi işlemlerinde uygulanan tekniğin hızı ve uygulama kolaylığı, renk giderimi işleminin uygulanabilirliği açısından oldukça önem taşımaktadır. *T. versicolor* peletlerinin RK 141, RK 120 ve RM 171 içeren besiyerlerine ilave edilmesinden iki saat sonra sırasıyla % 60.67±1.42, % 54.02±0.48 ve % 68.78±0.35 oranında hızlı bir renk giderimi gerçekleşti. 2. saatten itibaren yüksek renk giderimi olması renk giderim aktivitesinin çok hızlı geliştiğini göstermektedir (Şekil 4.31). Lakkaz aktivitesi zamana bağlı artış gösterirken 10. saatten sonra hızlı bir artış tespit edildi. En yüksek lakkaz aktiviteleri 24. saatte elde edildi.



**Şekil 4.31.** *T. versicolor* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesinin (U/ml) zamana bağlı değişimi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

Makroskobik inceleme sonucunda her üç boya bileşiminin de başlangıçta peletlere adsorbe olduğu gözlenmiştir. Fakat inkübasyonun ilk saatlerinde koyu kırmızı renkte olan peletlerin rengi (RK 141 ve RK 120) inkübasyon sonunda açık pembeye, koyu mavi olan peletlerin rengi (RM 171) ise açık maviye dönüşmüştür (Şekil 4.32). Bu boyaların pelete kısa bir süre adsorbe olduktan sonra yıkıldığının göstergesidir [132].



**Şekil 4.32.** *T. versicolor* peletlerinin biyoteknolojik işlem öncesi (B.Ö.) ve sonrası (B.S.) görüntüleri (Görüntüler renk giderimi işleminin 24.saatinde alındı)

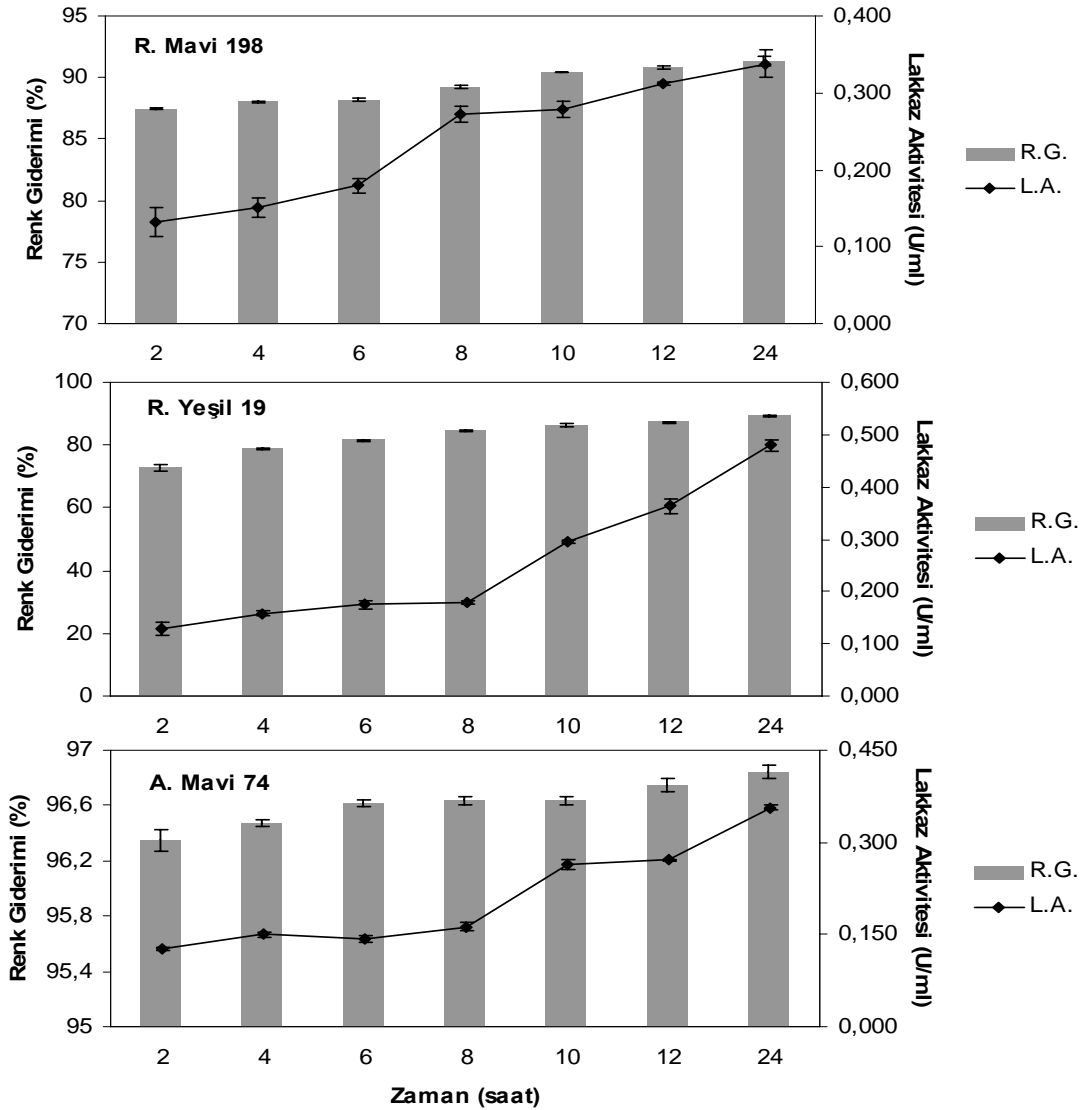
Biyoteknolojik işlem geçirmiş boyalı atık suyun renginin de pembe-sarı olduğu gözlemlendi (Şekil 4.33).



**Şekil 4.33.** Boyalı atık suların biyoteknolojik işlem öncesi (B.Ö.) ve sonrası (B.S.) görüntüleri. Fungus türü: *T. versicolor* (Görüntüler renk giderimi işleminin 24.saatinde alındı)



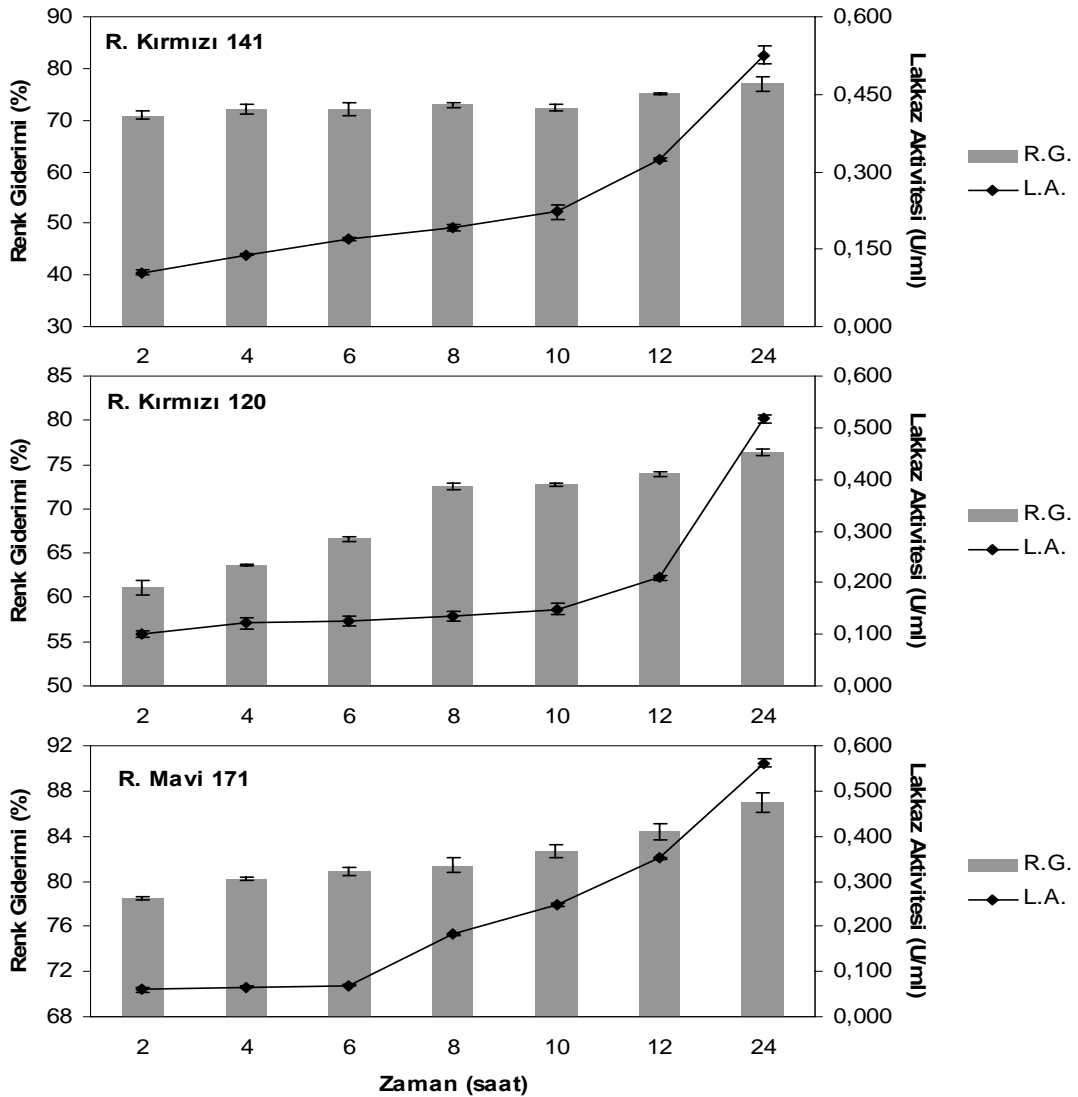
RM 198 ve A. Mavi 74 boyaalarının rengi ortama *T. versicolor* peletleri ilave edilir edilmez hızlı bir şekilde giderildi. İnkübasyonun ilk 2 saatindeki renk giderimi sırasıyla % 87.43±0.06 ve % 96.35±0.073'dür (Şekil 4.34). Fungus peletleri boyayı başlangıçta çok az adsorbe etmiş olmasına rağmen 24 saat sonunda peletlerin tümüyle renksiz olduğu gözlemlendi. RY 19 boyası içeren besiyerinde ise başlangıçta peletlerin rengi koyu yeşilken inkübasyon sonunda rengi açık yeşile dönüştü. İlk 24 saat içinde boyaaların rengi kolaylıkla giderildi (Şekil 4.32-4.33). Biyoteknolojik işlem görmüş boyalı atık suların rengi açık sarı renkteydi.



**Şekil 4.34.** *T. versicolor* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesinin (U/ml) zamana bağlı değişimi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

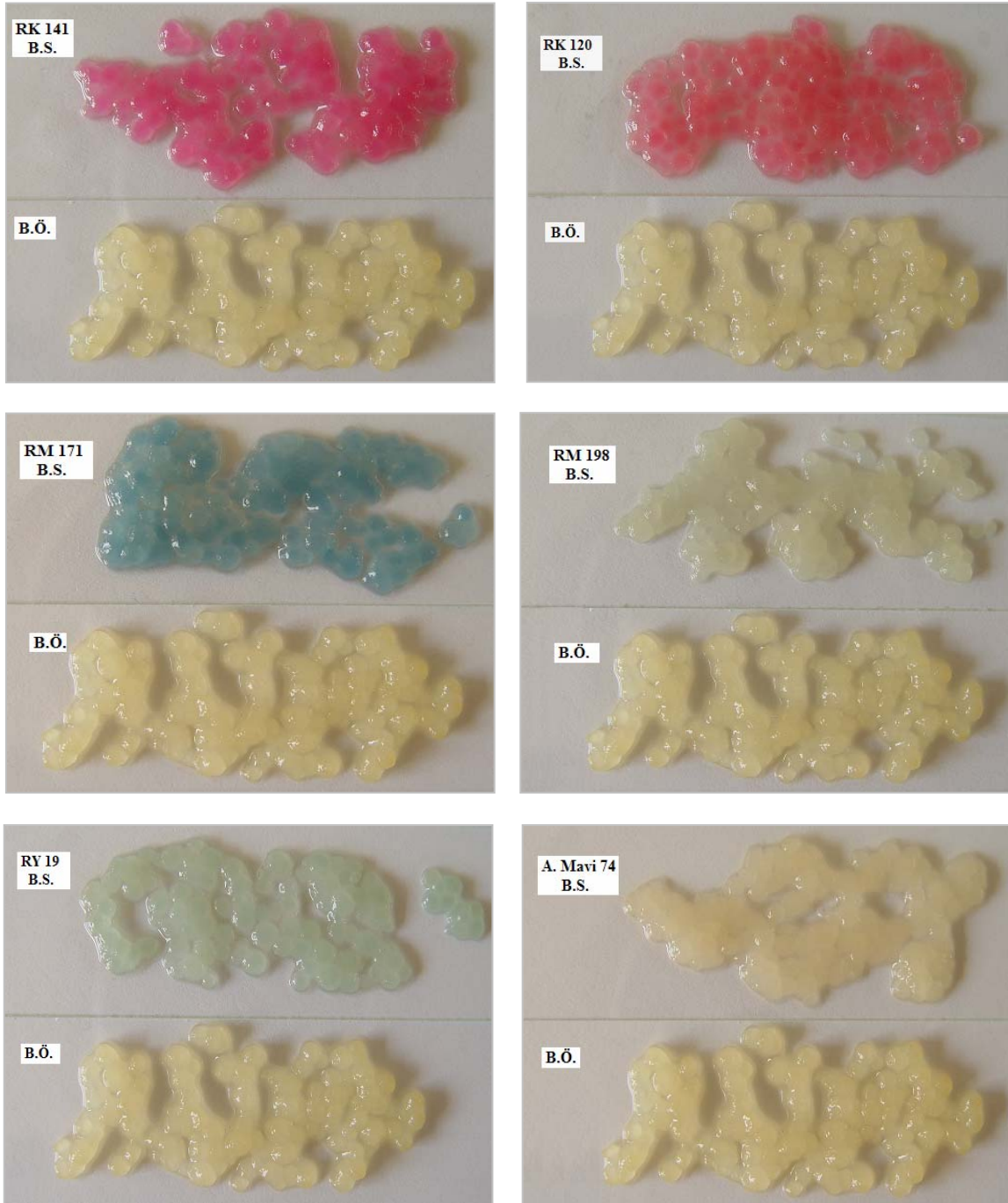
RY 19 ve A. Mavi 74'ün renginin giderimi sırasında *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesi artışı ilk 8 saatte yavaş olurken, 8. saatten sonra yaklaşık iki kat artarak 24. saatte maksimum değerlere ulaştı (Şekil 4.34).

*F. trogii* peletleri, *T. versicolor* peletlerine kıyasla RK 141, RK 120 ve RM 171 boya renklerinin rengini ilk 2 saatte daha hızlı gidermiş ve renk giderimi verimi sırasıyla % 70.93±0.73, % 61.10±0.81 ve % 78.52±0.19 olarak bulundu. Benzer sonuçlar Yesilada vd. [132] tarafından Astrazon Mavi boyasının renginin gideriminde rapor edilmiştir. İlk 24 saatte zamana bağlı olarak RK 120 ve RM 171 boya renklerinin rengi kademeli şekilde giderilirken RK 141'in renk giderim oranları inkübasyon süresince benzerlik gösterdi (Şekil 4.35). 24 saat sonunda RK 141, RK 120 ve RM 171'in renklerinin gideriminin sırasıyla % 77.10±1.42, % 76.41±0.31 ve % 87.00±0.83'e ulaştığı saptandı. *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesinin, reaktif diazo kırmızı boya renklerinin renginin giderildiği durumlarda 10. saatten sonra hızla artarken diazo mavi boyanın renginin gideriminde 6. saatten sonra yaklaşık 6 kat arttığı tespit edildi (Şekil 4.35).



**Şekil 4.35.** *F. trogii* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesinin (U/ml) zamana bağlı değişimi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

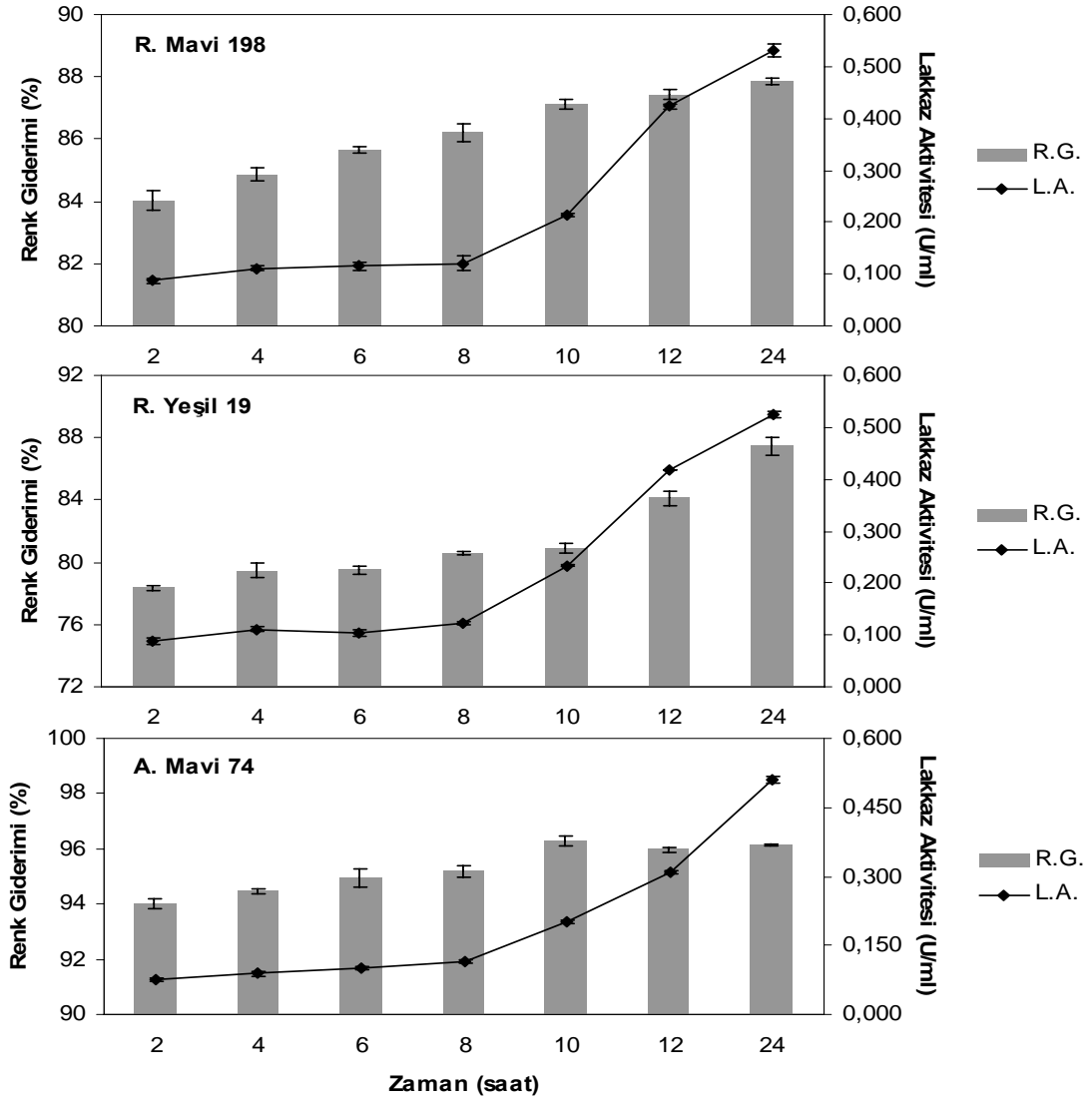
Makroskobik inceleme sonucunda *F. trogii* peletlerinin inkübasyonun ilk saatlerinde boyayı adsorbe ettiği gözlemlendi. Sonuçlarımız Park vd. (2006) [152] ile fungus peletlerinin inkübasyonun ilk saatlerinde boyayı tutması açısından benzerlik göstermesine rağmen funguslara adsorbe olan reaktif azo boyaların renginin giderimi süre açısından farklılıklar bulunmaktadır (Şekil 4.36). Biyoteknolojik işlem sonrası boyalı atık suların görüntüleri Şekil 4.37’de verilmiştir.



**Şekil 4.36.** *F. trogii* peletlerinin biyoteknolojik işlem öncesi (B.Ö.) ve sonrası (B.S.) görüntüleri (Görüntüler renk giderimi işleminin 24.saatinde alındı)



**Şekil 4.37.** Boyalı atık suların biyoteknolojik işlem öncesi (B.Ö.) ve sonrası (B.S.) görüntüleri. Fungus türü: *F. trogii* (Görüntüler renk giderimi işleminin 24.saatinde alındı)

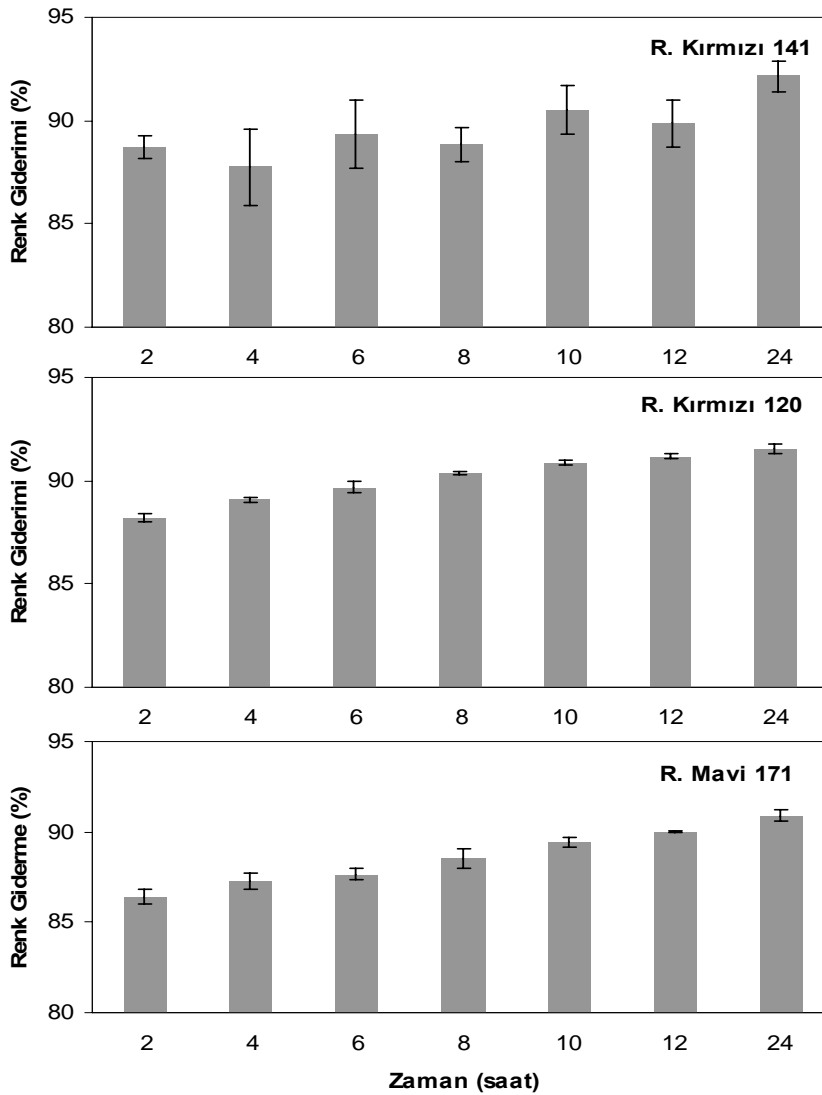


**Şekil 4.38.** *F. trogii* peletlerinin renk giderimi (%) ve lakkaz aktivitesinin (U/ml) zamana bağlı değişimi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

*F. trogii* peletleri ile A. Mavi 74'ün renk giderimi 10. saatte maksimuma ulaşırken diğer boyaların maksimum renk giderimleri 24. saatte oldu (Şekil 4.38). Park vd. [119] ise Reaktif Siyah 5'in renginin 96 saatlik inkübasyondan sonra en iyi giderildiğini rapor etmiştir. RM 198 ve A. Mavi 74'in renginin gideriminde *F. trogii* peletlerinin, inkübasyonun ilk saatlerinden itibaren boyayı adsorbe etmediği gözlemlendi (Şekil 4.36). Boyalı ortamlarda *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi 8. saate kadar 0.10 U/ml iken, ilerleyen saatlerde hızla artarak sırasıyla  $0.53 \pm 0.01$ ,  $0.53 \pm 0.01$  ve  $0.51 \pm 0.01$  U/ml oldu (boya sırasına göre). Hem *T. versicolor* hem de *F. trogii* peletleri RK 141 ve RK 120'nin rengini diğer boyalardan daha yavaş ve uzun sürede giderdi. Rengi en fazla ve en hızlı giderilen boya A. Mavi 74 oldu (Şekil 4.37). Bu sonuçlar, boyaların yapısındaki değişikliklerin renk giderim oranını etkilediğini göstermektedir.

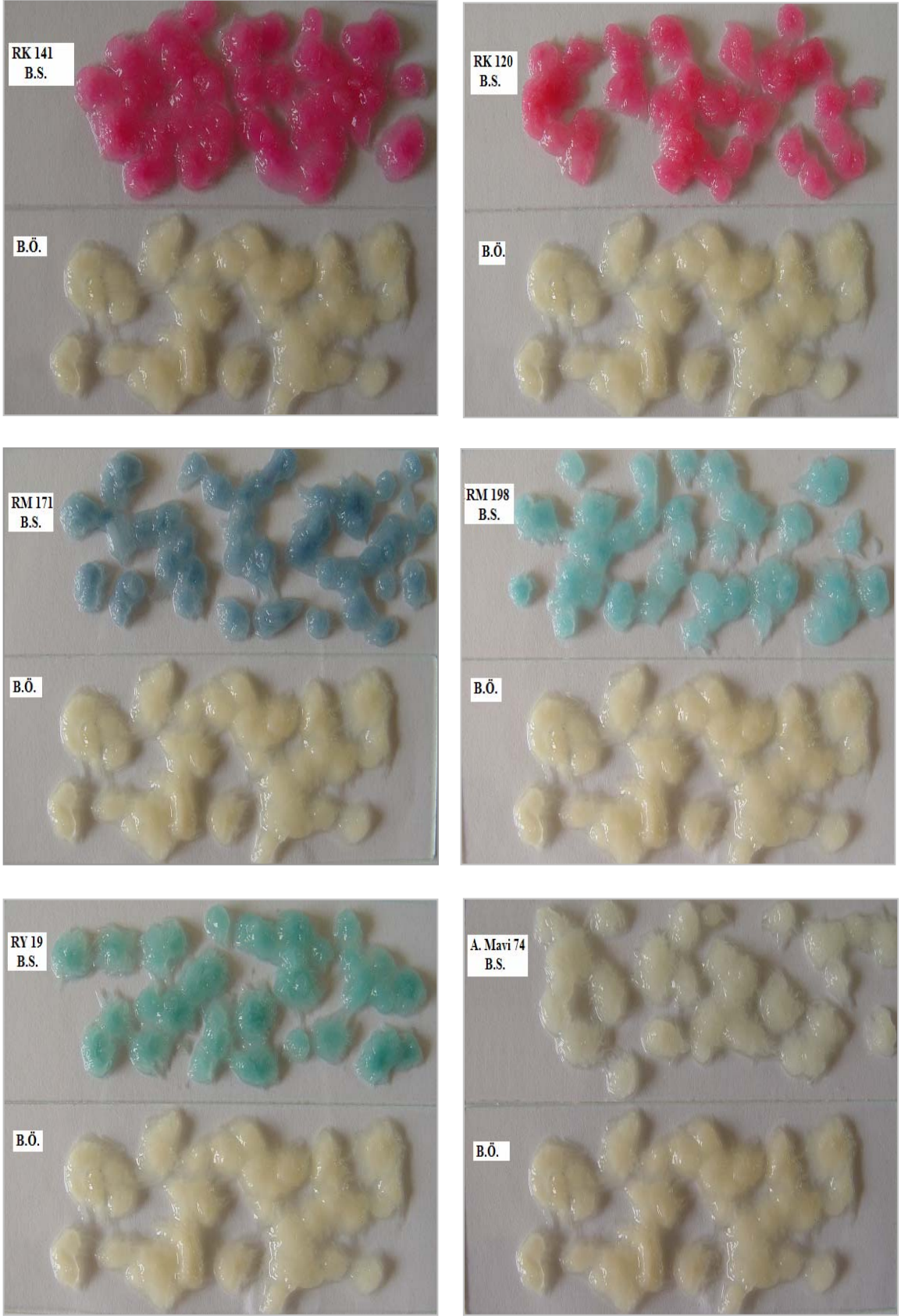
Park vd. [152]'e göre uygulamada kullanılan fungusun ve yöntemin renk gideriminde büyük önemi vardır. Maximo vd. [85] çalışmalarında seçtikleri beyaz çürükçül fungusların Reaktif Sarı 27 ve Reaktif Kırmızı 158 boyaının rengini gideremediğini bildirmiştir.

*P. chrysosporium* peletleri kullanıldığında hem ilk 2 saatte hem de 24 saat sonunda reaktif diazo kırmızı ve mavi boyaının rengi diğer funguslara göre daha iyi giderildi (Şekil 4.39). Fakat makroskobik gözlemlere göre peletlerin boyayı adsorbe etme oranı (24. saatte) diğer funguslardan daha fazladır (Şekil 4.40). RK 141, RK 120 ve RM 171 boyaının rengi 24 saat sonunda sırasıyla % 92.16±0.73, % 91.57±0.23 ve % 90.88±0.32 oranında giderildi.



**Şekil 4.39.** *P. chrysosporium* peletlerinin renk gideriminin (%) zamana bağlı değişimi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat





**Şekil 4.40.** *P. chrysosporium* peletlerinin biyoteknolojik işlem öncesi (B.Ö.) ve sonrası (B.S.) görüntüleri (Görüntüler renk giderimi işleminin 24.saatinde alındı)

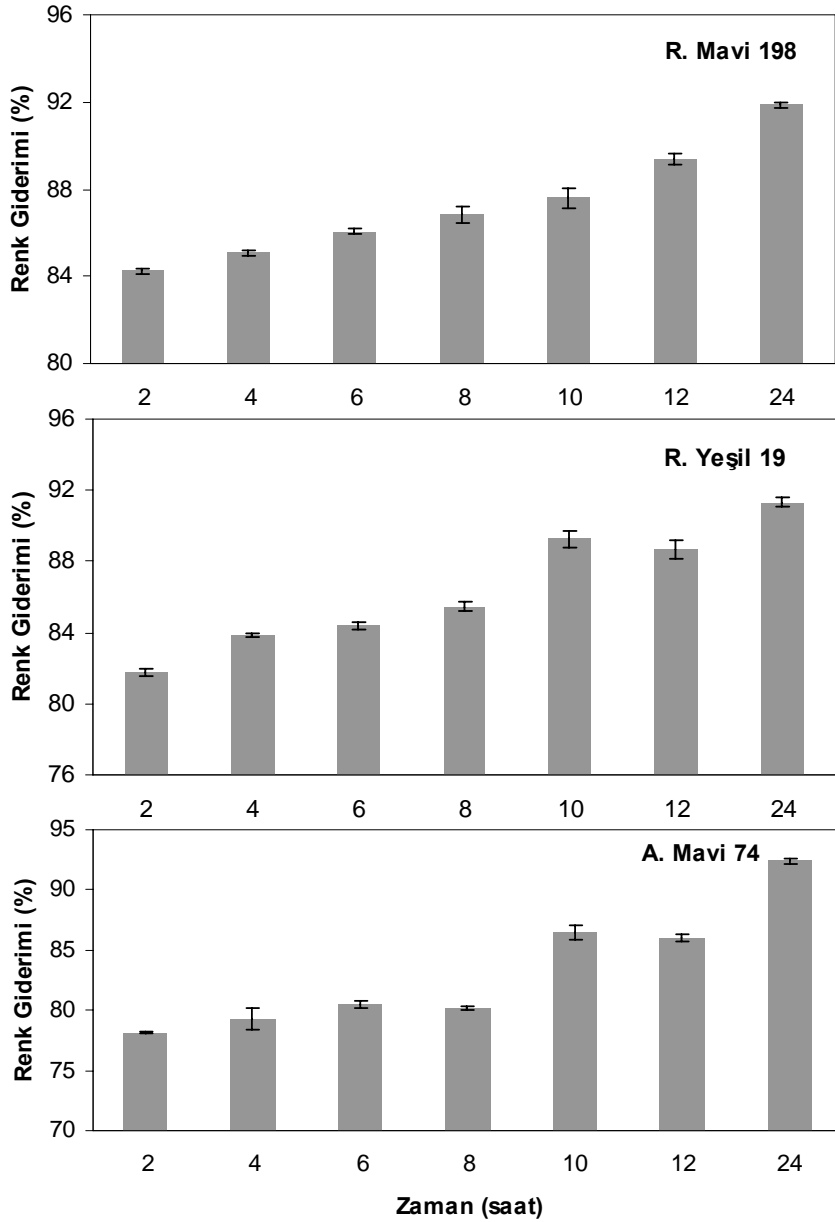
Biyoteknolojik işlem geçirmiş boyalı atık suyun renginin açık sarı olduğu gözlemlendi (Şekil 4.41).



**Şekil 4.41.** Boyalı atık suların biyoteknolojik işlem öncesi (B.Ö.) ve sonrası (B.S.) görüntüleri. Fungus türü: *P. chrysosporium* (Görüntüler renk giderimi işleminin 24.saatinde alındı)



RY 19'un renginin *P. chrysosporium* peletleri ile giderimi diğer funguslardan daha fazla olmasına rağmen A. Mavi 74'ün daha düşüktür. Diğer iki fungusla A. Mavi 74 boyasının rengi ilk iki saatte % 93'ün üzerinde giderilirken *P. chrysosporium* peletleri ile sadece % 78.15±0.06 oranında giderildi (Şekil 4.42). Maksimum renk giderimleri 24. saatte elde edildi. Ayrıca *P. chrysosporium* peletlerinin diğer fungusların aksine RM 198 ve A. Mavi 74 boyalarını adsorbe ettiği gözlemlendi (Şekil 4.40).

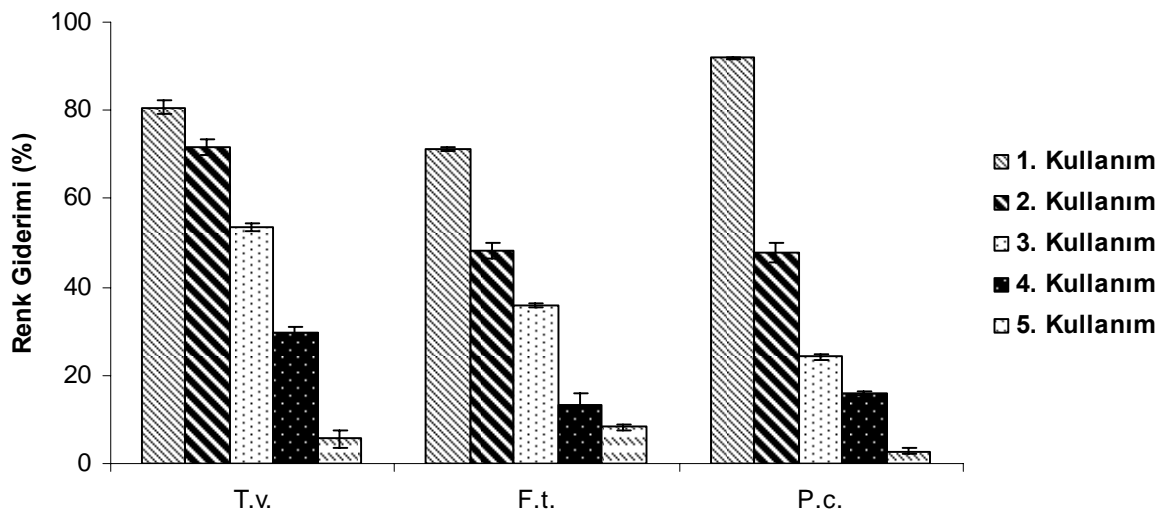


**Şekil 4.42.** *P. chrysosporium* peletlerinin renk gideriminin (%) zamana bağlı değişimi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L ve inkübasyon süresi: 24 saat

## 4.2. Tekrarlı-Kesikli Süreçte Renk Giderimi Çalışmaları

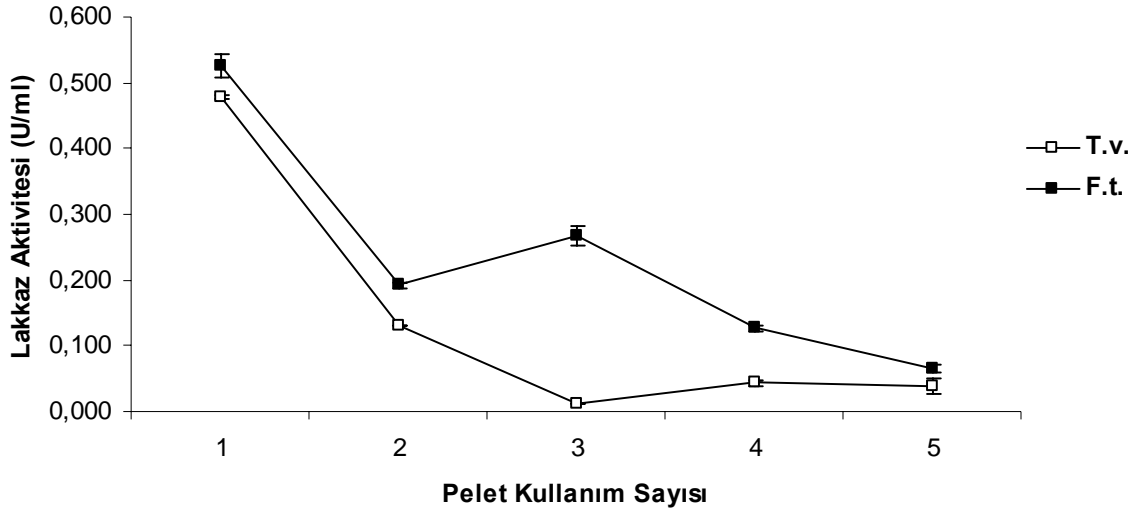
### 4.2.1. Farklı fungus peletleri ve farklı boya konsantrasyonları ile yürütülen tekrarlı kesikli çalışmalar

Boyar maddelerin renginin gideriminde biyolojik sistemin uzun süreli kullanımı işlemin ekonomikliği açısından önemli bir faktördür. En iyi renk giderimi elde edilen kültür koşulları ve pelet miktarları belirlendikten sonra farklı konsantrasyonlardaki boyaların renginin giderimi Bölüm 3.9’da belirtilen koşullarda tekrarlı-kesikli olarak çalışıldı. Bu amaçla peletlerin tekrar tekrar kullanılabilirlikleri test edildi. 50 mg/L RK 141 boyasının tekrarlı-kesikli süreçte renginin giderimi işlemlerinde peletlerin ilk kullanımı sonucu en iyi renk giderimi *P. chrysosporium* peletleri ile elde edilirken ( $91.82 \pm 0.38$ ) peletlerin 2. kullanımında renk giderimi hızla düştü. Renk giderimi verimindeki düşüş *T. versicolor* ve *F. troglia* peletlerinin de 2. kullanımda da görülmesine rağmen bu düşüş kısmen daha az oldu. *P. chrysosporium* peletlerinin diğer funguslara göre ilk kullanımda daha fazla boyayı adsorbe etmesinin buna yol açtığı sanılmaktadır. *T. versicolor* ve *F. troglia* ve *P. chrysosporium* peletlerinin 5 kez kullanımı sonucunda sırasıyla ortalama % 49, 35 ve 37 oranında renk giderimi verimi elde edildi (Şekil 4.43). Makroskobik gözlemler tüm fungus peletlerinin, ikinci kullanımdan sonra boyayı adsorbe edip koyu kırmızı hale geldiğini gösterdi.



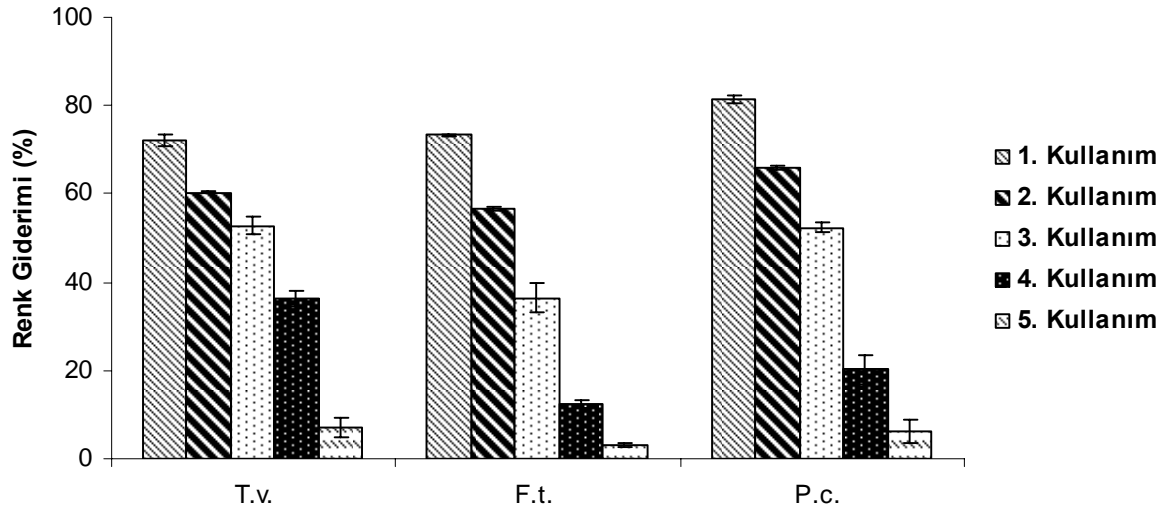
Şekil 4.43. Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin ile 50 mg/L Reaktif Kırmızı 141’in renginin giderimi.

*T. versicolor* peletleri ile elde edilen renk giderimi verimi *F. trogii* peletlerinden daha yüksek olmasına rağmen lakkaz aktivitesi daha düşüktür (Şekil 4.44). *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesi ilk kullanımda  $0.48 \pm 0.001$  U/ml olmasına rağmen pelet kullanımına bağlı olarak hızla düşüp  $0.04 \pm 0.001$  U/ml oldu. *F. trogii* peletlerinin ise lakkaz aktivitesi ilk kullanımda  $0.53 \pm 0.02$  U/ml iken ikinci kullanımda düştü ( $0.19 \pm 0.001$  U/ml) ve üçüncü kullanımda ise tekrar yükseldi ( $0.27 \pm 0.029$  U/ml).



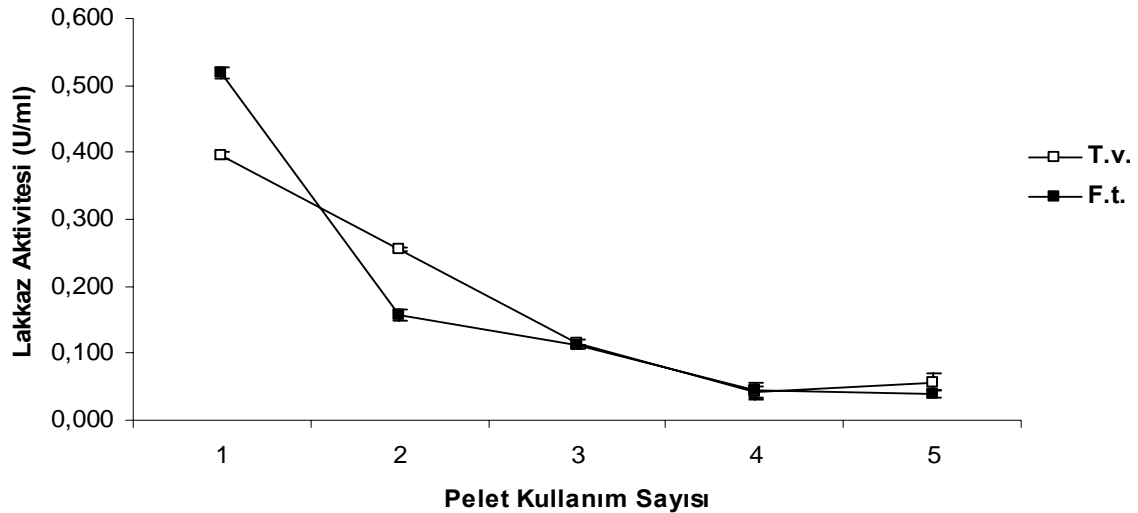
**Şekil 4.44.** Tekrarlı-kesikli süreçte Reaktif Kırmızı 141'in (50 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

RK 120 boyasının rengi de *P. chrysosporium* peletleri ile ilk kez diğer fungus peletlerine göre daha iyi giderildi. Peletlerin ikinci kullanımda renk giderimi yüzdeleri düşmesine rağmen bu düşüş RK 141'in renginin giderimindeki gibi (*T. versicolor* hariç) yüksek olmadığı tespit edildi. *T. versicolor* ve *F. trogii* ve *P. chrysosporium* peletlerinin 5 kez kullanımı sonucunda sırasıyla ortalama % 46, 36 ve 45 oranında renk giderimi elde edildi (Şekil 4.45). Makroskobik gözlemler sonucunda tüm fungus peletlerinin, üçüncü kullanımdan sonra boyayı daha fazla adsorbe edip koyu kırmızı hale geldiği tespit edildi.



**Şekil 4.45.** Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 50 mg/L Reaktif Kırmızı 120'nin rengini giderimi.

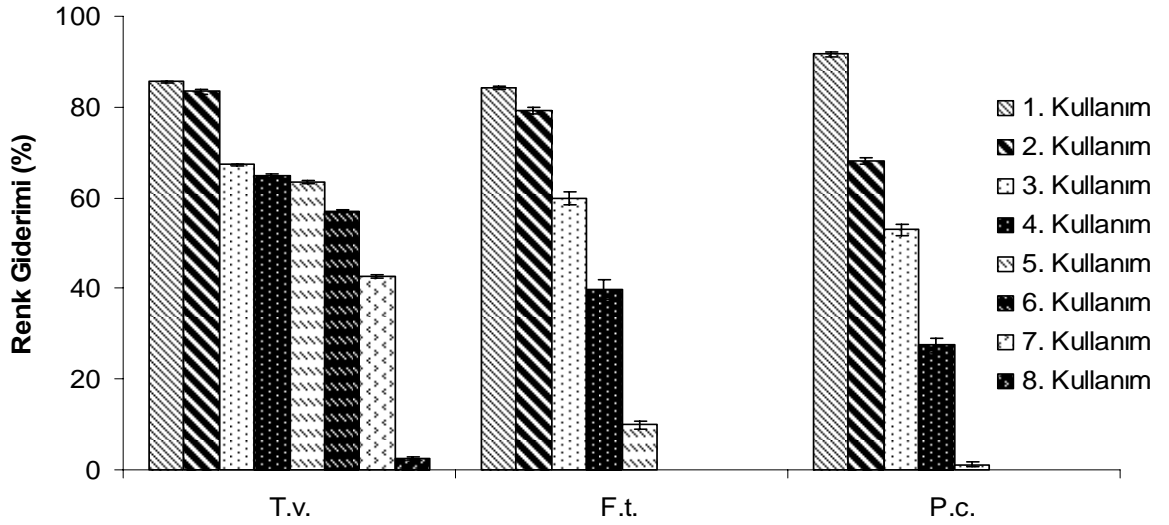
Bu boyayı içeren kültürlerde, *F. trogii* peletlerinin ilk kullanımında, lakkaz aktivitesi  $0.52 \pm 0.001$  U/ml olurken ikinci kullanımda  $0.16 \pm 0.001$  U/ml'e düştü. Bu düşüş daha önce belirtildiği gibi renk gideriminde de oldu. *T. versicolor* peletleri ile elde edilen lakkaz aktivitesi pelet kullanım sayısına bağlı olarak renk giderimi veriminde olduğu gibi kademeli olarak düştü (Şekil 4.46).



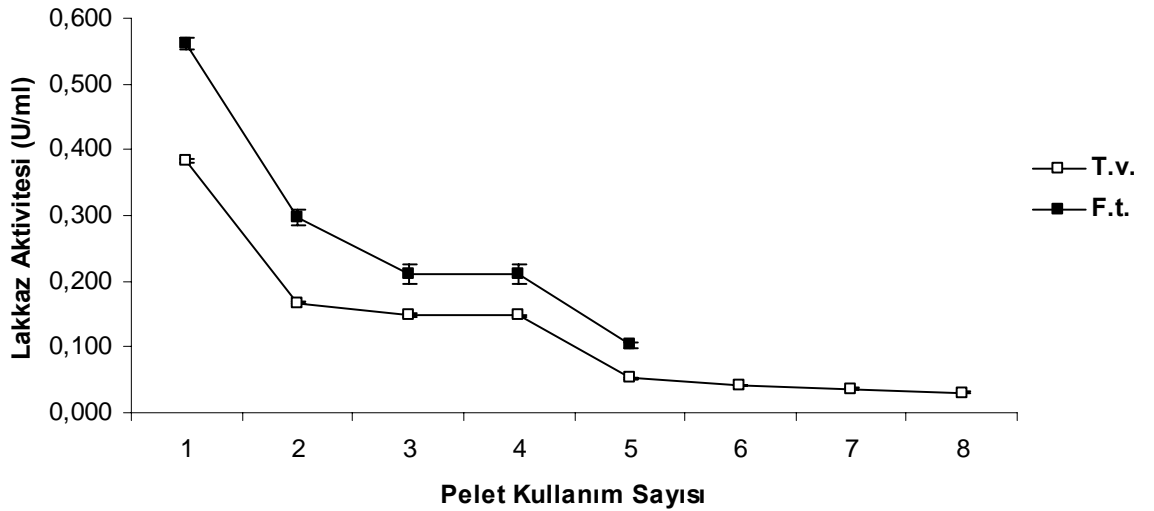
**Şekil 4.46.** Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Kırmızı 120'nin (50 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

RM 171 boyasının renginin tekrarlı-kesikli süreçte gideriminde *T. versicolor* peletleri 8 kez, *F. trogii* ve *P. chrysosporium* peletleri 5 kez kullanılabilir. (Şekil 4.47). *T. versicolor* peletlerinin 5. kullanımında elde edilen renk giderimi

%  $63.40 \pm 0.27$  iken *F. trogii* ile %  $9.92 \pm 0.97$  ve *P. chrysosporium* ile %  $1.20 \pm 0.57$ 'dir. Hem *T. versicolor* hem de *F. trogii* peletleri ile elde edilen renk giderimi verimi pelet kullanım sayısına bağlı olarak kademeli olarak düşmesine rağmen bu iki fungusun lakkaz aktivitesi peletlerin ilk kullanımından sonra hızla düştü (Şekil 4.48). Swamy ve Ramsay [ 68] *P. chrysosporium* peletlerinin tekrarlı boya eklemesi işlemlerinde renk giderim yeteneklerinin sınırlı olduğunu belirtirken *T. versicolor* peletlerinin ise birçok boya ve boya karışımın rengini tekrarlı-kesikli süreçte rahatlıkla giderdiğini rapor etmiştir.

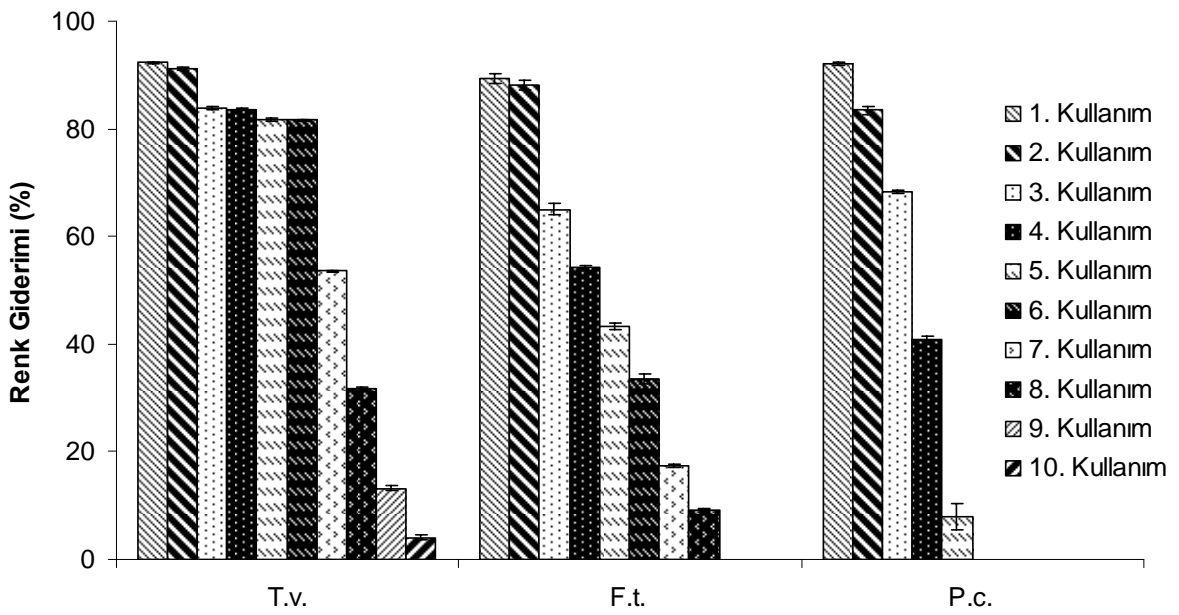


Şekil 4.47. Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 50 mg/L Reaktif Mavi 171'in rengini giderimi

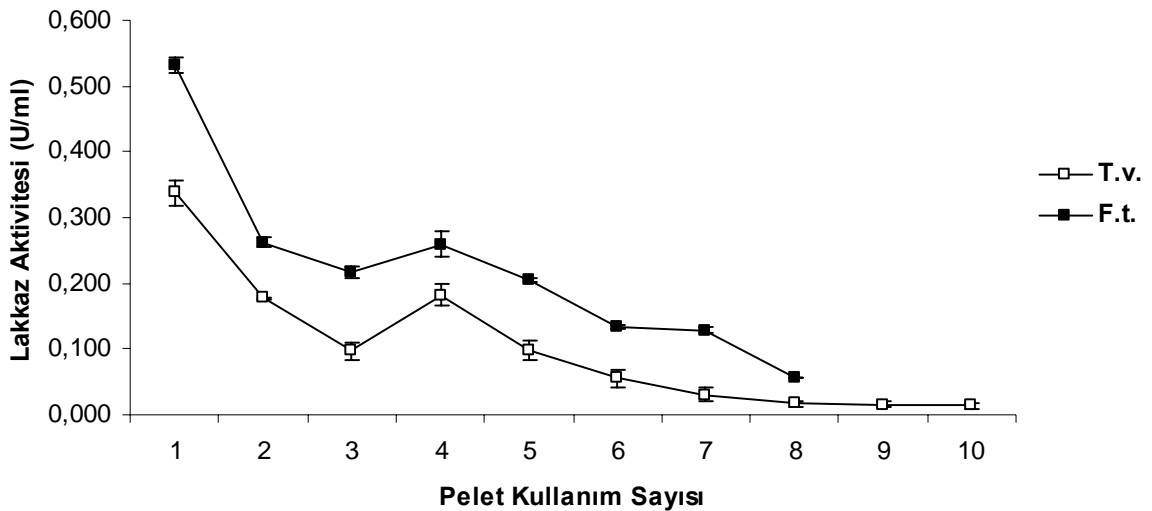


Şekil 4.48. Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Mavi 171'in (50 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

RM 198 boyasının renginin tekrarlı-kesikli süreçte gideriminde *T. versicolor* peletleri 10 kez, *F. trogii* 8 kez ve *P. chrysosporium* peletleri 5 kez boyanın rengini giderdi. *T. versicolor* peletlerinin ilk altı kullanımında renk giderimi en düşük % 82 olurken bu oran 8. kullanımında % 50'in altına düştü. Fakat *F. trogii* ve *P. chrysosporium* peletlerinin ilk iki kullanımında renk giderimi % 83'ün üzerinde olurken, renk giderimi *F. trogii* için 5. kullanımında, *P. chrysosporium* için ise 4. kullanımında % 50'nin altına düştü. *T. versicolor* peletleri ile RM 198 boyasının rengi daha kararlı ve uzun süre giderilebildi. Buna karşılık *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi *T. versicolor*'dan daha yüksektir (Şekil 4.49-4.50).

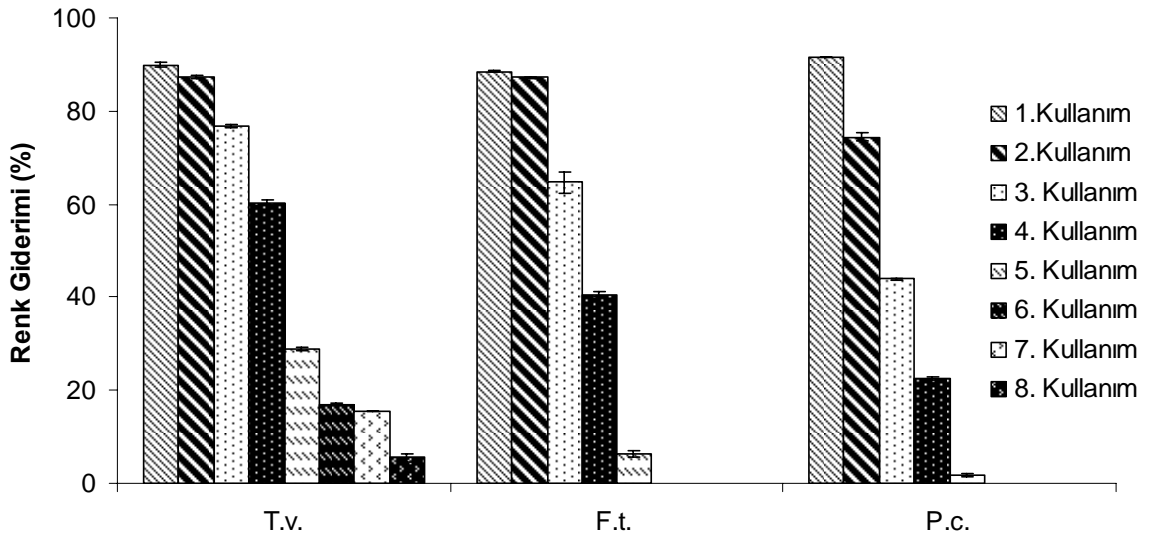


Şekil 4.49. Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 50 mg/L Reaktif Mavi 198'in rengini giderimi

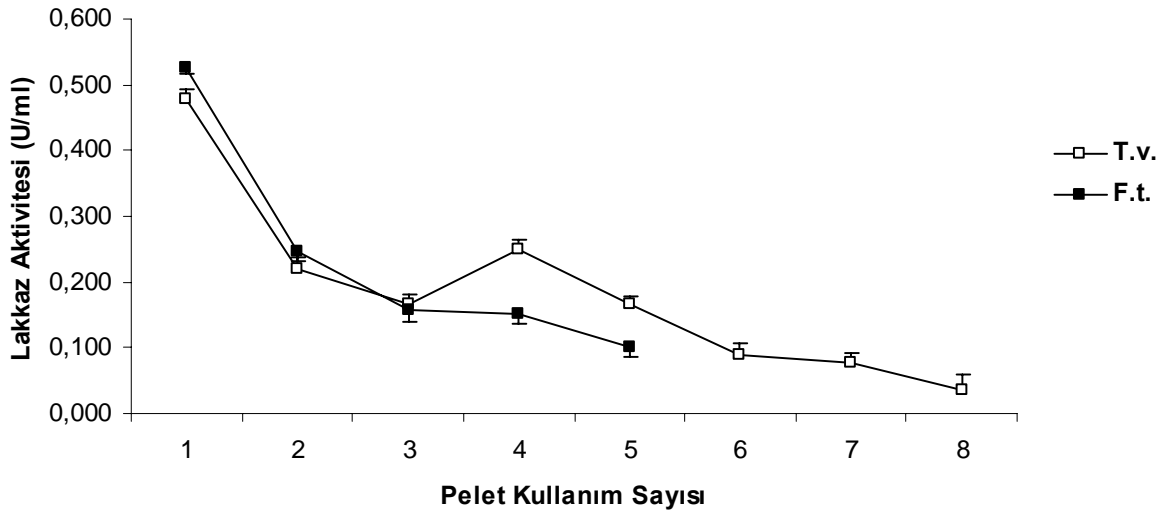


Şekil 4.50. Tekrarlı süreçte Reaktif Mavi 198'in (50 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

RY 19'un renginin tekrarlı-kesikli süreçte gideriminde farklı fungus peletlerinin ilk kullanımında renk yüzdeleri benzer olurken (>% 89), bu oran *P. chrysosporium* peletlerin ikinci kullanımında % 74.47±0.79'a indi. *T. versicolor* ve *F. trogii* peletleri kullanıldığında renk giderimi sırasıyla % 87.34±0.33 ve % 87.27±0.22 oldu. *T. versicolor* peletlerinin dördüncü, *F. trogii* peletlerinin üçüncü ve *P. chrysosporium* peletlerinin ikinci kullanımından sonra renk giderimi % 50'nin altına indi. Her iki fungusun lakkaz aktiviteleri, peletlerin ilk üç kullanımda benzer olmasına rağmen *T. versicolor*'un lakkaz aktivitesi, peletlerin dördüncü kullanımda arttı Şekil 4.51-4.52).

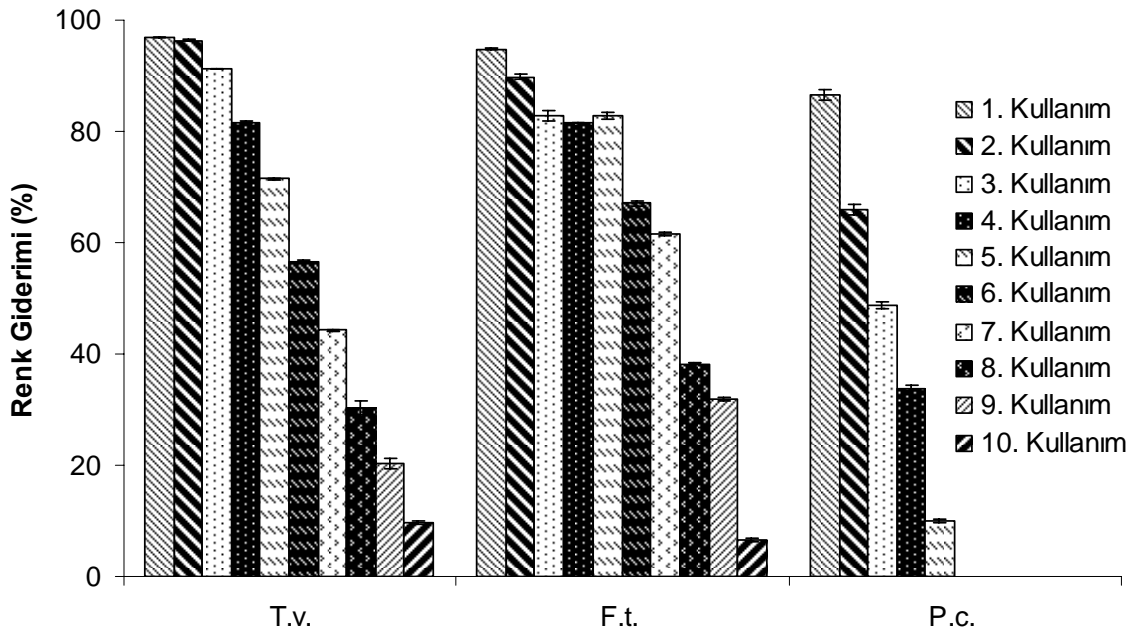


Şekil 4.51. Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 50 mg/L Reaktif Yeşil 19'un rengini giderimi

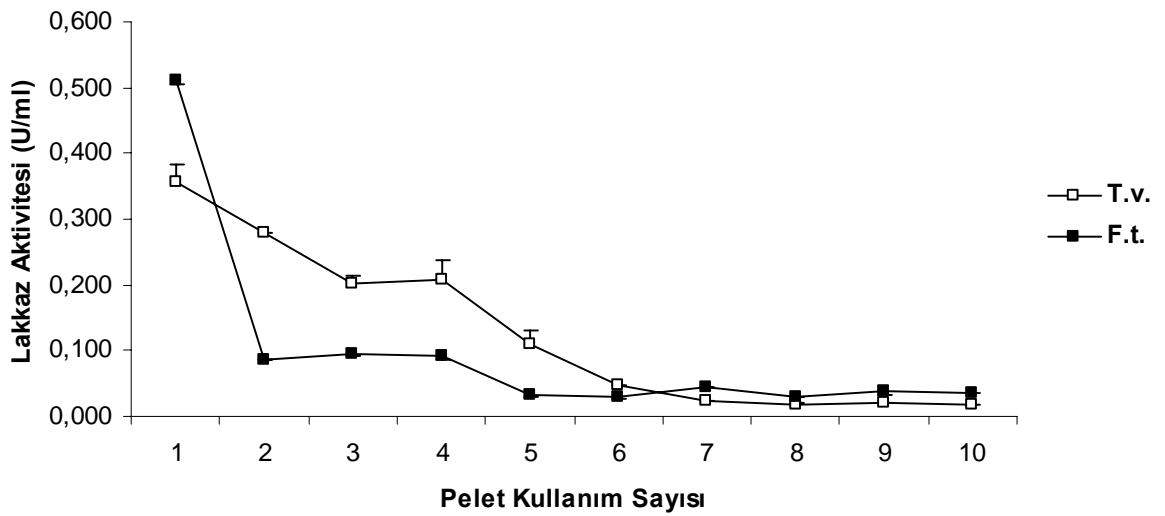


Şekil 4.52. Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Yeşil 19'un (50 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

A. Mavi 74 boyasının renginin tekrarlı-kesikli süreçte gideriminde *T. versicolor* ve *F. trogii* peletleri 10 kez ve *P. chrysosporium* peletleri de 5 kez boyanın rengini giderdi. *F. trogii* peletlerinin renk giderim verimi, peletlerin ilk 7 kez kullanımında % 61'in üzerindeydi. Diğer boyaların aksine hem *F. trogii* peletleri hem de *T. versicolor* peletleri ile A. Mavi 74'in renginin daha kararlı ve uzun süre giderildiği tespit edildi. *F. trogii* peletlerinin başlangıç lakkaz aktivitesi yüksek olmasına rağmen ikinci pelet kullanımında hızlı bir düşüş oldu. *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesinde de kademeli bir düşüş gözlemlendi (Şekil 4.53-4.54).



Şekil 4.53. Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 50 mg/L Asit Mavi 74'ün rengi giderimi



Şekil 4.54. Tekrarlı kesikli süreçte Asit Mavi 74'ün (50 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

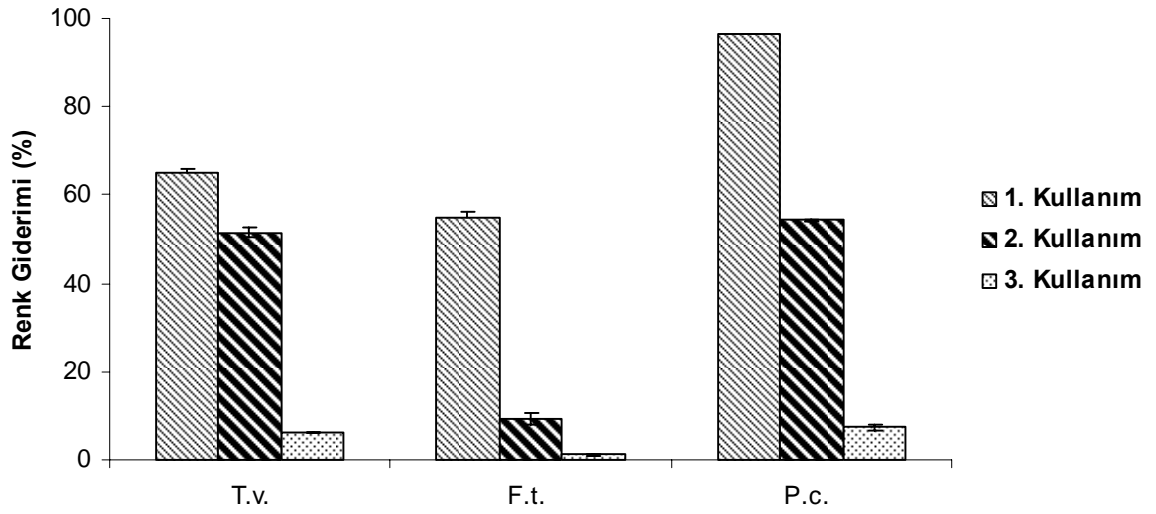


Bazı boya ların lakkaz enzimi için uygun substrat olmadığı bilinmektedir. Chivukula ve Renganathan [114] *T. versicolor*, *Polyporus pinisitus* ve *Myceliophthora thermophila* antrakınon ve indigoid boya ların rengini yüksek oranda gidermelerine rağmen, Kırmızı 29'un (azo boya) lakkaz için iyi bir substrat olmadığını bildirmiştir. Ayrıca *Pyricularia oryzae* lakkazının substratı oksitleyebilmesi için substratın elektron açısından zengin olmasının gerekli olduğunu belirtmiştir. Beyaz çürükçül fungusların enzimleri aracılığıyla substratlar direkt reaksiyona girebildiği gibi, yine funguslar tarafından sentezlenen düşük moleküler ağırlıklı mediatörler de enzim ile boyanın reaksiyona girmesine yardımcı olabilmektedir. Fakat tekrarlı kesikli işlemlerde renk giderimi tamamlandıktan sonra ortam sıvısı tamamen alınıp yeni boyalı atık su ortama ilave edilmektedir. Yani boşaltılan sıvı ile birlikte ortamda bulunan mediatörler de uzaklaştırılmaktadır. Her bir ortam değişimi için geçen süre 24 saatle sınırlandırılmıştır. Fungus bu süre içinde yeterli miktarda mediatör üretemeyebilir. Bu yüzden lakkaz enzimi boyayla yeterince reaksiyona giremediğinden renk giderim verimleri hızla düşebilir [155].

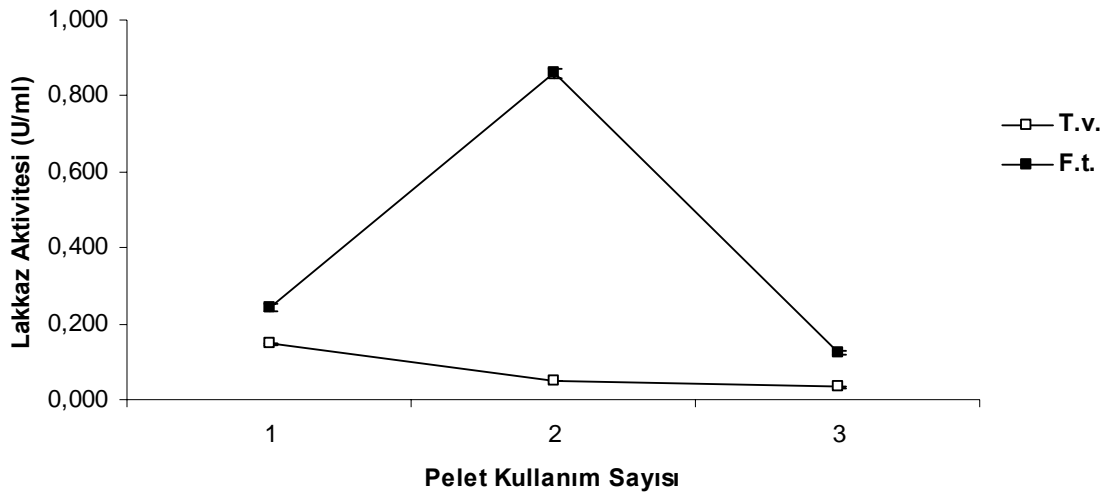
Bazı araştırmacılar boyanın özelliklerinin renk giderimini doğrudan etkilediğini belirtirken, bazıları da renk giderimi ile boya yapısı arasında doğrudan bir ilişki bulamamıştır [19]. Swamy ve Ramsay [41] boya ların renginin gideriminin sadece boyanın yapısının kompleksliğine bağlı olmadığını ve diğer birçok faktöre bağlı olabileceği bildirilmiştir. Fakat boya ların kimyasal yapılarının renk giderimini etkilediğini yaptığı çalışmalarda tespit etmiştir. Adosinda vd. [129] sülfonik grup içeren boyalı ortamlarda ön üremeye tabi tutulan *P. chrysosporium*'un, sülfonik grup içeren boya ları en yüksek oranda yıktığını, bunun sonucunda da, renk giderimin fungusun kometabolitik aktivitesinden dolayı meydana geldiği ileri sürmüştür. Çalışmamızda RK 141 ve RK 120 boya larının rengi diğer boya lara göre daha zor giderilmektedir. Özellikle tekrarlı kesikli işlemlerde ilk 24 saatte renk giderilmesine rağmen, peletlerin bu boya ları ikinci ve üçüncü yıkımlarında renk giderim yüzdeleri oldukça düşmüştür.

Düşük konsantrasyonda boya kullanımı çalışmalarından sonra daha yüksek boya konsantrasyonlarının (100 ve 200 mg/L) tekrarlı-kesikli süreçte fungus peletlerinin renk giderim verimine etkisi araştırıldı. RK 120'nin miktarı 100 mg/L olduğunda, *T. versicolor* ve *F. trogii* peletlerinin renk giderim verimi ve kullanım sayısı düştü. *P. chrysosporium* peletlerinin ise renk giderim verimi 50 mg/L boya miktarına göre artış gösterdi. Fakat % 50'nin üzerinde renk giderimi (50 mg/L'de olduğu gibi) sadece peletlerin ilk iki kez kullanımı sonucunda elde edildi. Boya miktarı iki kat arttığında

*T. versicolor* ve *F. trogii* peletlerinin ilk 24 saatteki lakkaz aktivitesi düşerek sırasıyla  $0.15 \pm 0.003$  ve  $0.24 \pm 0.01$  U/ml oldu. *F. trogii* peletlerin ikinci kullanımda lakkaz aktivitesi  $0.86 \pm 0.01$  U/ml'e yükseldi (Şekil 4.55-4.56).

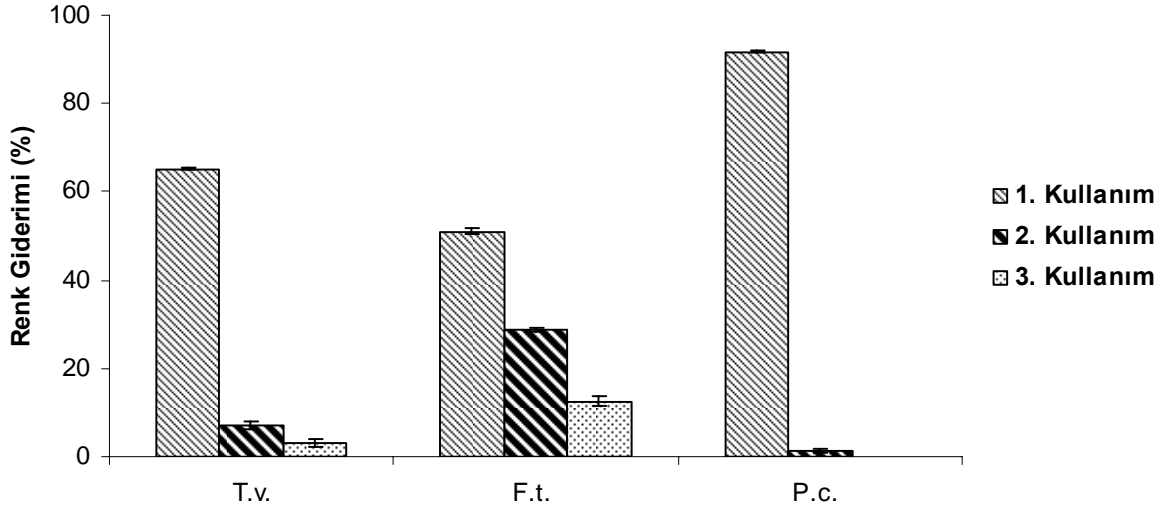


Şekil 4.55. Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 100 mg/L Reaktif Kırmızı 141'in rengini giderimi

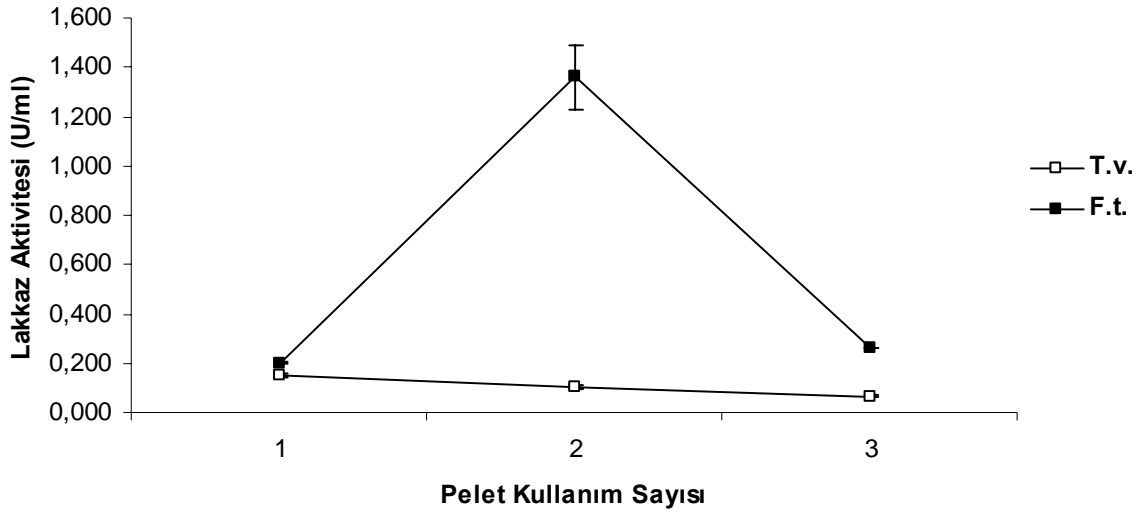


Şekil 4.56. Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Kırmızı 141'in (100 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

RK 141'in miktarı 200 mg/L olduğunda *F. trogii*, *T. versicolor* ve *P. chrysosporium* peletlerinin ilk kullanımı sonucu renk giderimi sırasıyla %  $65.10 \pm 0.19$ , %  $51.10 \pm 0.72$  ve %  $91.69 \pm 0.19$ 'dur. Her üç fungus peletlerinin ikinci kez kullanımında renk giderimi hızla düştü. *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi 2. kez kullanımda hızla artıp  $1.36 \pm 0.13$  U/ml olurken renk giderimi sadece %  $28.73 \pm 0.59$ 'dir (Şekil 4.57-4.58). Benzer sonuçlar Romero vd. [137] tarafından yapılan çalışmada ortama yüksek miktarda boya ilave edildiğinde lakkaz aktivitesinin artması şeklinde rapor edilmiştir.



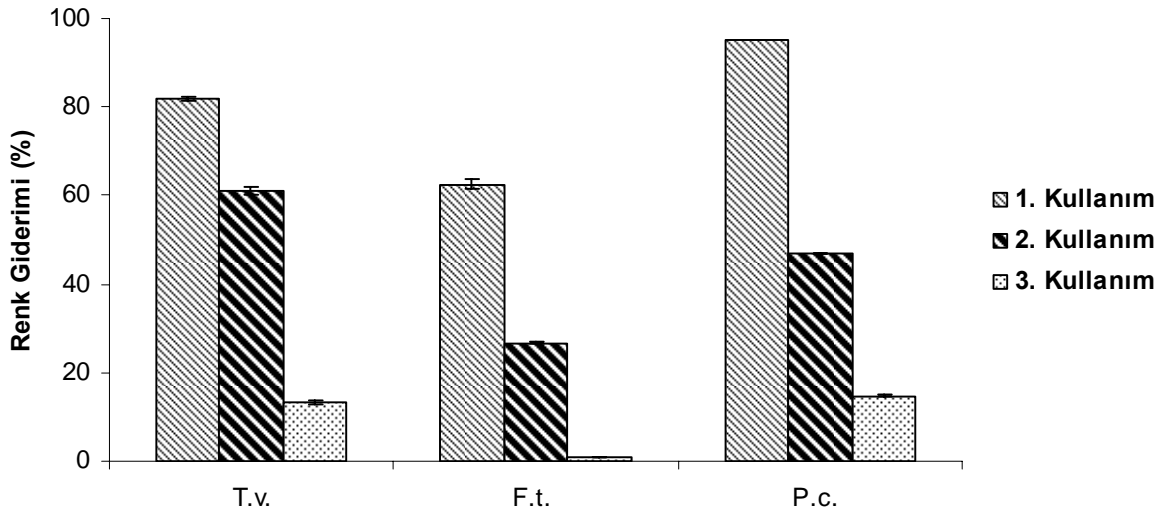
**Şekil 4.57.** Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 200 mg/L Reaktif Kırmızı 141'in rengini giderimi



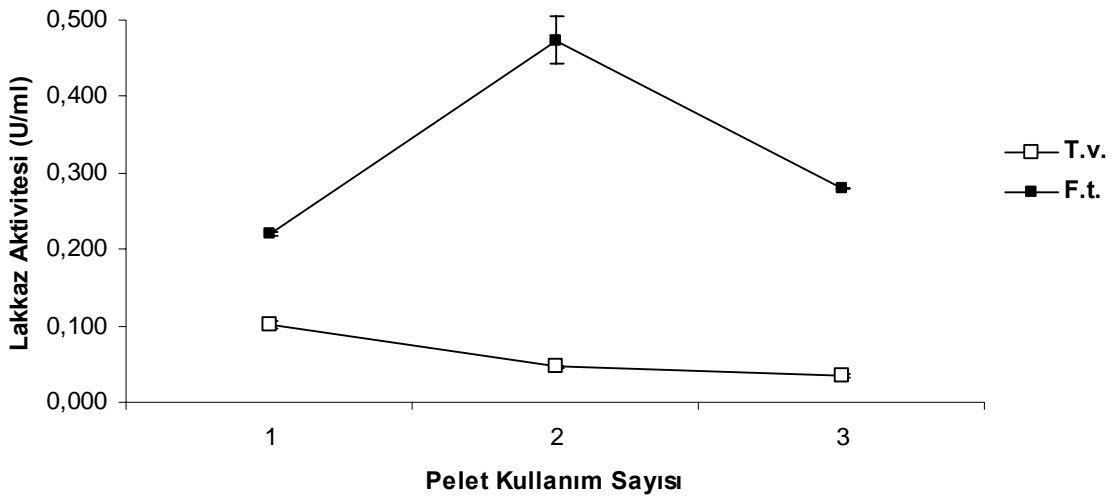
**Şekil 4.58.** Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Kırmızı 141'in (200 mg/L) renginin giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

Kültür 100 mg/L RK 120 içerdiğinde *T. versicolor* ve *P. chrysosporium* peletlerinin ilk kullanımında 50 mg/L'den daha fazla renk giderimi elde edildi (Şekil 4.59). 50 mg/L boya içeren *T. versicolor* ve *P. chrysosporium* kültürlerinin renk giderimi verimi sırasıyla % 72.24±1.35, % 81.40±0.98 iken boya miktarı iki katına çıkarıldığında renk giderim verimleri sırasıyla % 81.85±0.43 ve % 95.30±0.048'e yükseldi. Fakat peletlerin ikinci ve üçüncü kullanımda renk giderimi hızla düştü.

*F. trogii* peletlerinin ilk kullanımdan sonra lakkaz aktivitesi artarken üçüncü kullanımda tekrar azaldı (Şekil 4.60).

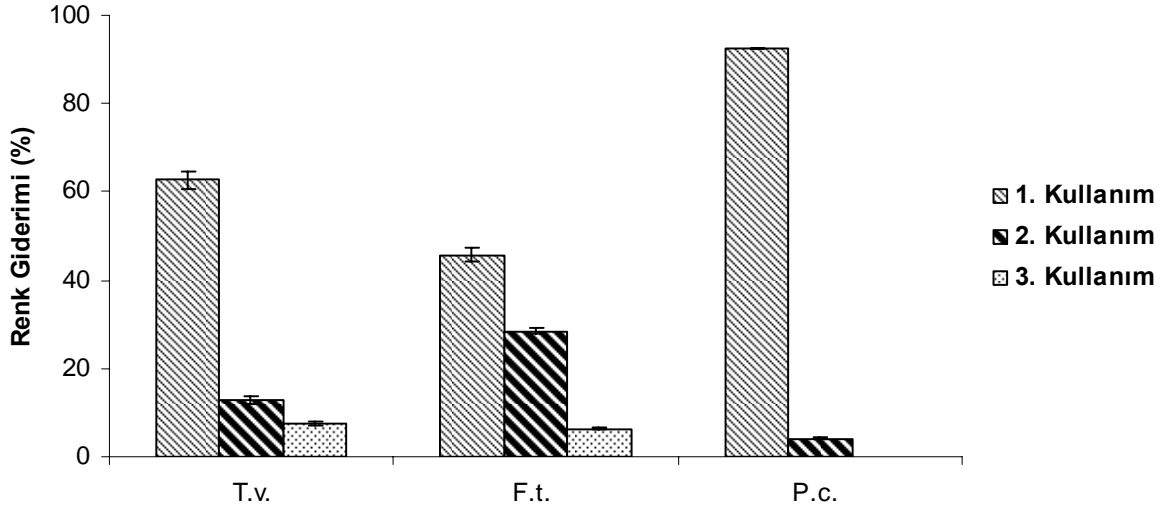


Şekil 4.59. Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 100 mg/L Reaktif Kırmızı 120'nin rengini giderimi

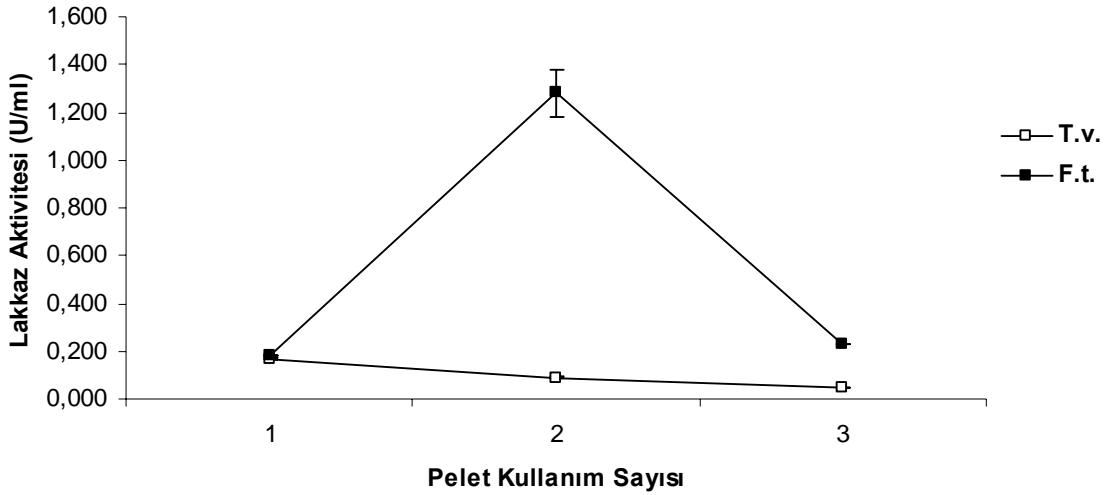


Şekil 4.60. Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Kırmızı 120'nin (100 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

Boya miktarı 200 mg/L olduğunda sadece *P. chrysosporium* peletlerinin renk giderim değeri 50 mg/L'den daha yüksek olduğu saptandı (Şekil 4.61). Renk giderimi değeri, 50 mg/L'de % 81.40±0.98 iken 200 mg/L % 92.39±0.13 oldu. *F.trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi, peletlerin 2. kez kullanımında 1.28±0.10 U/ml'e yükseldi (Şekil 4.62). Zhang ve Ju [155] boya konsantrasyonun 50 mg/L'den 100 mg/L'ye çıktığında fungus peletlerin lakkaz aktivesinin arttığını ama serbest peletlerin ikinci ve üçüncü kullanımlarından sonra enzim aktivitesinin hızla düştüğünü rapor etmiştir.

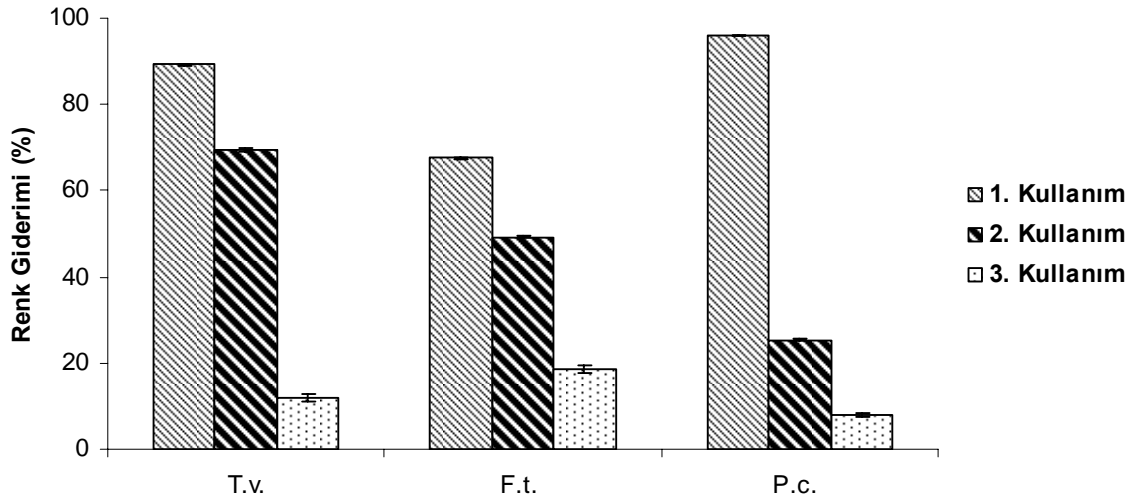


**Şekil 4.61.** Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 200 mg/L Reaktif Kırmızı 120'nin renginin giderimi

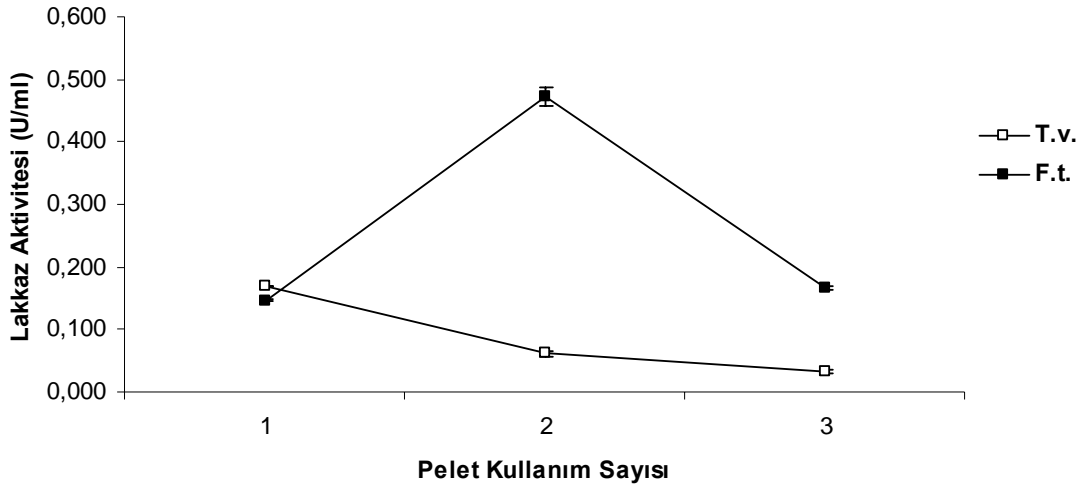


**Şekil 4.62.** Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Kırmızı 120'nin (200 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

Tekrarlı kesikli renk giderimi sürecinde, 100 mg/L RM 171'i içeren kültürlerde *T. versicolor* ve *P. chrysosporium* peletleri ile ilk 24 saatte (sırasıyla % 89.19±0.09 ve 95.95±0.12) yüksek renk giderimleri elde edilirken bu oranlar peletlerin ikinci kullanımında hızla düştü. Boya konsantrasyonunun artışı *F. trogii* peletlerinin renk giderimini azalttı (Şekil 4.63). Diğer boyalarda olduğu gibi 100 mg/L RM 171'in renginin gideriminde *T. versicolor*'un lakkaz aktivitesi çok düşük olurken *F. trogii*'nin lakkaz aktivitesi peletlerin ikinci kez kullanımında arttı ve sonra düştü (Şekil 4.64).

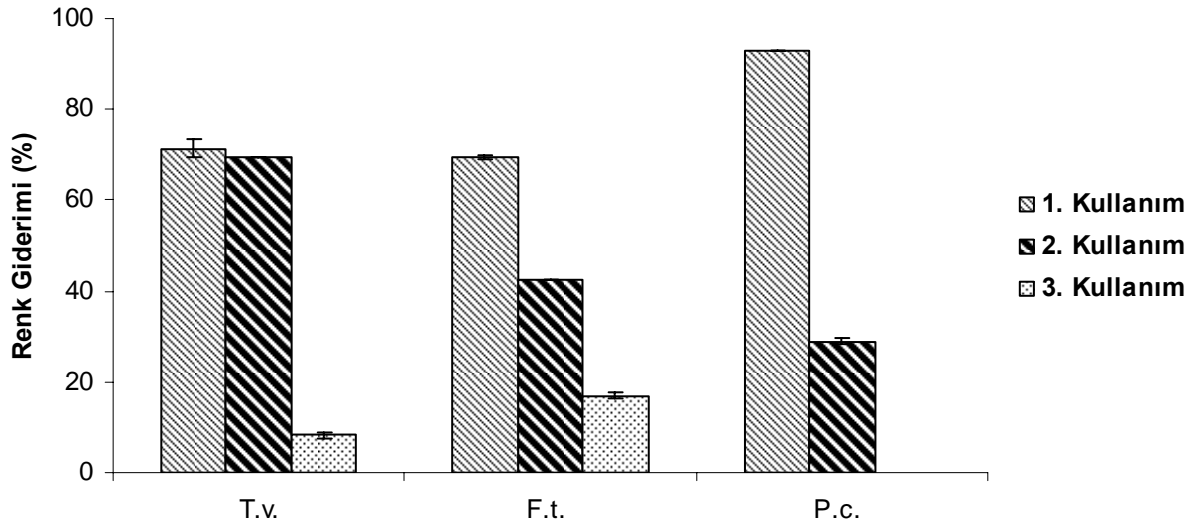


**Şekil 4.63.** Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 100 mg/L Reaktif Mavi 171'in renginin giderimi

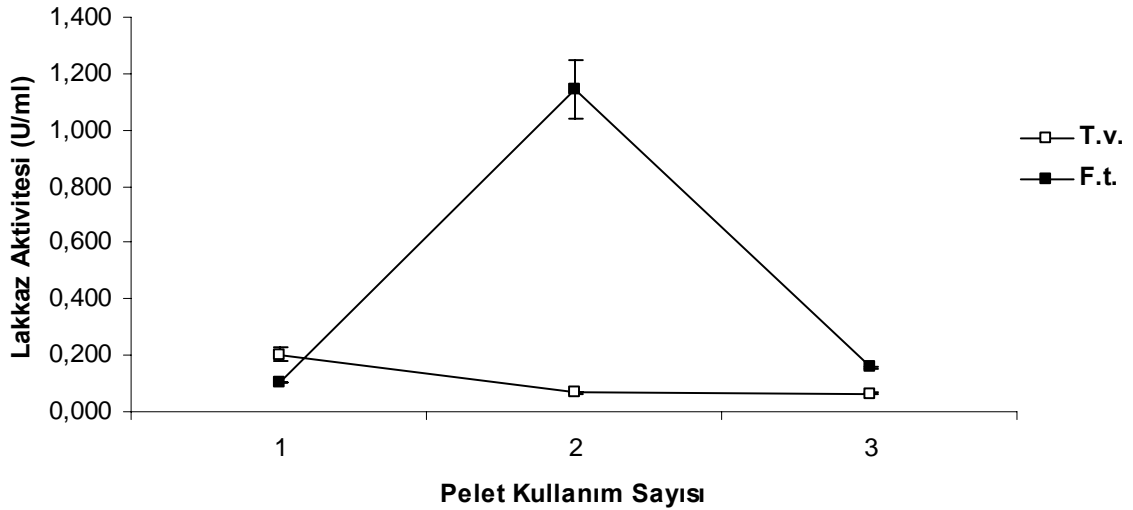


**Şekil 4.64.** Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Mavi 171'in (100 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

Yüksek boya konsantrasyonunda (RM 171) *P. chrysosporium* peletlerinin renk giderimi verimi ilk 24 saatlik inkübasyonda diğer boyalardan daha yüksek oldu. Fakat *P. chrysosporium* peletlerinin ikinci kez kullanımında yüksek renk giderimi hızla düştü. Makroskobik incelmeler *P. chrysosporium* peletlerinin boyaları diğer fungus peletlerinden daha fazla adsorbe ettiğini gösterdi. 200 mg/L RM 171'in rengini *T. versicolor* peletleri 2. kez kullanımları sırasında %  $69.40 \pm 0.04$  oranında giderirken *F. trogii* peletlerinin ikinci kullanımında renk giderimi %  $42.47 \pm 0.16$  oldu. *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi peletlerin ikinci kez kullanımında hızlı bir artış gösterdi (Şekil 4.65-4.66).

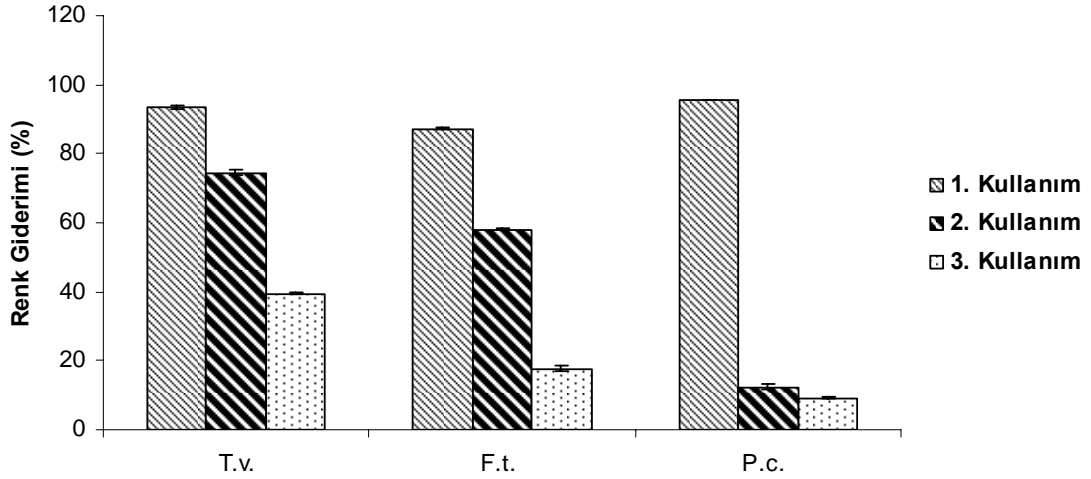


**Şekil 4.65.** Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 200 mg/L Reaktif Mavi 171'in renginin giderimi

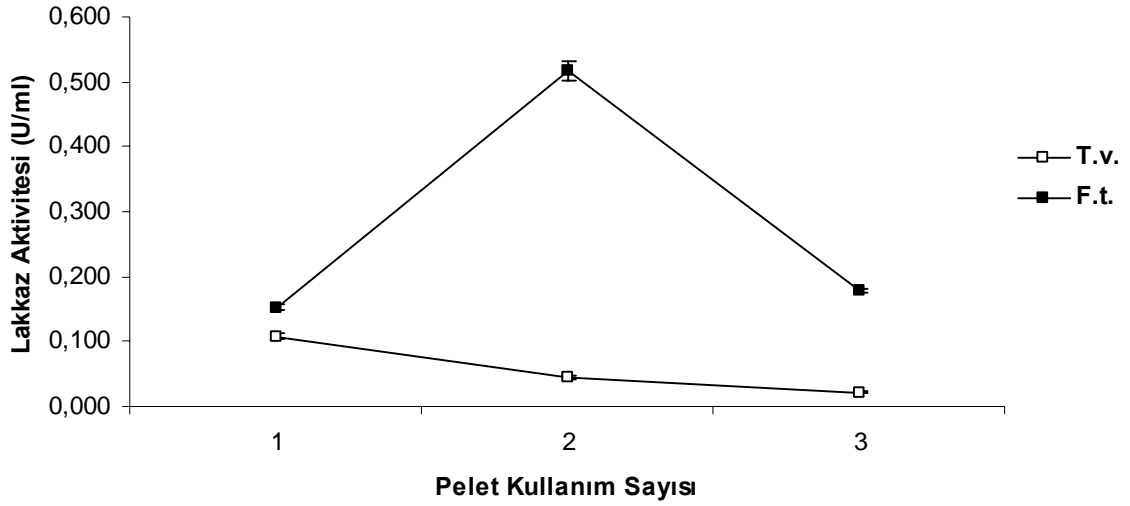


**Şekil 4.66.** Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Mavi 171'in (200 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

*T. versicolor* peletleri, 100 mg/L RM 198'in rengini tekrarlı-kesikli süreçte iki kez sırasıyla %  $93.44 \pm 0.60$  ve %  $74.60 \pm 0.95$  oranında giderdi. *F. trogii* peletlerinin ilk iki kez boyanın rengini ortalama % 73 oranında gidermesine rağmen renk giderimi verimi *T. versicolor*'dan (% 84) daha düşüktür. *P. chrysosporium* peletleri 50 mg/L boyanın rengini ilk kullanımda %  $91.95 \pm 0.32$  oranında giderirken boya miktarı iki kat arttığında bu oran %  $95.43 \pm 0.08$ 'e yükseldi. Ama aynı peletlerin ikinci kullanımında renk giderimi verimi diğer boyalarda olduğu gibi hızla düştü. RM 198'in miktarı arttığında *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi diğer boyalı ortamlarda olduğu gibi artmamıştır (Şekil 4.67-4.68).



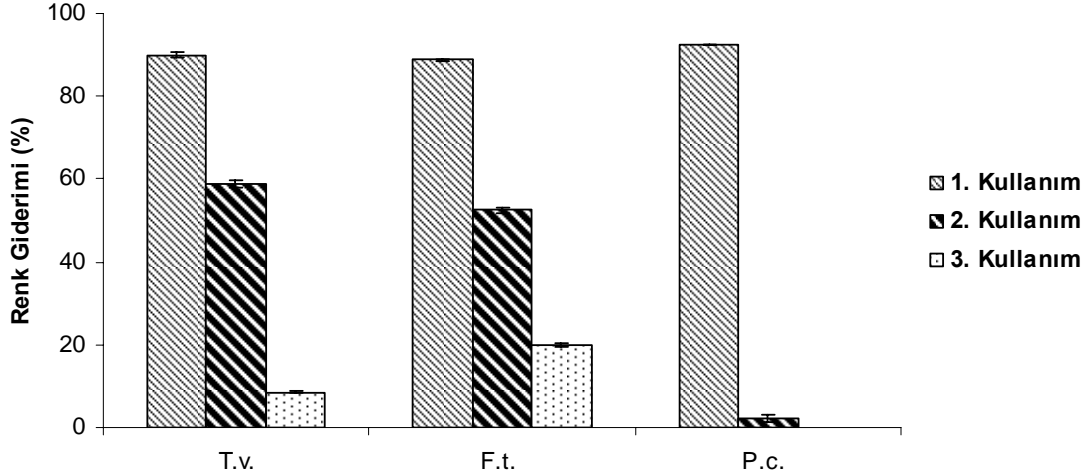
**Şekil 4.67.** Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 100 mg/L Reaktif Mavi 198'in renginin giderimi



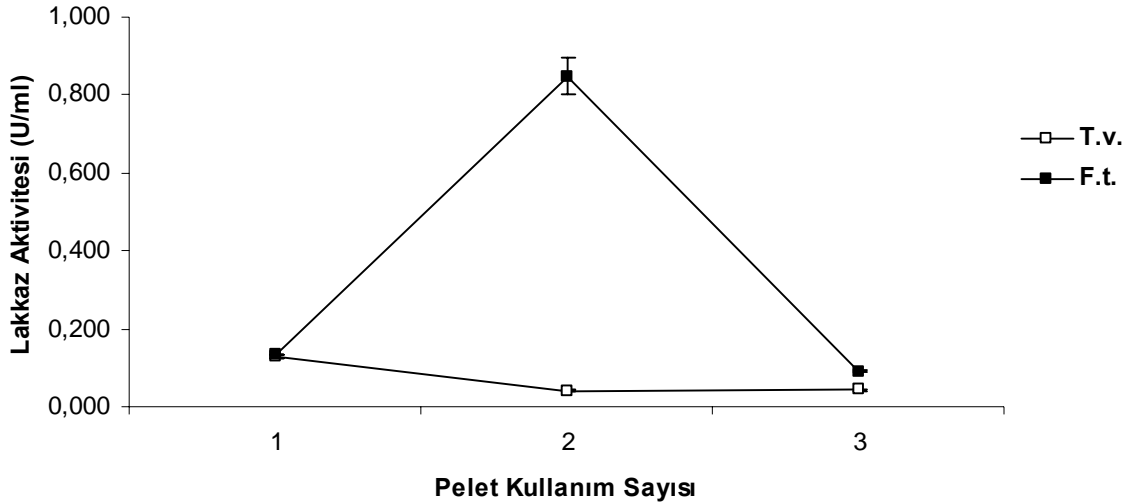
**Şekil 4.68.** Tekrarlı kesikli süreçte Reaktif Mavi 198'in (100 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

Besiyerine ilave edilen RM 198'in miktarı 200 mg/L'e çıkarıldığında sonuçlar 100 mg/L boyanın renginin giderimine benzemektedir (Şekil 4.69). Fakat boya artışı, *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesini peletlerin ikinci kullanımında artırdı (Şekil 4.70).



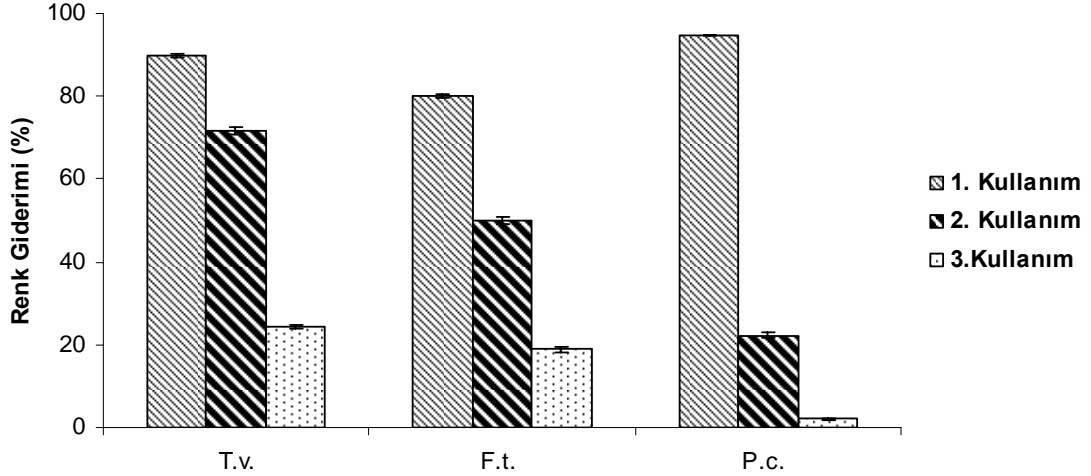


**Şekil 4.69.** Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 200 mg/L Reaktif Mavi 198'in renginin giderimi

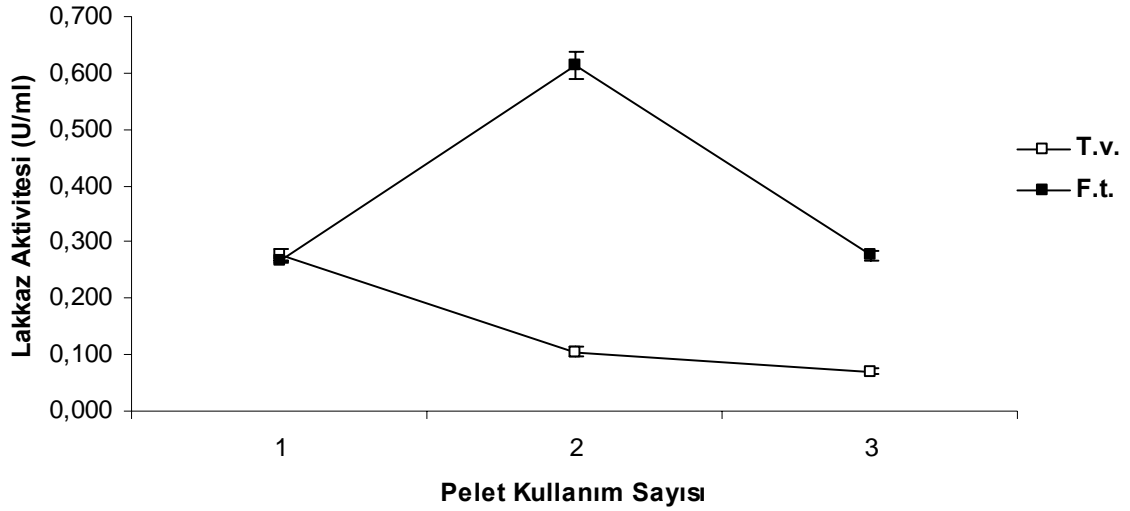


**Şekil 4.70.** Tekrarlı-kesikli süreçte Reaktif Mavi 198'in (200 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

Tekrarlı kesikli süreçte ilk kullanımda 50-100 mg/L RY 19'un renk giderimi sonuçları benzer olmasına rağmen boyaların renginin giderim verimi boya miktarı artışına bağlı azaldı (Şekil 4.51-4.71). Düşük boya konsantrasyonlarında (50 mg/L) *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesi peletlerin ilk kullanımında maksimum olurken kullanılan boya konsantrasyonu iki katına çıkarılınca başlangıç lakkaz aktivitesi hızla düştü. Fakat *F. trogii* peletlerinde durum tam tersidir. *F. trogii* peletlerinin ikinci kullanımında lakkaz aktivitesi arttı (Şekil 4.72).

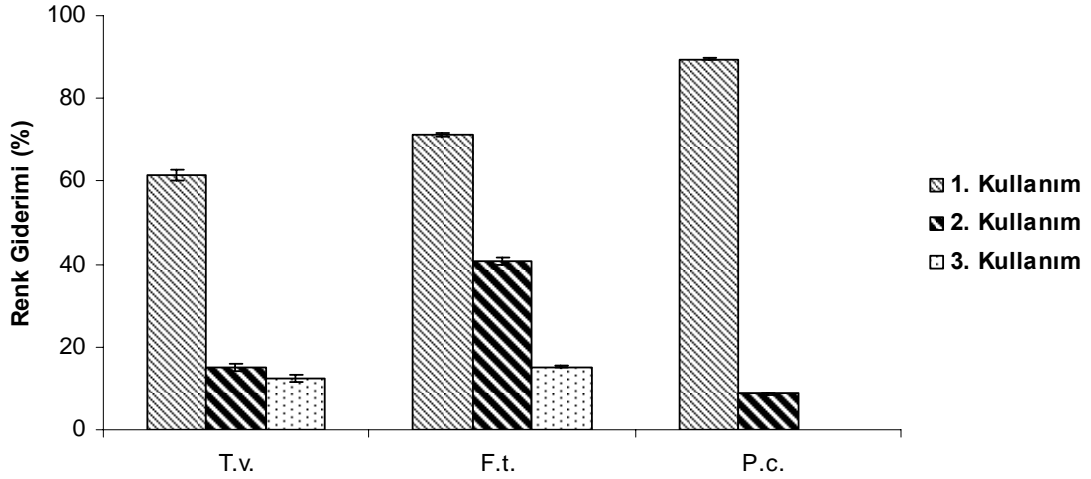


**Şekil 4.71.** Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 100 mg/L Reaktif Yeşil 19'un renginin giderimi

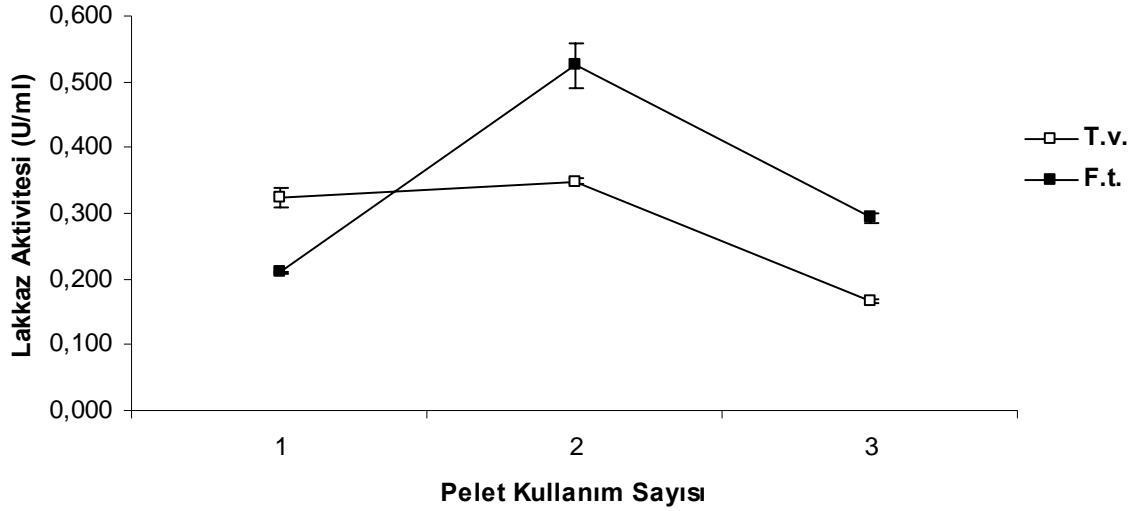


**Şekil 4.72.** Tekrarlı-kesikli süreçte Reaktif Yeşil 19'un (100 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

Diğer boyalarda olduğu gibi boya miktarı 200 mg/L'ye çıkarıldığında hem ilk kullanım hem de sonraki kullanımlarda renk giderimi azaldı ve bu süreçte renk giderimi verimi düştü. Boya miktarının artışı lakkaz aktivitesini indüklemesine rağmen renk giderimi verimini olumsuz yönde etkiledi (Şekil 4.73-4.74).

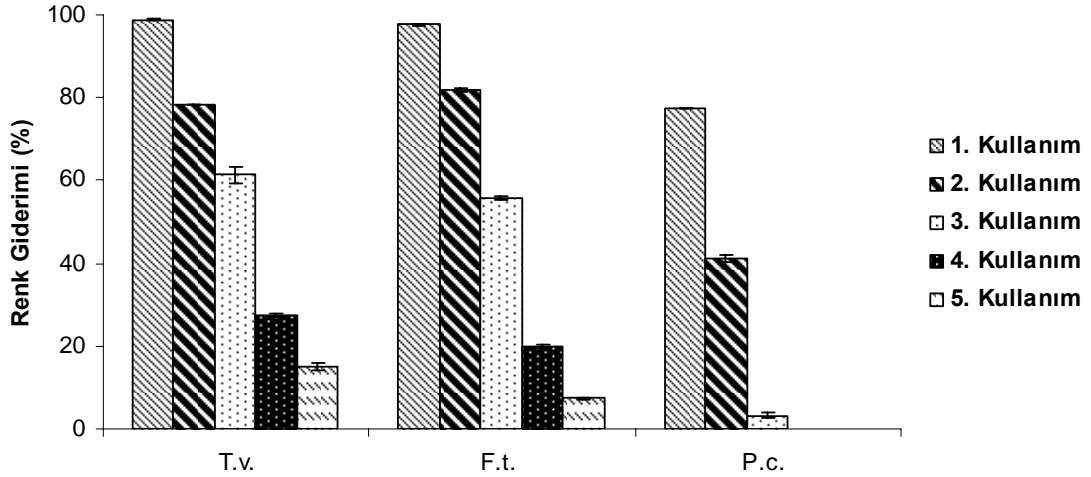


**Şekil 4.73.** Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 200 mg/L Reaktif Yeşil 19'un renginin giderimi

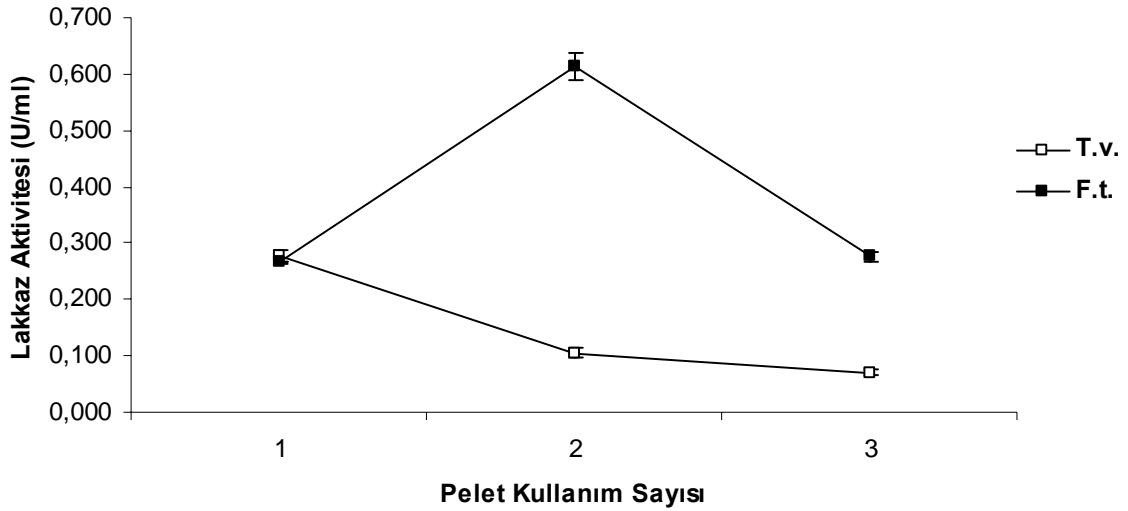


**Şekil 4.74.** Tekrarlı-kesikli süreçte Reaktif Yeşil 19'un (200 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

*T. versicolor* ve *F. trogii* peletleri, 100 mg/L A. Mavi 74 boyasının rengini tekrarlı-kesikli süreçte 3 kez % 50'nin üzerinde giderirken *P. chrysosporium* peletlerinin ilk kullanımında % 77.41±0.05 olan renk giderimi verimi, ikinci kez aynı peletlerin kullanımında % 41.20±0.92'ye düştü (Şekil 4.75). *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi peletlerin ikinci kullanımında artmıştır (Şekil 4.76).

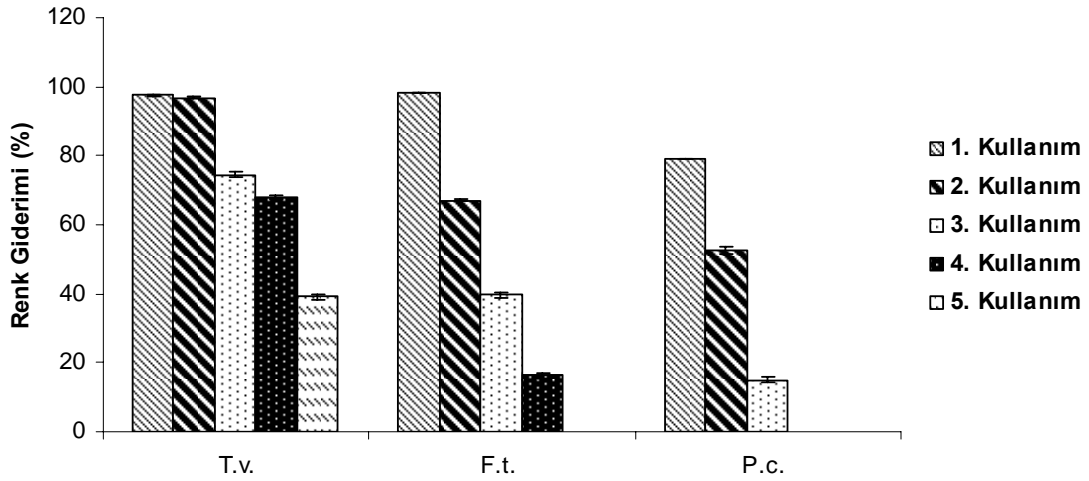


Şekil 4.75. Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 100 mg/L Asit Mavi 74'ün renginin giderimi

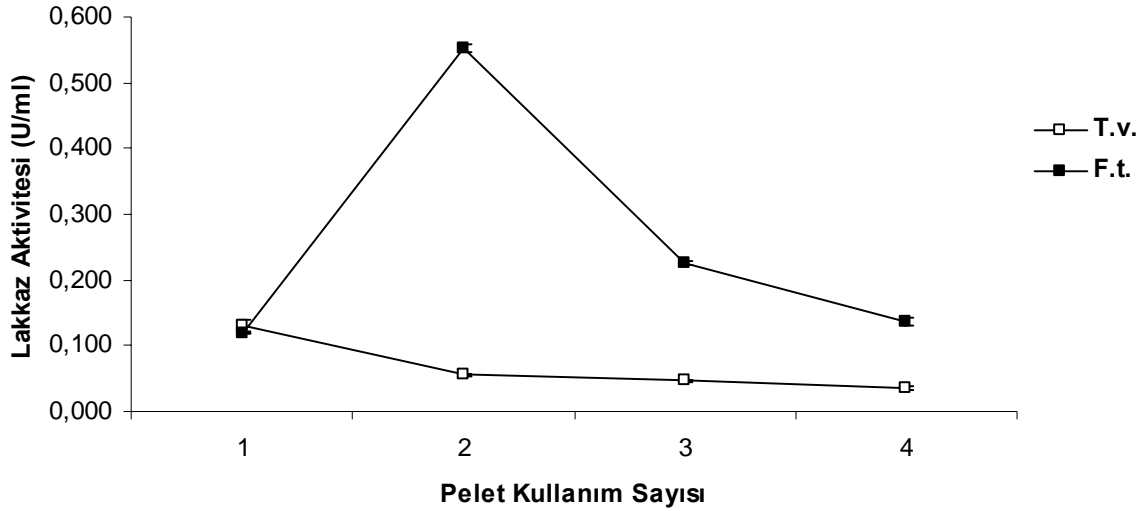


Şekil 4.76. Tekrarlı kesikli süreçte Asit Mavi 74'ün (100 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

Besiyerine eklenen A. Mavi 74'ün miktarı iki kat artırıldığında *T. versicolor* peletleri boyanın rengini 4 kez % 60'ın üzerinde, *F. trogii* ve *P. chrysosporium* peletleri de 2 kez % 50'nin üzerinde giderdi. *T. versicolor* peletlerinin kullanım sayısının hem de renk giderim veriminin diğer funguslardan daha yüksek olduğu tespit edildi. Bununla birlikte, *T. versicolor*'un lakkaz aktivitesi *F. trogii*'den daha düşüktür (Şekil 4.77-4.78).



**Şekil 4.77.** Tekrarlı kesikli süreçte farklı fungus peletlerinin 200 mg/L Asit Mavi 74'ün renginin giderimi



**Şekil 4.78.** Tekrarlı kesikli süreçte Asit Mavi 74'ün (200 mg/L) renk giderimi sırasında lakkaz aktivitesi değişimi. T.v.: *Trametes versicolor*, F.t.: *Funalia trogii*

Diazo ve monoklorotriazin yan gruplar taşıyan RK 141 ve RK 120 boya ları funguslarla muamele edildikten sonra boya ların renkleri ilk 24 saatte iyi giderilebildi. Fakat renk giderimi yüzdeleri diğ er boya lar dan daha düşük oldu. Ayrıca tekrarlı kesikli süreçte funguslar tarafından bu boya ların renklerinin giderim verimi düşüktür. Bunun nedenin daha önce de belirtildiği gibi boya ların kimyasal yapısından kaynaklandığı düşünölmektedir. Diğ er boya ların rengi tekrarlı kesikli süreçte ortama ek madde ilave edilmeden başarıyla giderildi. Ortama ek maddeler ilave edildiğinde *T. versicolor*, *F. trogii* ve *P. chrysosporium* peletlerinin renk giderim veriminin ve pelet kullanım sayısının bu durumdan nasıl etkilendiğini tespit etmek üzere bu aşamadan sonra 50

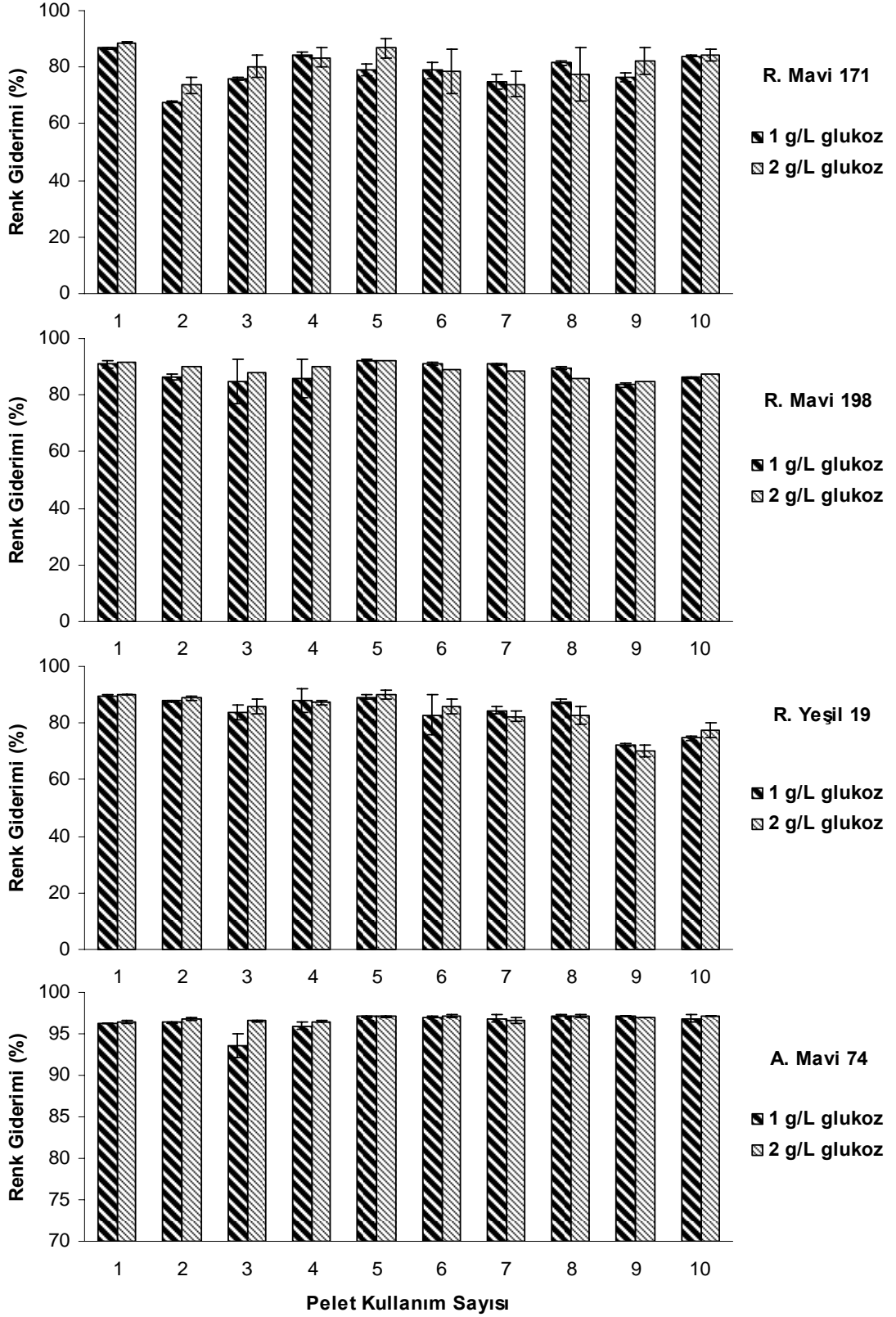
mg/L boya (sadece RM 171, RM 198, RY 19 ve A. Mavi 74 için) içeren ortamlara çeşitli ek maddeler ilave edilerek çalışmalar yürütüldü.

#### **4.3. Ek Maddelerin Tekrarlı Kesikli Süreçte Renk Giderimi Verimi ve Lakkaz Aktivitesine Etkisi**

Bölüm 2.4.2’de belirtildiği gibi beyaz çürükçül fungusların aromatik bileşikleri yıkımı kometabolik ve/veya ekstra-intraselüler enzimlerle ilişkili bir işlemdir ve ek karbon ve azot kaynakları verimi artırmaktadır. Çalışmada renk giderim işlemlerinde karbon ve enerji kaynakları ko-substrat olarak kullanılmış ve kullanılan karbon kaynaklarının renk giderimini nasıl etkilediği araştırıldı. Çalışmamızın bu kısmında Bölüm 3.10’da belirtildiği gibi ek maddeler içeren ortamlara fungus peletleri ilave edildi. Ek maddeler içermeyen ortamlarda fungus peletleri ile tekrarlı-kesikli renk giderimi işlemlerinin sonuçları Bölüm 4.2’de verilmiştir. Bu ortamlarda sadece distile su ve boya bulunmaktaydı. Bu ortamlara farklı karbon, enerji ve azot kaynakları ve ayrıca bakır ekleyerek bu maddelerin fungus peletlerinin renk giderim verimini, lakkaz aktivitesini ve pelet kullanım sayısını nasıl etkilediği araştırıldı. Kontrol grupları ve ortama ek madde ilave edilen ortamlardan elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldı. Ayrıca farklı konsantrasyonlarda ek madde ilave edilen ortamlardan elde edilen sonuçlar da kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

#### 4.3.1. Glukozun tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi

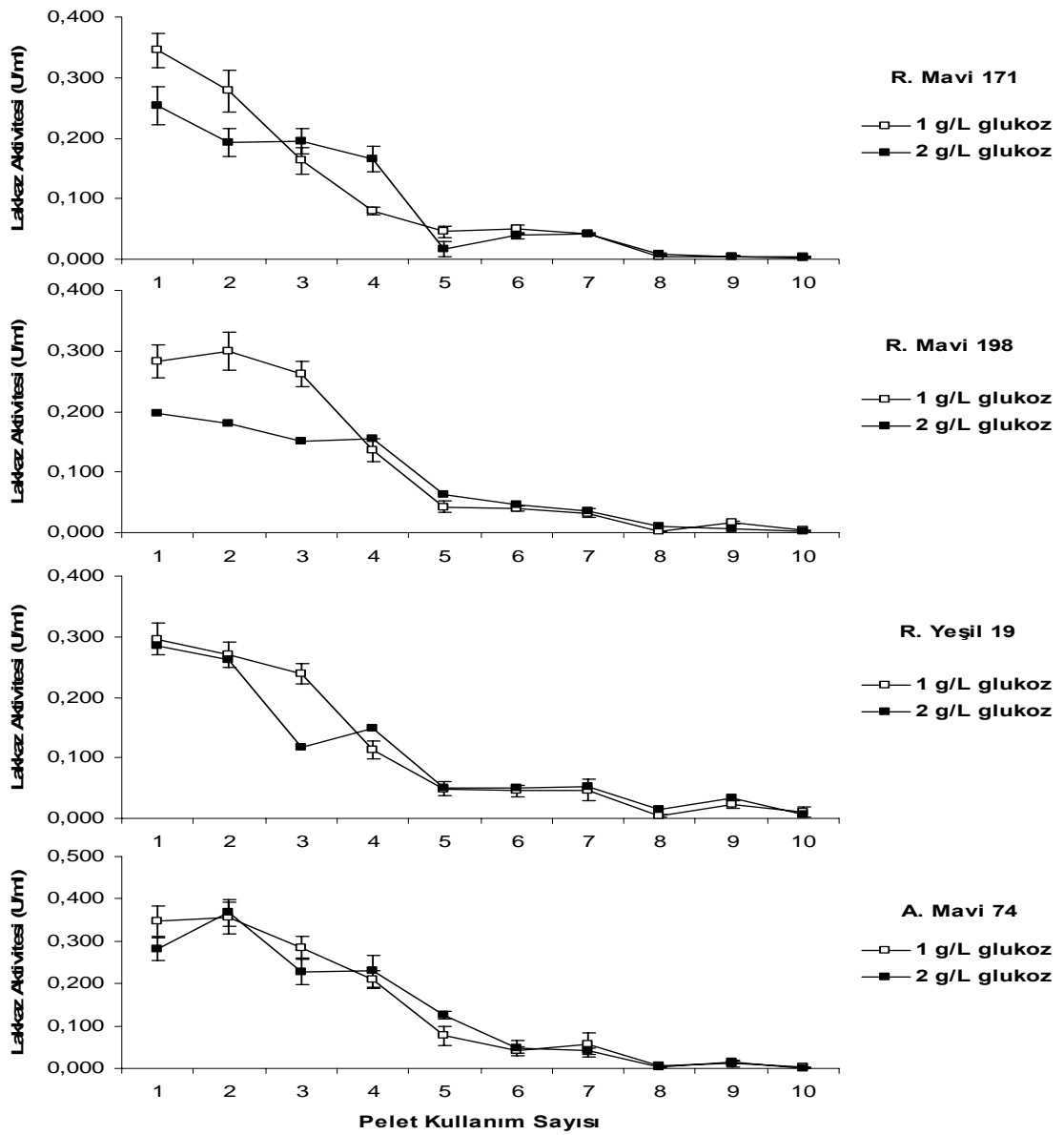
*T. versicolor* peletlerinin renk giderim verimi 1-2 g/L glukoz içerecek şekilde hazırlanan ortamlarda glukoz içermeyen kontrole göre etkili şekilde artırdı (Şekil 4.47, 4.49, 4.51, 4.53 ve 4.79). Ortama 1-2 g/L glukoz ilave edildiğinde RK 171'in renginin giderimi, kontrol grubuna göre peletlerin 2. kullanımı hariç istatistiksel olarak önemli düzeyde arttığı tespit edildi ( $p<0.05$ ) (Ek 7.1). RK 171'in renk giderimi yüzdesi, kontrol grubunda peletlerin 7. kullanımdan sonra hızla düşerken glukoz eklenen ortamlarda en düşük renk giderimi % 73'dür. Glukoz konsantrasyonu farklılığına bağlı (1 ve 2 g/L arasında) peletlerin 1., 2. ve 5. kullanımda 2 g/L glukoz renk gideriminde önemli düzeyde farklılığa sebep olurken peletlerin diğer kullanımlarında sonuçlar benzerdir ( $p<0.05$ ). 1 g/L glukoz ilavesi, RM 198'in renk giderim yüzdesinde istatistiksel olarak peletlerin sadece 5-10. kez kullanımında önemli düzeyde artışa neden oldu ( $p<0.05$ ) (Ek 7.2). Swamy ve Ramsay [41] boyalı ortama glukoz ilave ettiğinde ilk pelet kullanımında sadece % 35 oranında renk giderimi elde ederken uzun bir lag fazından sonra inkübasyonun ileri dönemlerinde renk giderim yüzdelерinin hızla arttığını rapor etmiştir. Benzer olarak Cing ve Yesilada [133] ortama 2 g/L glukoz eklenmesinin renk giderim verimini artırdığını bildirmiştir. Glukoz konsantrasyonunun iki katına çıkarılması, peletlerin 2. kullanımdan sonra RM 198'in renginin gideriminde önemli düzeyde farklılığa neden oldu ( $p<0.05$ ). RY 19 boyasının tekrarlı süreçte renginin gideriminde ortama 1g/L glukoz ilave edildiğinde *T. versicolor* peletlerin 1. ve 10. kez kullanımda renk giderimi sırasıyla %  $89.77\pm 0.11$  ve %  $74.61\pm 0.98$  iken glukoz miktarı 2 g/L olduğunda, %  $89.99\pm 0.19$  ve %  $77.58\pm 2.62$ 'dir. Kültüre glukoz ilavesi, RY 19'un ve A. Mavi 74'ün renk giderimi yüzdelerini istatistiksel olarak önemli düzeyde artırdı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.3 ve 7.4). Glukoz miktarının artışı, RY 19 için peletlerin 2. kez kullanımda, A. Mavi 74 için de peletlerin 2-4. kez kullanımlarında renk gideriminde önemli düzeyde artışa neden oldu ( $p<0.05$ ).



**Şekil 4.79.** Glukozun *T. versicolor* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

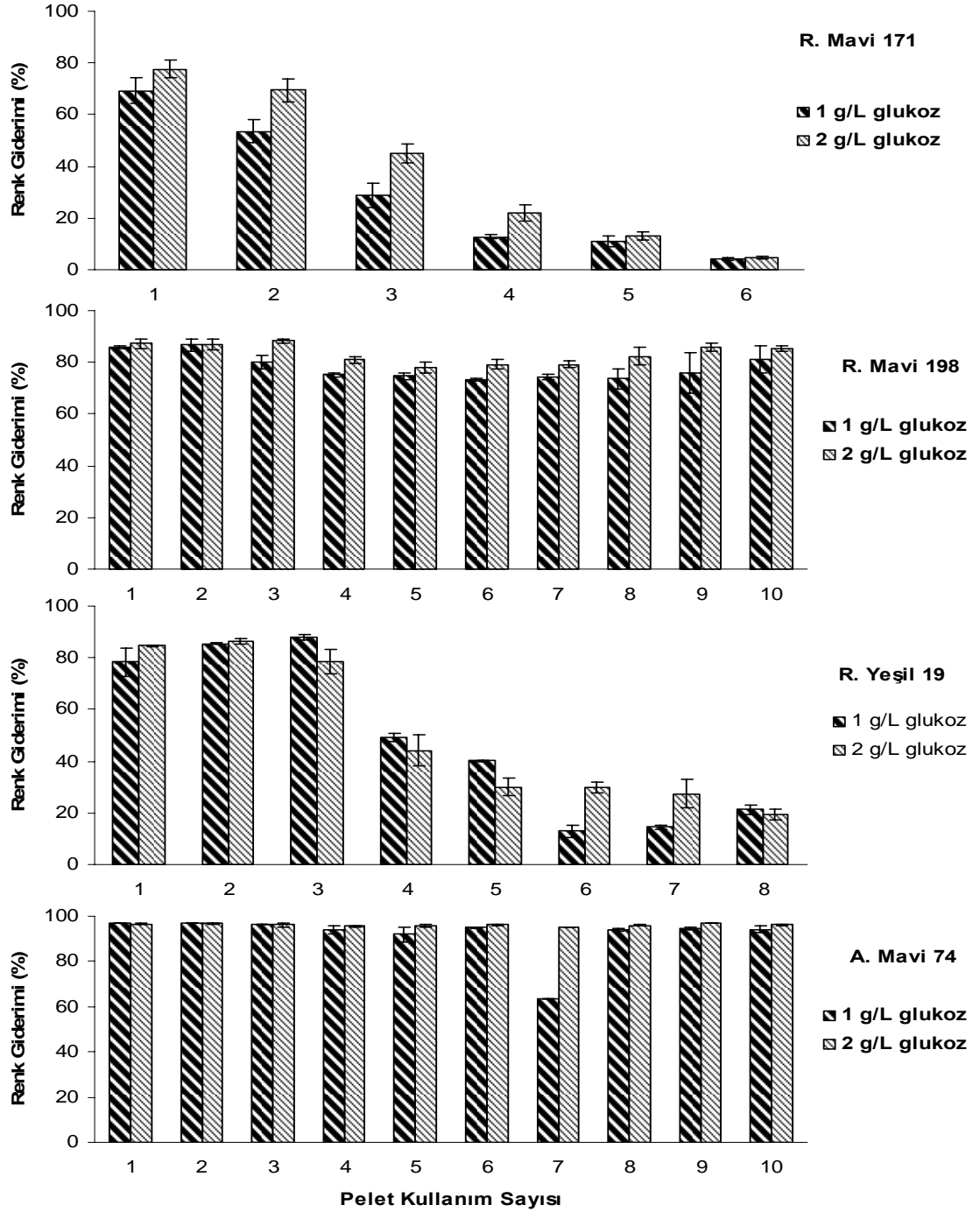


*T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesi, glukoz içeren tüm boyalı ortamlarda peletlerin ilk kullanımında kontrol grubuna (Şekil 4.48, 4.50, 4.52, 4.54 ve 4.80) göre düşük olurken kullanım sürecinde glukoz içeren ortamlarda lakkaz aktivitesi düşüşleri kontrol grubundan daha yavaş oldu. Yüksek renk giderimi verimi elde edilmesine rağmen ortamdaki lakkaz aktivitesi düşüktür. Boyalı ortamlara ek karbon kaynağının ilave edilmesiyle lakkaz aktivitesinin indüklenmediği tespit edildi. Benzer sonuçlar Blanquez vd. [138] tarafından rapor edilmiştir. Lakkaz aktivitesi ile renk giderimi arasında doğrudan bir ilişki bulunamazken başlangıçta renk giderimi için düşük enzim aktivitesinin gerekli olabileceği ileri sürülmüştür.



Şekil 4.80. Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında glukozun *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

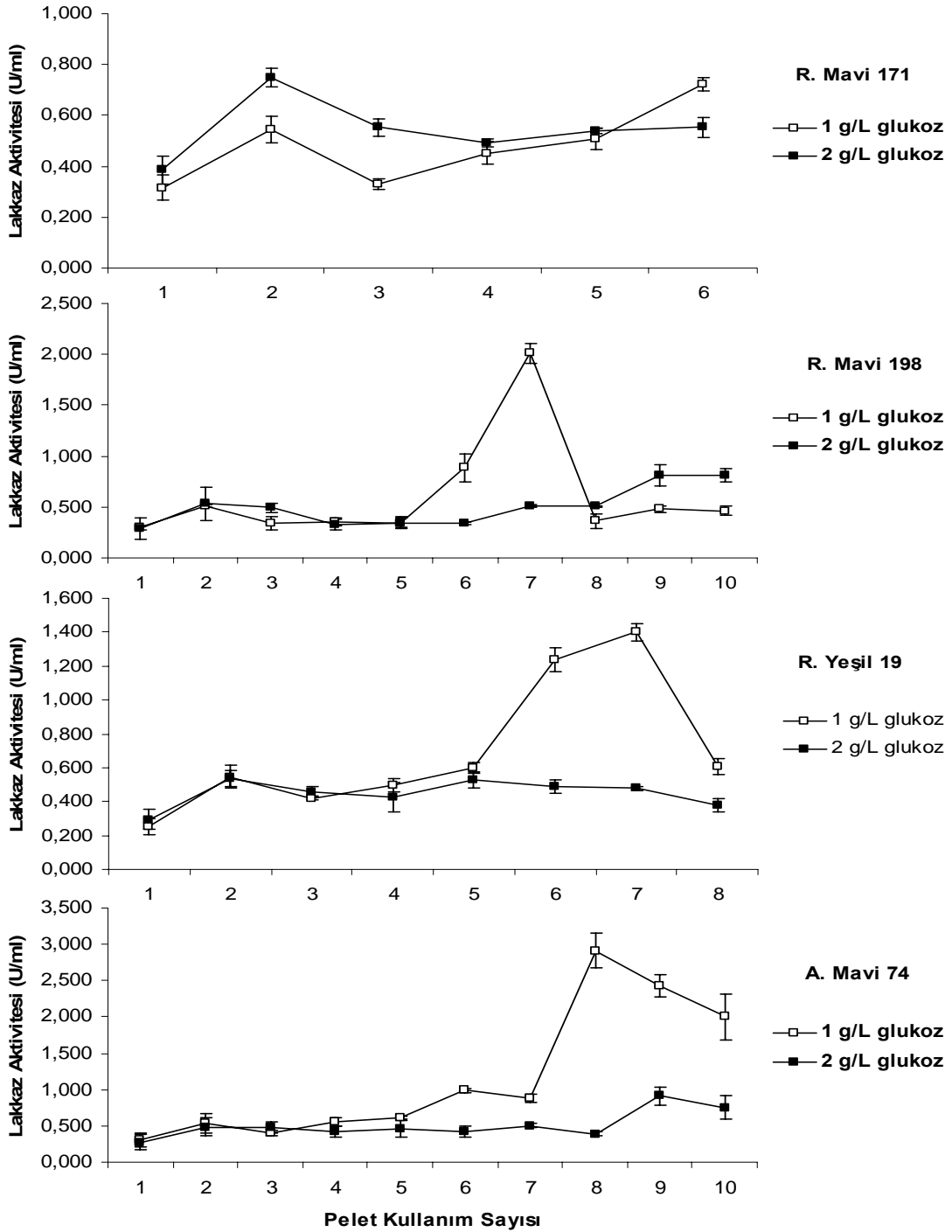
*F. trogii* peletleri ile glukoz eklenmiş ortamlarda RM 171'in renginin giderim değerleri kontrol grubundan daha düşüktür (Şekil 4.47, 4.49, 4.51, 4.53 ve 4.81). Peletlerin ikinci kullanımdan sonra renk giderimi verimi hızla düştü. Benzer sonuçlar Chen vd. [183] tarafından rapor edilmiştir. Fakat glukozun, RM 198 ve A. Mavi 74'ün renk giderim yüzdelerini kontrole göre önemli düzeyde arttırdığı saptandı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.6 ve 7.8). Fungus peletleri, bu boyaların rengini 10 kez kullanım sırasında kararlı şekilde giderebildi. Yüksek miktarda glukoz kullanılması RM 198'in renginin gideriminde peletlerin 3. kez kullanımından sonra önemli düzeyde etkili olurken, A. Mavi 74'de 5. kez kullanımdan sonra önemli düzeyde etkili olabildi ( $p<0.05$ ). Benzer sonuçlar Kapdan vd. [127] tarafından glukoz eklenmesinin Everzol Turkuaz Mavi G boyasının renginin gideriminde rapor edilmiştir. *F. trogii* peletleri, RY 19'un rengini 3 kullanımda en düşük % 78 oranında giderirken kullanım sayısı arttıkça renk giderimi verimi hızla düştü. Sonuçlarımız Yeşilada vd. [132] ile paralellik göstermektedir. Yesilada vd. tekrarlı-kesikli süreçte peletlerin 7. kullanımında sonra renk gideriminin hızla düştüğünü belirtmiştir. Khehra vd. [184] bakterilerle azo boyalarının renginin gideriminde glukoz içermeyen ortamlarda sadece % 20 oranında renk giderimi elde ederken ortama 4.2 mM glukoz ilave ettiğinde rengin tamamının 24 saat içinde giderildiğini rapor etmiştir. Fakat glukoz konsantrasyonunun artırılması (7 mM) renk gideriminde etkili olmamıştır. Glukoz içeren ortamlarda renk gideriminin yüksek olmasına rağmen lakkaz aktivitesinin karbon kaynağı olarak suda çözünen selüloz ve hemiselüloz kullanılan ve glukozun sınırlı tutulduğu ortamlarda daha yüksek olduğu bildirilmiştir [185].



**Şekil 4.81.** Glukozun *F. trogii* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

*F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi, genelde 1 g/L glukoz içeren boyalı ortamlarda daha yüksek oldu (R. Mavi 171 hariç). 1 g/L glukoz ve RM 171, RM 198, RY 19 ve A. Mavi 74 içeren ortamlardaki en yüksek lakkaz aktiviteleri

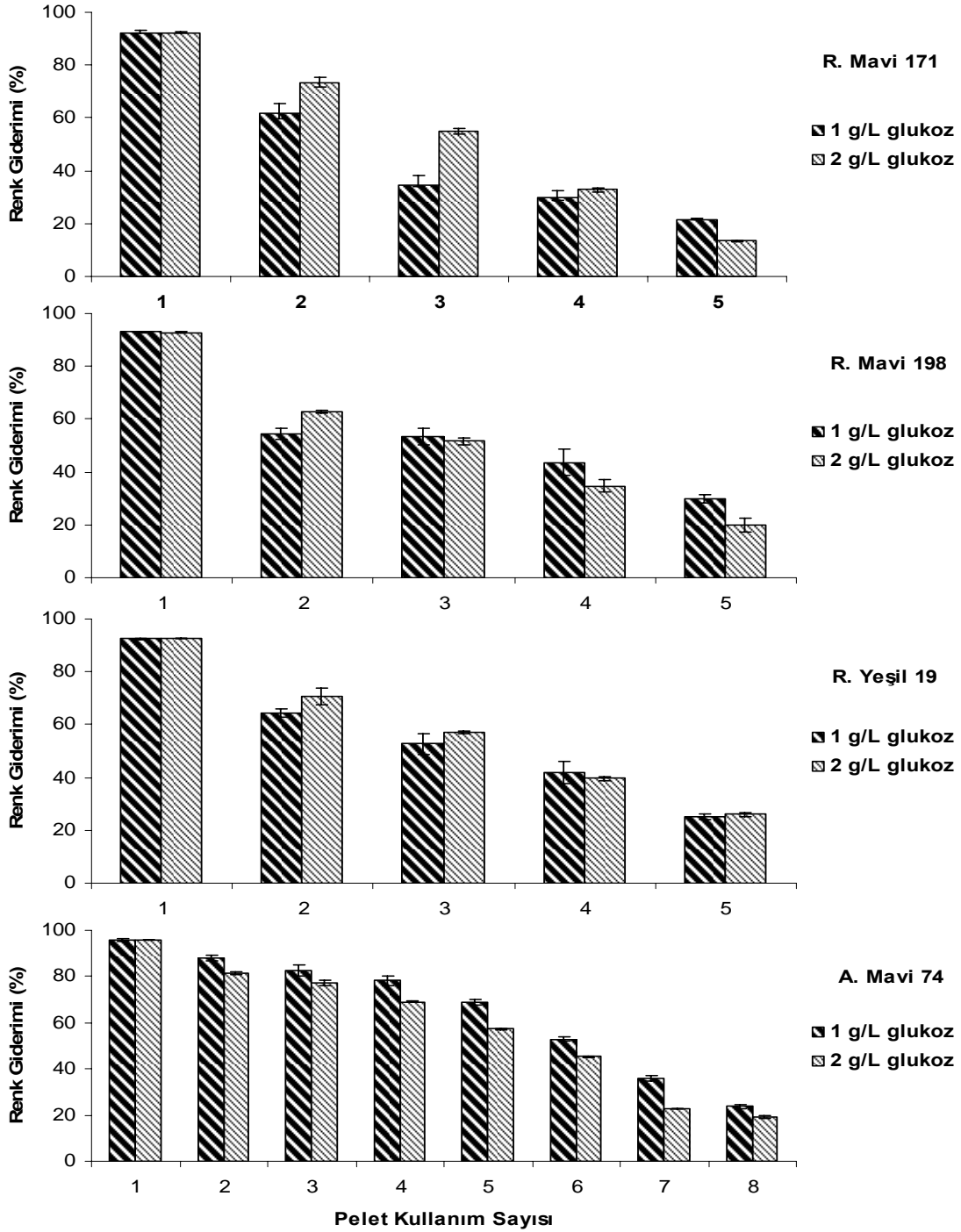
sırasıyla  $0.72 \pm 0.025$ ,  $2.01 \pm 0.097$ ,  $1.40 \pm 0.05$  ve  $2.92 \pm 0.24$  U/ml'dir (Şekil 4.82). Prasad vd. [185] glukozca zengin ortamlarda lakkaz sentezinin inhibe edildiğini rapor etmiştir.



**Şekil 4.82.** Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında glukozun *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi. Çalışma hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

*P. chrysosporium* peletlerinin glukoz içeren boyalı ortamda tekrarlı kullanım sayısı sadece A. Mavi 74'ün renginin giderimi çalışmaları sırasında etkili bir şekilde arttı. Ortama glukoz ilave edilmesi fungusun A. Mavi 74'ün rengini giderimini de

önemli düzeyde artırdı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.12). Bu boyanın renginin giderimi için ortama 1 g/L glukoz ilavesi yeterli olmuştur (Şekil 4.83). Benzer sonuçlar Shahvali vd. [125] tarafından rapor edilmiştir.



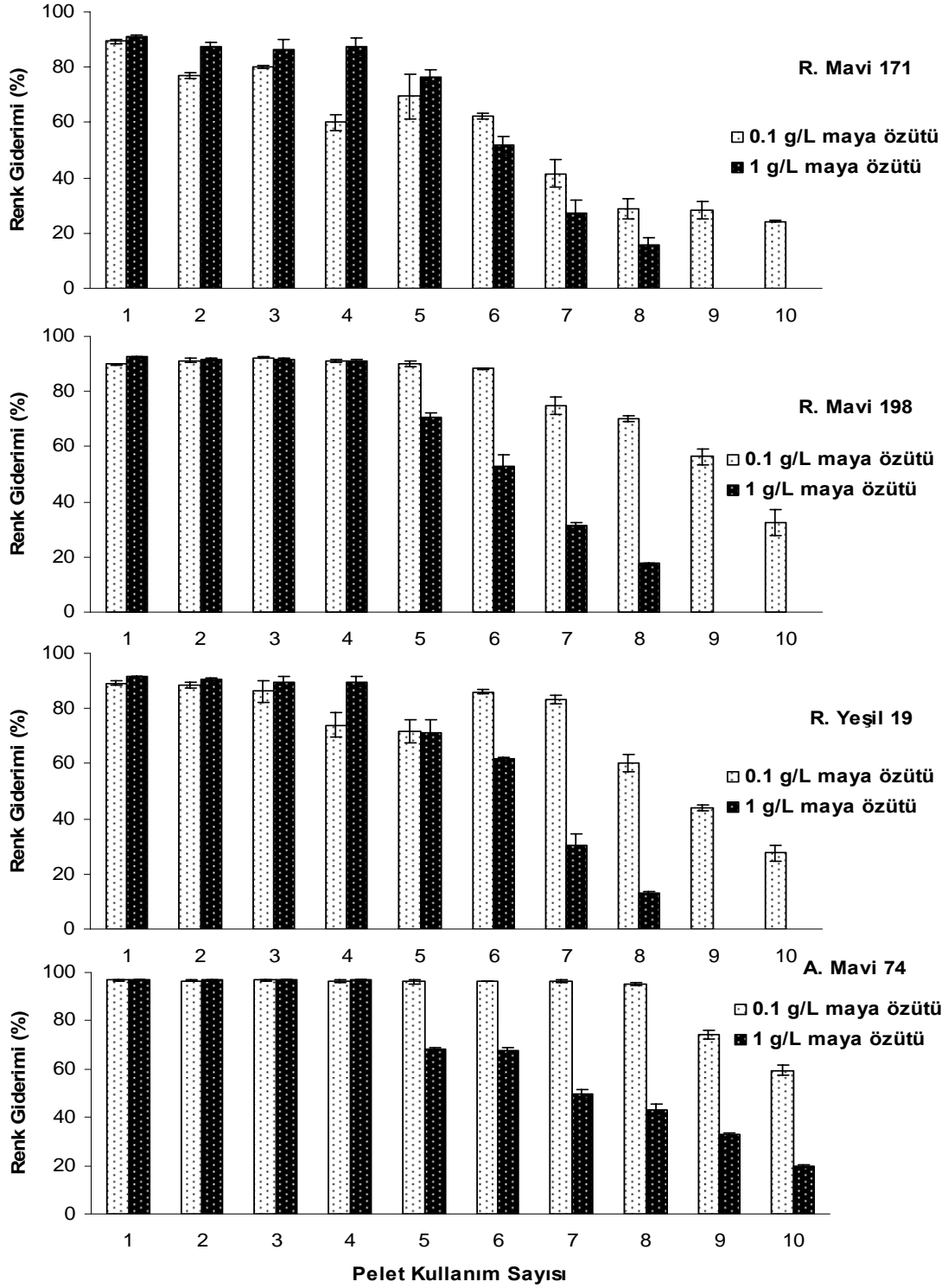
**Şekil 4.83.** Glukozun *P. chrysosporium* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalışma hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

Çalışmamız sırasında bazı boyaların renginin gideriminde ortamda sadece glukoz bulunması fungusların renk giderim verimini ve peletlerin tekrarlı kullanım

sayılarını artırdı. Boyalı ortamlarda fungus metabolizması tarafından primer karbon kaynağı olarak kullanıldığı belirtilen glukozun, renk giderimi sırasında nasıl etkili/etkisiz olduğu tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak glukozun, peroksidaz aktivitesi için gerekli olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin sentezini gerçekleştiren glukoz oksidazın substratı olarak rol oynadığı bilinmektedir [153]. Glukozun peletlerin kararlılığını artırıcı etkisi uygulamanın ekonomikliğı açısından önemli olacaktır.

#### 4.3.2. Maya özütünün tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi

RM 171 ve RY 19'in renginin gideriminde, 0.1-1 g/L maya özütü (son konsantrasyon) içeren ortamlardaki *T. versicolor* peletlerinin kullanım sayısının kontrol grubuna göre arttığı tespit edildi (Şekil 4.84). RM 198 ve A. Mavi 74'ün renginin gideriminde pelet kullanım sayısı aynı olmasına rağmen toplam renk giderimi yüzdelerinde artış gözlemlendi (1 g/L maya özütü hariç). Ortama 1 g/L maya özütü ilave edildiğinde RK 171'in renk giderimi yüzdesi, kontrol grubuna göre peletlerin 6-7. kullanımları hariç istatistiksel olarak önemli düzeyde arttı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.1). Maya özütü konsantrasyonundaki artışın sadece peletlerin 1-4. kullanımlarında renk gideriminde önemli düzeyde farklılığa ( $p<0.05$ ) sebep olurken peletlerin diğer kullanımlarında etkili olamadığı tespit edildi. 0.1 g/L maya özütü ilavesi RM 198'in renk giderim yüzdesinde istatistiksel olarak önemli düzeyde artışa neden olurken ( $p<0.05$ ) (Ek 7.2) maya özütü miktarının on kat artırılması sonucunda peletlerin 5. kez kullanımından sonra renk giderimi hızla düştü. RY 19'un renginin gideriminde 1 g/L maya özütü ilavesi kontrol grubuna göre renk giderim verimini önemli düzeyde artırırken ( $p<0.05$ ) peletlerin tekrarlı kullanım sayısının artmasında etkili olmadı. Benzer sonuçlar Chen vd. [183] tarafından bakterilerle Kırmızı RDN gideriminde elde edildiği rapor edilmiştir. Düşük miktarda maya özütü kullanıldığında 10 kez aynı peletlerin kullanımı sonunca RY 19'un rengi ortalama % 71 oranında giderildi. Kültüre maya özütü ilave edilmesi, A. Mavi 74'ün renginin giderimini kontrole göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artırdı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.4). Maya özütü miktarı on kat artırıldığında, A. Mavi 74 için sadece peletlerin ilk kez kullanımda renk gideriminde önemli düzeyde artış oldu ( $p<0.05$ ). Khehraa vd. [184] bakterilerle azo boyalarının yıkımında denenen organik kaynakların içinde en iyi sonuçların maya özütü ilave edilen ortamlarda olduğunu bildirmiştir. Maya özütünün bakterilerle azo bağlarının yıkımında elektron vericisi olan NADH'in üretimde rol oynadığı belirtilmiştir [186].

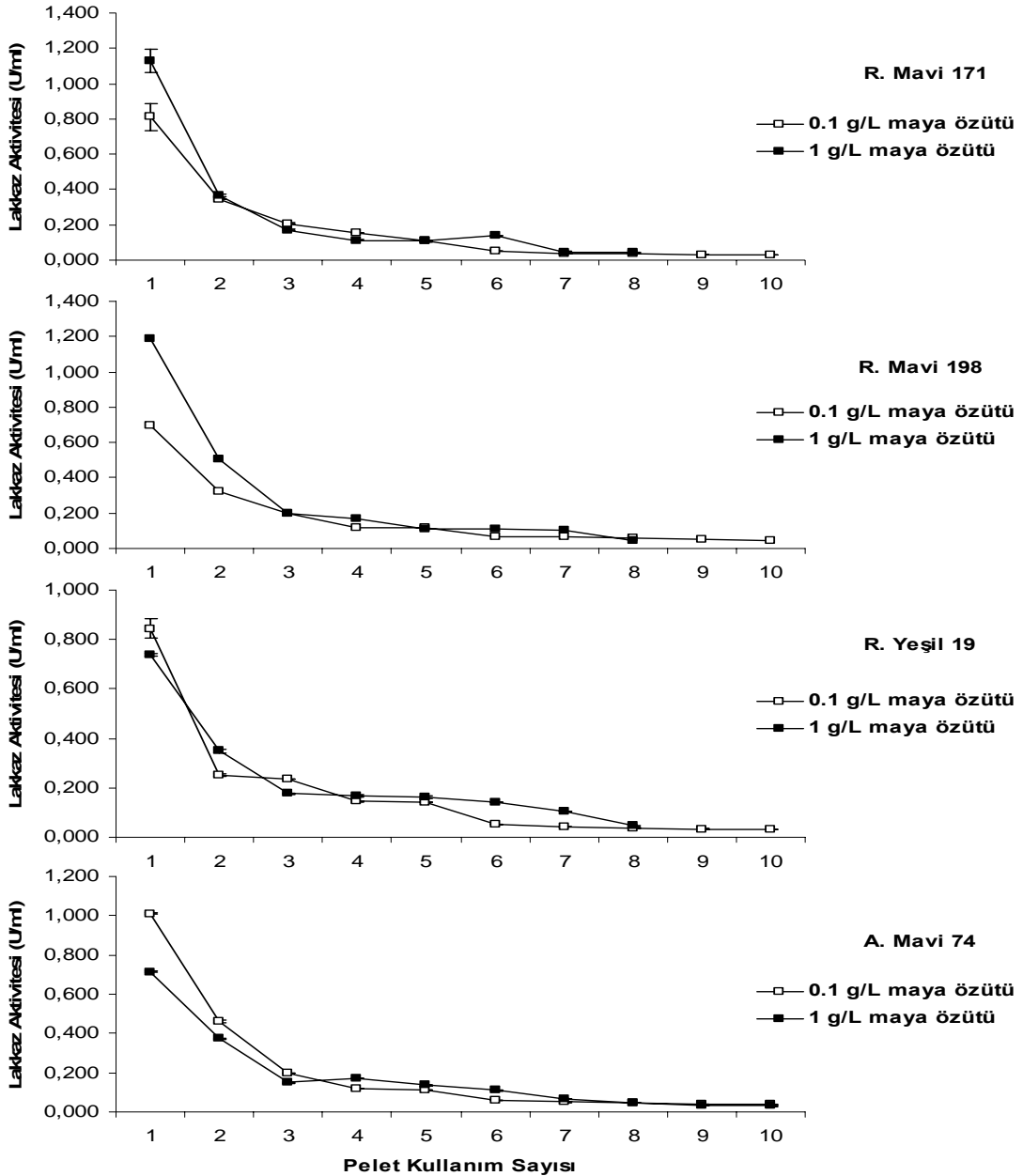


**Şekil 4.84.** Maya özütünün *T. versicolor* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçle renk giderimi verimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

1 g/L maya özütü ve RM 171 ve RM 198 içeren ortamlardaki *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesinin (Şekil 4.85), inkübasyonun ilk kullanımda kontrol grubuna (Şekil 4.48 ve 4.50) göre yaklaşık iki kat arttığı tespit edildi. Benzer sonuçlar

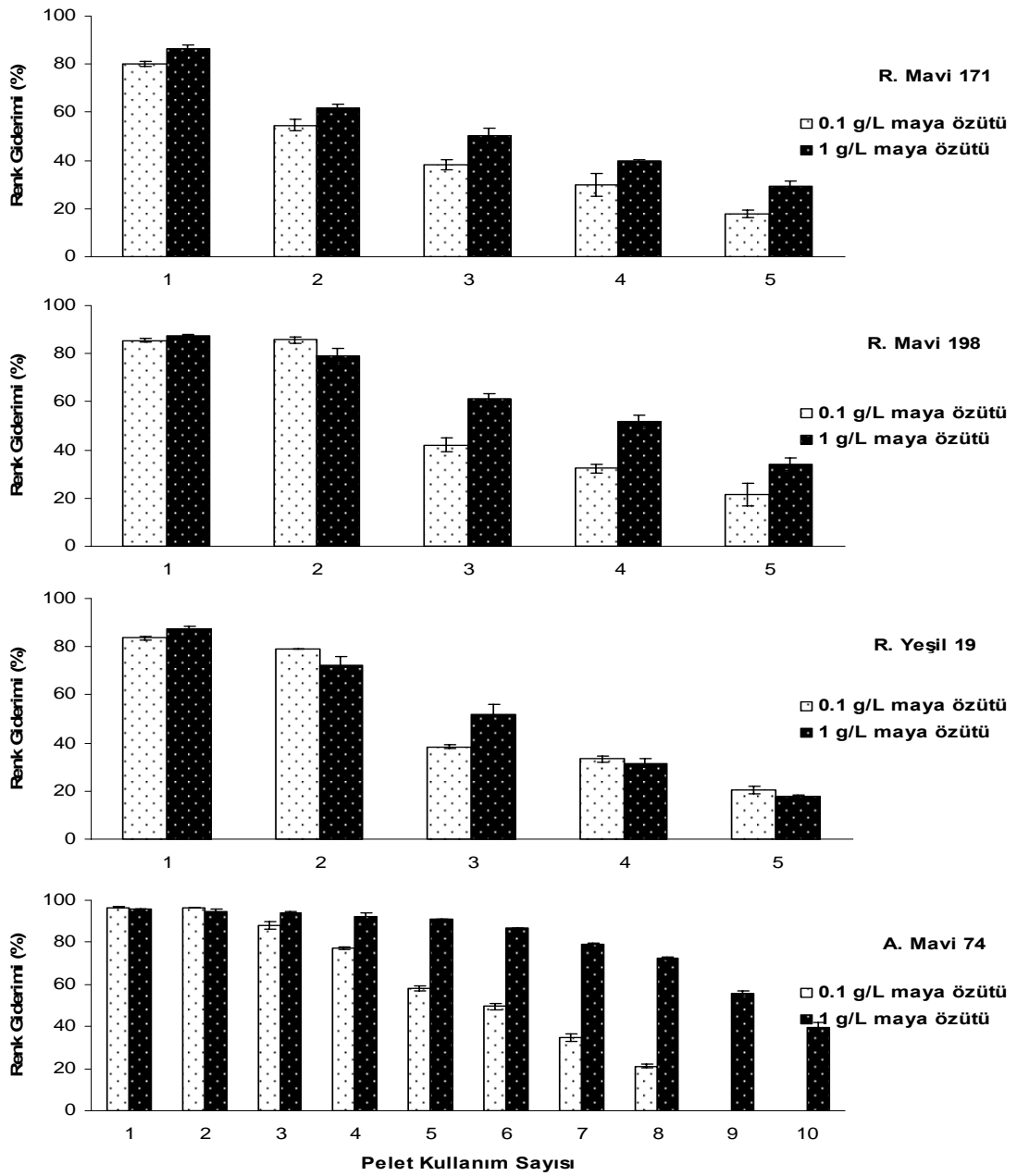


Prasad vd. [185] tarafından ortama maya özütü ilave edildiğinde lakkaz aktivitesinin dört kat arttığı şeklinde rapor edildi. Fakat RY 19 ve A. Mavi 74'ün renginin giderildiği kültürlerde düşük miktarda maya özütü kullanıldığında peletlerin ilk kullanımında lakkaz aktiviteleri en yüksektir (Şekil 4.52 ve 4.54). Tüm boyalı ortamlarda, maya özütü lakkaz enziminin aktivitesini ilk 24 saatte indüklemesine rağmen inkübasyonun ileriki dönemlerinde enzim aktiviteleri hızla düştü (Şekil 4.85).



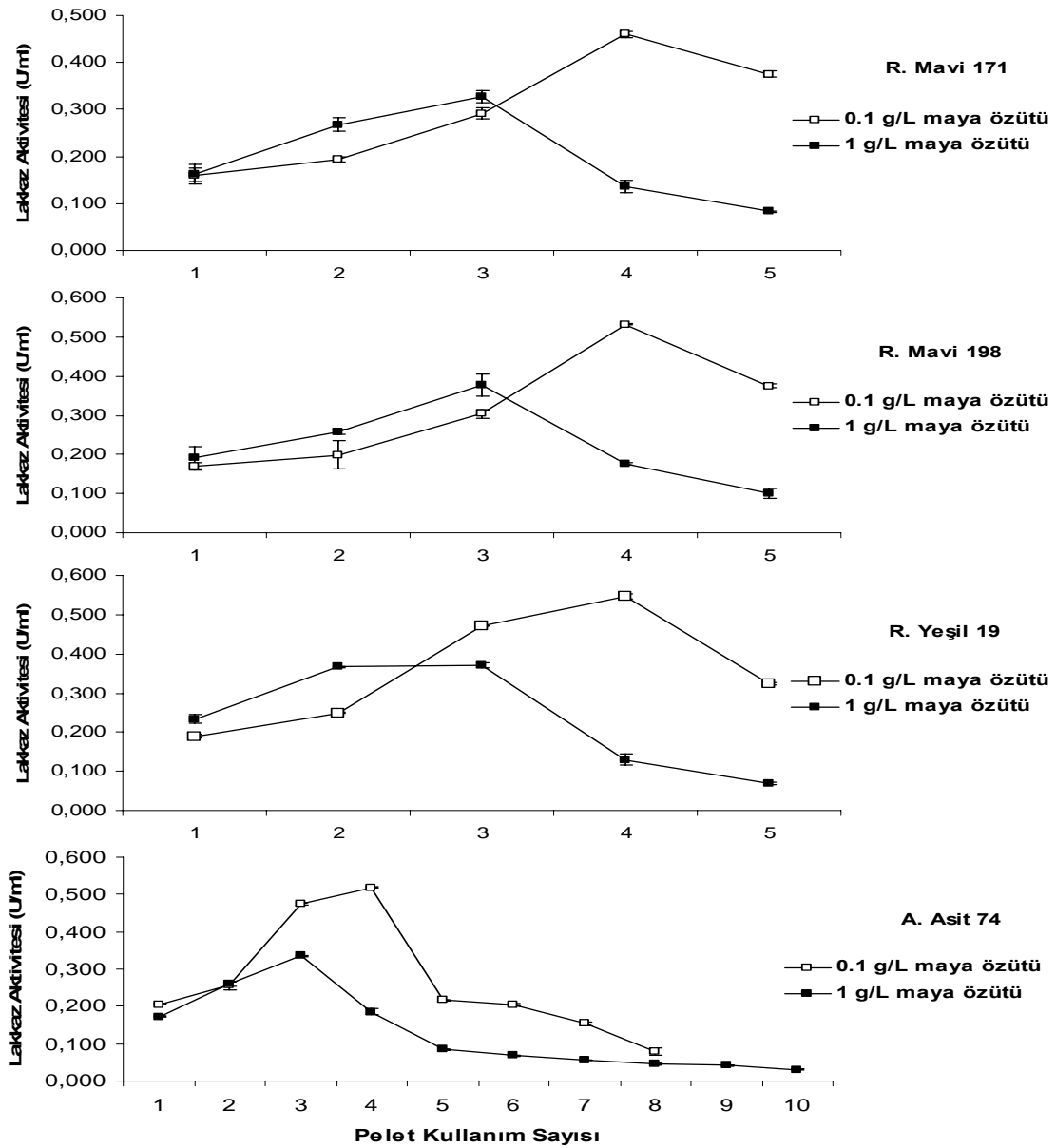
**Şekil 4.85.** Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında maya özütünün *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

*F. trogii* peletleri ile RM 171, RM 198 ve RY 19'un renginin gideriminde ortamda maya özütü olmasının kontrol grubuna göre renk giderimi açısından etkisi gözlenmedi (Şekil 4.86). Peletlerin ikinci kullanımdan sonra renk giderimi verimi hızla düştü. Fakat 1 g/L maya özütü, A. Mavi 74'ün renk giderim yüzdesini önemli düzeyde artırdı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.8) (Şekil 4.53 ve 4.86). Peletlerin 10 kez kullanımı sonucunda toplam renk giderimi % 80'dir. Yüksek miktarda maya özütü kullanılması, A. Mavi 74'ün renginin gideriminde peletlerin 2. kez kullanımdan sonra önemli düzeyde etkili olabildi. ( $p<0.05$ ).



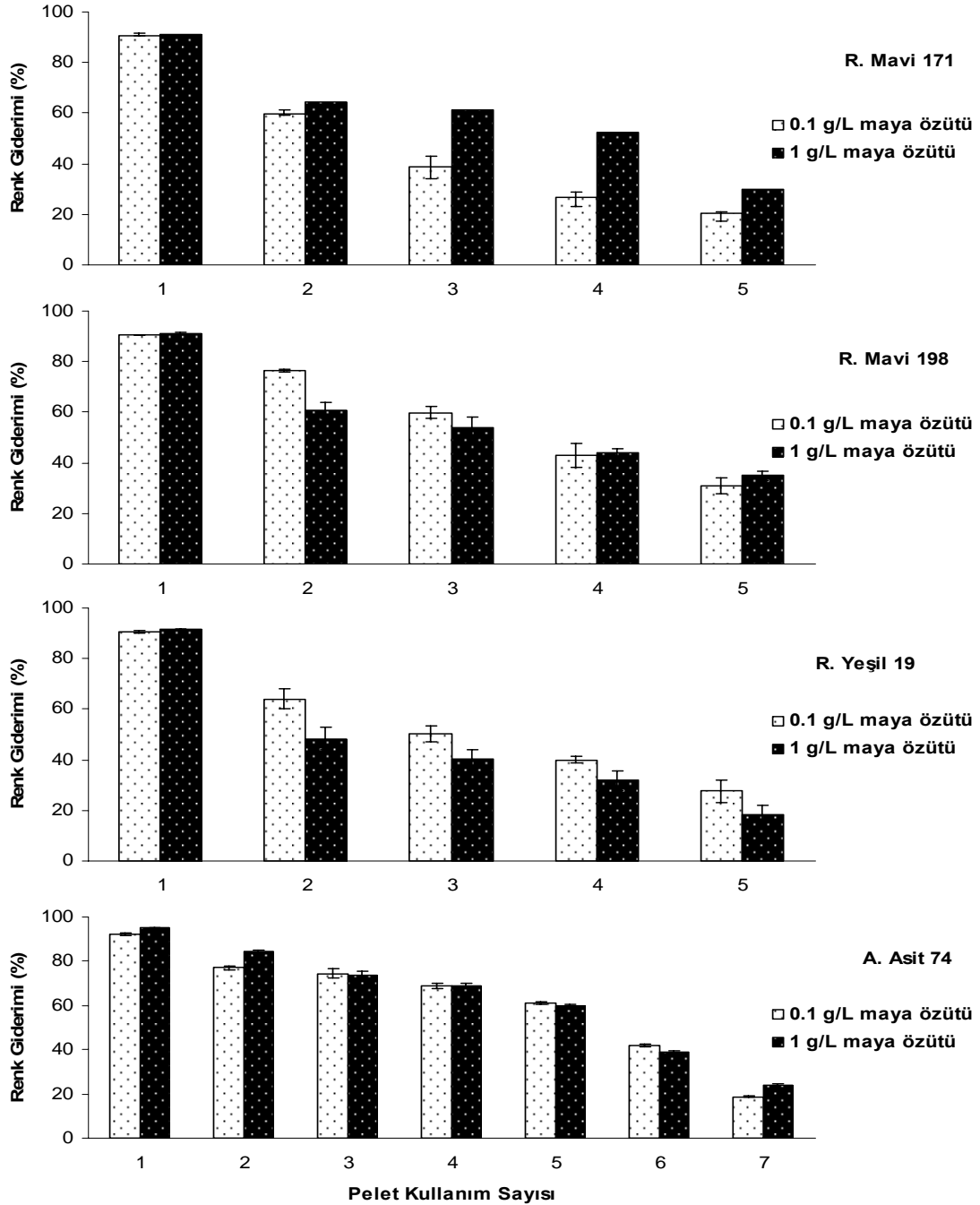
**Şekil 4.86.** Maya özütünün *F. trogii* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

*F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi, 1 g/L maya özütü içeren RM 171 ve RM 198 ortamlarında ilk 3 kullanımda 0.1 g/L maya özütü içeren ortamlara göre daha yüksek olurken daha sonra hızla düştü. Fakat düşük miktarda maya özütü ilave edildiğinde inkübasyonun ilk günlerinde düşük olan lakkaz aktivitesi, peletlerin 4. kullanımında en yüksek değere ulaştı (RY 19 ve A. Mavi 74 dahil) (Şekil 4.87). Benzer sonuçlar Colao vd. [187] tarafından azotça sınırlı ortamlarda rapor edilmiştir. Boya yıkımı hem azotça zengin hem de sınırlı ortamlarda inkübasyonun ilk günlerinde olmuştur [128].



Şekil 4.87. Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında maya özütünün *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

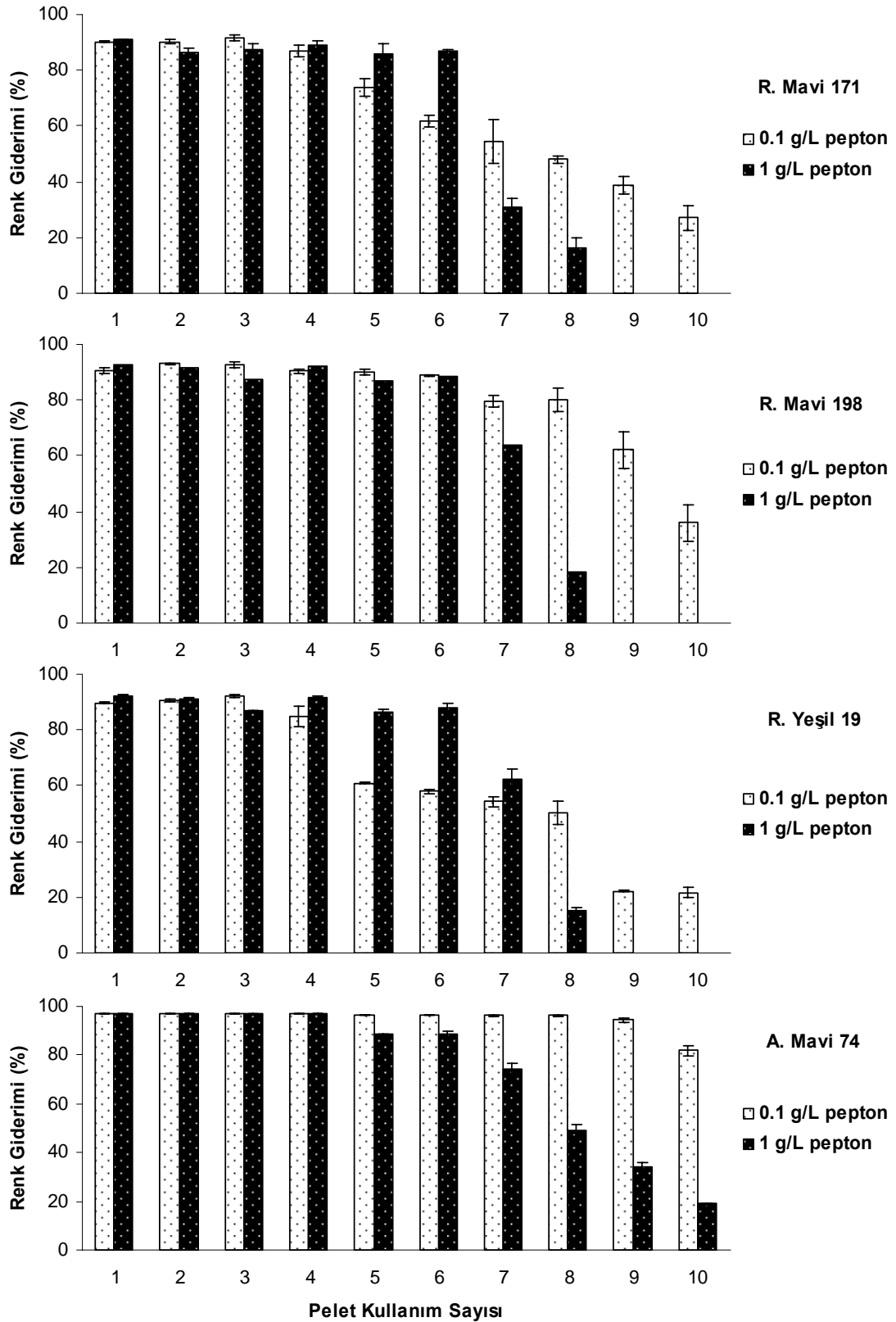
Maya özütü eklenmiş ortamlarda, *P. chrysosporium* peletleri ile renk giderim çalışmaları elde edilen sonuçlar pelet kullanım sayısının sadece A. Mavi 74'ün renginin gideriminde arttığını göstermektedir. Ayrıca maya özütü A. Mavi 74'un renk giderimi yüzdelere de önemli düzeyde artırdı ( $p < 0.05$ ) (Ek 71.12). Bununla birlikte, ortama özüt eklenmesi 5. kullanımda kontrole göre daha yüksek renk giderimi elde edilmesini sağlamıştır (Şekil 4.88). Revankar ve Lee [188] Amaranth boyasının renginin en iyi nişasta ve maya özütü içeren ortamlarda giderildiğini bildirmiştir.



**Şekil 4.88.** Maya özütünün *P. chrysosporium* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

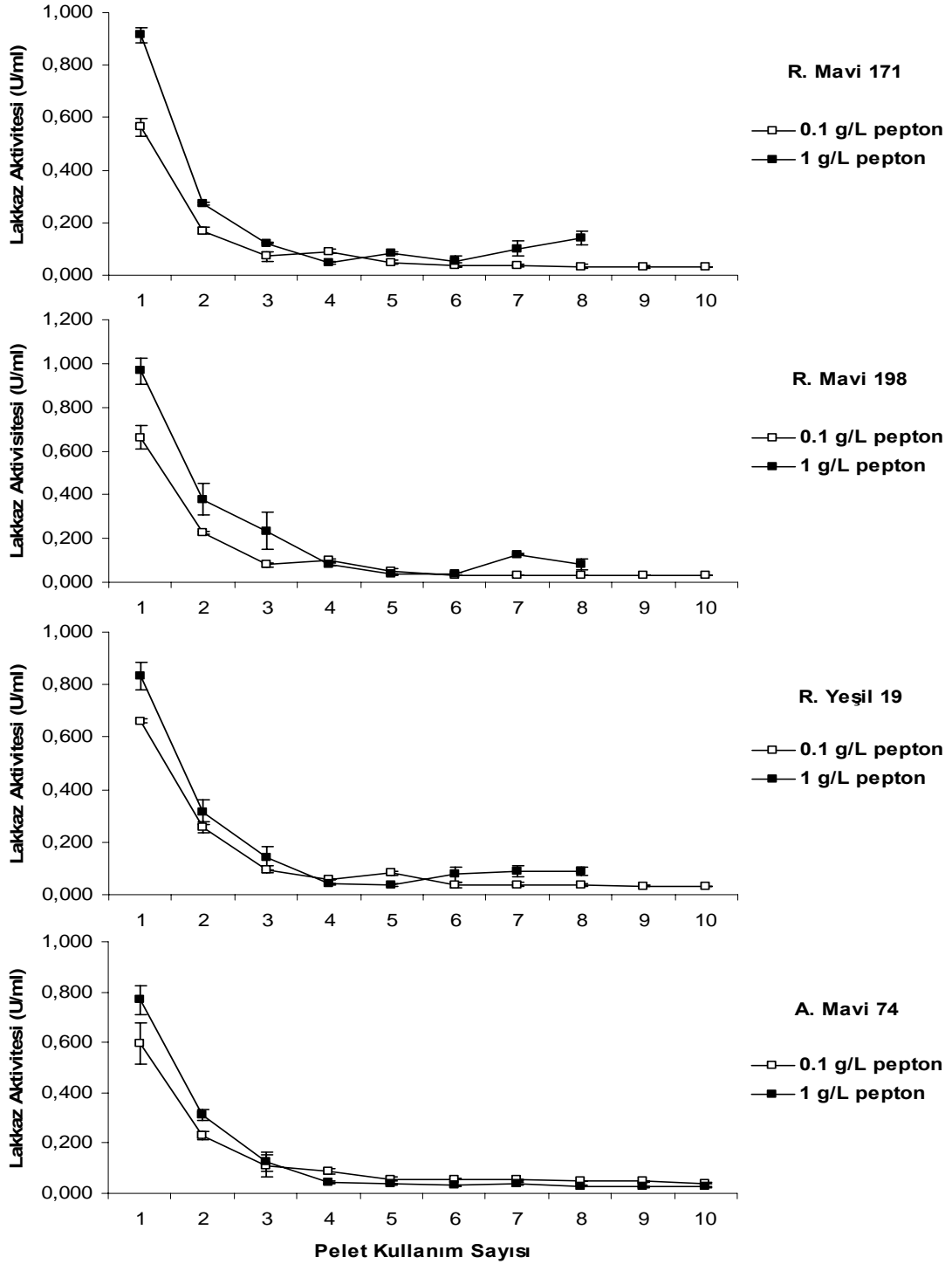
#### 4.3.3. Peptonun tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi

Azot kaynağı olarak ortama 0.1 g/L pepton eklenmesi *T. versicolor* peletlerinin renk giderimini, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde artırdı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.1–4). RM 198 ve A. Mavi 74'ün renginin gideriminde peptonlu ortamlarla peptonsuz ortamlarda pelet kullanım sayısı aynı olmasına rağmen kontrol grubunda 10 günlük renk giderimi verimi sırasıyla % 61 ve % 59 iken 0.1 g/l pepton içeren ortamda % 79 ve % 95'e yükseldi (Şekil 4.89). Park vd. [119]en iyi renk gideriminin pepton ve fruktoz içeren ortamlarda olduğunu belirtmiştir. Kültür ortamlarına yüksek konsantrasyonda pepton ilavesi RM 171 kültürlerinde peletlerin sadece 1. 5. ve 6. kez ve RY 19 kültürlerinde 1., 4-7. kez kullanımlarında renk gideriminde önemli düzeyde farklılığa neden oldu. ( $p<0.05$ ). Fakat RM 171 ve RY 19'un renk giderim yüzdeleri pepton miktarı artırıldığında peletlerin 6 kez kullanımda yüksek renk giderimi verimi alınmasına sebep olurken peletlerin 6. kez kullanımdan sonra renk giderimi hızla düştü. Azot sınırlı ortamlarda zengin ortamlara göre daha uzun süreli ve kararlı yüksek renk giderimi verimi elde edildi. Shahvali vd. [125] azotun renk giderimi için gerekli olan substratların hızlı tüketimini engellediğini bildirmektedir. Benzer sonuçlar Dong vd. [189] tarafından Brilliant Mavi'nin renginin gideriminde, peptonun indükleyici olduğu şeklinde, rapor edilmiştir. Sanghi vd. [139] birçok esansiyel amino asit içeren organik azot kaynağı olan peptonun, besiyerine ilave edildiğinde üreye göre çok daha fazla renk giderimi elde edildiğini bildirmiştir.



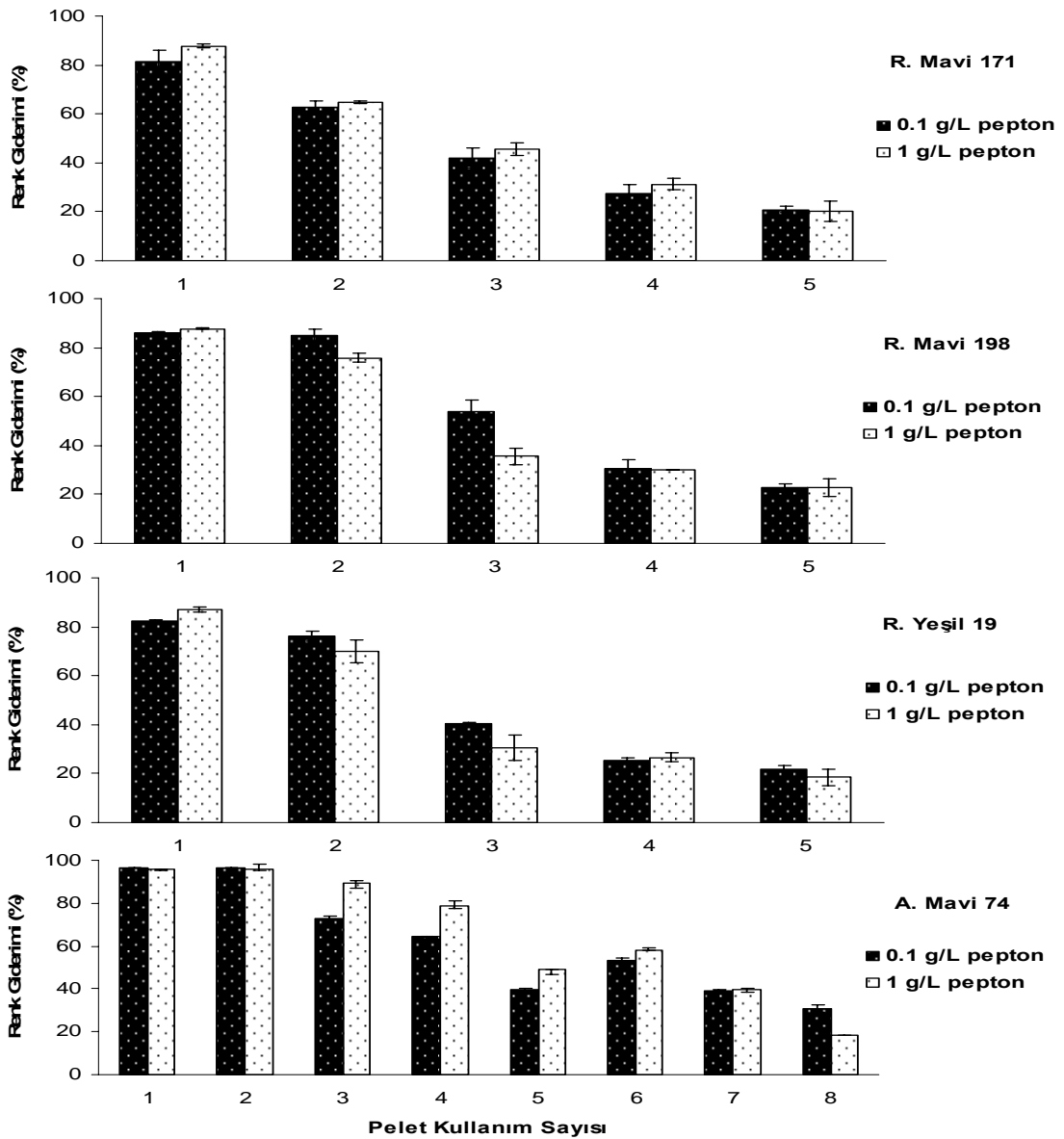
**Şekil 4.89.** Peptonun *T. versicolor* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

*T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesinin 1 g/L pepton içeren boyalı ortamlarda (Şekil 4.90) kontrol grubuna (Şekil 4.48, 4.50, 4.52, 4.54) göre ilk kullanımda daha yüksek olduğu tespit edildi. Fakat ilerleyen kullanımlarda enzim aktiviteleri peptona rağmen hızla düştü (Şekil 4.90). Benzer sonuçlar Robinson vd. [128] tarafından bildirilmiştir.



**Şekil 4.90.** Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında peptonun *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

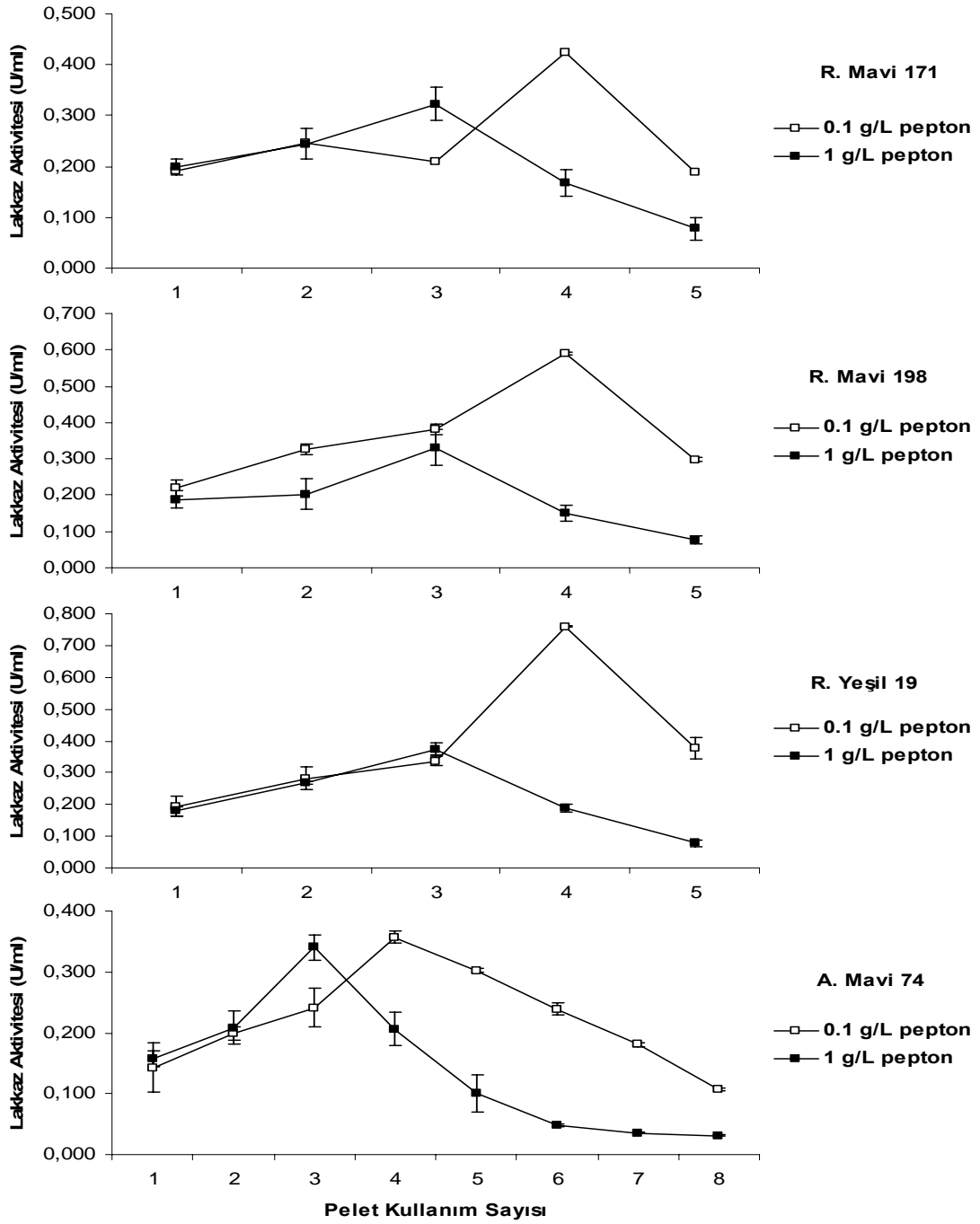
*F. trogii* peletlerinin renk giderimi verimini incelediğimizde, pepton içeren boyalı ortamlarda renk giderim aktivitesinin olumsuz yönde etkilendiği gözlemlendi. Tüm boyaların toplamda renginin giderimi düşerken RM 198 ve A. Mavi 74 için tekrarlı-kesikli renk giderim sayısı da azaldı. A. Mavi 74'ün renginin gideriminde 0.1 g/L pepton varlığında sadece ilk 2 kez, 1 g/L pepton varlığında da ilk 3 kez pelet kullanımında renk giderimi yüzdesinin önemli düzeyde arttığı tespit edildi ( $p < 0.05$ ) (Ek 7.8). İlerleyen pelet kullanımlarında renk giderimi hızla düştü (Şekil 4.91). Ortama eklenen organik azot kaynaklarının hem renk giderimi hem de lakkaz aktivitesi üzerine etkisi fungus türüne göre farklılık göstermektedir. *F. trogii* için peptondan ziyade maya özütünün daha uygun bir azot kaynağı olduğunu söyleyebiliriz.



**Şekil 4.91.** Peptonun *F. trogii* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

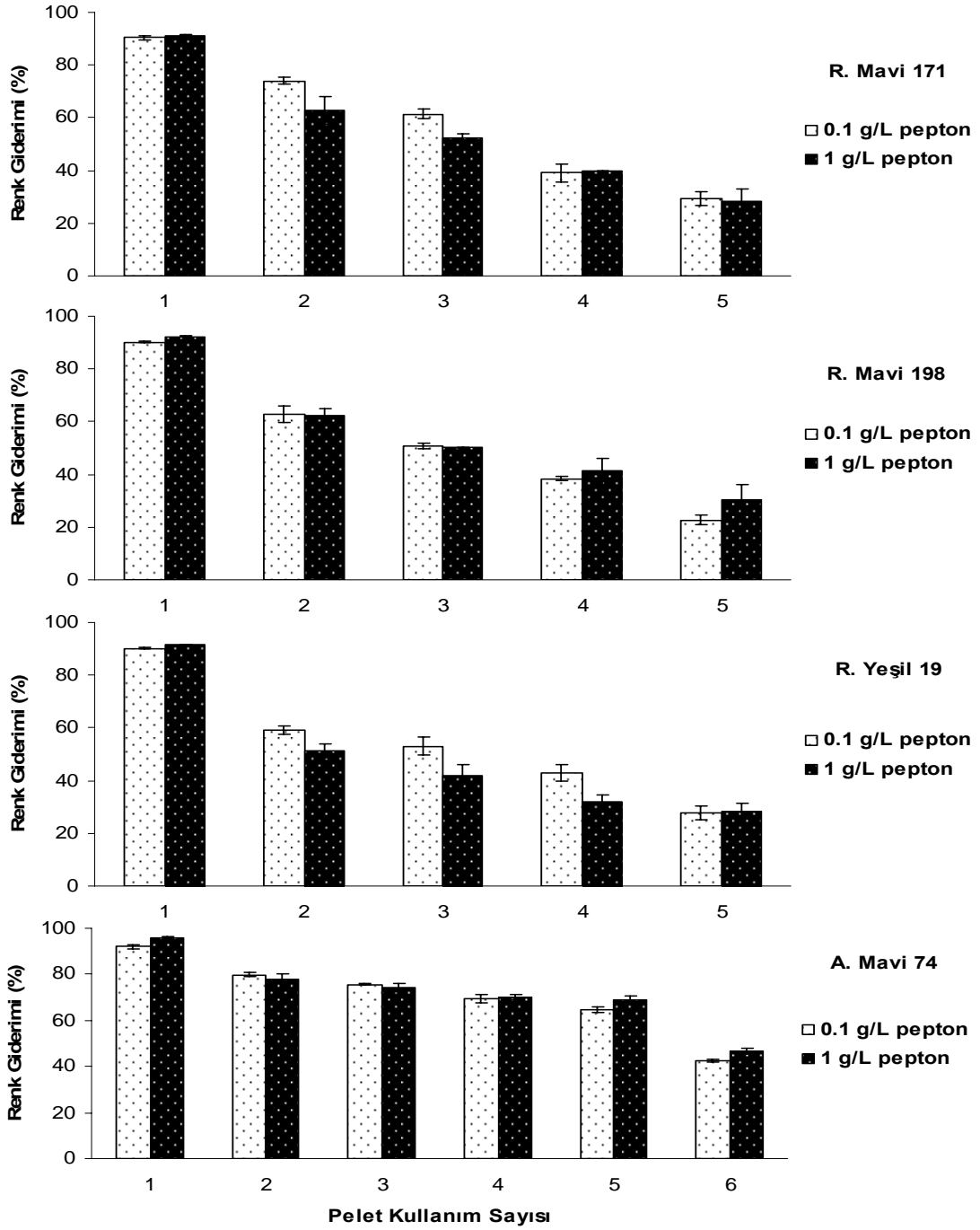


*F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi, 0.1 g/L pepton içeren boyalı ortamlarda 4. kullanımında, 1 g/L içeren ortamlarda 3. kullanımda en yüksek değere ulaştı (Şekil 4.92). Sentetik tekstil atık suyunun renginin gideriminde azotça zengin ortamlarda daha erken safhada ve daha yüksek lakkaz aktivitesi elde edildi [128]. Bu çalışma ile sonuçlarımız paralellik göstermektedir.



**Şekil 4.92.** Tekrarlı kesikli süreçle renk giderimi sırasında peptonun *F.trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

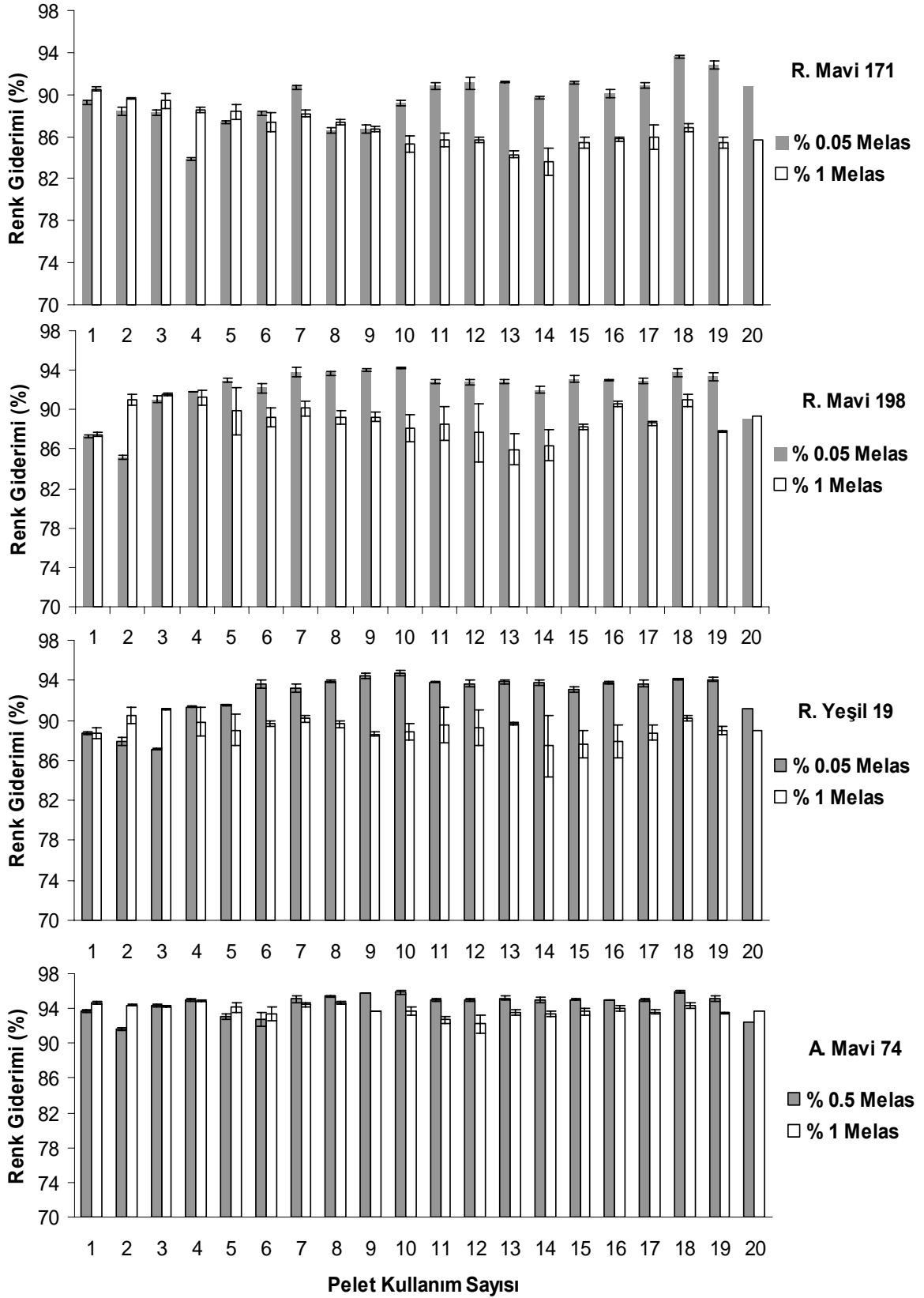
*P. chrysosporium* peletlerinin kullanılabilirliğine peptonun etkisi sınırlı olmuş ve yalnızca A. Mavi 74'ün renginin gideriminde kullanılabilirlik arttı. Pepton A. Mavi 74'ün renk giderimini de kontrol grubuna göre önemli düzeyde artırdı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.12). 0.1 g/L peptonun, RM 171'in ve RY 19'un 3. kez renginin gideriminden sonra fungus peletlerin renk giderim veriminin kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttığı tespit edildi ( $p<0.05$ ) (Şekil 4.47, 4.51 ve 4.93).



**Şekil 4.93.** Peptonun *P. chrysosporium* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

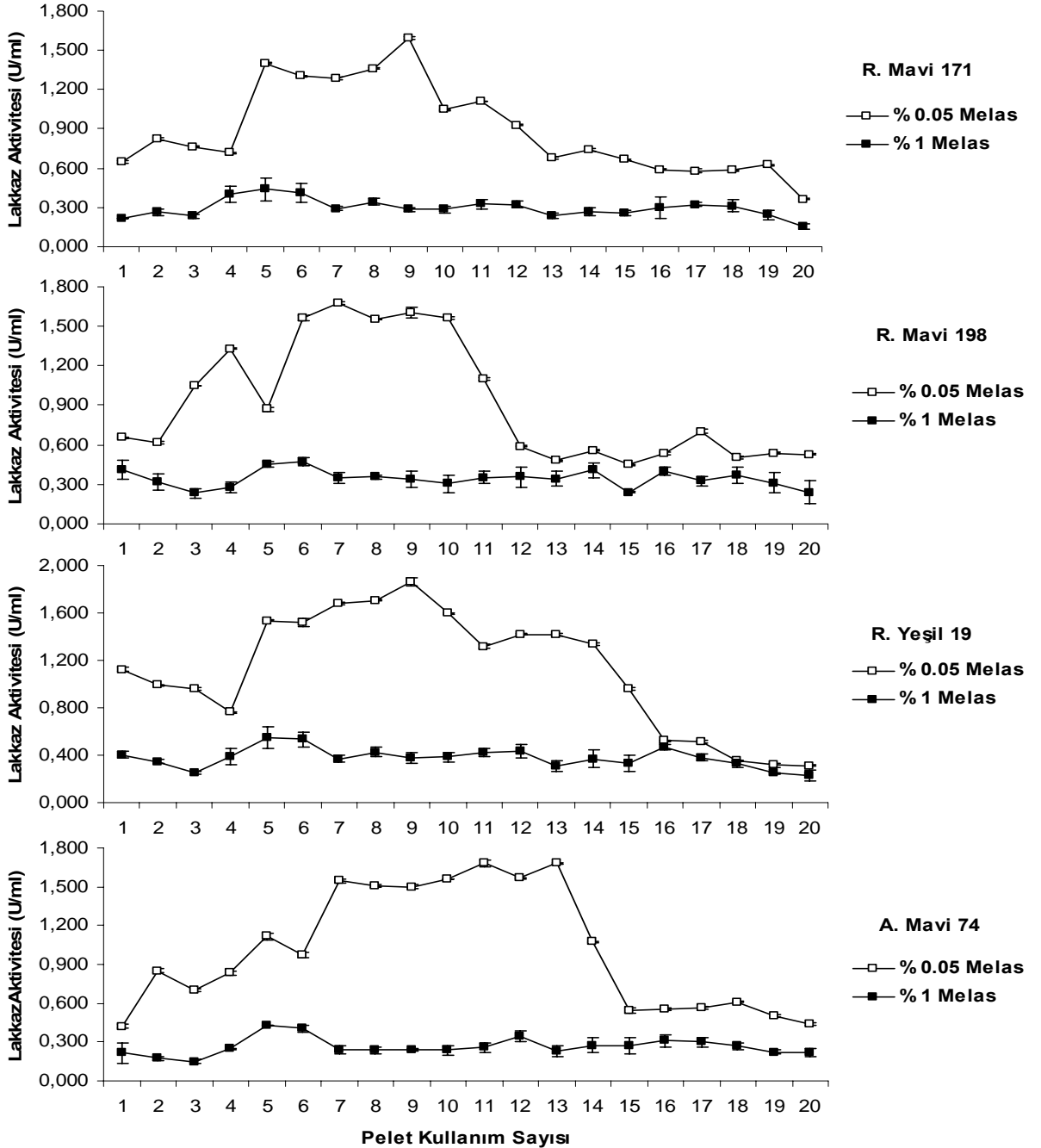
#### 4.3.4. Melasın tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi

Doğal bir kaynak olan melasın renk giderimi verimine etkisini test etmek üzere *T. versicolor* peletleri melas içeren ortamlara eklendiğinde en kararlı, en yüksek ve en uzun renk giderimi verimi elde edildi (Şekil 4.94). Fungus peletlerinin, boyaların rengini giderim verimi 20 kullanımında bile % 85-95 civarında olduğu tespit edildi. Ortamda 0.5-10 g/L (% 0.05-1 w/v) melas bulunduğunda RM 171'in renk giderim değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli düzeyde arttı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.1). Fungus peletlerinin RM 171'in rengini giderdiği 10 g/L melas içeren ortamda toplam renk giderimi % 87 olurken, melas miktarı 20 kat azaltıldığında toplam renk giderimi % 90'a yükseldi. Melaslı ortamlardaki RM 198 ve RY 19'un renklerinin giderimi (peletlerin ilk kullanımları hariç) kontrol grubundan önemli düzeyde farklıdır ( $p<0.05$ ) (Ek 7.2-3). *T. versicolor* peletlerinin ilk kullanımında RM 198'in rengi % 87 oranında giderilirken son kullanımında bu oran halen % 89'dur. Fungus peletlerinin RY 19'un rengini giderdiği 10 g/L melas içeren ortamda 20 kullanımlık renk giderimi verimi % 81 olurken, melas miktarı 20 kat azaltıldığında renk verimi % 93'e yükseldi. Sadece distile su ve A. Mavi 74 içeren kontrol grubunda boyanın renk giderimi yüzdesi, peletlerin 6. kez kullanımdan sonra % 50'nin altına hızla düşerken ortama melas eklenince A. Mavi 74'ün renk giderimi yüzdesi en düşük % 91 oldu. 0.5 g/L melas içeren RM 171, RM 198, RY 19 ve A. Mavi 74 ortamlarında *T. versicolor*'un 20 günlük toplam renk giderimi verimi sırasıyla % 88, % 94, % 92 ve % 94'dür. Kullanım boyunca *T. versicolor* peletlerinin morfolojik yapısı bozulmamış ve peletler boyayı adsorbe etti (Şekil 4.94). Kapdan [127] Everzol Turkuaz Mavi G boyasının rengini melas içeren ortamlarda *Coriolus versicolor* MUCL ile sadece % 14 oranında giderebildi. Ancak diğer bir çalışmada melaslı ortamda üretilen *Candida tropicalis* hücreleri yüksek oranda reaktif boya birikimi yapmıştır [30]. Atık su arıtımlarında ortama melas ilave edilmesiyle ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Araştırmacılar melasın getireceği ekstra renk ve organik yükten çekinmektedirler. Fakat çalışmamızda renk giderimi ortamlarına çok az miktarda (0.5 g/L) melas eklendiğinden bu miktarın renkli atık suya çok fazla ekstra organik yük (KOİ ve BOİ) getirmeyeceği veya aşırı renklemeye sebep olmayacağı düşünülmektedir. Ülkemizde özellikle pancar melasının bol bulunması ve ucuz hammadde olması da melasın kullanım avantajlarını artırmaktadır.



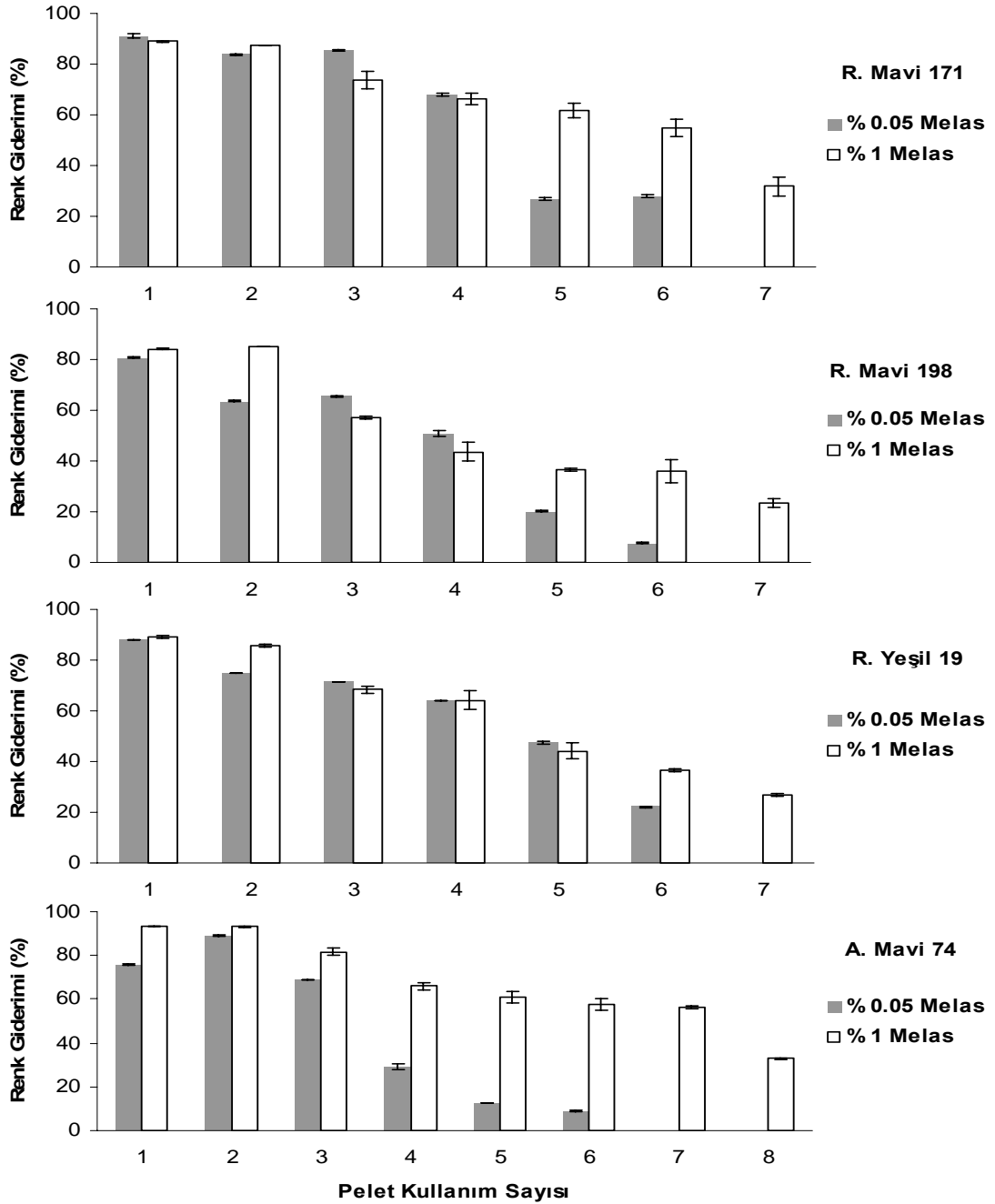
**Şekil 4.94.** Melasın *T. versicolor* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalışma hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

*T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesi melas içermeyen kontrol gruplarında ilk kullanımda yüksek olurken ileri kullanımlarda hızla düştü (Şekil 4.48, 4.50, 4.52, 4.54 ve 4.95). 10 g/L melas içeren ortamlardaki lakkaz aktivitesi değerleri de ilk kullanımdan itibaren düşük oldu. Azotça zengin melasın, lakkaz aktivitesini inhibe ettiği düşünülmektedir. Fakat melas miktarı 20 kat azaltıldığında *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesi kontrol grubuna ve diğer ortamlara göre hızla artarak yüksek değerlere ulaştı.



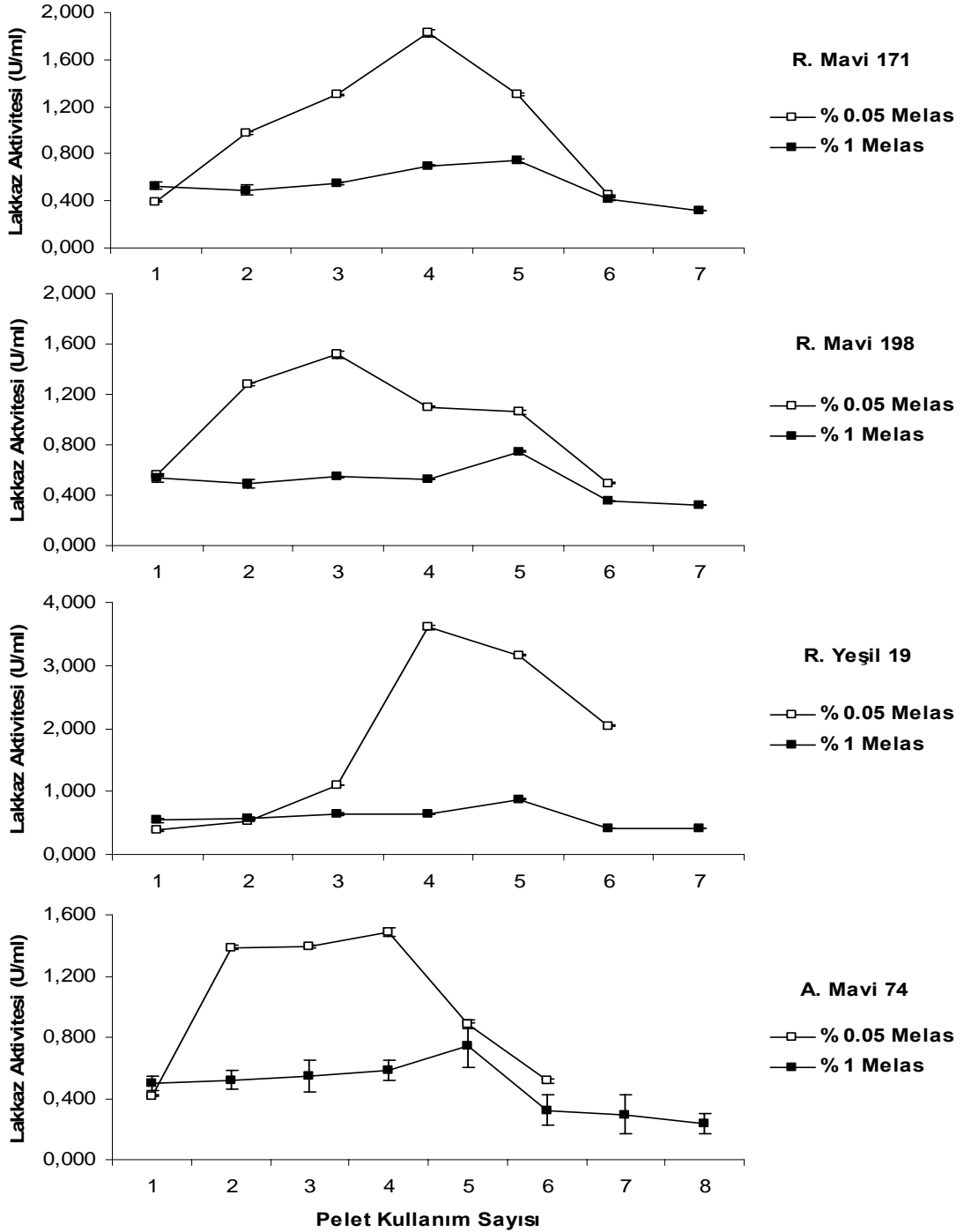
**Şekil 4.95.** Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında melasın *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

RM 171 ve RY 19'un renginin *F. trogii* peletleri ile gideriminde melaslı ortamlarda elde edilen renk giderim verimi kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksektir ( $p<0.05$ ) (Ek 7.5). Bununla birlikte melas, RM 198 ve A. Mavi 74'ün tekrarlı kesikli süreçle renk giderimini olumsuz yönde etkilemiş ve hem pelet kullanım sayısı hem de renk giderimi yüzdeleri kontrol grubuna göre azaldı (Şekil 4.96). RY 19'un renginin giderimi melas içeren ortamlarda peletlerin 3-5. kullanımlarında kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.7).



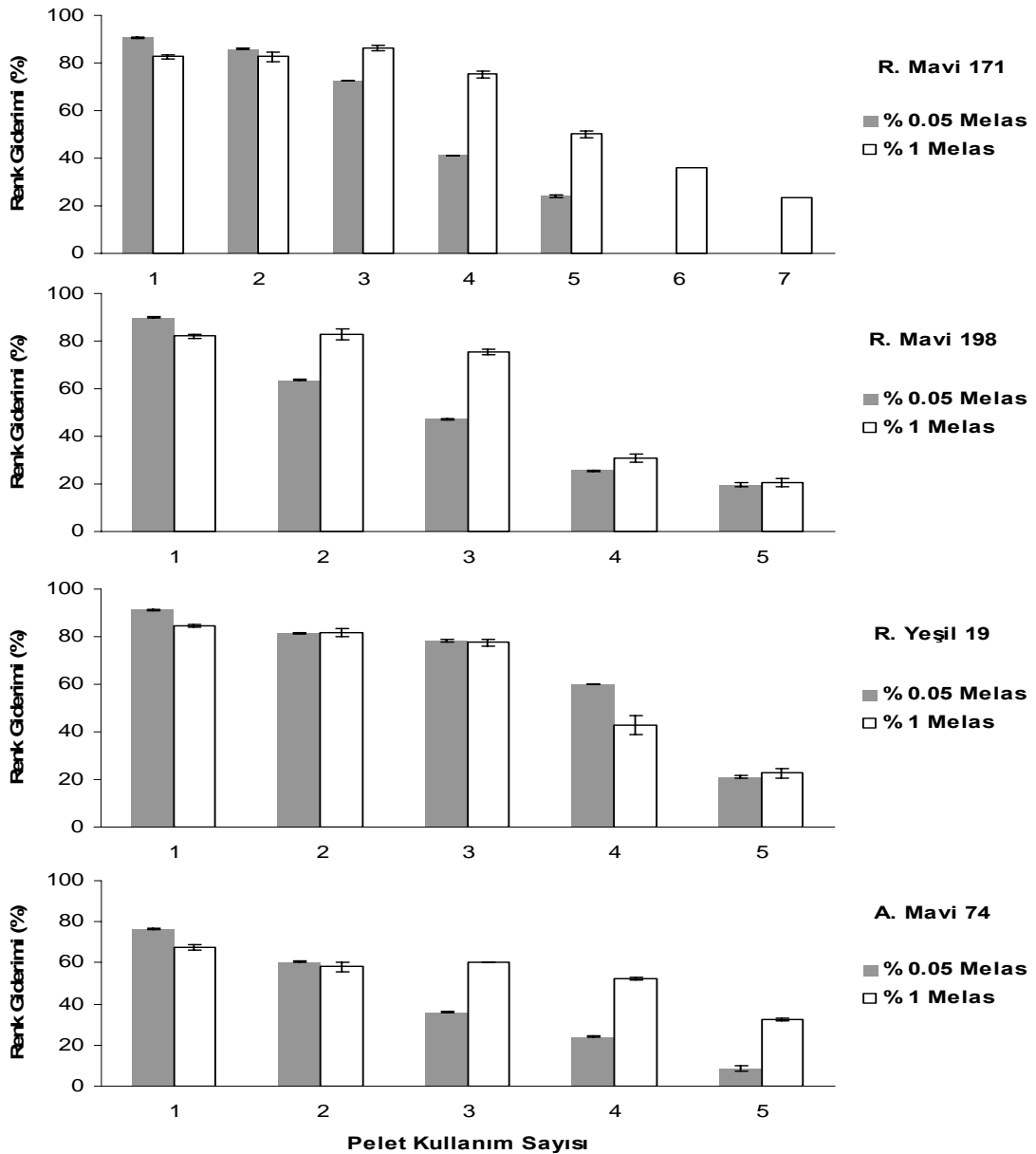
**Şekil 4.96.** Melasın *F. trogii* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

*F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi hem kontrol grubuna hem de diğer ek madde ilave edilen ortamlara (bakırlı ortamlar hariç) göre 0.5 g/L melas içeren ortamda en yüksek değerlere ulaştı. Boyalı ortamlardaki en yüksek lakkaz aktivitesi Şekil 4.97'deki boya sırasına göre  $1.84 \pm 0.33$ ,  $1.52 \pm 0.01$ ,  $3.60 \pm 0.04$  ve  $1.50 \pm 0.027$  U/ml'dir.



Şekil 4.97. Tekrarlı kesikli süreçle renk giderimi sırasında melasın *F.trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

*P. chrysosporium* peletlerinin melas içeren ortamlarda RM 171 ve RY 19'un renklerini giderim verimleri peletlerin ilk kullanımları hariç kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.9 ve 7.11). RM 198 ve A. Mavi 74 boyalarının rengi, 10 g/L olacak şekilde melas ilave edilen ortamlarda *P. chrysosporium* peletleri ile 3 kez başarı ile giderilirken ilerleyen pelet kullanımlarda renk giderimi verimi hızla düştü (Şekil 4.98). Kapdan vd. [83] hem anaerobik hem de aerobik ortamda ortama karbon kaynağı olarak melas ilave ettiğinde anaerobik işlemde rengin % 85'i, aerobik ortamda ise sadece % 15'inin giderildiğini rapor etmiştir.

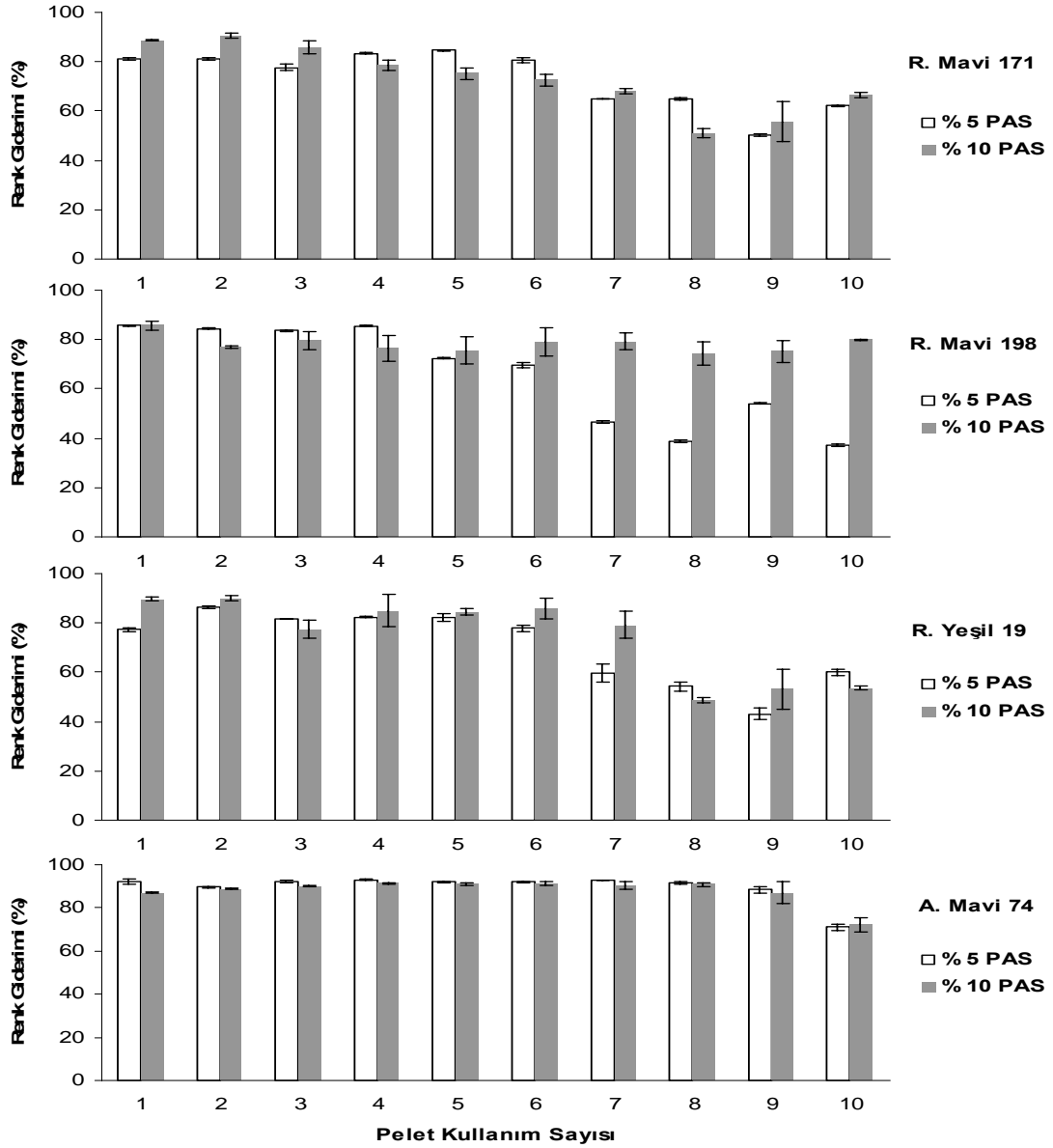


**Şekil 4.98.** Melasın *P. chrysosporium* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L



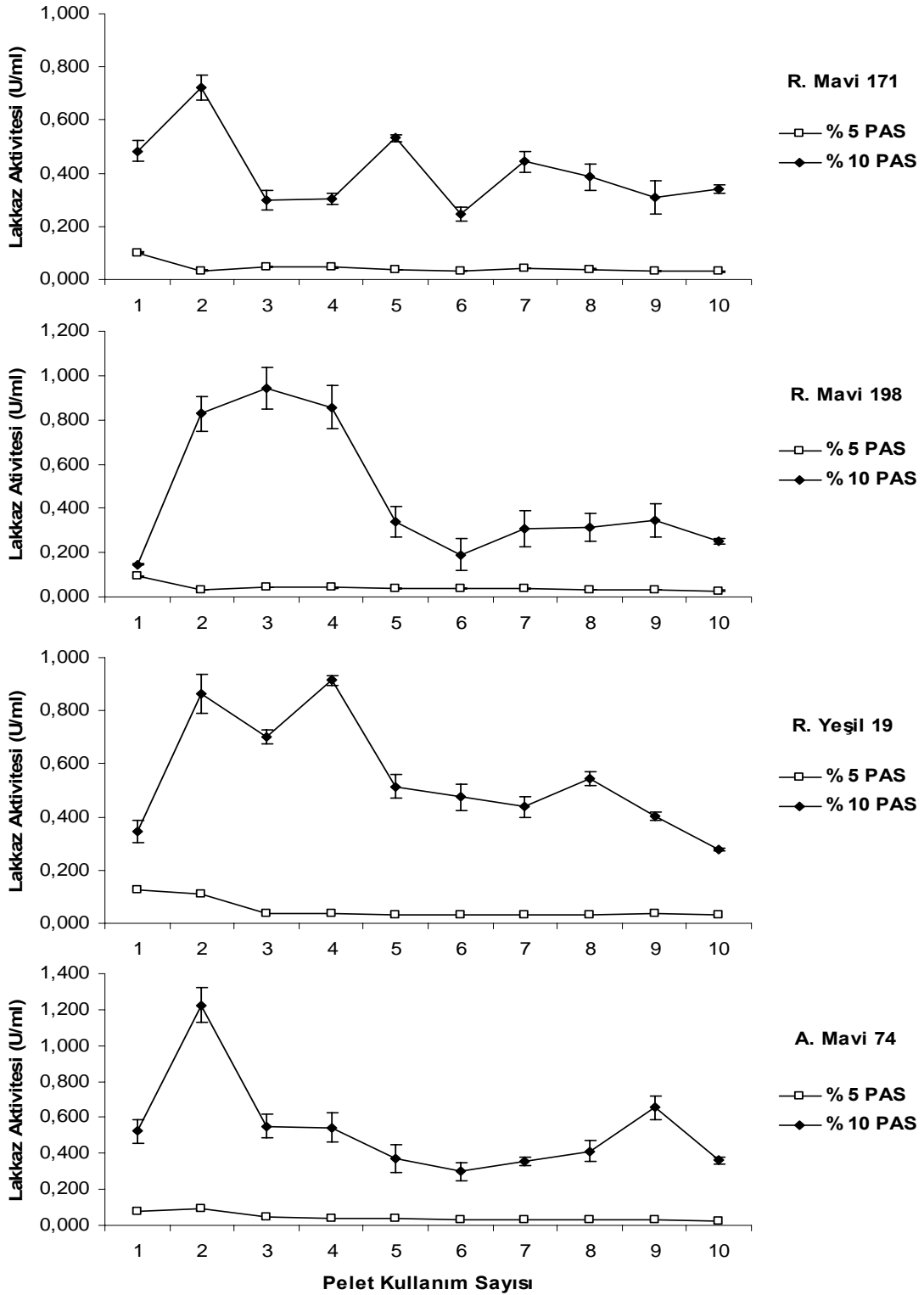
#### 4.3.5. Peynir altı suyunun tekrarlı-kesikli süreçte renk giderimi verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi

Peynir altı suyu, peynir (PAS) üretimi sürecinde üretilen bir atık sudur. Zengin içeriği nedeniyle melas gibi doğal bir kaynaktır. PAS eklenmesi (% 5-10 v/v) *T. versicolor* peletlerinin tüm boyalar için renk giderim verimlerini artırmıştır (Şekil 4.47, 4.49, 4.51, 4.53 ve 4.99). Peynir altı suyu eklenmiş ortamlarda RM 171'in 2., RM 198'in 7., RY 19 ve A. Mavi 74'ün 3. kez renginin gideriminden sonra renk giderimi yüzdelerinin kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.1-4). PAS miktarının iki kat artırılması *T. versicolor* peletlerinin 5. kez kullanımından sonra RM 198 ve RY 19'un renk giderimi yüzdesini önemli düzeyde arttı ( $p<0.05$ ). % 10 PAS içerecek şekilde hazırlanmış ortamlarda *T. versicolor*'un RM 198 ve A. Mavi 74'ün rengini giderim verimi sırasıyla % 78 ve % 88'dir. Benzer sonuçlar Yesilada vd. [132] tarafından rapor edilmiştir. Aksu vd. [134] Remazol Siyah B boyasının renginin *Trametes versicolor* ile giderildiği çalışmada ortama ek karbon ve azot kaynağı olarak PAS (% 29 v/v) ilave etmiş ve peynir altı suyu içeren ortamlarda diğer ek maddeler (glukoz) ilave edilen ortamlara göre daha fazla renk giderimi elde ettiğini bildirmiştir. *T. versicolor* peletleri ile RM 171, RM 198, RY 19 ve A. Mavi 74'ün rengini giderimin çalışmalarında ortama 2 g/L glukoz olacak şekilde glukoz ilave ettiğimizde renk giderimi verimi sırasıyla % 81, % 89, % 84 ve % 97 olurken ortama % 10 olacak şekilde peynir altı suyu ilave edildiğinde renk giderimi verimi sırasıyla % 73, % 78, % 75 ve % 88 oldu. Benzer sonuçlar Nagarathnamma vd. [190] tarafından kağıt hamuru beyazlatma atık suyunun biyolojik yıkımında da elde edilmiştir.



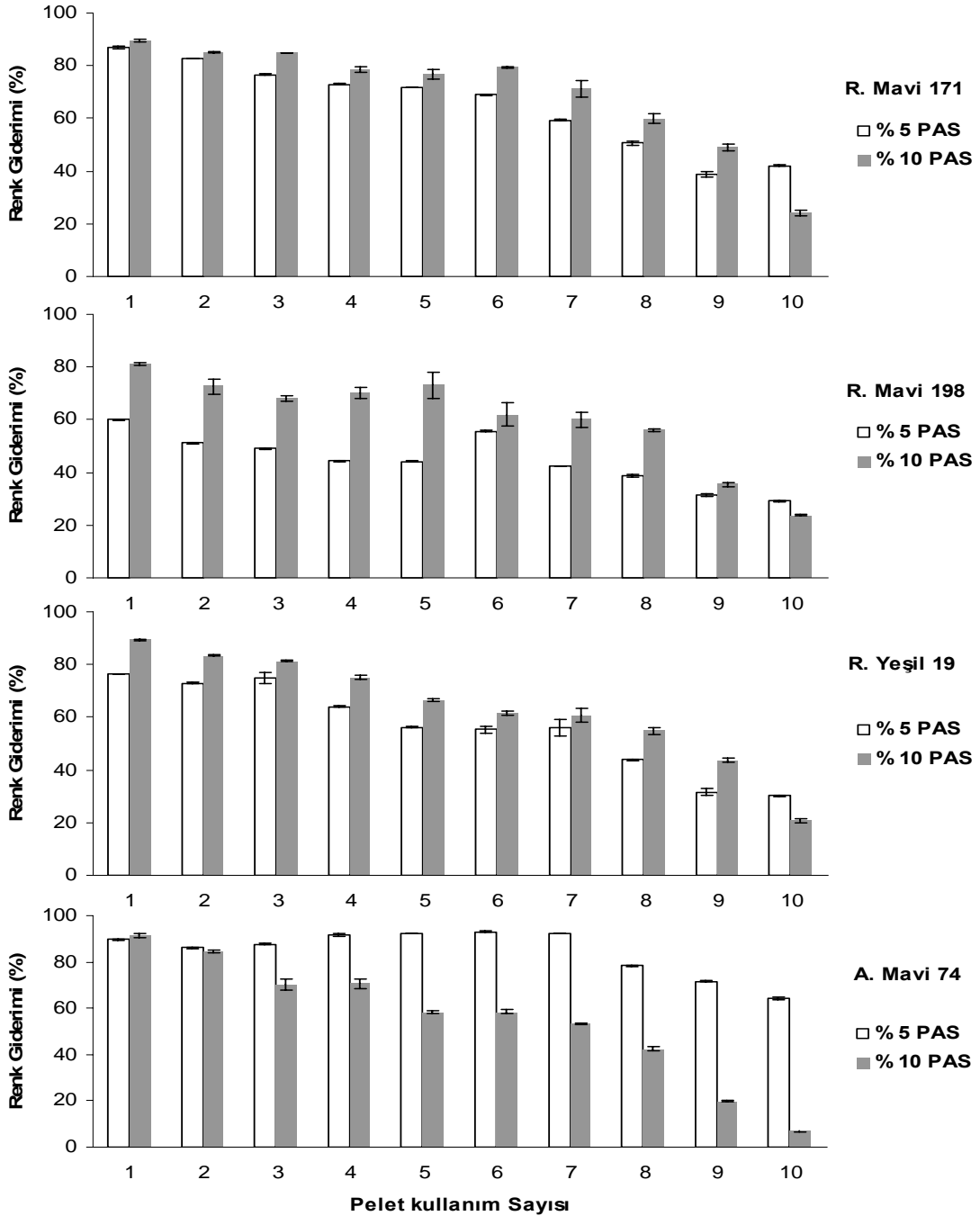
**Şekil 4.99.** Peynir altı suyunun *T. versicolor* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

PAS içeren kültürlerin lakkaz aktivite değerleri % 10'luk konsantrasyonlarda yüksek bulunurken % 5 PAS içeren kültürlerde lakkaz aktiviteleri düşüktür (Şekil 4.100).



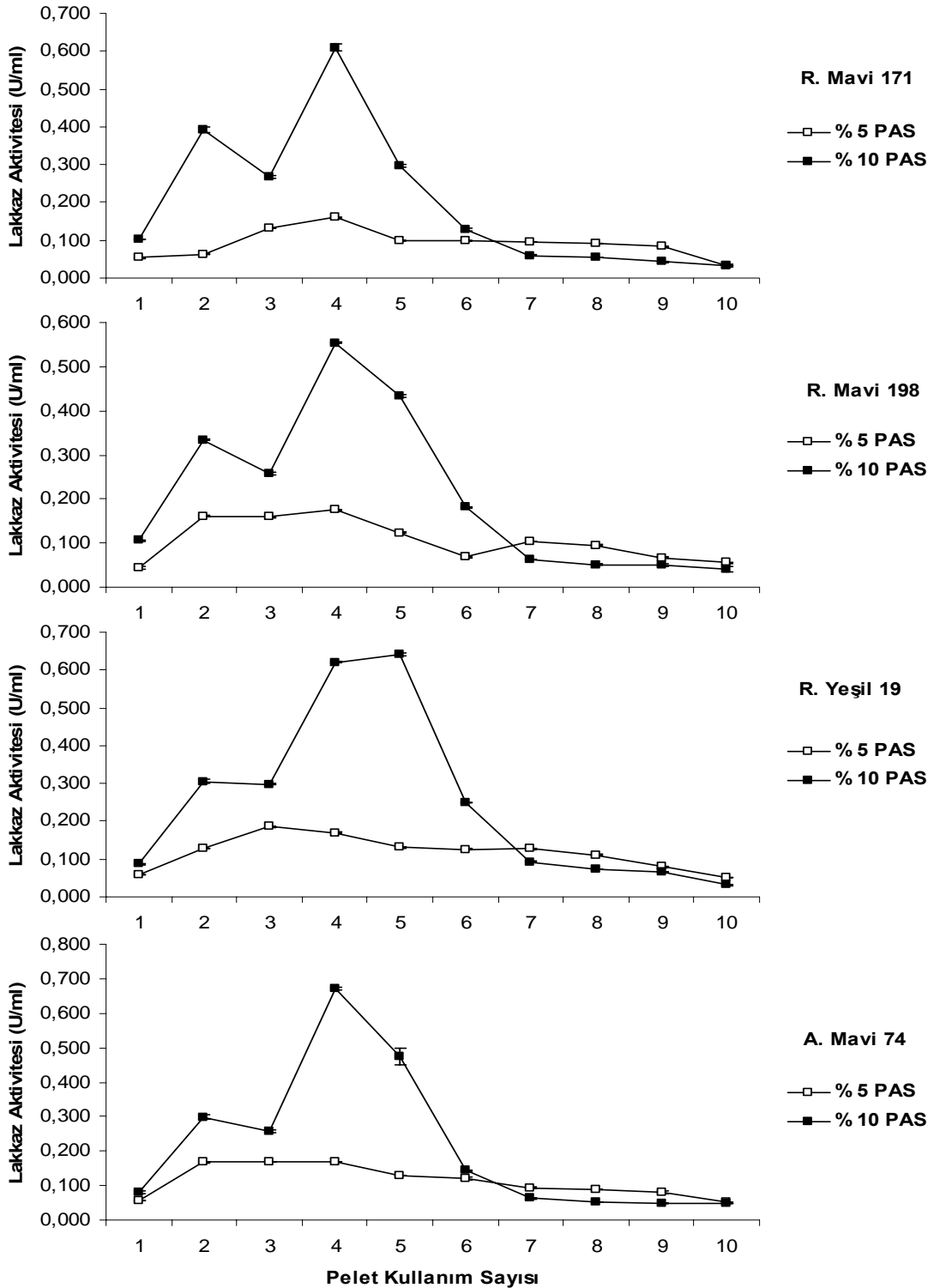
**Şekil 4.100.** Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında peynir altı suyunun *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi. Çalışma hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

PAS eklenmesi *F. trogii* peletlerinin renk giderim verimini de olumlu etkiledi ve renk giderim verimi arttı (Şekil 101). *F. trogii* peletleri, RM 171, RM 198 ve RY 19'un rengini ortama % 10 PAS içeren ortamlarda daha iyi giderirken A. Mavi 74'un rengini ortama % 5 PAS içeren ortamlarda daha fazla giderdi. PAS eklenmesi fungusların kullanım sayısını olumlu etkiledi. Benzer sonuçlar Yesilada vd. [120] tarafından Astrazon kırmızısının renginin giderimi çalışmalarında, PAS'ın renk giderimi üzerinde olumlu etkiye neden olduğu rapor edilmiştir.



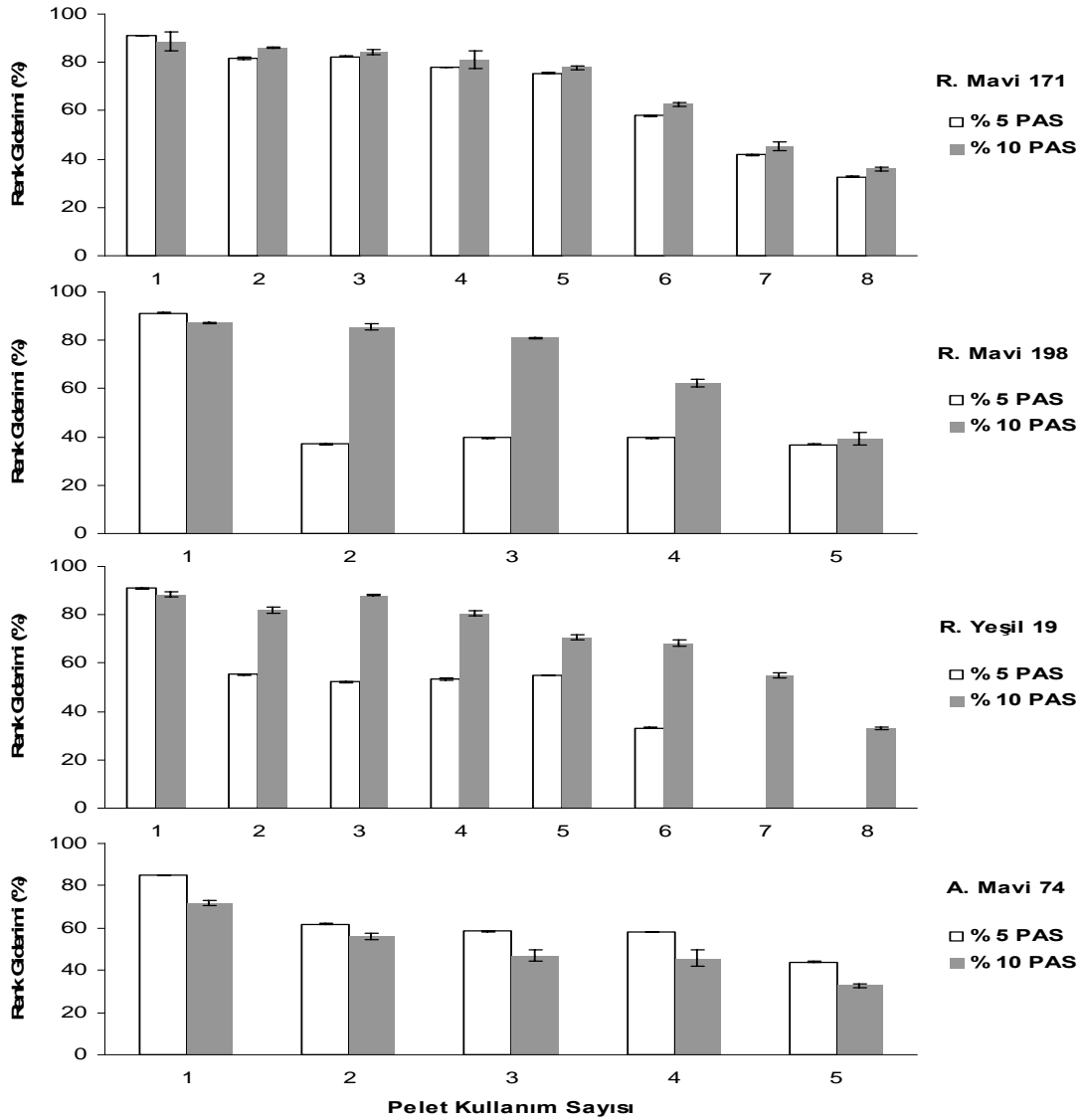
**Şekil 4.101.** Peynir altı suyunun *F. trogii* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

*F. trogii* peletlerinin lakkaz aktiviteleri, % 10 PAS içeren boyalı ortamlarda peletlerin 4 ve 5. kez kullanımında maksimum değerlere ulaştı (Şekil 4.102).



**Şekil 4.102.** Tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında peynir altı suyunun *F.trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

*P. chrysosporium* peletleri ile RM 171 ve RY 19'un renginin giderimi çalışmalarında PAS'ın peletlerin tekrarlı kullanım sayısı üzerine olumlu etkisi gözlenirken RM 198 ve A. Mavi 74'ün renginin gideriminde pelet kullanım sayısı kontrol grubuyla aynıdır. Bununla birlikte, % 10 PAS içeren RM 198 kültürlerinde renk giderim verimi kontrolden daha yüksek oldu. A. Mavi 74'ün giderimi de özellikle son kullanımlarda arttı. Peynir altı suyu ilave edilerek elde edilen renk giderimi verimi, RM 171'in 2. ve RY 19'un 3. kez renginin gideriminden sonra kontrol grubuna göre önemli düzeyde artırdı ( $p < 0.05$ ) (Ek 7.9 ve 7.11). A. Mavi 74 hariç diğer boyaların renginin gideriminde % 10 PAS % 5 PAS'a göre daha yüksek oranda boya yıkımına sebep oldu (Şekil 4.103). Ayrıca peletlerin peynir altı suyu içeren ortamlarda kontrol grubuna göre daha az boya adsorbe ettiği tespit edildi.

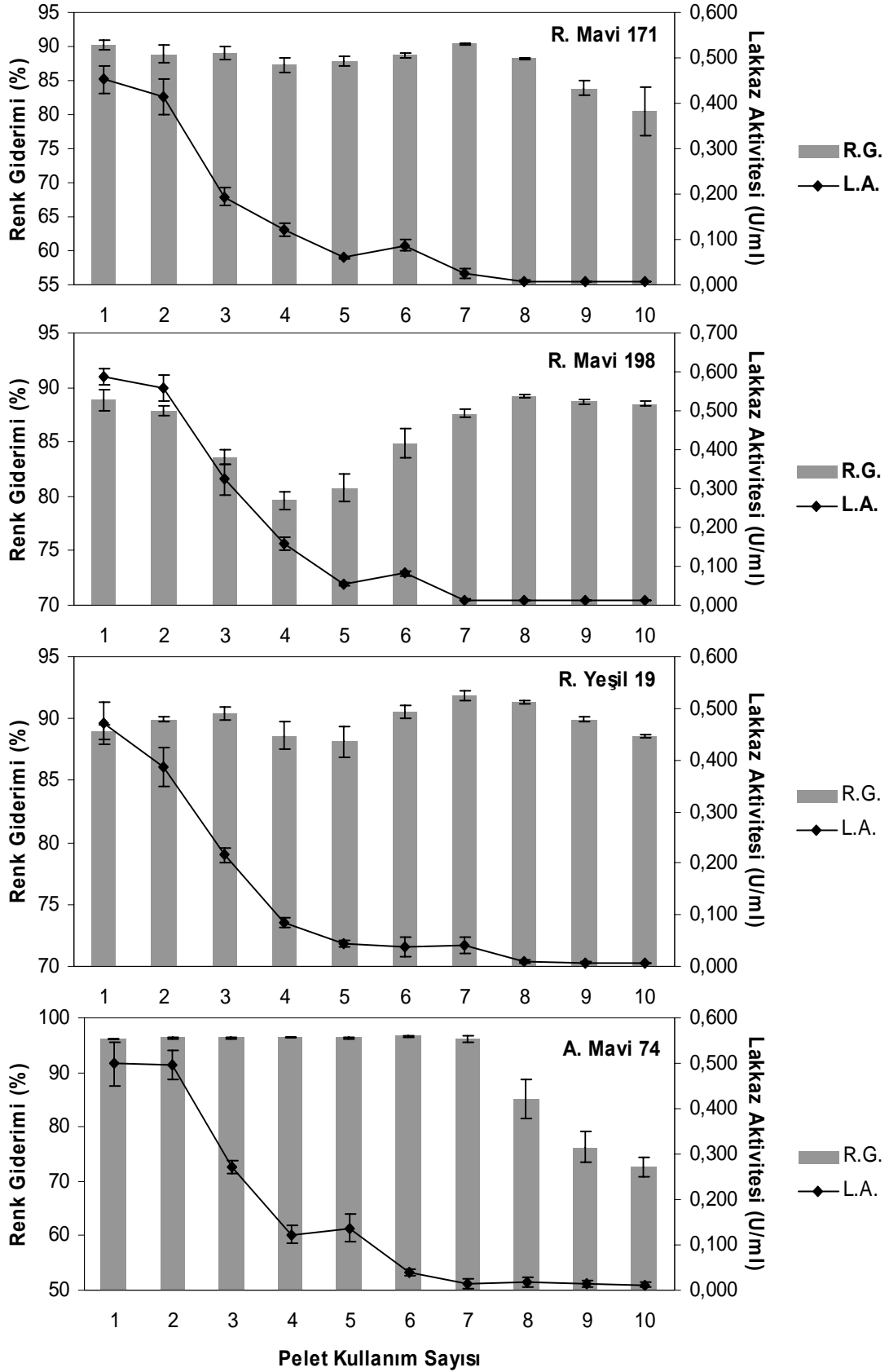


**Şekil 4.103.** Peynir altı suyunun *P. chrysosporium* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

#### 4.3.6. Bakırın tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi verimi ve lakkaz aktivitesine etkisi

Boyalı ortamlara çeşitli ek maddeler ilave edilmesi *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi indüklerken *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesini sadece 0.5 g/L melas indüklendi. Lakkaz enzimi, yapısında Cu atomu olan metalloenzimdir. Ayrıca bakır lakkaz enziminin kofaktörüdür. Beyaz çürükçül fungusların üreme ortamlarına bakır ilave edildiğinde lakkaz aktivitesi hızla artmaktadır [169]. Bu nedenle çalışmamızın bu kısmında peletlerin enzim aktivitesini artırmak ve bunun renk giderimi üzerindeki etkisini test etmek üzere ortama son konsantrasyon 0.5 mM olacak şekilde  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  de ilave edildi. Bakır içeren ortamlarda *T. versicolor* peletlerinin renk giderim aktivitesi 10 kullanım sürecinde test edildi. RM 171, RM 198, RY 19 ve A. Mavi 74'ün renk giderimi verimi sırasıyla % 88, % 86, % 90 ve % 91 oldu (Şekil 4.104). RM 198'in 6., RY 19'un 2. ve A. Mavi 74'ün 3. kez renginin gideriminden itibaren elde edilen renk giderimi yüzdeleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek olurken RM 171'in renk giderimi yüzdelerinin tekrarlı-kesikli süreç boyunca kontrole göre önemli düzeyde yüksek olduğu saptandı ( $p < 0.05$ ) (Ek 7.1-7.4).

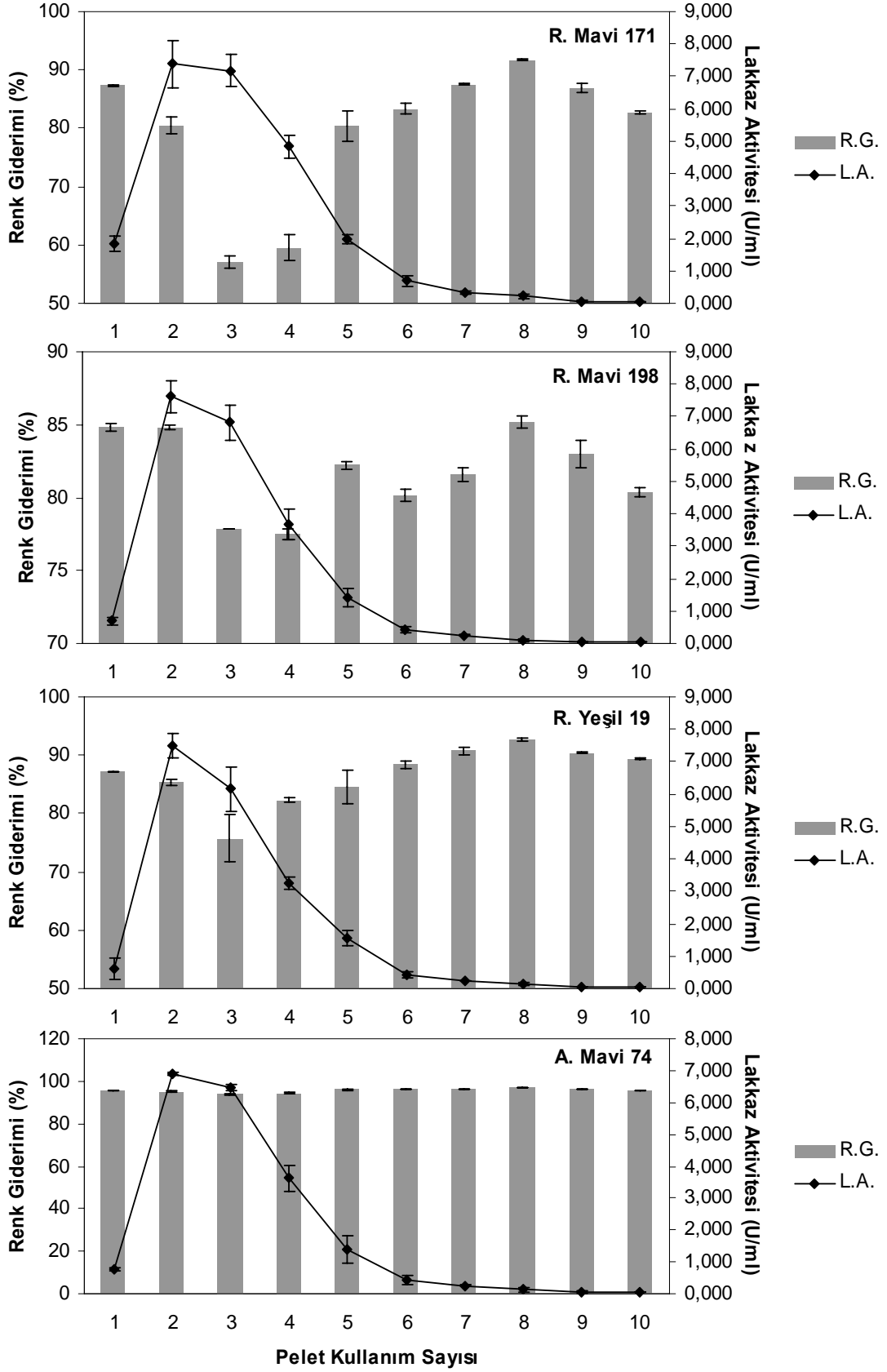
Bakır eklenmesi, *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesini ilk 4-5 kez kullanımda kontrol grubuna göre önemli düzeyde artırdı ( $p < 0.05$ ). Fakat peletlerin ilk iki kullanımında yüksek olan lakkaz aktivitesi ileri dönemlerde düştü. Bakırlı ortamlardaki lakkaz aktivitesi kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek olmasına rağmen 0.5 g/L melas içeren ortamdaki lakkaz aktivitesinden önemli düzeyde düşüktür ( $p < 0.05$ ). *T. versicolor*'un hücre dışı lakkaz aktivitesi, bakırlı ortamlarda peletlerin ikinci kullanımından sonra hızla düşerken renk giderimi yüzdeleri % 80'nin üzerinde olmuştur. Blanquez vd. [138] tarafından *Trametes versicolor* peletleri ile Gri Lanaset G'nin renginin giderildiği kesikli çalışmada yüksek renk giderimi (% 90.6 22. saat sonra) bildirmiş ve ekstraselüler lakkaz enzimi ile renk giderimi arasında bir ilişki saptanamamıştır. Başlangıçta boya adsorbsiyonundan sonra boyanın hücre içine alındığı, metal kompleks boya bağlarının yıkıldığı ve ekstraselüler lakkaz enziminin aksine intraselüler lakkaz aktivitesinin yüksek olduğu rapor edilmiştir.



**Şekil 4.104.** Bakırın *T. versicolor* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimine ve lakkaz aktivitesine etkisi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L



Bakır eklenmesi RM 171 ve RM 19'un renk gideriminde kontrol grubuna göre *F. trogii* peletlerinin kullanım sayısını artırdı (Şekil 4.105). RM 171'in 1.,4-5. kez, RM 198'in 3-8. kez, RY 19'un 3-5. kez ve A. Mavi 74'un 10 kez renginin giderildiği durumlarda elde edilen renk giderimi yüzdeleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde arttı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.5-8). *F. trogii* peletleriyle A. Mavi 74'ün renk giderim verimi % 96'dır. Peletlerin 2. kullanımında RM 171, RM 198 RY 19 ve A. Mavi 74 içeren ortamlarda sırasıyla  $7.39\pm 0.74$ ,  $7.61\pm 0.49$ ,  $7.48\pm 0.37$  ve  $6.90\pm 0.05$  U/ml ile bu çalışma bütünü en yüksek lakkaz aktivite değerleri saptandı. 2. kullanımdan sonra lakkaz aktivitesi düşmeye başladı. Fakat yine de 5. kullanıma kadar elde edilen lakkaz aktivite değerleri 1 U/ml'nin üzerinde oldu. İleri dönemlerdeki lakkaz aktivite değerlerindeki düşüşün ortamda boyadan başka ek karbon ve azot kaynağının olmamasından kaynaklanabilir. Baldrian ve Gabriel [191] 0.5-10 mM Cu konsantrasyonunun hücre dışı lakkaz sentezini olumlu etkilediğini fakat kültürden farklı zamanlarda alınan örnekler arasında önemli farklar olduğunu rapor etmiştir. Galhaup ve Haltrich [192] bakırın lakkaz sentezinden ziyade var olan proteinlerin aktivasyonunu için gerekli olduğunu bildirmiştir.



**Şekil 4.105.** Bakırın *F. trogii* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi verimine ve lakkaz aktivitesine etkisi. Çalışma hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

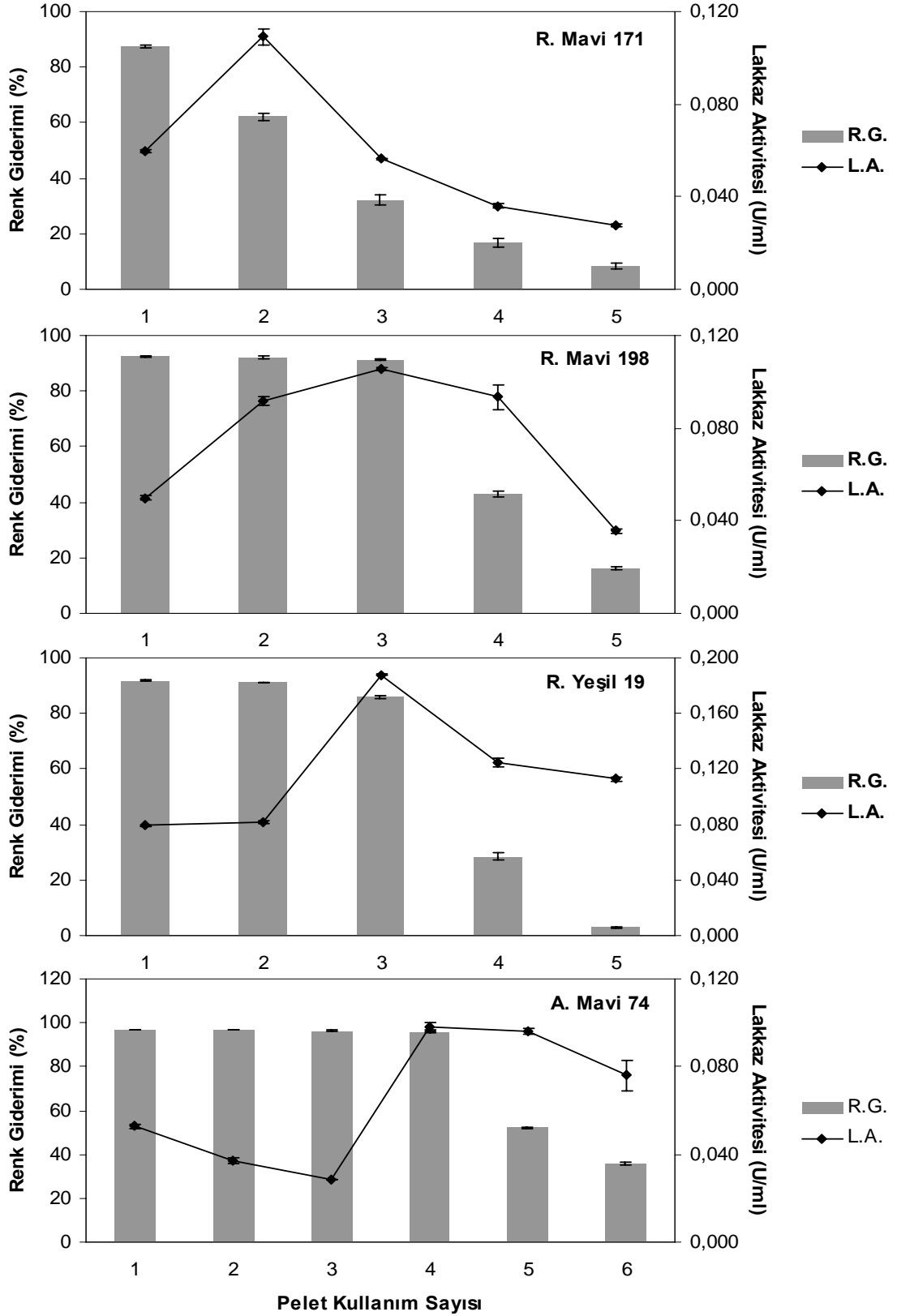
Ek maddelerin serbest peletlerin kullanım sayısına, renk giderimi verimine ve lakkaz aktivitesine etkisinin test edildiği çalışmalar ek maddeye, fungus türüne ve boyanın yapısına bağlı olarak verimin değişeceğini gösterdi. Genel olarak RM 198 ve A. Mavi 74'ün rengi tüm kültürde diğer boyalara göre daha iyi giderilirken besiyerine ek madde ilavesi RM 171 ve RY 19'un da renginin giderebilirliğini olumlu etkilemiştir. Serbest peletlerle tekrarlı kesikli süreçte boyaların giderilebilmiştir. Fakat bazı boyaların ortamlarında fungus peletlerin morfolojileri hızla bozuldu. Diğer sebeplerle birlikte bu bozulmadan kaynaklandığını düşündüğümüz olumsuzluklar renk gideriminde de düşüşe neden olmuştur. Bu nedenle, çalışmamızın bu aşamasından sonra serbest peletler yerine tutuklanmış hücreler kullanarak tutuklamanın renk giderimi verimi, lakkaz aktivitesi ve tutuklanmış hücre kullanımı sayısı üzerine etkisi araştırıldı.

#### **4.4. Tutuklamanın Renk Giderimi Verimi ve Pelet Kullanım Sayısı Üzerine Etkisi**

##### **4.4.1. Aktif karbona tutuklanmış hücrelerin renk giderimi verimi ve lakkaz aktivitesi**

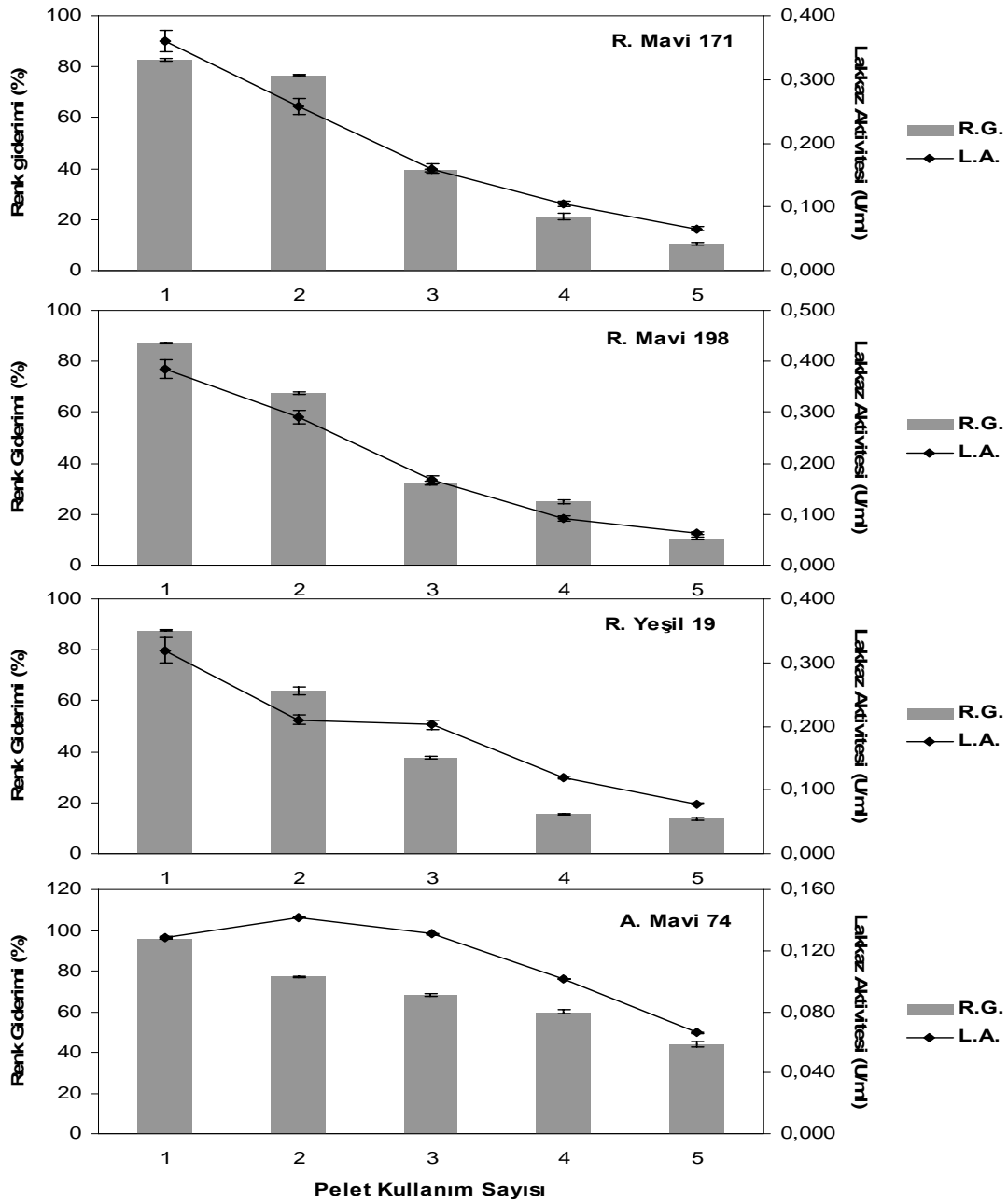
Bölüm 3.11.1'de belirtildiği gibi aktif karbona tutuklanmış *T. versicolor*, *F. trogii* ve *P. chrysosporium* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi verimi ve lakkaz aktivitesi tespit edildi.

Boyaların renginin gideriminde aktif karbona tutuklanmış *T. versicolor* peletlerinin tekrarlı kullanım sayısı serbest peletlere göre azaldı. Tutuklanmış pelet kullanımı, RM 171'in 1., RM 198'in 2-3., RY 19 ve A. Mavi 74'ün 1-3. kez renginin giderildiği durumlarda kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek renk giderimi verimi elde edilmesine neden oldu ( $p < 0.05$ ) (Ek 7.13-16). Fakat renk giderim yüzdeleri daha sonra hızla düştü. Boyalı ortamlarda tutuklanmış peletlerin başlangıç lakkaz aktiviteleri kontrol grubuna göre oldukça düşüktür. Zhang ve Ju [155] yaptıkları çalışmada başlangıçta aktif karbona tutuklanmış peletlerin lakkaz aktivitelerinin serbest peletlerden düşük olduğunu rapor etmiştir Tutuklanmış peletlerin ilk kullanımlarından sonra lakkaz aktivitesi artmış ve daha sonra düşmüştür (Şekil 4.106). Bu artışın, Zhang ve Ju [155] belirttiği gibi aktif karbona adsorbe olmuş lakkazın serbest hale geçmesinden kaynaklandığı sanılmaktadır.



**Şekil 4.106.** Aktif karbona tutuklanmış *T. versicolor* hücrelerin tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

Tutuklanmış *F. trogii* hücreleri ile RM 198 ve A. Mavi 74'ün renginin gideriminde aktif karbona tutuklanmış fungusların kullanım sayısı serbest peletlere göre azaldı. A. Mavi 74 boyasının renginin giderildiği ilk kullanım hariç, tutuklanmış funguslarla elde edilen renk giderim yüzdeleri de serbest peletlerden düşüktür. Aktif karbona tutuklanmış peletlerin lakkaz aktiviteleri de kontrol grubuna göre (A. Mavi 74 hariç) ilk kullanımdan itibaren düşüktür. Tutuklanmış *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktiviteleri 2. kullanımından itibaren yükselirken tutuklanmış *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi (A. Mavi 74 hariç) hızla düştü (Şekil 4.107)

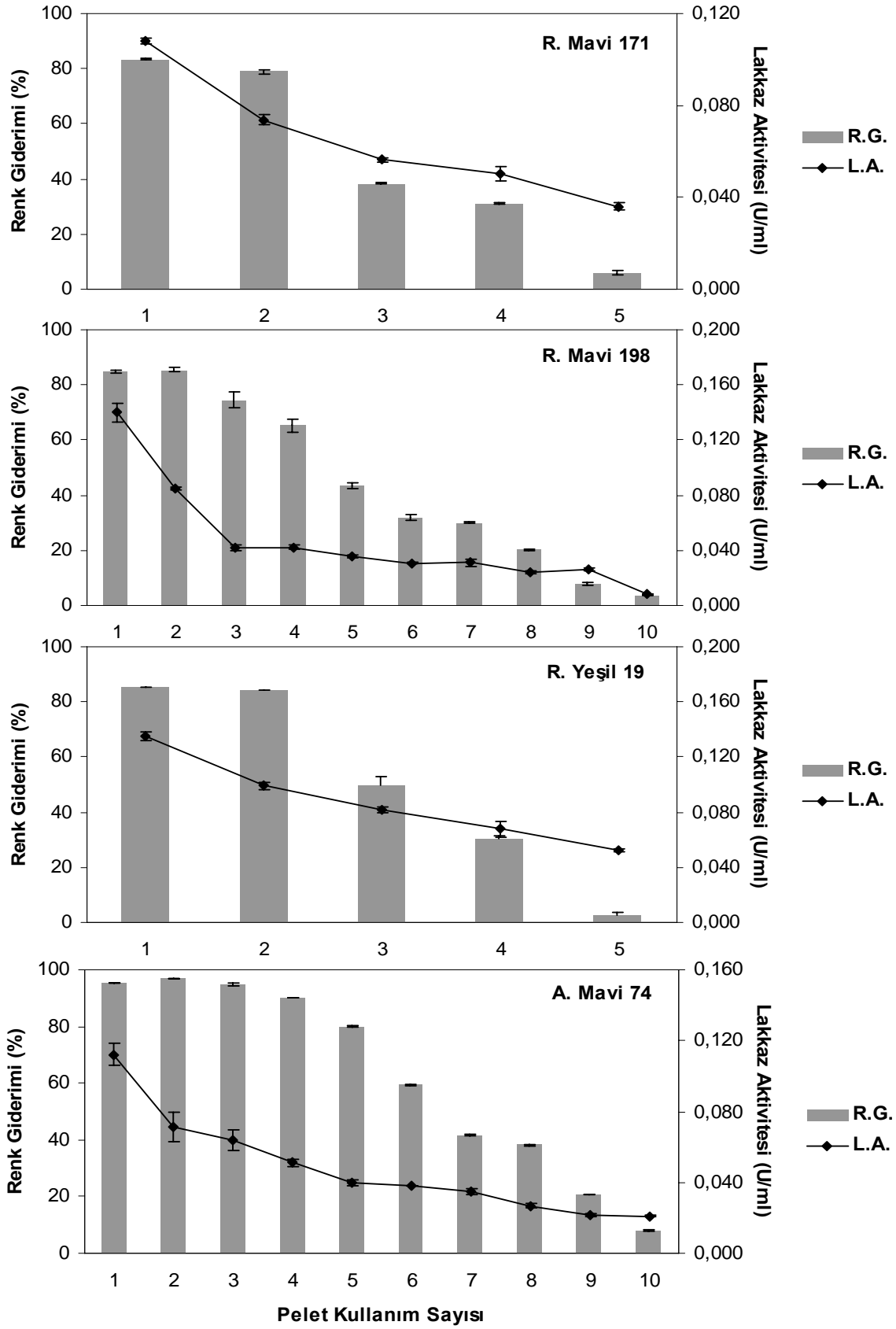


**Şekil 4.107.** Aktif karbona tutuklanmış *F. trogii* hücrelerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi. Çalışma hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

#### 4.4.2. Lignosellülozik materyale tutuklanmış hücrelerin renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi

Beyaz çürükçül funguslar için tutuklama ajanı olarak birçok lignosellülozik materyal test edildi. Test edilen materyaller içinde çam kozalağına hem *T. versicolor* hem de *F. trogii* miselleri rahatlıkla tutunup pelet oluşturabildiler. Çam kozalağının dış yapısı yumuşak ve pürüzlü olduğundan fungus miselleri çam kozalağına tutunduktan sonra kozalağın yüzeyinde üreyip pelet haline dönüştü. Bölüm 3.11.2’de belirtildiği gibi hazırlanan çam kozalağına tutunmuş peletler boyalı ortamlara alındı.

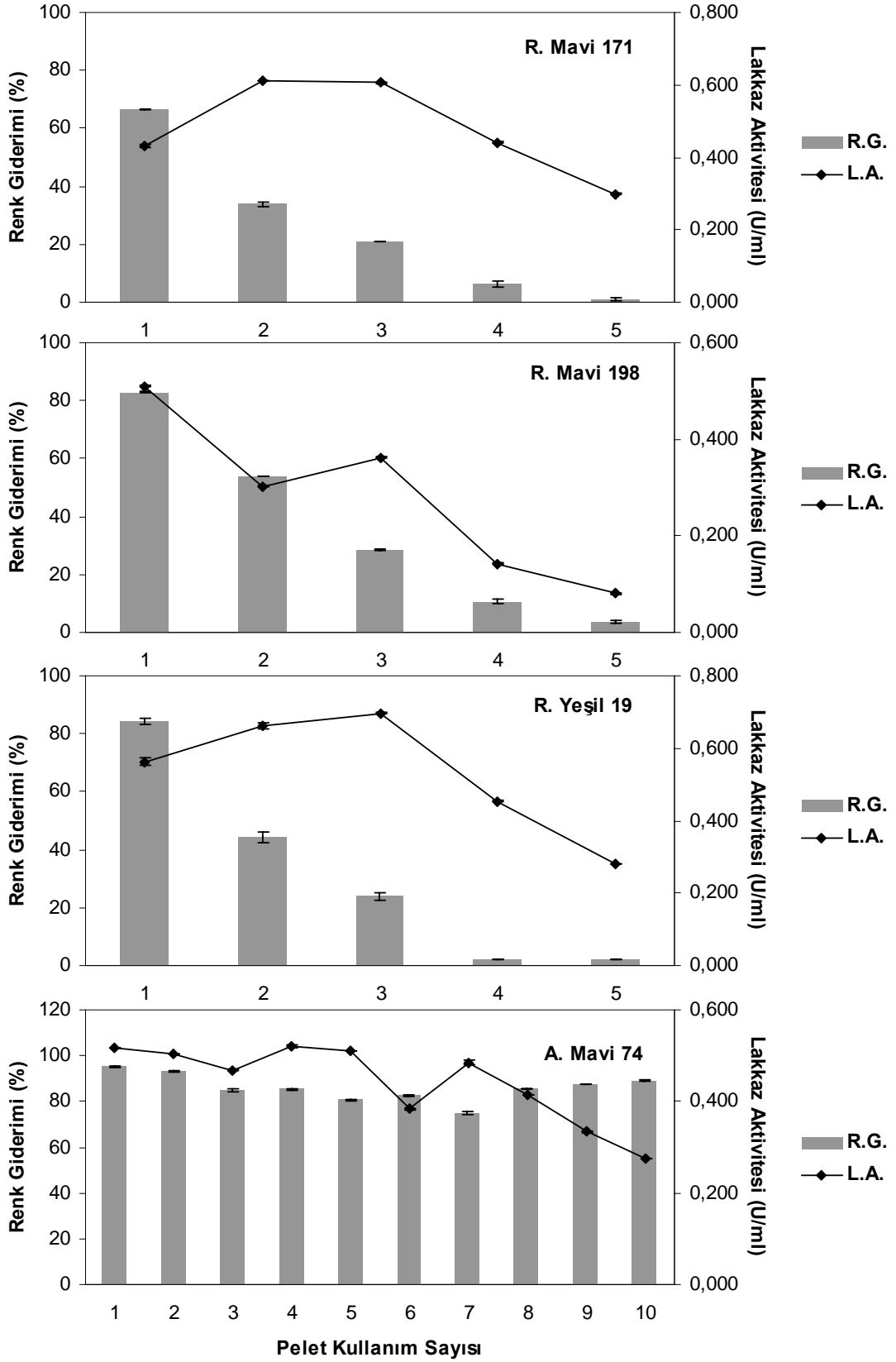
Çam kozalağına tutuklanmış *T. versicolor* peletlerinin renk giderim veriminin (A. Mavi 74 hariç) kontrol grubundan daha düşük olduğu saptandı. Tutuklanmış hücreler RM 171 ve RY 19’un renginin gideriminde kontrol grubundan daha az kullanılabilirdi. Tutuklanmış hücreler, RM 171 ve RY 19’un rengini ilk 2 kullanımda en az % 79 verimle giderirken bu verimin inkübasyonun ilerleyen dönemlerinde hızla düştüğü saptandı. RM 198’in renginin tutuklanmış hücrelerle tekrarlı-kesikli giderim sayısı kontrol grubuyla aynı olurken renk giderim verimi boyanın 4. kez giderimden sonra kontrol grubuna göre hızla düştü (Şekil 4.108). A. Mavi 74’ün 2-6. ve 8. kez renginin giderildiği tekrarlı-kesikli süreçte elde edilen renk giderim yüzdelerinin kontrol grubundan önemli düzeyde yüksek olduğu saptandı ( $p<0.05$ ) (Ek 7.16). Çam kozalağına tutuklanmış *T. versicolor* peletlerinin başlangıç lakkaz aktivitesinin serbest peletlerinkinden yaklaşık iki kat daha az olduğu tespit edildi. Libra vd. [69] aktif enzimlerin birçoğunun fungusun yapışkan tabakasında alıkonulduğunu bildirmiştir. Lakkaz aktivitesi inkübasyonun sonraki dönemlerinde de hızla düştü.



**Şekil 4.108.** Çam kozalağına tutuklanmış *T. versicolor* hücrelerin tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

Serbest peletler ile RM 171'in rengi ilk 24 saatte % 84.15±0.27 oranında giderilirken çam kozalağına tutuklanmış *F. trogii* peletleri ile sadece % 66.63±0.11 oranında giderildi. Tutuklanmış peletler ile RM 198 ve RY 19'un başlangıç renk giderim verimi serbest peletlerle elde edilen sonuçlarla benzer olmasına rağmen peletlerin ikinci kullanımlarından itibaren renk giderimi verimi hızla düştü. Çam kozalağına tutuklanmış peletler tekrarlı-kesikli süreçte A. Mavi 74 hariç diğer boya renklerini iyi gideremedi. A. Mavi 74'ün 5. kez renginin giderimi hariç tekrarlı-kesikli süreçte elde edilen diğer renk giderim yüzdelerinin kontrol grubundan önemli düzeyde yüksek olduğu saptandı (p<0.05) (Ek 7.20). Tutuklanmış *F. trogii* peletlerinin başlangıç lakkaz aktivitesinin RY 19'un renginin gideriminde kontrol grubundan önemli düzeyde yüksek olduğu saptandı. Tutuklanmış peletlerin lakkaz aktivitesi hem RM 171'in hem de RY 19'un renginin ilk kez gideriminden sonra yükselerek serbest peletlerin lakkaz aktivitesi değerlerinden üç kat daha fazla oldu. Fakat peletlerin 3. kullanımından sonra lakkaz aktivitesi hızla düştü. A. Mavi 74'ün renginin gideriminde peletlerin 7. ve 9. kullanımı hariç elde edilen lakkaz aktivitesinin kontrol grubundan önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edildi (p<0.05). Benzer sonuçlar Mazmancı vd. [154] tarafından kabak lifine tutuklanmış *Funalia trogii* ile Reaktif 5 boyasının renginin gideriminde elde edilmiştir. RM 198'in renginin gideriminde tutuklanmış peletlerin lakkaz aktiviteleri düşük olmasına rağmen renk giderim yüzdeleri yüksek oldu. Fakat A. Mavi 74 içeren boyalı ortamlarda yüksek seyreden renk giderimi yüzdelerine paralel lakkaz aktiviteleri de süreç boyunca yüksek kaldı (Şekil 4.109).

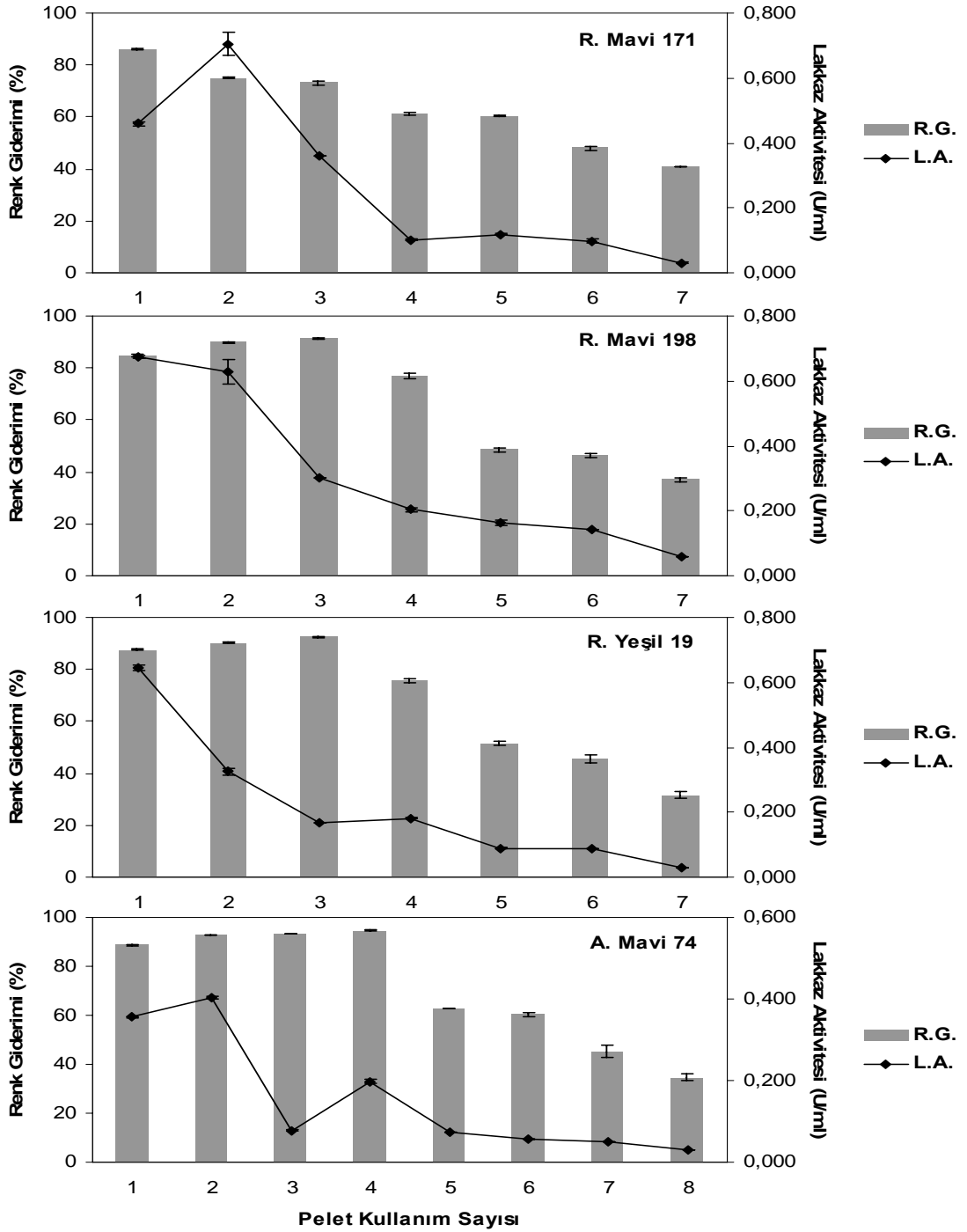




**Şekil 4.109.** Çam kozalağına tutuklanmış *F. trogii* hücrelerinin tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

#### 4.4.3. Aljinat içerisine tutuklanmış hücrelerin renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi

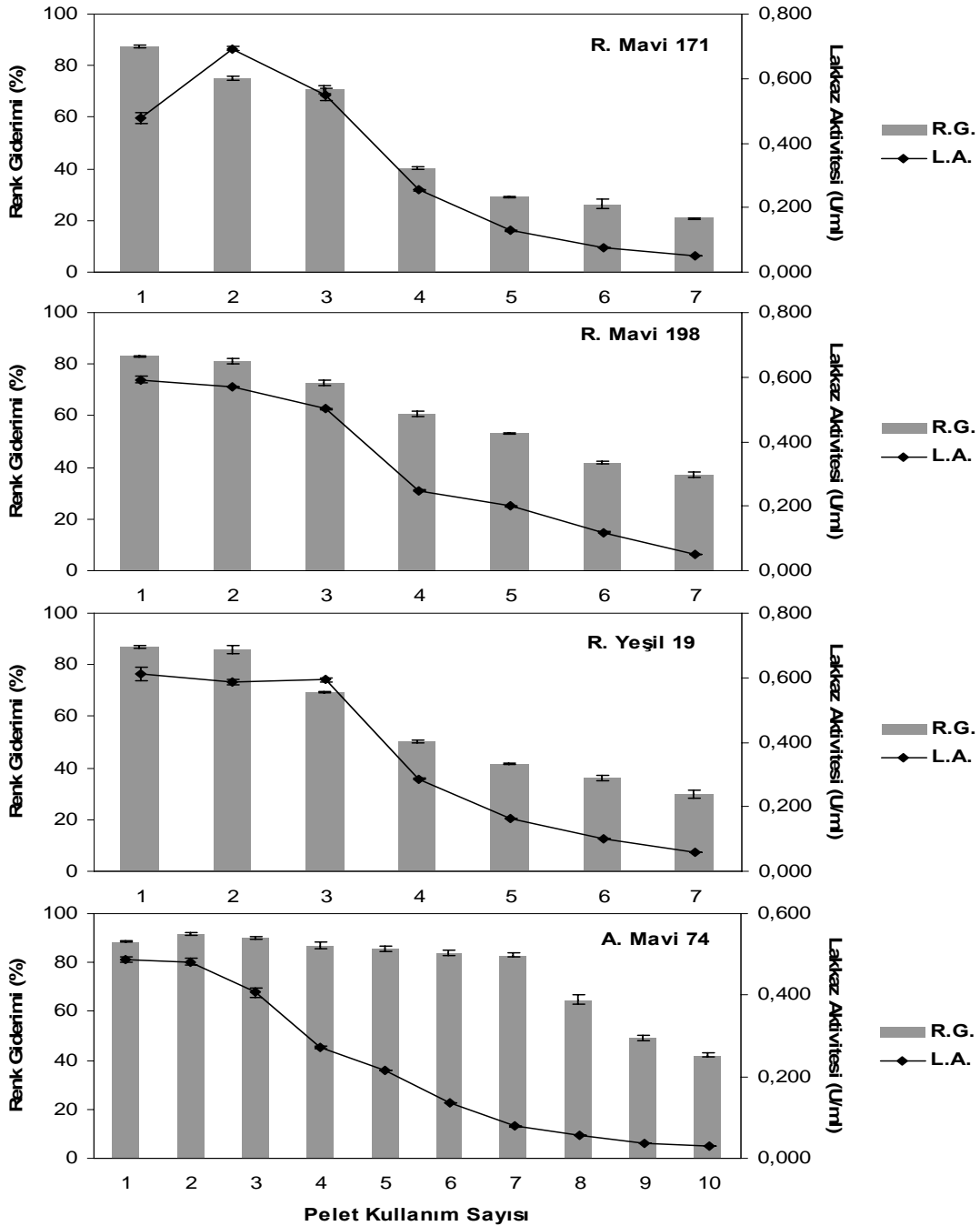
Aljinat içerisine Bölüm 3.11.3'de belirtildiği gibi tutuklanan *T. versicolor*, *F. trogii* ve *P. chrysosporium* fungus hücreleri ile boya içeren ortamlarda tekrarlı-kesikli renk giderimi işlemi yapıldı. Serbest peletlere göre tutuklanmış hücrelerin renk giderim verimi RM 171'in 1., 3., 5., RM 198'in 3., RY 19'un 1-5. ve A. Mavi 74'n 3., 4., 5. ve 6. kez renginin giderildiği durumlarda önemli düzeyde yüksek oldu ( $p < 0.05$ ) (Ek 7.13-16). A. Mavi 74 hariç diğer boya içeren kültürlerde tutuklanmış hücrelerin lakkaz aktivitesi kontrol grubundan daha yüksektir. Lakkaz aktivitesindeki bu artışın aljinat içerisine tutuklanan fungusların 1 gün sabouraud dekstroz sıvı besiyerinde 30°C ve 150 rpm'de inkübe edilmelerinden kaynaklandığı dşnlmektedir. Ramsay [153] tutuklanmış peletleri renk giderimi işlemlerinde kullanıldıktan sonra 18 saat kompleks besiyeri içersinde inkübe etmiştir. Lakkaz aktivitesinin tutuklanmış hücre kullanım sayısına bağlı olarak azaldığı saptandı. Tutuklanmış hücrelerin lakkaz aktivitelerinin azalmaya başladığı (2. pelet kullanımı) anlarda renk giderim verimleri yükselmeye devam etti (şekil 4.110). Couto vd. [157]'nin yaptığı çalışmada ortama bakır ilave edilerek lakkaz aktivitesinin 2200 U/L'e çıkarıldığı durumda bile İndigo Karmin boyasının rengi ancak 3 gün içinde giderilebilmiştir. Bu çalışmada renk gideriminde hem ekstraselüler lakkazın hem de remeye ilişkili mekanizmanın rol oynadığı belirtilmiştir.



**Şekil 4.110.** Aljinat içerisine tutuklanan *T. versicolor* peletlerinin tekrarlı kesikli süreçle renk giderim verimi ve laktaz aktivitesi. Çalışma hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

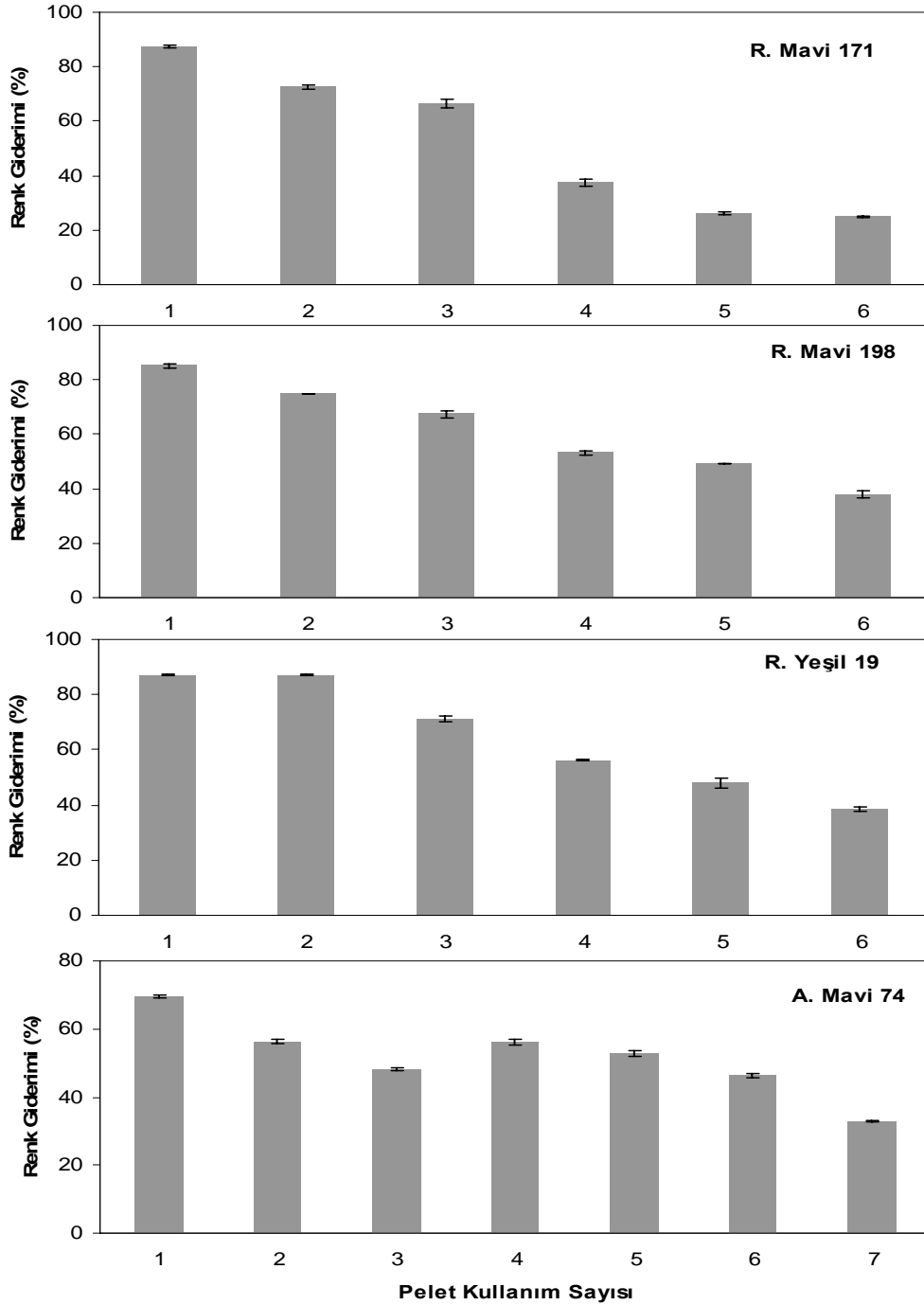
A. Mavi 74'ün rengi serbest peletlerle 5 kez en düşük % 82 oranında giderilirken tutuklanmış peletlerle boyanın rengi 7 kez en düşük % 83 renk giderimi verimi ile uzaklaştırılabildi (Şekil 4.111). A. Mavi 74'ün ilk kez renginin giderimi hariç diğer renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksek olduğu saptandı ( $p < 0.05$ )

(Ek 7.20). Diğer boyaların rengi de tutuklanmış *F. trogii* hücreleri ile daha kararlı şekilde giderildi. Renk giderimi öncesi tutuklanmış *F. trogii* hücrelerinin sabouraud dekstroz sıvı besiyerinde 1 gün inkübe edilmesi lakkaz aktivitesinin artışına neden olmadı. RY 19 hariç diğer boyalı ortamlardaki başlangıç lakkaz aktivitesi serbest peletlerden daha düşük bulundu. Tutuklanmış hücrelerin lakkaz aktiviteleri ilk 3 kullanımda benzer olurken ilerleyen kullanımlarda düştü.



**Şekil 4.111.** Aljinat içerisinde tutuklanan *F. trogii* hücrelerin tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

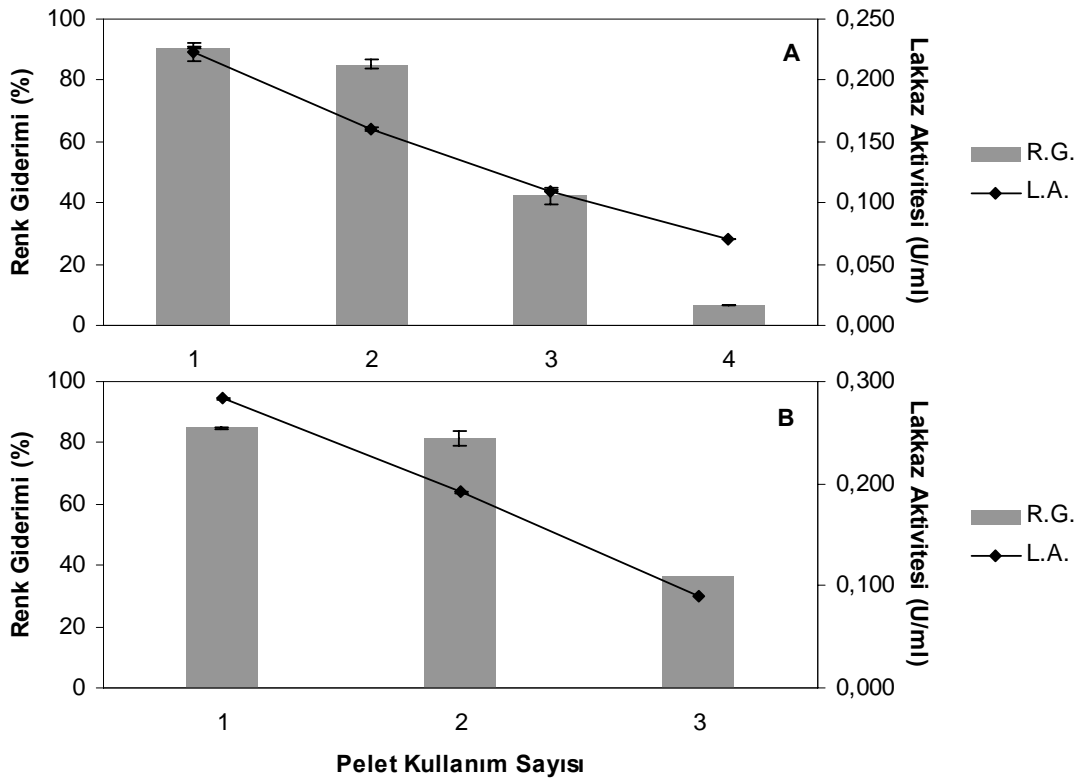
Serbest peletlerin RM 171, RM 198, RY 19 ve A. Mavi 74'ün rengini ilk kullanımda sırasıyla % 91.68±0.60, % 91.95±0.31, % 91.55±0.17 ve % 86.48±0.89 oranında giderirken aljinat içerisinde tutuklanmış *P. chrysosporium* peletlerin renk giderimi sırasıyla % 87.60±0.51, % 85.10±0.57, % 87.13±0.09 ve % 69.44±0.45 oldu (Şekil 4.112). RY 19'un renginin 2-5. kez giderimde elde edilen renk giderimi yüzdelerinin serbest peletlerden önemli düzeyde yüksek olduğu saptandı.



**Şekil 4.112.** Aljinat içerisinde tutuklanan *P. chrysosporium* hücrelerin tekrarlı kesikli süreçte renk giderim verimi ve lakkaz aktivitesi. Çalışma hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.83 g/50 ml, boya miktarı: 50 mg/L

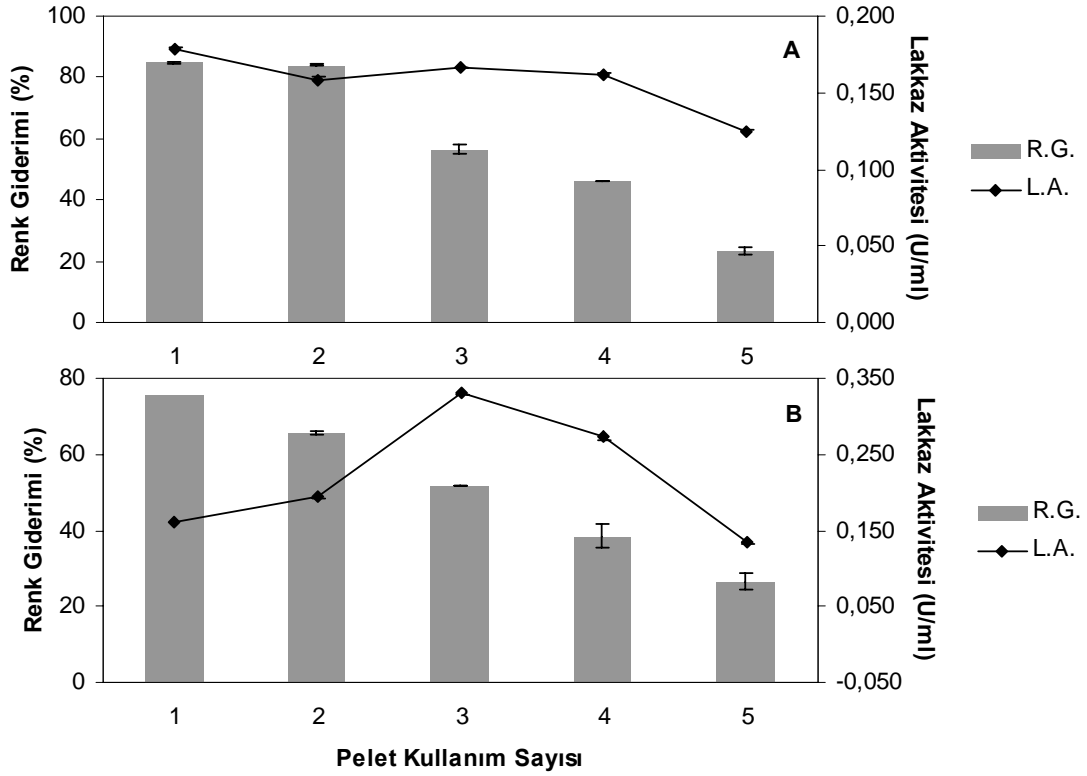
#### 4.5. Sentetik Atık Suyun Renginin Giderimi

Çalışmanın bu kısmında Bölüm 3.9.1’de belirtildiği gibi hazırlanan sentetik atık suyun tekrarlı-kesikli renk giderimi yapıldı. *T. versicolor* peletleri ile son konsantrasyon 50 mg/L olacak şekilde R. Mavi 171, R. Mavi 198, R.Yeşil 19 ve A. Mavi 74 boyaalarının karışımından oluşan sentetik atık suyun (SAS4) rengi ilk pelet uygulamasında % 90.47±0.30 oranında giderilirken (Şekil 4.113A) boyaaların karışımının konsantrasyonu 100 mg/L olunca bu oran % 84.91±0.43 (Şekil 4.113B) oldu. Yüksek konsantrasyonda boya içeren sentetik atık suyun rengi ortama ek maddeler ilave edilmeden iki kez başarı ile giderildi. Peletler, sentetik atık suyun rengini (her iki boya konsantrasyonunda) iki kez en düşük % 81 oranında giderirken bu oran ilerleyen kullanımlarda hızla düştü. Peletlerin lakkaz aktivitesinin de pelet kullanım sayısına bağlı olarak azaldığı saptandı.



**Şekil 4.113.** *T. versicolor* peletlerinin R. Mavi 71, R. Mavi 198, R.Yeşil 19 ve A. Mavi 74’den oluşan sentetik atık suyun (SAS4) tekrarlı kesikli süreçte renginin giderim verimi ve lakkaz aktivitesi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: **A**; 50mg/L, **B**; 100 mg/L.

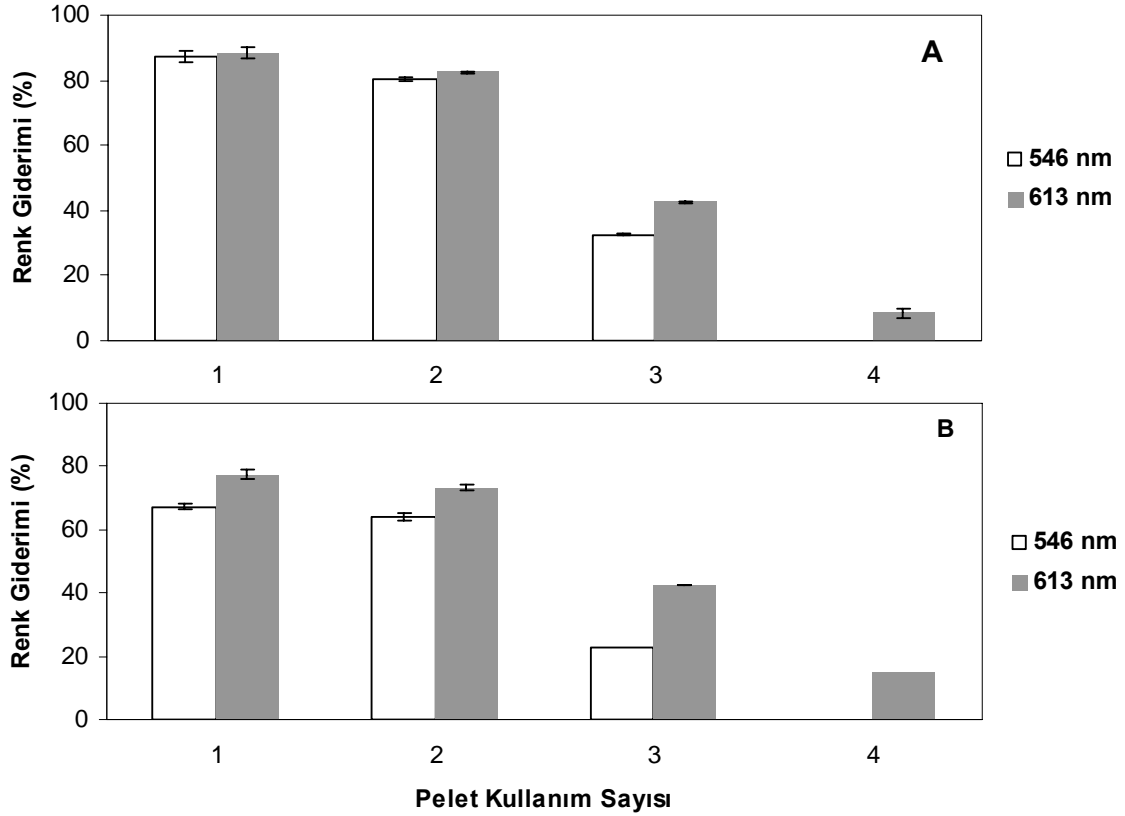
*F. trogii* peletleri SAS4'ün rengini daha uzun süre giderilebildi. Son konsantrasyon 50 mg/L olacak şekilde boya karışımı içeren SAS4'ün rengi ilk pelet uygulamasında % 84.92±0.20 (Şekil 4.114A) oranında giderilirken boya karışımının konsantrasyonu 100 mg/L olduğunda bu oran % 75.81± 0.36 oldu (Şekil 4.114B). Bu ortamlarda tek boya içeren ortamlara göre daha düşük lakkaz aktivitesi elde edildi.



**Şekil 4.114.** *F. trogii* peletlerinin R. Mavi 71, R. Mavi 198, R.Yeşil 19 ve A. Mavi 74'den oluşan sentetik atık suyun (SAS4) tekrarlı kesikli süreçte rengini giderim verimi ve lakkaz aktivitesi. Çalışma hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.82 g/50 ml, boya miktarı: **A**; 50mg/L, **B**; 100 mg/L.

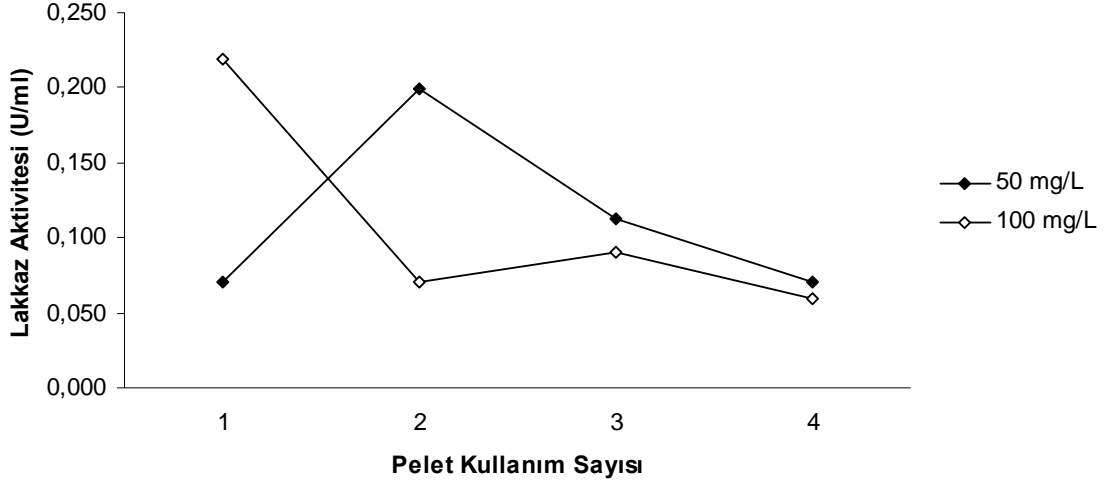
Çalışma ayrıca 6 boya içeren sentetik atık suyla da yapıldı. Bölüm 3.9.1'de belirtildiği gibi hazırlanan altı boyanın (SAS6) karışımından oluşan sentetik atık suyun renginin giderimi işlemlerinde iki farklı dalga boyunda renk ölçümü yapıldı. Mavi ve yeşil boya karışımı 613 nm'de en yüksek absorbansta neden olurken kırmızı boya karışımıyla 546 nm dalga boyunda yüksek absorbansta tespit edildi. Fungus içermeyen kontrol gruplarının spektrofotometrik analizleri sonucu SAS6'nın renk ölçümü her iki dalga boyunda yapıldı. Son konsantrasyon 50 mg/L olacak şekilde boya karışımı içeren SAS6'nın rengi *T. versicolor* peletleri ile ilk 24 saatte en düşük % 87 oranında giderilirken (Şekil 4.115A) boya miktarı artırıldığında bu oran en düşük % 67 oldu (Şekil 4.115B). 50 mg/l boya karışımı içeren SAS6'nın rengi *T. versicolor* peletleri

ile iki kez yüksek oranda (% 88.55±1.71 ve % 82.44±0.228) giderildi. Renk giderimi başlangıçta yüksek olmasına rağmen pelet kullanım sayısına bağlı olarak hızla düştü. Düşük boya konsantrasyonunda lakkaz aktivitesi peletlerin ikinci kullanımda en yüksek olurken daha sonraki kullanımlarda hızla düştü (Şekil 4.116).



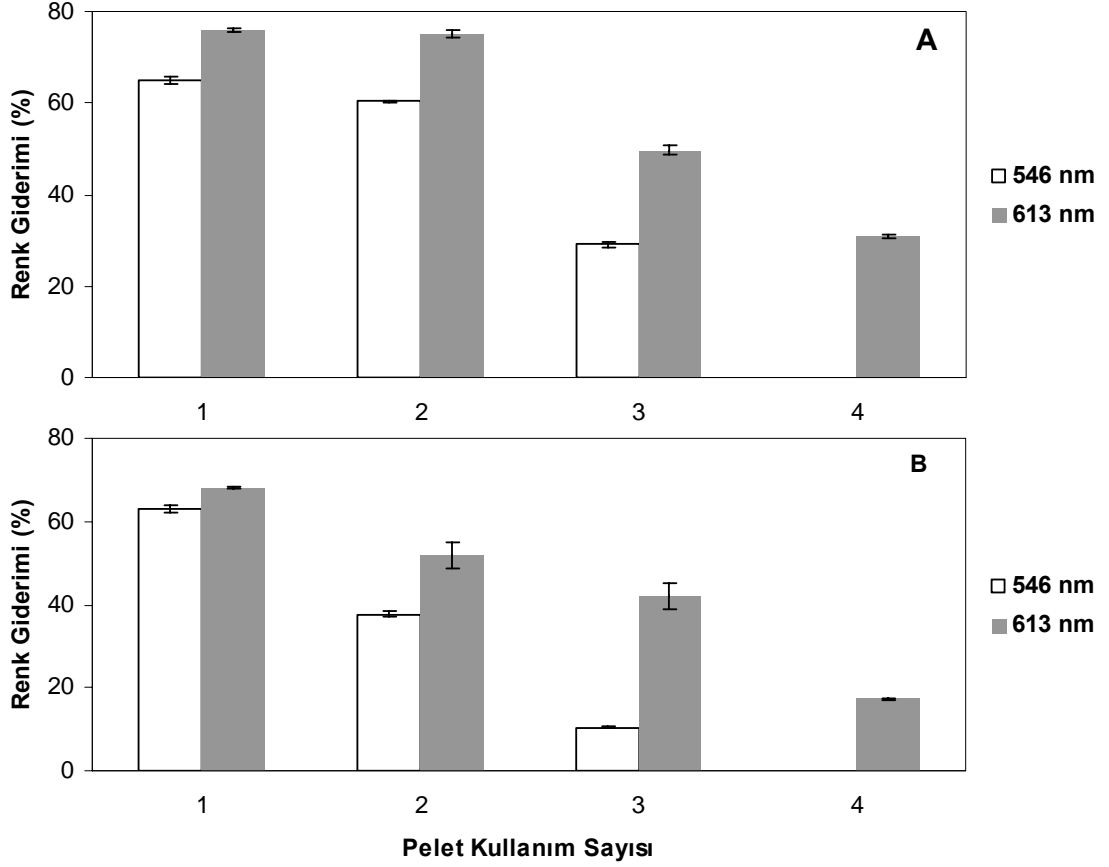
**Şekil 4.115.** *T. versicolor* peletlerinin R. Kırmızı 141, R. Kırmızı 120, R. Mavi 71, R. Mavi 198, R.Yeşil 19 ve A. Mavi 74'den oluşan sentetik atık suyun (SAS6) tekrarlı kesikli süreçte rengini giderim verimi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: **A**; 50mg/L, **B**; 100 mg/L.



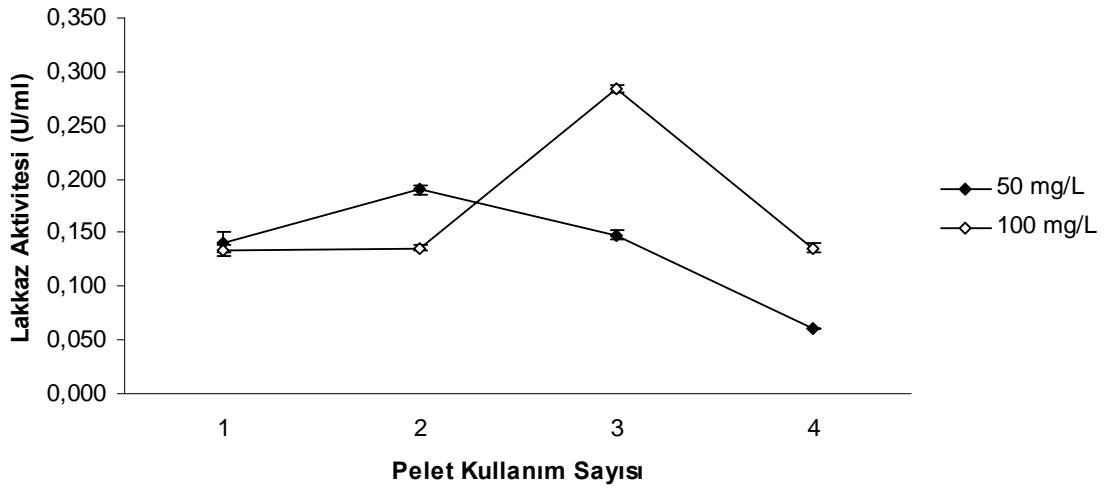


**Şekil 4.116.** R. Kırmızı 141, R. Kırmızı 120, R. Mavi 71, R. Mavi 198, R. Yeşil 19 ve A. Mavi 74'den oluşan sentetik atık suyun (SAS6) tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında *T. versicolor* peletlerinin lakkaz aktivitesi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50mg/L, 100 mg/L.

*F. trogii* peletlerinin SAS6'nın rengini giderim verimi genelde *T. versicolor*'dan daha düşüktür. 50 mg/l boya karışımı içeren (Şekil 4.117A) SAS6'nın rengi tekrarlı kesikli süreçte iki kez en düşük % 75 oranında giderilirken (613 nm'de) boya miktarı iki katına (Şekil 4.117B) çıkarılınca renk giderimi verimi % 60'lara düştü. 546 nm'de yapılan renk ölçümleri sonucunda elde renk giderimleri Reaktif diazo kırmızı boyalarının yeterince yıkılamamalarından dolayı daha düşük olduğu tespit edildi. Boya miktarının artışı fungus peletlerinin renk giderim veriminin düşmesine neden olmuştur. *F. trogii* peletlerinin renk giderim verimi *T. versicolor*'dan daha düşük olmasına rağmen lakkaz aktivitesinin daha yüksek olduğu saptandı (Şekil 4.118).



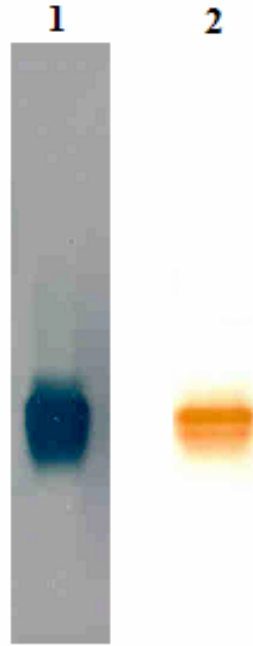
**Şekil 4.117.** *F. trogii* peletlerinin R. Kırmızı 141, R. Kırmızı 120, R. Mavi 71, R. Mavi 198, R. Yeşil 19 ve A. Mavi 74'den oluşan sentetik atık suyun (SAS6) tekrarlı kesikli süreçte rengini giderim verimi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: **A**; 50mg/L, **B**; 100 mg/L.



**Şekil 4.118.** Kırmızı 141, R. Kırmızı 120, R. Mavi 71, R. Mavi 198, R. Yeşil 19 ve A. Mavi 74'den oluşan sentetik atık suyun (SAS6) tekrarlı kesikli süreçte renk giderimi sırasında *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi. Çalkalama hızı: 150 rpm, sıcaklık: 30°C, pelet miktarı: 0.59 g/50 ml, boya miktarı: 50mg/L, 100 mg/L.

#### 4.6. Lakkaz Enziminin Elektroforetik Analizi

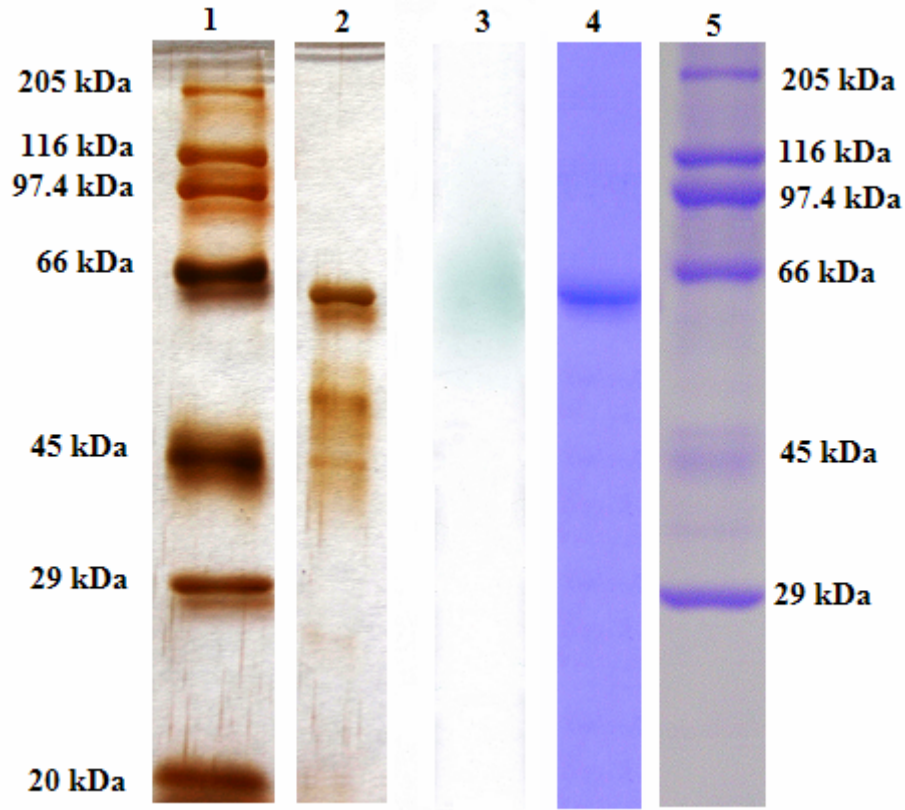
Çalışmamızın bu aşamasında farklı renk giderimi ortamlarından alınan örneklerde lakkaz enziminin elektroforetik özellikleri tespit edildi. Boyalı atık sular *T. versicolor* ve *F. trogii* peletleri ile muamele edildikten lakkaz aktivitesinin yüksek olduğu rengi giderilmiş atık su örnekleri toplam 4°C’de muhafaza edildi. Bölüm 3.14.3’de belirtildiği gibi konsantre edilen örnekler protein elektroforez işlemleri için hazırlandı. Örneklerin elektroforetik özellikleri hem doğal hem de SDS poliakrilamid jel elektroforezinde tespit edildi. Doğal poliakrilamid jel elektroforezi sonucunda yapılan aktivite boyamada *F. trogii*’ye ait lakkaz enziminin tek bantta ABTS ile reaksiyona girdiği görüldü. (Şekil 4.119).



**Şekil 4.119.** *F. trogii* lakkaz örneğinin doğal poliakrilamid jel elektroforezi sonrası aktivite boyama sonuçları. 1, ABTS ile aktivite boyama; 2, guaikol ile aktivite boyama

Aynı lakkaz örnekleri SDS poliakrilamid jel elektroforezinde de yürütüldü. Elektroforez sonrası protein bantları hem gümüş boyama hem de coomassie boyama ile boyandı. *F. trogii* lakkaz enzimine ait sadece bir protein bandı tespit edilmiştir. Lakkaz enziminin yaklaşık moleküler ağırlığı 61 kDa olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.120). Deveci vd. (2004) [193] ve Ünyayar vd. (2005) [194] SDS poliakrilamid jel

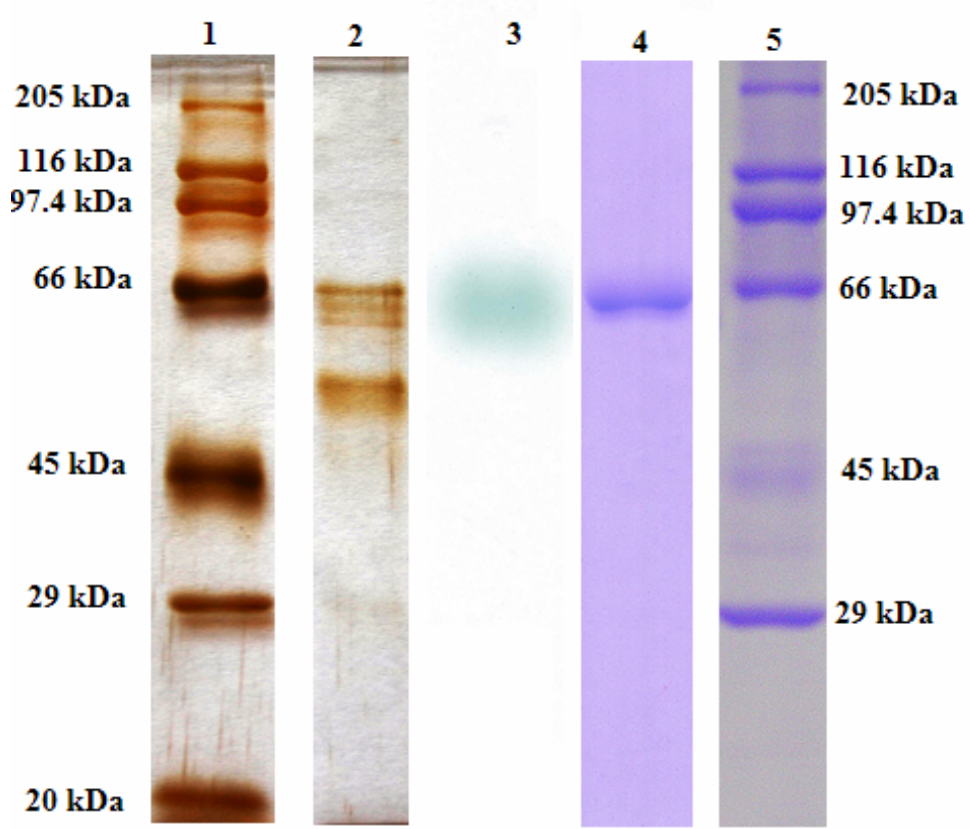
elektroforezi sonuçlarına göre *F. trogii* lakkaz enzimine ait yaklaşık 65 kDa ağırlığında tek bant tespit ettiklerini rapor etmiştir.



**Şekil 4.120.** *Funalia trogii* lakkaz örneklerinin SDS-Poliakrilamid jel elektroforez analizleri. 1, standart proteinler (gümüş boyama); 2, CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O ilave edilen renk giderimi ortamından alınan örnek (Gümüş boyama); 3, CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O ilave edilen renk giderimi ortamından alınan örneğin ABTS ile aktivite boyaması; 4, CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O ilave edilen renk giderimi ortamından alınan örnek (coomassie boyama); 5, standart proteinler (coomassie boyama)

SDS poliakrilamid elektroforez sonrası protein bantları hem gümüş boyama hem de coomassie boyama ile boyandı. Tutuklanmış *T. versicolor* peletlerle renk giderimi yapılan ortamdan alınan örnek gümüş boyamada yaklaşık 64 kDa ve 50 kDa büyüklüğünde iki bant halinde görülmüştür (Şekil 4.121). Bu bantların lakkaz enzimine ait olduklarının ispatlanabilmesi için yapılan aktivite boyama sonucunda sadece 64 kDa moleküler ağırlıkta olan *T. versicolor* lakkaz enziminin ABTS ile reaksiyona girdiği gözlenmiştir. Lorenzo vd. (2006) SDS poliakrilamid jel elektroforezi sonucunda tüm kültür koşullarından *T. versicolor* örneklerinde Lak I ve Lak II diye adlandırdığı moleküler ağırlıkları yaklaşık 60 ve 65 kDa olan iki farklı izoenzim içeren lakkaz enzimi bantları tespit ettiğini rapor etmiştir [195]. Bourbonnais vd. (1995) SDS

poliakrilamid jel elektroforezi sonucunda 67 (Lak I) ve 70 (Lak II) kDa ağırlığında iki bant tespit ettiğini ve Lak II enziminin spesifik aktivitesinin Lak I'den daha fazla olduğunu bildirmiştir [196].



**Şekil 4.121.** *Trametes versicolor* lakkaz örneklerinin SDS-Poliakrilamid jel elektroforez analizleri. 1, standart proteinler (gümüş boyama); 2, aljinat jel içerisine tutuklanmış *T. versicolor* peletlerinin RM 198'in rengini giderdiği ortamdan alınan örnek (Gümüş boyama); 3,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ilave edilen renk giderimi ortamından alınan örneğin ABTS ile aktivite boyaması; 4,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ilave edilen renk giderimi ortamından alınan örnek (coomassie boyama); 5, standart proteinler (coomassie boyama)

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Türkiye tekstil sanayinde hızla gelişip sektöründe büyük pazar paylarına sahip olan dünya devleri ile yarışır duruma gelmiştir. Ülkemizde pamuklu kumaş veya iplik boyama oldukça yaygındır. Reaktif azo ve indigo boyalar hem boyama aşamasında hem de boyama sonrası avantajlarından dolayı sıkça tercih edilmektedir. Ayrıca reaktif boyaların kimyasal yapıları kolaylıkla değiştirilip farklı oksokrom ve kromofor gruplar taşıyan yeni boyalar sürekli sentezlenmektedir. Boyaların renginin giderimi ile ilgili birçok çalışma olmasına rağmen, yaptığımız çalışma farklı kimyasal yapılardaki tekstil boyalarının renginin çeşitli beyaz çürükçül fungus peletleri tarafından etkili bir şekilde gideriminin yapılabileceğini gösteren çalışmalardan biridir. Fungus peletleri ile yapılan çalışmaların sayısı çok sınırlı olmakla birlikte renk giderimi işlemlerinde kompleks besiyerleri kullanılmıştır. Bu açıdan çalışmamız boyalı ortamlara ek madde ilave etmeden hem serbest hem de tutuklanmış peletlerle tekrarlı kesikli süreçte çeşitli boyaların renginin giderildiği bir çalışmadır.

*T. versicolor* ve *F. trogii* peletlerinin miktarı artıkça RK 120, RK 141 ve RM 171'in renginin giderilebilirliği artarken, diğer boyaların rengi kullanılan tüm pelet miktarlarında yüksek oranda giderilebilmiştir. *P. chrysosporium* peletlerinin miktarı artıkça boyaların renginin giderilebilirliği artmıştır. RM 198, RM 171 ve A. Mavi 74'ün rengi *T. versicolor* ve *F. trogii* peletleri tarafından hem statik hem de çalkalamalı koşullarda başarıyla giderilmiştir.

Tekstil endüstrisinde sürekli yüksek miktarda boyalı atık su açığa çıkmaktadır. Yapılan birçok çalışmada boyaların renginin giderimi günlerle ifade edilen süreçlerde gerçekleşebilmiştir. Çalışmamızda *T. versicolor*, *F. trogii* ve *P. chrysosporium* peletleri ile RM 198 ve A. Mavi 74'ün rengi ilk iki saatte en düşük % 84 oranında başarıyla giderilmiştir. Fungus türlerine bağlı olarak RM 171 ve RY 19 boyalarının rengi de 12 saat gibi kısa bir sürede giderilirken, RK 141 ve RK 120'in rengi en iyi 24 saat içinde giderilmiştir. Bu sonuçlar tekstil endüstrisinde boyalı atık suların arıtımı için pratik işlemlerin geliştirilmesinde birçok avantajlar sunmaktadır.

Renk gideriminde en uygun sıcaklık olan 30°C *T. versicolor* ve *F. trogii*'nin optimum üreme sıcaklığıdır. Bu da çalışmalarda büyük kolaylık sağlamaktadır. Ayrıca uygulanan diğer sıcaklıklarda da yüksek renk giderimleri elde edilmiştir. Tekstil sanayinde açığa çıkan atık suyun sıcaklığı uygulama işlemlerine göre farklılık göstermektedir. Bu açıdan uygulanan sıcaklık ve elde edilen renk giderimi yüzdelerine

bakıldığında test edilen tüm sıcaklıklarda fungus peletlerinin boyaların rengini giderdiği tespit edilmiştir.

Başlangıç pH'sının tüm fungusların renk giderim aktivitesini değişen oranlarda etkilediği fakat genellikle bu etkinin sınırlı olduğu tespit edilmiştir. Başlangıç pH değerleri 3-10 olduğu durumlarda renk giderimi veriminin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızın sonucunda ortamın başlangıç pH'sının işlem öncesi ayarlanmasının gerekli olmadığı gözlenmiştir. Böylece pH ayarlama işlemleri için ortama ayrıca kimyasal madde eklenmemesi büyük bir avantajdır.

Tekrarlı kesikli süreçte ortama ek madde ilave edilmeden RK 141 ve RK 120'nin rengi daha az giderilirken, özellikle RM 198 ve A. Mavi 74'ün rengi uzun bir süre ve kararlı bir şekilde giderilebilmiştir. *P. chrysosporium* peletleri boyayı daha fazla adsorbe ettiğinden, peletlerin ilk kullanımda renk giderimi verimi yüksekken peletlerin boyayı adsorbe etme kapasiteleri ikinci ve üçüncü kullanımlarda azaldığından renk giderim verimlerinin de hızla düştüğü tahmin edilmektedir.

Tekrarlı kesikli süreçte, *T. versicolor* peletleri ile RM 171, RM 198 ve RM 19'un rengi en iyi ortama melas, glukoz ve bakır ilave edildiğinde giderilirken, en yüksek lakkaz aktivitesi 5 g/L melas ilave edilen ortamda tespit edilmiştir. Ayrıca melas eklenen ortamda boyaların rengi *T. versicolor* peletleri ile 20 kez başarıyla giderilmiştir. Melas eklenmiş ortamlarda peletlerin 20 gün boyunca ortalama % 93 oranında renk giderim verimlerini sürdürmeleri oldukça önemlidir. Peynir altı suyu ilave edilen ortamlarda kontrol grubuna göre başlangıçta yüksek renk giderimi verimleri elde edilmesine rağmen peletlerin tekrarlı kullanımına bağlı olarak renk giderimi verimi hızla düşmüştür. A. Mavi 74'ün rengi test edilen tüm ortamlarda kolaylıkla ve uzun süre aynı peletlerle giderilebilmiştir. Aynı peletlerin tekrarlı-kesikli işlemler boyunca tekrar tekrar kullanılabilmesi yöntemin pratik ve uygulanabilir olduğunu göstermektedir. *F. trogii* peletleri ile A. Mavi 74'ün rengi en iyi bakır sülfat eklenen ortamlarda giderilmiştir. Bakırlı ortamda *F. trogii* peletlerinin lakkaz aktivitesi A. Mavi 74 boyasının renginin ikinci kez gideriminde çalışma boyunca elde edilen en yüksek değere ulaşmasına rağmen boyanın üçüncü kez renginin gideriminden sonra hızla düşmüştür. *F.trogii* peletleri RM 171, RM 198 ve RY 19'un rengini de ortama Bakır sülfat eklendiğinde 10 kez başarıyla giderirken, RM 198'in renginin glukoz içeren ortamda da yüksek oranda giderildiği tespit edilmiştir. Ortama pepton ve maya özütü ilave edildiğinde ek madde ilave edilmeyen ortamlara göre peletlerin lakkaz aktivitesi artmasına rağmen, renk giderimi verimi önemli düzeyde artmamıştır. Lakkaz aktivitesi

ile renk giderimi arasında sıkı bir ilişki bulunamamıştır. *T. versicolor* ve *F. trogii* kullanılan çalışmalarda renk giderimi mekanizması inkübasyonun ilk saatlerinde hem biyosorpsiyon hem de biyolojik yıkım olarak gerçekleşirken inkübasyon süresince renk gideriminin biyolojik yıkımla gerçekleştiği tespit edilmiştir. *P. chrysosporium* peletlerinin diğer funguslara göre boyayı peynir altı suyu içeren ortamlar hariç daha fazla adsorbe ettiği gözlenmiştir.

Aktif karbona ve çam kozalağına tutuklanmış peletlerin toplam renk giderim verimi serbest peletlere göre daha azdır. Sadece aljinat içerisine tutuklanmış *F. trogii* ve *P. chrysosporium*, RM 198 ve A. Mavi 74'ün rengini serbest peletlere göre daha iyi giderdiği için serbest pelet kullanımının maliyet ve üretim açısından daha avantajlı olduğu saptanmıştır.

Boyaların belli oranlarda karışımı sonucu elde edilen sentetik atık suyun rengi *T. versicolor* ve *F. trogii* peletleri ile ortama ek madde ilave edilmeden en az iki kez başarıyla giderilmiştir.

Çalışmamızda renklerinin giderebilirliği araştırılan reaktif azo boyalar Türkiye'de tekstil sanayinde sıkça kullanılan boyalardır. Fakat mevcut arıtım sistemlerindeki aktif çamur ünitelerinde atık suların rengi tam olarak giderilememektedir. Türkiye'de atık su deşarj standartlarında hala renkle ilgili standartlar bulunmamaktadır. Rengin tam olarak giderimi atık su arıtma işlemlerinde en son basamakta uygulanan fiziko-kimyasal işlemlerle olabilmektedir. Bu işlem için çok fazla kimyasal tüketilip su içinde çözülmüş olan boya çöktürüldükten sonra katı atık haline dönüştürülmektedir. Tekstil atık sularının arıtımı için önerdiğimiz biyoteknolojik yöntem mevcut geleneksel arıtım sistemleri ile birlikte uygulandığında büyük kolaylıklar sağlayabilecektir. Bunun gerçekleştirilmesi için öncelikle laboratuvar ölçekli çalışmalarda beyaz çürükçül funguslar, kimyasal yapıları farklı birçok boya ile farklı ortam şartlarında muamele edilerek renk giderimi verimleri ve endüstriyel ölçekte uygulanabilirliği araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarımız, önerdiğimiz yöntemin yapılacak ek çalışmalarla ileri dönemlerde endüstriyel boyuta uygulanabilir hala gelebileceğini göstermektedir.



## 6. KAYNAKLAR

- [1] <http://www.canaktan.org/yenitrendler/globalsorunlar/cevre.htm>.
- [2] Recep Akdur, Avrupa Birliği ve Türkiye’de Çevre koruma politikaları, Ankara Üniversitesi Avrupa Toplulukları Araştırma ve Uygulama Merkezi Araştırma Dizisi:23, Ankara Üniversitesi Basımevi 2005 sayfa:11-17.
- [3] Türkiye’nin Çevre Sorunları’99-Türkiye Çevre Vakfı Yayınları No:131 Aralık 1998 Sayfa 75.
- [4] F. O. Kocaer, U. Aklan, *Boyar madde içeren Tekstil Atık sularının Arıtım Alternatifleri*, **Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi**, 7:1 (2002) 47-55.
- [5] V. M. Correia., T. A. Stephonson, S.J. And Judd, *Characterisation of textile wastewaters-A review*, **Environ Technol**, 15 (1994) 917-929.
- [6] V.M. Correia, T.A. Stephonson and S.J. Judd, *Characterisation of textile wastewaters-A review*, **Environ Technol**, 15 (1994) 917-929.
- [7] A.B. Santos, F.J. Cervantes and J.B. Lier, *Review paper on current Technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology*, **Bioresource Technol**, (2007) baskıda.
- [8] J. Chen, Q. Wang, Z. Hua, G. Du, *Research and application of biotechnology in textile industries in China*, **Enzyme and Microbiology**, (2007) baskıda
- [9] M. Çalışkan, M. Değirmenci ve F. Çiner, *Kot boyama tekstil atık suyunda kalıcı KOI’nin belirlenmesi*, **DEÜ Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi**, 4:1 (2002) 1-9.
- [10] Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği, Resmi Gazete: 31.12.2004 tarih ve 25687 sayı Çevre ve Orman Bakanlığından Dayandığı Kanun:09.08.1983 – 2872 ve 01.05.2003 – 4856.
- [11] J.A. Kiernan, *Classification and naming of dyes, stains and fluorochromes*, **Biotech Histochem**, 76:5-6 (2001) 261-277.
- [12] D. Wesenberg, I. Kyriakides and S.N. Agathos, *White rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents*, **Biotechnol Adv**, 22 (2003) 161-167.
- [13] F.P. Zee and S. Villaverde, *Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes-A short reveiw of bioreactor studies*, **Water Res**, 39 (2005) 1425-1440.
- [14] F.P. Zee, *Anaerobic azo dye reduction*, Doctoral Thesis, Wageningen University, The Netherlans, 2002.
- [15] H.S. Rai, M.S. Bhattacharya, J. Singh, T.K. Bansal, P. Vats and U.C. Banerjee, *Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: A review of emerging techniques with reference to biological treatment*, **Crit Rev Env Sci Tec**, 35 (2005) 219-238.
- [16] Y. Ishikawa, T. Ekser and A. Leder, *Chemical economics handbook: dyes*. **Menlo Park (CA): SRI Chemical and Health Business Services**, 2000.
- [17] H. Zollinger, *Syntheses, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments*, **Color Chem**, VCH Publishers, Inc., New York, USA, 1991.
- [18] C. Wang, A. Yediler, D. Lienert, Z. Wang and A. Kettrup, *Toxicity evaluation of Reactive dyestuffs, auxiliaries and selected effluents in textile finishing industry to luminescent bacteria *Vibrio fischeri**, **Chemosphere** 46 (2002) 339-344.
- [19] Y. Fu and T. Viraraghan, *Fungal decolorization o dye wastewaters: a review*, **Bioresource Technol**, 79 (2001) 251-262.
- [20] K. Harazono and K. Nakamura, *Decolorization of mixtures of different reactive textile dyes by the white-rot basidiomycete *Phanerochaete sordida* and inhibitory effect of polyvinyl alcohol*, **Chemosphere**, 59:1 (2004) 63-68.

- [21] Y. Anjaneyulu, N.S. Chary and D.S.S. Raj, *Decolorization of industrial effluents-available methods and emerging technologies- a review*, **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology** 4 (2005) 245-273.
- [22] C. O'Neill, F.R. Hawkes, D.L. Hawkes, N.D. Lourenço, H.M. Pinheiro and W. Dele, *Colour in textile effluents-sources, measurement, discharge consents and simulation: a review*, **J Chem Technol Biot**, 74 (1999) 1009-1018.
- [23] D.T. Sponza and M. Işık, *Toxicity and intermediates of C.I. Direct Red 28 dye through sequential anaerobic/aerobic treatment*, **Process Biochem**, 40 (2005) 2735-2744.
- [24] **The Chemistry of synthetic dyes and pigments kitabı 96-111. BUUUUULLLL**
- [25] B. Manu and S. Chaudhari, *Decolorization of indigo and azo dyes in semicontinuous reactors with long hydraulic retention time*, **Process Biochem**, 38 (2003) 1213-1221.
- [26] J.R. Aspland, *Textile dyeing and coloration*, **American Society of Textile Chemists and Colorists**, (1997) NC, USA.
- [27] M.I. Beydilli, *Reductive biotransformation and decolorization and decolorization of reactive dyes*, Doctoral Thesis, Georgia Institute of Technology, USA, 2001.
- [28] O.J. Hao, H. Kim and P.C. Chiang, *Decolorization of wastewater*, **Crit Rev Env Sci Tec**, 30:4 (2000) 449-505.
- [29] Decolorization of wastewater ve J.A. Libra, M. Borchet, L. Vigelahn and T. Storm, *Two stage biological treatment of a diazo reactive textile dye and the fate of the dye metabolites*, **Chemosphere**, 56 (2004) 167-180.
- [30] Z. Aksu, *Reactive dye bioaccumulation by Saccharomyces cerevisiae*, **Process Biochem**, 38 (2003) 1437-1444.
- [31] Z. Aksu and G. Dönmez, *Combined effects of molasses and Reactive dye on the growth and dye bioaccumulation properties of Candida tropicalis*, **Process Biochem** 40 (2005) 2443-2454.
- [32] W.J. Epolito, Y.H. Lee, L.A. Bottomley and S.G. Pavlostathis, *Characterization of textile anthraquinone dye Reactive Blue 4*, **Dyes Pigments**, 67 (2005) 35-46.
- [33] E. Forgacs, T. Cserhati and G. Oros, *Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review*, **Environ Int**, 30 (2004) 953-971.
- [34] H.S. Rai, S. Singh, P.P.S. Cheema, T.K. Bansaf and U.C. Banerjee, *Decolorization of triphenylmethane dye-batch effluent in an integrated two-stage anaerobic reactor*, **J Environ Manage**, 83 (2007) 290-297.
- [35] M. Gavrilescu and Y. Chisti, *Biotechnology –a sustainable alternative for chemical industry*, **Biotechnol Adv**, 23 (2005) 471-479.
- [36] <http://turk.internet.com/haber/yazigoster.phpyaziid=9265>.
- [37] D. Schlosser, R. Grey and W. Fritsche, *Patterns of ligninolytic enzymes in Trametes versicolor. Distribution of extra- and intracellular enzyme activities during cultivation on glucose, wheat straw and beech wood*, **Appl Microbiol Biotechnol**, 47 (1997) 412-418.
- [38] T.K. Kirk and D. Cullen, *Enzymology and molecular genetics of wood degradation by white rot fungi*, **Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry**, (1998) 273-307.
- [39] T. Mester and M. Tien, *Oxidation mechanism of ligninolytic enzymes involved in the degradation of environmental pollutants*, **Int Biodeter Biodegr**, 46 (2000) 51-59.
- [40] K. Ikehata, I.D. Buchanan and D.W. Smith, *Recent developments in the production of extracellular fungal peroxidases and laccases for waste treatment*, **J Environ Eng Sci**, 3 (2004) 1-19.

- [41] J. Swamy and J. Ramsay, *Effects of glucose and  $NH_4^+$  concentrations on sequential dye decoloration by *Trametes versicolor**, **Enzyme Microb Technol**, 25 (1999) 278-284.
- [42] T. Robinson, G. McMullan, R. Marchant and P. Nigam, *Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative*, **Bioresource Technol**, 77 (2001) 2101-2111.
- [43] K. Rojek, F.A. Roddick and A. Parkinson, *Decolorisation of natural organic matter by *Phanerochaete chrysosporium*: the effect of environmental conditions*, **Water Sci Technol: Water Supply**, 4:4 (2004) 175-182.
- [44] A.M. Mayer and R.C. Staples, *Laccase: new functions for an old enzyme*, **Photochemistry**, 60 (2002) 551-565.
- [45] A. Leonowicz, N.S. Cho, J. Luterek, A. Wilkolazka, M.W. Wasilewska, A. Matuszewska, M. Hofrichter, D. Wesenberg and J. Rogalski, *Fungal laccase: properties and activity on lignin*, **J Basic Microbiol**, 41:3-4 (2001) 185-227.
- [46] M. Wolter, F. Zadrazil, R. Martens and M. Bahadir, *Degradation of eight highly condensed polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pleurotus sp. Florida* in solid wheat straw substrate*, **Appl Microb Biot**, 48 (1997) 398-404.
- [47] H.G. Song, *Comparison of pyrene biodegradation by white rot fungi*, **World J Microb Biot**, 15 (1999) 669-672.
- [48] M. Matsubara, J.M. Lynch, F.A.A.M. Leji, *A simple screening procedure for selecting fungi with potential for use in the bioremediation of contaminated land*, **Enzyme and Microb Technol** 39 (2006) 1365-1372.
- [49] L. Valentin, T.A. Lu-Chau, C. Lopez, G. Feijoo, M.T. Moreira and J.M. Lema, *Biodegradation of dibenzothiophene, fluoranthene, pyrene and chrysene in a soil slurry reactor by the white rot fungus *Bjerkandera sp. BOS55**, **Process Biochem**, 42 (2007) 641-648.
- [50] H.Y. Kim and H.G. Song, *Transformation and mineralization of 2,4,6-trinitrotoluene by the white rot fungus *Irpex lacteus** **Appl Microb Biot**, 61 (2003) 150-156.
- [51] T.A. Lewis, D.A. Newcombe and R.L. Crawford, *Bioremediation of soils contaminated with explosives*, **J Environ Manage** 70 (2004) 291-307.
- [52] G.S. Nyanhongo, S.R. Couto and G.M. Guebitz, *Coupling of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) metabolites onto humic monomers by a new laccase from *Trametes modesta**, **Chemosphere**, 64 (2006) 359-370.
- [53] J.S. Yadav, C. Bethea and C.A. Reddy, *Mineralization of trichloroethylene (TCE) by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium**, **Bull Env Contam Toxicol** 65 (2000) 28-34.
- [54] H. Zourai, M. Labat and S. Sayadi, *Degradation of 4-chlorophenol by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* in free and immobilized cultures*, **Bioresource Technol**, 84 (2002) 145-150.
- [55] A.A. Leontievsky, N.M. Myasoedova, L.A. Golovleva, M. Sedarati and C.S. Evans, *Adaptation of the white-rot basidiomycete *Panus tigrinus* for transformation of high concentrations of chlorophenol*, **Appl Microb Biot.**, 59 (2002) 599-604.
- [56] S.B. Pointing, *Feasibility of bioremediation by white rot fungi*, **Appl Microb Biot**, 57 (2001) 20-33.
- [57] M. Moeder, T. Cajthaml, G. Koeller, P. Erbanova and V. Sasek, *Structure selectivity in degradation and translocation of polychlorinated biphenyls (*Delor 103*) with a *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) culture*, **Chemosphere**, 61 (2005) 1370-1378.

- [58] I. Kamei, S. Sonoki, K. Haraguchi and R. Kondo, *Fungal bioconversion of toxic polychlorinated biphenyls by white-rot fungus, Phlebia brevispora*, **Appl Microb Biot.**, 73 (2006) 932-940.
- [59] M. Shin, T. Nguyen and J. Ramsay, *Evaluation of support materials for the surface immobilization and decoloration of amaranth by Trametes versicolor*, **Appl Microb Biot.**, 60 (2002) 218-223
- [60] I.K. Kapdan, F. Kargi, G. McMullan and R. Marchant, *Comparison of white-rot fungi cultures for decolorization of textile dyestuffs*, **Bioproc Eng**, 22 (2000) 347-351.
- [61] V. Shah and F. Nerud, *Lignin degrading system of white-rot fungi and its exploitation for dye decolorization*, **Can J Microb**, 48:10 (2002) 857-870
- [62] G. Bitton, *Wastewater Microbiology*, Wiley-Liss Publication, USA, (1994) 333-340.
- [63] C. Wang, A. Yediler, D. Lienert, Z. Wang and A. Kettrup, *Toxicity evaluation of reactive dyestuffs, auxiliaries and selected effluents in textile finishing industry to luminescent bacteria Vibrio fischeri*, **Chemosphere**, 46 (2002) 339-344
- [64] R. Margesin and F. Schinner, *Bioremediation (Natural attenuation and biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an Alpine Glacier Skiing Area*, **Appl Environ Microb**, 67:7 (2001) 3127-3133.
- [65] A. Stolz, *Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes*, **Appl Microb Biot**, 56 (2001) 69-80.
- [66] M. Gavril, *Biodegradation of Amaranth by the white-rot fungus Trametes versicolor*, Doctoral Thesis, University of Queen, Ontario, Canada 2005.
- [67] B. Manu and S. Chaudhari, *Decolorization of indigo and azo dyes in semicontinuous reactors with long hydraulic retention time*, **Process Biochem** 38 (2003) 1213-1221
- [68] N. Wilmott, J. Guthrie and N. Gordon, *The biotechnology approach to colour removal from textile effluent*, **Journal of the Society of Dyers and Colourists**, 114 (1998) 38-41.
- [69] C. Cripps, J.A. Bumpus and S.D. Aust, *Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by Phanerochaete chrysosporium occurs under ligninolytic as well as nonligninolytic conditions*, **Appl Environ Microb**, 56 (1990) 1114-1118.
- [70] A. Paszczyński, M.B. Pasti, S. Goszczyński, D.L. Crawford and R.L. Crawford, *New approach to improve degradation of recalcitrant azo dyes by Streptomyces spp. And Phanerochaete chrysosporium*, **Enzyme Microb Technol**, 13:5 (1991) 378-384.
- [71] J. Swamy and J.A. Ramsay, *The evaluation of white rot fungi in the decoloration of textile dyes*, **Enzyme Microb Technol**, 24 (1999) 130-137.
- [72] A.J. Libra, M. Borchet and S. Banit, *Competition of strategies for decolorization of a textile-reactive dye with the white rot fungi Trametes versicolor under non-sterile conditions*, **Biotechnol Bioeng**, 82:6 (2003) 736-744.
- [73] M. Mohorcic, S. Teodorovic, V. Golob and Friedrich, *Fungal and enzymatic decolourisation of artificial textile dye baths*, **Chemosphere**, 63 (2006) 1709-1717.
- [74] J.T. Spadaro, M.H. Gold and V. Renganathan, *Degradation of azo dyes by lignin-degrading fungus Phanerochaete chrysosporium* **Appl Environ Microb**, 58:8 (1992) 2397-2401.
- [75] H. Cao, *Decolorization of textile dyes by white rot fungi*, Doctoral Thesis, China Textile University, China 1997.
- [76] A. Uygur, *An overview of oxidative and photooxidative decolorisation treatment of textile waste waters*, **Journal of Society of Dyers and Colourists**, 113 (1997) 211-217.
- [77] A. Pandey, P. Singh and L. Iyengar, *Bacterial decolorization and degradation of azo dyes*, **Int Biodeter Biodegr**, 2007 (baskıda).

- [78] C.M. Cariell, S.J. Barclay and C.A. Bukley, *Treatment of exhausted reactive dye bath effluent using anaerobic digestion: laboratory and full scale trials*, **Water S.A.**, 21 (1996) 225-233.
- [79] S. Şen, G.N. Demirer, *Anaerobic treatment of real textile wastewater with a fluidized bed reactor*, **Water Res**, 37 (2003) 1868-1878.
- [80] B.Y. Chen, *Understanding decolorization characteristics of reactive azo dyes by *Pseudomonas luteola*: toxicity and kinetics*, **Process Biochem**, 38 (2002) 437-446.
- [81] W. Delee, C. O'Neill, F.R. Hawkes and H.M. Pinheiro, *Anaerobic treatment of textile effluents: a review*, **J Chem Technol Biot**, 73(1998) 323-335.
- [82] N. Yemashova, A. Telegina, I. Kotova, A. Netrusov and S. Kalyuzhnyi, *Decolorization and partial degradation of selected azo dyes by methanogenic sludge*, **Appl Biochem Biotech**, 119:1 (2004) 31-40.
- [83] N.Yemashova, A. Telegina, I. Kotova, A. Netrusov; S. Kalyuzhnyi, *Decolorization and partial degradation of selected azo dyes by methanogenic sludge*, **Appl Biochem Biotech**, 119:1 (2004) 31-40.
- [84] J.J. Plumb, J. Bell and D.C. Stuckey, *Microbial populations associated with treatment of and industrial dye effluent in an anaerobic baffled reactor*, **Appl Environ Microb**, 67:7 (2001) 3226-3235. (ana bell farklı 2001).
- [85] S. Chinwtkitvanich, M. Tuntoolvset and T. Panswad, *Anaerobic decolorization of reactive of reactive dyebath effluents by a two-stage UASB system with tapioca as a co-substrate*, **Water Res**, 34:8 (2000) 2223-2232. (Anachin)
- [86] I.K. Kapdan and R. Oztekin, *Decolorization of textile dyestuff Reactive Orange 16 under anaerobic condition*, **Enzyme Microb Technol** 33 (2003) 231-235
- [87] I.K. Kapdan, M. Tekol and F. Sengul, *Decolorization of stimulated textile wastewater in an anaerobic-aerobic sequential treatment system*, **Process Biochem**, 38 (2003) 1031-1037.
- [88] C. Maximo, M.T.P. Amorim and M.C.Ferria, *Biotransformation of industrial Reactive azo dyes by *Geotrichum sp.* CCM1 1019*, **Enzyme Microb Technol** 32 (2003) 145-151
- [89] K.T. Chung, S.E. Stewans and E.C. Carniglia, *The reduction of azo dyes by intestinal microflora*, **Crit Rev Microbiol**, 18 (1992) 175-190.
- [90] J.S. Knapp and P.S. Newby, *The microbiological decolorization of an industrial effluent containing a diazo-linked chromophore*, **Water Res**, 7 (1995) 1807-1809.
- [91] J.A. Libra, M. Borchet, L. Vigelahn and T. Storm, *Two stage biological treatment of diazo reactive textile dye and the fate of the dye metabolites*, **Chemosphere**, 56 (2004) 167-180.
- [92] F.P. Van der Zee, G. Lettinga and J.A. Field, *Azo dye decolourisation by anaerobic granular sludge*, **Chemosphere**, 44 (2001) 1169-1176.
- [93] E. Razo-Flores, M. Luijten, B.A. Donlon, G. Lettinga and J.A. Field, *Complete biodegradation of azo dye azodisalicylate under anaerobic conditions*, **Environ Sci Technol**, 31:7 (1997) 2098-2103
- [94] L. Fu, X. Wen, L. Xu and Y. Qian, *Removal of copper-phthalocyanine dye from wastewater by acclimated sludge under anaerobic or aerobic conditions*, **Process Biochem**, 37 (2002) 1151-1156.
- [95] R. Bras, M.I.A. Ferra, H.M. Pinheiro and I.C. Gonçalves, *Batch tests for assessing decolourisation of azo dyes by methanogenic and mixed cultures*, **J Biotechnol**, 89 (2001) 155-162.
- [96] K.I. Kapdan, F. Kargi, G. McMullan and R. Marchant, *Decolorization of textile dyestuff by an anaerobic bacterial consortium*, **Biotechnol Lett**, 22:14 (2000) 1179-1181.

- [97] A.Cruz and G. Buitron, *Biodegradation of Disperse blue 79 using sequenced anaerobic/aerobic biofilters*, **Water Sci Technol**, 44:4 (2001) 159-166.
- [98] R.M. Melgoza, A. Cruz, and G. Buitron, *Anaerobic/aerobic treatment of colorants present in textile effluents*, **Water Sci Technol**, 50:2 (2004) 149-155.
- [99] N. Supaka, K. Juntongjin, S. Damrongled, M.L. Delia and P. Strehaiano, *Microbial decolorization of Reactive azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system*, **Chemical Eng J**, 99 (2004) 169-176.
- [100] I.K. Kapdan and S. Alparslan, *Application of anaerobic-aerobic sequential treatment system to real textile wastewater for color and COD removal*, **Enzyme Microb Technol**, 36 (2005) 273-279.
- [101] M. Işık and D.T. Sponza, *Biological treatment of acid dyeing wastewater using a sequential anaerobic/aerobic reactor system*, **Enzyme Microb Technol**, 38 (2006) 887-892.
- [102] D.T. Sponza and M. Işık, *Toxicity and intermediates of C.I. Direct Red 28 dye through sequential anaerobic/aerobic treatment*, **Process Biochem**, 40 (2005) 2735-2744.
- [103] C.T.M.J. Frijters, R.H. Vos, G. Scheffer and R. Mulder, *Decolorizing and detoxifying textile wastewater, containing both soluble and insoluble dyes, in a full scale combined anaerobic/aerobic system*, **Water Res** 40 (2006) 1249-1257.
- [104] J.A. Field, A.J.M. Kato and G. Schraa, *Enhanced biodegradation of aromatic pollutants in cocultures of anaerobic and aerobic bacterial consortia*, **Antonie van Leeuwenhoek**, 67 (1995) 47-77.
- [105] M.T. Madigan, J.M. Martinko and J. Parker, *Brock Microbiology of Microorganisms*, 10. baskı Prentice-Hall Inc. Simon&Schuster/A Viacom Company, New Jersey, ABD Sayfa 597.
- [106] C.V. Nachiyar and G.S. Rajkumar, *Degradation of tannery and textile dye, Navitan Fast Blue S5R by Pseudomonas aeruginosa*, **W J Microb Biot**, 19 (2003) 609-614.
- [107] T. Zimmerman, H. Kulla and T. Leisinger, *Properties of purified orange II-azoreduktase, the enzyme initiating azo dye degradation by Pseudomonas KF46*, **Eur J Biochem**, 129 (1982) 197-203.
- [108] H.G. Kulla, F. Klausener, O. Meyer, O. Ludeke and T. Leisinger, *Interference of aromatic sulfo groups in the microbial degradation of the azo dyes orange I and Orange II*, **Arch of Microbiol**, 135 (1983) 1-7.
- [109] S. Blumel, M. Contzen, M. Lutz, A. Stolz and H.J. Knackmuss, *Isolation of a bacterial strain with the ability to utilize the sulfonated azo compound 4-carboxy-4'-sulfoazobenzene as sole source of carbon and energy*, **Appl Environ Microb**, 64:6 (1998) 2315-2317.
- [110] M.F. Coughlin, B.K. Kinkle and P.L. Bishop, *Degradation of azo dyes containing amino naphthol by Sphingomonas sp. strain ICX*, **World J Industrial Microbiology and Biotechnology** 23 (1999) 341-346.
- [111] O. Adedayo, S. Javadpour, C. Taylor, W.A. Anderson and M.M. Young, *Decolourization and detoxification of methyl red by aerobic bacteria from a wastewater treatment plant*, **World J Microb Biot**, 20 (2004) 545-550.
- [112] H.S. Rai, S. Singh, P.P.S. Cheema, T.K. Bansal and U.C. Banerjee, *Decolorization of triphenylmethane dye-batch effluent in an integrated two-stage anaerobic reactor*, **J of Environ Manage**, 83 (2007) 290-297.
- [113] W. Azmi and U. Banerjee, *Biodegradation of triphenylmethane dyes by the growing and resting cells of Bacillus sp*, **Indian J Environ Ecoplan**, 2 (1999) 241.

- [114] F.M. Zhang, J.S. Knapp and K.N. Tapley, *Decolorisation of cotton bleaching effluent with wood rotting fungus*, **Water Res.**, 33:4 (1999) 919-928
- [115] N. Duran, M.A. Rosa, A.D. Annibale and L. Gianfreda, *Applications of laccases and tyrosinases (phenoloxidase) immobilized on different supports: a review*, **Enzyme and Microb Technol**, 31 (2002) 907-931.
- [116] E. Abadulla, T. Tzanov, S. Costa, K.H. Robra, P.A. Cavaco and G.M. Guebitz, *Decolorization and detoxification of textile dyes with a laccase from *Trametes hirsuta**, **Appl Environ Microb**, 66 (2000) 3357-3362.
- [117] M. Chivukula and V. Renganathan, *Phenolic azo dye oxidation by laccase from *Pyricularia oryzae**, **Appl Environ Microb** 61 (1995) 4374-4377.
- [118] J.K. Glenn and M.H. Gold, *Decolorization of several polymeric dyes by lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium**, **Appl Environ Microb**, 45:6 (1983) 1741-1747.
- [119] Y. Wong and J. Yu, *Laccase-catalyzed decolorization of synthetic dyes* **Water Res.** 33:16 (1999) 3512-3520.
- [120] O. Yesilada and B. Özcan, *Decolorization of Orange II with crude culture filtrate of white rot fungus, *Corioulus versicolor**, **Tr. J. of Biology**, 22 (1998) 463-476.
- [121] S. Kahraman and O. Yesilada, *Industrial and agricultural wastes as substrates for laccase production by white rot fungi*, **Folia Microbiol** 46:2 (2001) 133-136.
- [122] C. Park, J.S. Lim, Y. Lee, B. Lee, S.W. Kim, J. Lee and S. Kim, *Optimization and morphology for decolorization of Reactive black 5 by *Funalia trogii**, **Enzyme Microb Technol**, (2007) Baskıda.
- [123] O. Yesilada, S.Cing and D.Aasma, *Decolourisation of textile dye Astrazon Red FBL by *Funalia trogii* pellets*, **Biores Technol**, 81 (2002) 155-157.
- [124] O. Yesilada, K. Fiskin and E. Yesilada, *The use of white rot fungus *Funalia trogii* (Malatya) for decolourization and phenol removal from olive mill wastewater*, **Environ Technol**, 16 (1995) 95-100.
- [125] J.S. Knapp, F. Zhang and K.N. Tapley, *Decolourisation of Orange II by a wood-rotting fungus*, **J Chem Tech Biotechnol**, 69 (1997) 289-296.
- [126] F. Rigas and V. Dritsa, *Decolourisation of a polymeric dye by selected fungal strains in liquid cultures*, **Enzyme Microb Technol**, 39:1 (2006) 120-124.
- [127] Y. Miao, *Biological remediation of dyes in textile effluent: a review on current treatment technologies*, **Colours in Dyehouers Effluent, Society of Dyers and Colourists**, (2003) 9-21.
- [128] M. Shahvali, M.M. Assadi and K. Rostami, *Effect of environmental parameters on decolorization of textile wastewater using *Phanerochaete chrysosporium**, **Bioprocess Eng**, 23 (2000) 721-726.
- [129] K.V. Radha, I. Regupathi, A. Arunagiri and T. Murugesan, *Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics*, **Process Biochem**, 40 (2005) 3337-3345.
- [130] I.K. Kapdan, F. Kargi, G. MucMullan and R Marcchant, *Effect of environmental conditions on biological decolorization of textile dyestuff by *C. versicolor**, **Enzyme Microb Technol** 26 (2000) 381-387.
- [131] T. Robinson, B. Chandran and P. Nigam, *Studies on the production of enzymes by white-rot fungi for the decolourisation of textile dyes*, **Enzyme Microb Technol**, 29 (2001) 575-579.
- [132] M. Adosinda, M. Martins, I.C. Ferreria, I.M. Santos, M.J. Queiroz and N. Lima, *Biodegradation of bioaccessible textile azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium**, **J Biotechnol**, 89 (2001) 91-98.

- [133] M. Adosin, M. Martins, N. Lima, A.J.D. Silvestre and M.J. Queiroz, *Comparative studies of fungal degradation of single or mixed bioaccessible reactive azo dyes*, **Chemosphere**, 52 (2003) 967-973.
- [134] Z. Aksu and A.T. Eren, *Carotenoids production by the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*: Use of agricultural wastes as a carbon source*, **Process Biochem**, 40 (2005) 2985-2991.
- [135] O. Yesilada, D. Asma and S. Cing, *Decolorization of textile dyes by fungal pellets*, **Process Biochem**, 38 (2003) 933-938.
- [136] S. Cing and O. Yesilada, *Astrazon Red dye decolorization by growing cells and pellets of *Funalia trogii**, **J Basic Microb**, 44:4 (2004) 263-269.
- [137] Z. Aksu, N.B. Kılıç, S. Ertuğrul and G. Dönmez, *Inhibitory effects of chromium (VI) and Remazol black B on chromium (VI) and dyestuff removals by *Trametes versicolor**, **Enzyme Microb Technol**, 40 (2007) 1167-1174.
- [138] L.V. Curtin, *Molasses-general considerations*, **Molasses in Animal Nutrition**, National Feed Ingredients Association Iowwa, USA 1983.
- [139] A. Aretxaga, S. Romero, M. Sara and T. Vicent, *Adsorption step in biological degradation of textile dye*, **Biotechnol Prog**, 17 (2001) 664-668.
- [140] S. Romero, P. Blanquez, G. Caminal, X. Font, M. Sarra, X. Gabarrell and T. Vincent, *Different approaches to improving the textile dye degradation capacity of *Trametes versicolor**, **Biochem Eng J**, 31 (2006) 42-47.
- [141] P. Blanquez, N. Casas, X. Font, X. Gabarrell, M. Sarra, G. Caminal and T. Vicent, *Mechanism of textile metal dye biotransformation by *Trametes versicolor**, **Water Res**, 38 (2004) 2166-2172.
- [142] R. Sanghi, A. Dixit and S. Guha, *Sequential batch cultures studies for decolorisation of Reactive dye by *Coriolous versicolor**, **Biores Technol**, 97 (2006) 396-400.
- [143] C. Novonthy, K. Svobodova, A. Kasinath and P. Erbanova, *Biodegradation of synthetic dyes by *Irpex lacteus* under various growth conditions*, **Int Biodeter Biodegr**, 54 (2004) 215-223.
- [144] A. Kunz, V. Reginatto and N. Duran, *Combined treatment of textile effluent using sequence *Phanerochaete chrysosporium*-ozone*, **Chemosphere**, 44 (2001) 281-287.
- [145] K. Selvam, K. Swaminathan and K.S. Chae, *Decolourization of azo dyes and a dye industry effluent by a white rot fungus *Thelephora sp.**, **Biores Technol**, 88 (2003) 115-119.
- [146] S. Cing, D. Asma, E. Apohan and O. Yesilada, *Decolorization of textile dyeing wastewater by *Phanerochaete chrysosporium**, **Folia Microbiol**, 48:5 (2003) 639-642.
- [147] J.S. Knapp and P.S. Newby, *The decolorisation of a chemical industry effluent by white rot fungi*, **Water Res**, 33:2 (1999) 575-577.
- [148] N.M. Kirby and R. McMullan, *Decolourisation of synthetic textile dyes by *Phlebia tremellosa**, **FEMS Microbiol Lett** 188 (2000) 93-96.
- [149] D. Wesenberg, F. Buchon and S.N. Agathos, *Degradation of dye-containing textile effluent by agaric white rot fungi *Clitocybula dusenii**, **Biotechnol Lett**, 24 (2002) 989-993.
- [150] A. Kasinath, C. Novotny, K. Svobodova, K.C. Patel and V. Sasek, *Decolorization of synthetic dyes by *Irpex lacteus* in liquid cultures and packed-bed bioreactor*, **Enzyme and Microb Technol**, 32 (2003) 167-173.
- [151] F.C. Yang and J.T. Yu, *Development of bioreactor system using immobilized white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Part I: cell immobilization and repeated-batch decolorization tests*, **Bioprocess Eng**, 15 (1996) 307-310.



- [152] F.C. Yang and J.T. Yu, *Development of a bioreactor system using immobilized white rot fungus for decolorization. Part II: continous decolorization tests*, **Bioprocess Eng**, 16 (1996) 9-11.
- [153] A.K. Loomis, A.M. Childress, D. Daigle and J.W. Bennett, *Alginate encapsulation of the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium**, **Curr Microbiol**, 34 (1997) 127-130
- [154] E. Leidig, U. Prüsse, K.D. Vorlop and J. Winter, *Biotransformation of Poly R-478 by continuous cultures of PVAL-encapsulated *Trametes versicolor* under non-sterile conditions*, **Bioprocess Eng**, 21 (1999) 5-12.
- [155] C. Park, B. Lee, E. Han, J. Lee, S. Kim, *Decolorization of acid black 52 by fungal immobilization*, **Enzyme and Microb Technol**, 39 (2006) 371-374.
- [156] J.A. Ramsay, W.H.W. Mok, Y.S. Luu and M. Savage, *Decoloration of textile dyes by alginate-immobilized *Trametes versicolor**, **Chemosphere**, 61 (2005) 956-964.
- [157] M.A. Mazmanci and A. Ünyayar, *Decolourisation od reactive black 5 by *Funalia trogii* immobilised on *Luffa cylindrica* sponge*, **Process Biochem** 40 (2005) 337-342.
- [158] F. Zhang, J. Yu, *Decolourisation of acid violet 7 with complex pellets of white rot fungus and activated carbon*, **Bioprocess Eng**, 23 (2000) 295-301.
- [159] C. Guimaraes, C. Matos, J. Azeredo, M. Mota and R. Oliveira, *The importance of the morphology and hydrophobicity of different carriers on immobilization and sugar refinery effluent degradation activity of *Phanerochaete chrysosporium**, **Biotechnol Lett**, 24 (2002) 795-800.
- [160] S.R. Couto, M.A. Sanroman, D. Hofer and G.M. Gübitz, *Stainless steel sponge: a novel carrier for the immobilisation of the white-rot fungus *Trametes hirsuta* for decolourization of textile dyes*, **Biores Technol** 95 (2004) 67-72.
- [161] M.A. Brown and S.C. De Vito, *Predicting azo dye toxicity*, **Critical reviews in Environmental Science and Technology**, 3 (1993) 249-324.
- [162] H. Moawad, W. M. Abd El-Rahim and M. Khalafallah, *Evaluation of biotoxicity of textile dyes using two bio assays*, **J. Basic Microbiol**, 43:3 (2003) 218-229.
- [163] I. Jaeger, S. Gastier and R. Willmund, *Testing effluents of textile refining industry with biological methods*, **Acta Hydrochim Hydrobiol**, 24 (1996) 22-30.
- [164] C.F. Thurston, *Toxicity determination with luminescent bacteria test-application examples in textiles*, **Melliand Textilberichte**, 76 (1995) 1106-1108.
- [165] K. Hund and W. Traunspurger, *Ecotox-evaluation strategy for soil bioremediation exemplified for a PAH-contaminated site*, **Chemosphere**, 29 (1994) 371-390.
- [166] E. Apohan and O. Yesilada, *Role of white rot fungus *Funalia trogii* in detoxification of textile dyes*, **J Basic Microbiol**, 45:2 (2005) 99-105.
- [167] P. Rajaguru, R. Kalpana, A. Hema, S. Suba, B. Baskarasethupathi, P.A. Kumar and K. Kalaiselvi, *Genotoxicity of some sulfur dyes on tadpoles (*Rana hexadactyla*) measured using comet assay*, **Environ Mol Mutagen**, 38 (2001) 316-322.
- [168] M.K. Sharma and R.C. Sobti, *Rec effect of certain dyes in *Bacillus subtilis**, **Mut Res**, 465 (2000) 27-38.
- [169] A. Gotlieb, C. Shaw, A. Smith, A. Wheatley and S. Forstythe, *The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation*, **J Biotechnol**, 101 (2003) 49-56.
- [170] J.A. Ramsay and T. Nguyen, *Decoloration of textile dyes by *Trametes versicolor* and its effect on dye toxicity*, **Biotechnol Lett**, 24 (2002) 1757-1761.
- [171] M.W. Abd El-Rahim and H. Moawad, *Enhancing bioremoval of textile dyes by eight fungal strains from media supplemented with gelatin wastes and sucrose*, **J Basic Microb**, 43 (2003) 367-375.

- [172] V.L. Papinutti and F. Fochiassin, *Modification of malachite green by Fomes sclerodermus and reduction of toxicity to Phanerochaete chrysosporium*, **FEMS Microb Lett** 231:2 (2004) 205-209.
- [173] D. Inthorn, S. Singhto, P. Thiravetyan and E. Khan, *Decolorization of basic, direct and reactive dyes by pre-treated narrow-leaved cattail (Typha angustifolia Linn.)*, **Biores Technol**, 94 (2004) 299-306
- [174] K. Harazono, Y. Watanabe and K. Nakamura, *Decolorization of azo dye by the white-rot basidiomycete Phanerochaete sordida and its manganese peroxidase*, **J Biosci Bioeng** 95:5 (2003) 455-459.
- [175] F. Zhang, A. Yediler, X. Liang and A. Kettrup, *Effects of dye additives on the ozonation process and oxidation by-products: a comparative study using hydrolyzed C.I. Reactive Red 120*, **Dyes and Pigments**, 60 (2004) 1-7.
- [176] S. Akhtar, A. Ali Khan and Q. Husain, *Potential of immobilized bitter melon (Momordica charantia) peroxidase in the decolorization and removal of textile dyes from polluted wastewater and dyeing*, **Chemosphere**, 60 (2005) 291-301.
- [177] T. Panswad and W. Luangdilok, *Decolorization of reactive dyes with different molecular structures under different environmental conditions*, **Water Res** 34:17 (2000) 4177-4184.
- [178] M. Yilmaz, G. Bayramoğlu and M.Y. Arica, *Separation and purification of lysozyme by Reactive Green 19 immobilised membrane affinity chromatography*, **Food Chem**, 89 (2005) 11-18.
- [179] J. Yu, X. Wang and P.L. Yue, *Optimal decolorization and kinetic modeling of synthetic dyes by Pseudomonas strains*, **Water Res**, 35:15 (2001) 3579-3586.
- [180] X. Pan, H. Ushio and T. Ohsima, *Effect of molecular configurations of food colorants on their efficacies as photosensitizers in lipid oxidation*, **Food Chem** 2 (2005) 37-44.
- [181] D. Serp, E. Canatana, C. Heinzen, U. Von Stockar and I.W. Marison, *Characterization of an encapsulation device for the production of monodisperse alginate beads for cell immobilization*, **Biotechnol and Bioeng**, 70:1 (2000) 41-53.
- [182] O. Yesilada, S. Sik and M. Sam, *Biodegradation of olive oil mill wastewater by Coriolus versicolor and Funalia trogii: effects of agitation, initial COD concentration, inoculum size and immobilization*, **World J of Microb Biotech** 14 (1998) 37-42).
- [183] L. Roy-Arcand, F.S. Archibald, *Direct dechlorination of chlorophenolic compounds by laccase Trametes versicolor*, **Enzyme Microb Technol.**, 13 (1991) 194-203.
- [184] E. Birhanli and O. Yesilada, *Increased production of laccase by pellets of Funalia trogii ATCC 200800 and Trametes versicolor ATCC 200801 in repeated-batch mode*, **Enzyme Microb Technol**, 39 (2006) 1286-1293.
- [185] U.K. Laemmli, *Cleavage of structural proteins during the assembly head of bacteriophage T4*, **Nature** 227:15 (1970) : 680-685.
- [186] Ö. Kaynar, *Theileria annulata Piroplazma Membran Proteinlerinde Lektin Aktivitesinin Aranması*, F.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ 2003.
- [187] J. Heukeshoven and R. Dernick, *Improved silver staining procedure for fast staining in PhastSystem Development Unit. I. Staining of sodium dodecyl sulfate gels*. **Electrophoresis**, 9:1 (1988) 28-32.
- [188] R.A. Copeland, *Enzymes: A practical introduction to structure, mechanism and data analysis*, Wiley, 2000 (Electronic) .
- [189] X. Zhang, D.W. Stebbing, S.D. Mansfield and J.N. Saddler, *Degradation of trilinolein by laccase enzymes*, **Arch Biochem Biophys**, 405 (2002) 44-54.

- [190] B.D. Zehr, T.J. Savin and R.E. Hall, *One step, low background Commassie staining procedure for polyacrilamide gels*, **Anal Biochem**, 182 (1989) 157-159.
- [191] G. Diamantidis, A. Effose, P. Potier and R. Bally, *Purification and characterization of the first bacterial laccase in the rhizospheric bacterium *Azospirillum lipoferum**, **Soil Biol Biochem**, 32 (2000) 919-927.
- [192] G. Iyer and B.B. Chattoo, *Purification and characterization of laccase from the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea**, **FEMS Microbiol Lett** 227 (2003) 121-126
- [193] Anonim. Proteinlerin molekül ağırlıklarının hesaplanması (2007). Erişim: <http://www.richmond.edu/~jbell2/chem326-pset7answer.html>.
- [194] Eichlerova, L. Homolka and F. Nerud, *Decolorization of high concentrations of synthetic dyes by white rot fungus *Bjerkandera adusta* strain CCBAS 232*, **Dyes Pigments** xx (2006) 1-7).
- [195] L.P. Victor and F. Lavia, *Modification of malachite green by *Fomes sclerodermeus* and reduction of toxicity to *P. chrysosporium**, **FEMS Microbiol Lett**, 231 (2005) 205-209.
- [196] M.M. Assadi, K. Rostami, M. Shahvali and M. Azin, *Decolorization of textile wastewater by *Phanerochaete chrysosporium**, **Desalination**, 141 (2001) 331-336.
- [197] A.J. Wilkolazka, J.K. Rdest, E. Malarczyk, W. Wardas and A. Leonowicz, *Fungi and their ability to decolourize azo and anthraquinonic dyes*, **Enzyme Microb Technol**, 30 (2002) 566-572.
- [198] K.C. Chen, J.Y. Wua, D.J. Liou and S.C.J. Hwang, *Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains*, **J Biotechnol**, 101 (2003) 57-68.
- [199] M. S. Khehraa, H. S. Sainia, D. K. Sharmaa, B. S. Chadhaa and S.S. Chimmib, *Decolorization of various azo dyes by bacterial consortium*, **Dyes Pigments**, 67 (2005) 55-61.
- [200] K.K. Prasad, S.V. Mohana, R.S. Raob, B.R. Pati and P.N. Sarma, *Laccase production by *Pleurotus ostreatus* 1804: Optimization of submerged culture conditions by Taguchi DOE methodology*, **Biochem Eng J**, 24 (2005) 17-26.
- [201] S. Asad, M.A. Amoozegar, A.A. Pourbabae, M.N. Sarbolouki ve S.M.M. Dastgheib, *Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria*, **Biores Technol** xxx (2006) xxx-xxx.
- [202] M.C. Colao, A.M. Garzillo, V. Buonocore, A. Schiesser and M. Ruzzi, *Primary structure and transcription analysis of a laccase-encoding gene from the basidiomycete *Trametes trogii**, **Appl Microb Biotechnol**, 63 (2003) 153-158.
- [203] S.M. Revankar and S.S. Lele, *Synthetic dye decolorization by white rot fungus, *Ganoderma sp. WR-1**, **Bioresource Technology** 98 (2007) 775-780.
- [204] X. Dong, J. Zhou, Y. Liu, *Peptone-induced biodecolorization of reactive Brilliant blue (KN-R) by *Rhodocycus gelatinosus* XL-1*, **Process Biochem**, 39 (2003), 89-94.
- [205] R. Nagarathnamma, P. Bajpai, P.K. Bajpai, *Studies on decolourization degradation and detoxification of chlorinated lignin compounds in kraft bleaching effluents by *Ceriporiopsis subbermispora**, **Process Biochem**, 34 (1999) 939-948.
- [206] P. Baldrian and J. Gabriel, *Copper and cadmium increase laccase activity in *Pleurotus ostreatus**, **FEMS Microbiol Lett**, 206 (2002) 69-74.
- [207] C. Galhaup and D. Haltrich, *Enhanced formation of laccase activity by the white rot fungus *Trametes pubescens* in the presence of copper*, **Appl Microbiol Biot**, 56 (2001) 225-32.
- [208] T. Deveci, A. Ünyayar and M.A. Mazmanci, *Production of Remazol brilliant blue R decolourising oxygenase from the culture filtrate of *Funalia trogii* ATCC 200800*, **J Mol Catal B- Enzym**, 30 (2004) 25-32.

- [209] A. Ünyayar, M.A. Mazmancı, E.A. Erkut, H. Ataçag and A.M. Gizir, *Decolorization kinetics of the azo dye Dimaren blue X3LR by laccase*, **React Kinet Catal Lett**, 86:1 (2005) 99-107.
- [210] M. Lorenzo, D. Moldes and M.A. Sanroman, *Effect of heavy metals on the production of several Laccase isoenzymes by Trametes versicolor and on their ability to decolourise*, **Chemosphere**, 63 (2006) 912-917.
- [211] R. Bourbonnais, M.G. Paice, P. Lanthier and M. Yaguchi, *Lignin oxidation by laccase isozymes from Trametes versicolor ad role of the mediator 2,2'-azinobis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonate)in kraft lignin depolymerization*, **Appl and Environ Microbiol**, 61:5 (1995) 1876-1880.

## 7. EKLER

### 7.1. Besiyerine Ek Maddeler İlave Edilerek Yapılan Tekrarlı-Kesikli Renk Giderimi Çalışmaları ve İstatistiksel Analiz Sonuçları

**EK 7.1.** Ek madde ilave edilen ortamlarda *T. versicolor* peletleri ile Reaktif Mavi 171'in tekrarlı-kesikli süreçle renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)							
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
<b>Kontrol</b>	<b>85.53±0.17</b>	<b>83.35±0.41</b>	<b>67.21±0.06</b>	<b>64.77±0.29</b>	<b>63.39±0.27</b>	<b>57.07±0.25</b>	<b>42.75±0.38</b>	<b>2.40±0.39</b>
<b>Glukoz</b>								
1 g/L	86.73±0.17 <sup>a</sup>	67.72±0.19 <sup>c</sup>	76.01±0.57 <sup>a</sup>	84.55±0.60 <sup>a</sup>	78.99±1.95 <sup>a</sup>	78.88±2.87 <sup>a</sup>	74.70±2.66 <sup>a</sup>	81.61±0.85 <sup>a</sup>
2 g/L	88.55±0.33 <sup>ax</sup>	73.72±2.97 <sup>cx</sup>	80.15±3.93 <sup>ay</sup>	83.46±3.33 <sup>ay</sup>	86.80±3.46 <sup>ax</sup>	78.48±7.88 <sup>ay</sup>	73.86±4.42 <sup>ay</sup>	77.43±9.56 <sup>ay</sup>
<b>Maya özütü</b>								
0.1 g/L	89.46±0.82 <sup>a</sup>	76.92±1.19 <sup>b</sup>	80.04±0.68 <sup>a</sup>	60.12±2.84 <sup>c</sup>	69.43±8.17 <sup>b</sup>	62.19±1.10 <sup>a</sup>	41.55±5.16 <sup>b</sup>	28.86±3.77 <sup>a</sup>
1 g/L	91.02±0.38 <sup>ax</sup>	87.68±1.51 <sup>ax</sup>	86.59±3.22 <sup>ax</sup>	87.46±3.08 <sup>ax</sup>	76.70±2.20 <sup>ay</sup>	51.76±3.44 <sup>cz</sup>	27.48±4.45 <sup>cz</sup>	15.56±2.51 <sup>az</sup>
<b>Pepton</b>								
0.1 g/L	90.29±0.38 <sup>a</sup>	90.29±0.68 <sup>a</sup>	91.53±1.10 <sup>a</sup>	86.66±2.10 <sup>a</sup>	73.97±3.08 <sup>a</sup>	61.76±2.30 <sup>a</sup>	54.45±7.88 <sup>a</sup>	48.02±1.30 <sup>a</sup>
1 g/L	90.88±0.27 <sup>ax</sup>	86.62±1.26 <sup>az</sup>	87.42±1.87 <sup>az</sup>	88.84±1.57 <sup>ay</sup>	85.64±4.09 <sup>ax</sup>	86.66±0.95 <sup>ax</sup>	31.08±2.94 <sup>az</sup>	16.07±3.81 <sup>az</sup>
<b>Melas</b>								
% 0.05'lik	89.27±0.22 <sup>a</sup>	88.38±0.38 <sup>a</sup>	88.26±0.27 <sup>a</sup>	83.81±0.13 <sup>a</sup>	87.37±0.18 <sup>a</sup>	88.234±0.20 <sup>a</sup>	90.69±0.18 <sup>a</sup>	86.61±0.28 <sup>a</sup>
% 1'lik	90.51±0.22 <sup>ax</sup>	89.61±0.06 <sup>ax</sup>	89.39±0.72 <sup>ax</sup>	88.49±0.25 <sup>ax</sup>	88.39±0.69 <sup>ax</sup>	87.34±0.88 <sup>ay</sup>	88.21±0.35 <sup>az</sup>	87.34±0.23 <sup>ax</sup>
<b>PAS</b>								
% 5'lik	81.15±0.40 <sup>c</sup>	81.12±0.54 <sup>c</sup>	77.62±1.38 <sup>a</sup>	83.38±0.29 <sup>a</sup>	84.62±0.09 <sup>a</sup>	80.68±1.21 <sup>a</sup>	64.82±0.11 <sup>a</sup>	65.01±0.43 <sup>a</sup>
% 10'luk	88.67±0.14 <sup>ax</sup>	90.71±1.02 <sup>ax</sup>	85.96±2.68 <sup>ay</sup>	78.63±2.13 <sup>az</sup>	75.22±7.22 <sup>az</sup>	72.59±2.27 <sup>az</sup>	67.96±1.20 <sup>ay</sup>	50.98±1.88 <sup>az</sup>
<b>Bakır</b>								
0.5 mM	90.29±0.76 <sup>a</sup>	88.88±1.26 <sup>a</sup>	89.13±0.93 <sup>a</sup>	87.35±1.09 <sup>a</sup>	87.82±0.73 <sup>a</sup>	88.73±0.33 <sup>a</sup>	90.37±0.13 <sup>a</sup>	88.22±0.11 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlardaki (kontrol) renk giderimi yüzdeleri fungus peletlerinin kullanım sayılarına göre kıyaslandığında, ek maddeler kontrol grubuna göre fungus peletlerinin renk giderimi verimini önemli düzeyde artırmıştır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlar (kontrol) kıyaslandığında fungus peletlerinin renk giderimi verimi açısından önemli düzeyde farklılık yoktur ( $p > 0.05$ ).

<sup>c</sup> Kontrol grubu değerleri ek madde ilave edilen renk giderimi ortamlarında elde edilen renk giderimi veriminden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Boyalı ortamlara eklenen yüksek miktardaki ek maddelerin fungus peletlerinin renk giderimine etkisi düşük miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> Ek madde konsantrasyonları arasında fungus peletlerinin renk giderimine verimine etki açısından önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

<sup>z</sup> Boyalı ortamlara eklenen düşük miktardaki ek maddelerin renk giderimine etkisi yüksek miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.2.** Ek madde ilave edilen ortamlarda *T. versicolor* peletleri ile Reaktif Mavi 198'in tekrarlı-kesikli süreçle renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)									
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
<b>Kontrol</b>	<b>92.23±0.22</b>	<b>91.19±0.42</b>	<b>83.94±0.32</b>	<b>83.59±0.18</b>	<b>81.71±0.18</b>	<b>81.57±0.12</b>	<b>53.64±0.16</b>	<b>31.63±0.37</b>	<b>13.20±0.53</b>	<b>4.11±0.58</b>
<b>Glukoz</b>										
<b>1 g/L</b>	90.84±1.28 <sup>c</sup>	86.38±0.948 <sup>c</sup>	84.85±8.06 <sup>b</sup>	86.07±6.85 <sup>b</sup>	92.407±0.37 <sup>a</sup>	91.22±0.46 <sup>a</sup>	91.01±0.18 <sup>a</sup>	89.62±0.52 <sup>a</sup>	83.70±0.82 <sup>a</sup>	86.31±0.21 <sup>a</sup>
<b>2 g/L</b>	91.43±0.10 <sup>by</sup>	90.25±2.29 <sup>bx</sup>	88.16±1.36 <sup>ay</sup>	90.18±0.91 <sup>ay</sup>	92.16±0.10 <sup>ay</sup>	88.96±2.90 <sup>ay</sup>	88.44±1.26 <sup>az</sup>	85.93±2.42 <sup>az</sup>	85.06±1.88 <sup>ay</sup>	87.39±1.22 <sup>ay</sup>
<b>Maya özütü</b>										
<b>0.1 g/L</b>	89.97±0.18 <sup>a</sup>	91.26±0.89 <sup>b</sup>	92.34±0.42 <sup>a</sup>	91.12±0.36 <sup>a</sup>	90.25±1.09 <sup>a</sup>	88.30±0.10 <sup>a</sup>	74.92±3.29 <sup>a</sup>	70.25±0.95 <sup>a</sup>	56.461±2.93 <sup>a</sup>	32.39±4.83 <sup>a</sup>
<b>1 g/L</b>	92.62±0.22 <sup>bx</sup>	91.64±0.38 <sup>by</sup>	91.61±0.53 <sup>ay</sup>	91.12±0.31 <sup>ay</sup>	70.57±1.78 <sup>cz</sup>	52.70±4.30 <sup>cz</sup>	31.35±1.10 <sup>cz</sup>	17.56±0.10 <sup>cz</sup>	--	--
<b>Pepton</b>										
<b>0.1 g/L</b>	90.53±1.01 <sup>c</sup>	93.00±0.10 <sup>a</sup>	92.69±1.18 <sup>a</sup>	90.35±0.84 <sup>a</sup>	89.90±0.99 <sup>a</sup>	88.78±0.16 <sup>a</sup>	79.62±2.26 <sup>a</sup>	80.22±4.29 <sup>a</sup>	62.10±6.78 <sup>a</sup>	17.56±0.10 <sup>a</sup>
<b>1 g/L</b>	92.65±0.34 <sup>bx</sup>	91.68±0.12 <sup>bz</sup>	87.25±3.90 <sup>bz</sup>	92.20±0.26 <sup>ax</sup>	87.15±0.64 <sup>az</sup>	88.37±1.33 <sup>ay</sup>	64.02±3.33 <sup>az</sup>	18.43±1.29 <sup>cz</sup>	--	--
<b>Melas</b>										
<b>% 0.05'lik</b>	87.32±0.16 <sup>c</sup>	85.11±0.20 <sup>c</sup>	91.01±0.34 <sup>a</sup>	91.83±0.01 <sup>a</sup>	92.94±0.22 <sup>a</sup>	92.18±0.44 <sup>a</sup>	93.79±0.47 <sup>a</sup>	93.69±0.20 <sup>a</sup>	93.98±0.15 <sup>a</sup>	94.23±0.01 <sup>a</sup>
<b>% 1'lik</b>	87.47±0.21 <sup>ay</sup>	91.00±0.59 <sup>bx</sup>	91.55±0.18 <sup>ax</sup>	91.20±0.77 <sup>ax</sup>	89.85±2.37 <sup>az</sup>	89.21±0.93 <sup>az</sup>	90.15±0.76 <sup>az</sup>	89.24±0.66 <sup>az</sup>	89.27±0.50 <sup>az</sup>	88.11±1.33 <sup>az</sup>
<b>PAS</b>										
<b>% 5'lik</b>	85.84±0.14 <sup>c</sup>	84.49±0.39 <sup>c</sup>	83.68±0.22 <sup>b</sup>	85.39±0.25 <sup>a</sup>	72.44±0.39 <sup>c</sup>	69.51±0.96 <sup>c</sup>	46.82±0.49 <sup>c</sup>	38.55±0.52 <sup>a</sup>	54.10±0.29 <sup>a</sup>	37.39±0.56 <sup>a</sup>
<b>% 10'luk</b>	85.62±1.60 <sup>cy</sup>	76.95±0.40 <sup>cz</sup>	79.73±3.77 <sup>cy</sup>	76.24±5.18 <sup>cz</sup>	75.64±5.73 <sup>cy</sup>	79.17±5.71 <sup>bx</sup>	79.20±3.44 <sup>ax</sup>	74.40±4.79 <sup>ax</sup>	75.34±4.42 <sup>ax</sup>	79.99±0.34 <sup>ax</sup>
<b>Bakır</b>										
<b>0.5 mM</b>	88.85±1.01 <sup>c</sup>	87.81±0.42 <sup>c</sup>	83.60±0.64 <sup>b</sup>	79.62±0.79 <sup>c</sup>	80.77±1.27 <sup>b</sup>	84.85±1.37 <sup>a</sup>	87.57±0.38 <sup>a</sup>	89.20±0.16 <sup>a</sup>	88.68±0.22 <sup>a</sup>	88.51±0.28 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlardaki (kontrol) renk giderimi yüzdeleri fungus peletlerinin kullanım sayılarına göre kıyaslandığında, ek maddeler kontrol grubuna göre fungus peletlerinin renk giderimi verimini önemli düzeyde artmıştır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlar (kontrol) kıyaslandığında fungus peletlerinin renk giderimi verimi açısından önemli düzeyde farklılık yoktur ( $p > 0.05$ ).

<sup>c</sup> Kontrol grubu değerleri ek madde ilave edilen renk giderimi ortamlarında elde edilen renk giderimi veriminden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Boyalı ortamlara eklenen yüksek miktardaki ek maddelerin fungus peletlerinin renk giderimine etkisi düşük miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> Ek madde konsantrasyonları arasında fungus peletlerinin renk giderimine verimine etki açısından önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

<sup>z</sup> Boyalı ortamlara eklenen düşük miktardaki ek maddelerin renk giderimine etkisi yüksek miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.3.** Ek madde ilave edilen ortamlarda *T. versicolor* peletleri ile Reaktif Yeşil 19'un tekrarlı-kesikli süreçle renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)							
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
<b>Kontrol</b>	<b>89.88±0.47</b>	<b>87.34±0.33</b>	<b>76.64±0.38</b>	<b>60.32±0.49</b>	<b>28.94±0.33</b>	<b>16.98±0.19</b>	<b>15.60±0.06</b>	<b>5.48±0.95</b>
<b>Glukoz</b>								
1 g/L	89.77±0.11 <sup>b</sup>	87.70±0.22 <sup>b</sup>	83.68±2.57 <sup>a</sup>	87.96±4.18 <sup>a</sup>	89.08±0.85 <sup>a</sup>	82.84±7.10 <sup>a</sup>	84.48±1.17 <sup>a</sup>	87.60±0.85 <sup>a</sup>
2 g/L	89.99±0.19 <sup>by</sup>	88.83±0.72 <sup>ax</sup>	85.89±2.78 <sup>ay</sup>	87.20±0.56 <sup>ay</sup>	90.01±1.76 <sup>ay</sup>	85.93±2.45 <sup>ay</sup>	82.34±1.76 <sup>ay</sup>	82.84±3.27 <sup>az</sup>
<b>Maya özütü</b>								
0.1 g/L	89.19±0.64 <sup>b</sup>	88.47±0.93 <sup>b</sup>	86.14±3.91 <sup>a</sup>	74.03±4.50 <sup>a</sup>	71.74±4.06 <sup>a</sup>	86.07±0.61 <sup>a</sup>	83.42±1.63 <sup>a</sup>	60.43±3.16 <sup>a</sup>
1 g/L	91.69±0.13 <sup>ax</sup>	90.75±0.47 <sup>ax</sup>	89.37±2.05 <sup>ay</sup>	89.59±1.87 <sup>ax</sup>	71.31±4.75 <sup>ay</sup>	61.77±0.62 <sup>az</sup>	30.11±4.53 <sup>az</sup>	13.13±0.63 <sup>az</sup>
<b>Pepton</b>								
0.1 g/L	89.77±0.38 <sup>b</sup>	90.610±0.56 <sup>a</sup>	92.202±0.45 <sup>a</sup>	84.91±3.70 <sup>a</sup>	60.827±1.19 <sup>a</sup>	57.93±0.70 <sup>a</sup>	54.23±1.91 <sup>a</sup>	50.27±4.11 <sup>a</sup>
1 g/L	92.35±0.35 <sup>ax</sup>	91.33±0.13 <sup>ay</sup>	86.72±0.07 <sup>az</sup>	91.88±0.27 <sup>ax</sup>	86.62±0.66 <sup>ax</sup>	87.890±1.38 <sup>ax</sup>	62.53±3.47 <sup>ax</sup>	15.05±1.34 <sup>az</sup>
<b>Melas</b>								
% 0.05'lik	88.68±0.17 <sup>a</sup>	87.91±0.38 <sup>b</sup>	87.14±0.13 <sup>a</sup>	91.35±0.05 <sup>a</sup>	91.54±0.05 <sup>a</sup>	93.64±0.44 <sup>a</sup>	93.22±0.36 <sup>a</sup>	93.94±0.13 <sup>a</sup>
% 1'lik	88.67±0.57 <sup>by</sup>	90.50±0.84 <sup>ax</sup>	91.12±0.06 <sup>ay</sup>	89.84±1.44 <sup>az</sup>	89.02±1.55 <sup>az</sup>	89.64±0.31 <sup>az</sup>	90.19±0.36 <sup>az</sup>	89.64±0.31 <sup>az</sup>
<b>PAS</b>								
% 5'lik	77.40±0.79 <sup>c</sup>	86.60±0.53 <sup>b</sup>	81.57±0.15 <sup>a</sup>	82.31±0.17 <sup>a</sup>	82.15±1.56 <sup>a</sup>	77.95±1.31 <sup>a</sup>	59.52±3.67 <sup>a</sup>	54.23±1.97 <sup>a</sup>
% 10'luk	89.77±0.68 <sup>bx</sup>	90.19±1.10 <sup>ax</sup>	77.69±3.67 <sup>bz</sup>	85.08±6.78 <sup>ay</sup>	84.55±1.10 <sup>ay</sup>	85.98±4.06 <sup>ax</sup>	79.28±5.46 <sup>ax</sup>	48.67±1.25 <sup>az</sup>
<b>Bakır</b>								
0.5 mM	88.94±0.55 <sup>b</sup>	89.95±0.17 <sup>a</sup>	90.42±0.47 <sup>a</sup>	88.65±1.14 <sup>a</sup>	88.14±1.23 <sup>a</sup>	90.57±0.49 <sup>a</sup>	91.88±0.41 <sup>a</sup>	91.33±0.13 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlardaki (kontrol) renk giderimi yüzdeleri fungus peletlerinin kullanım sayılarına göre kıyaslandığında, ek maddeler kontrol grubuna göre fungus peletlerinin renk giderimi verimini önemli düzeyde artmıştır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlar (kontrol) kıyaslandığında fungus peletlerinin renk giderimi verimi açısından önemli düzeyde farklılık yoktur ( $p > 0.05$ ).

<sup>c</sup> Kontrol grubu değerleri ek madde ilave edilen renk giderimi ortamlarında elde edilen renk giderimi veriminden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Boyalı ortamlara eklenen yüksek miktardaki ek maddelerin fungus peletlerinin renk giderimine etkisi düşük miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> Ek madde konsantrasyonları arasında fungus peletlerinin renk giderimine verimine etki açısından önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

<sup>z</sup> Boyalı ortamlara eklenen düşük miktardaki ek maddelerin renk giderimine etkisi yüksek miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.4.** Ek madde ilave edilen ortamlarda *T. versicolor* peletleri ile A. Mavi 74'ün tekrarlı-kesikli süreçle renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)									
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
<b>Kontrol</b>	96.79±0.05	96.33±0.12	91.14±0.05	81.71±0.07	71.45±0.19	56.60±0.13	44.26±0.17	30.30±1.37	20.27±0.95	09.70±0.37
<b>Glukoz</b>										
1 g/L	96.28±0.03 <sup>a</sup>	96.41±0.08 <sup>b</sup>	93.54±1.44 <sup>a</sup>	95.90±0.44 <sup>a</sup>	97.11±0.07 <sup>a</sup>	96.99±0.10 <sup>a</sup>	96.79±0.44 <sup>a</sup>	97.21±0.03 <sup>a</sup>	97.15±0.03 <sup>a</sup>	96.86±0.38 <sup>a</sup>
2 g/L	96.41±0.12 <sup>cy</sup>	96.75±0.21 <sup>ax</sup>	96.59±0.07 <sup>ax</sup>	96.48±0.07 <sup>ax</sup>	97.08±0.05 <sup>ay</sup>	97.13±0.13 <sup>ay</sup>	96.68±0.36 <sup>ay</sup>	97.11±0.19 <sup>ay</sup>	97.01±0.03 <sup>az</sup>	97.13±0.00 <sup>ay</sup>
<b>Maya özütü</b>										
0.1 g/L	96.73±0.07 <sup>b</sup>	96.67±0.10 <sup>a</sup>	96.84±0.19 <sup>a</sup>	96.35±0.62 <sup>a</sup>	96.14±0.73 <sup>a</sup>	96.16±0.03 <sup>a</sup>	96.46±0.55 <sup>a</sup>	95.28±0.58 <sup>a</sup>	74.21±1.65 <sup>a</sup>	59.33±2.13 <sup>a</sup>
1 g/L	96.84±0.00 <sup>bx</sup>	96.80±0.17 <sup>ay</sup>	96.76±0.03 <sup>ay</sup>	96.89±0.17 <sup>ay</sup>	68.36±0.71 <sup>cz</sup>	67.62±0.96 <sup>az</sup>	49.89±1.76 <sup>az</sup>	43.350±2.14 <sup>az</sup>	32.82±0.82 <sup>az</sup>	19.71±0.67 <sup>az</sup>
<b>Pepton</b>										
0.1 g/L	96.89±0.00 <sup>a</sup>	96.79±0.00 <sup>a</sup>	97.13±0.00 <sup>a</sup>	97.15±0.03 <sup>a</sup>	96.44±0.06 <sup>a</sup>	96.22±0.05 <sup>a</sup>	96.14±0.07 <sup>a</sup>	96.12±0.30 <sup>a</sup>	94.35±0.87 <sup>a</sup>	81.83±2.30 <sup>a</sup>
1 g/L	96.92±0.06 <sup>ay</sup>	97.08±0.10 <sup>ax</sup>	96.73±0.07 <sup>az</sup>	96.94±0.08 <sup>az</sup>	88.34±0.42 <sup>az</sup>	88.37±1.24 <sup>az</sup>	74.47±2.17 <sup>az</sup>	49.38±2.80 <sup>az</sup>	34.27±1.55 <sup>az</sup>	18.86±0.36 <sup>az</sup>
<b>Melas</b>										
% 0.05'lik	93.75±0.13 <sup>c</sup>	91.66±0.15 <sup>c</sup>	94.37±0.19 <sup>a</sup>	94.99±0.20 <sup>a</sup>	93.06±0.28 <sup>a</sup>	92.79±0.83 <sup>a</sup>	95.10±0.37 <sup>a</sup>	95.41±0.06 <sup>a</sup>	95.81±0.00 <sup>a</sup>	95.86±0.21 <sup>a</sup>
% 1'lik	94.67±0.20 <sup>cx</sup>	94.40±0.09 <sup>cx</sup>	94.26±0.11 <sup>ay</sup>	94.87±0.01 <sup>ay</sup>	94.10±0.63 <sup>ax</sup>	93.44±0.81 <sup>ay</sup>	94.43±0.23 <sup>ay</sup>	94.72±0.15 <sup>az</sup>	93.74±0.04 <sup>az</sup>	93.77±0.47 <sup>az</sup>
<b>PAS</b>										
% 5'lik	92.10±1.28 <sup>c</sup>	89.61±0.43 <sup>c</sup>	92.01±0.58 <sup>a</sup>	93.09±0.29 <sup>a</sup>	92.07±0.39 <sup>a</sup>	91.92±0.42 <sup>a</sup>	92.91±0.19 <sup>a</sup>	91.56±0.60 <sup>a</sup>	88.47±1.64 <sup>a</sup>	70.99±1.64 <sup>a</sup>
% 10'luk	87.08±0.42 <sup>cz</sup>	88.89±0.54 <sup>cy</sup>	90.00±0.38 <sup>cz</sup>	91.37±0.31 <sup>az</sup>	90.90±0.52 <sup>az</sup>	91.25±0.92 <sup>ay</sup>	90.50±1.60 <sup>az</sup>	90.94±0.90 <sup>ay</sup>	86.96±4.99 <sup>ay</sup>	72.30±3.30 <sup>ay</sup>
<b>Bakır</b>										
0.5 mM	96.20±0.03 <sup>c</sup>	96.32±0.08 <sup>b</sup>	96.38±0.12 <sup>a</sup>	96.38±0.06 <sup>a</sup>	96.40±0.12 <sup>a</sup>	96.65±0.17 <sup>a</sup>	96.12±0.54 <sup>a</sup>	85.09±3.66 <sup>a</sup>	76.32±2.94 <sup>a</sup>	72.66±1.88 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlardaki (kontrol) renk giderimi yüzdeleri fungus peletlerinin kullanım sayılarına göre kıyaslandığında, ek maddeler kontrol grubuna göre fungus peletlerinin renk giderimi verimini önemli düzeyde artmıştır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlar (kontrol) kıyaslandığında fungus peletlerinin renk giderimi verimi açısından önemli düzeyde farklılık yoktur ( $p > 0.05$ ).

<sup>c</sup> Kontrol grubu değerleri ek madde ilave edilen renk giderimi ortamlarında elde edilen renk giderimi veriminden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Boyalı ortamlara eklenen yüksek miktardaki ek maddelerin fungus peletlerinin renk giderimine etkisi düşük miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> Ek madde konsantrasyonları arasında fungus peletlerinin renk giderimine verimine etki açısından önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

<sup>z</sup> Boyalı ortamlara eklenen düşük miktardaki ek maddelerin renk giderimine etkisi yüksek miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).



**EK 7.5.** Ek madde ilave edilen ortamlarda *F. trogii* peletleri ile Reaktif Mavi 171'in tekrarlı-kesikli süreçle renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)				
	1.	2.	3.	4.	5.
<b>Kontrol</b>	<b>84.15±0.27</b>	<b>79.317±0.70</b>	<b>59.83±1.40</b>	<b>39.95±2.14</b>	<b>9.92±0.97</b>
<b>Glukoz</b>					
<b>1 g/L</b>	69.36±4.80 <sup>c</sup>	53.51±4.41 <sup>c</sup>	28.86±4.54 <sup>c</sup>	12.69±0.73 <sup>c</sup>	10.98±2.24 <sup>b</sup>
<b>2 g/L</b>	77.72±3.58 <sup>cx</sup>	69.43±4.60 <sup>cx</sup>	44.93±5.69 <sup>cx</sup>	21.96±3.35 <sup>cx</sup>	13.27±1.55 <sup>ay</sup>
<b>Maya özütü</b>					
<b>0.1 g/L</b>	79.90±1.01 <sup>c</sup>	54.71±2.40 <sup>c</sup>	38.24±2.04 <sup>c</sup>	29.88±4.64 <sup>c</sup>	17.74±1.59 <sup>a</sup>
<b>1 g/L</b>	86.59±1.24 <sup>ax</sup>	62.01±1.10 <sup>cx</sup>	50.09±3.24 <sup>cx</sup>	39.70±0.68 <sup>bx</sup>	29.51±1.81 <sup>ax</sup>
<b>Pepton</b>					
<b>0.1 g/L</b>	81.46±4.78 <sup>b</sup>	62.45±2.85 <sup>c</sup>	41.95±4.10 <sup>c</sup>	27.26±4.06 <sup>c</sup>	20.87±1.38 <sup>a</sup>
<b>1 g/L</b>	87.71±0.83 <sup>ax</sup>	64.63±0.52 <sup>cy</sup>	45.51±2.64 <sup>cy</sup>	31.23±2.24 <sup>cy</sup>	20.28±3.98 <sup>ay</sup>
<b>Melas</b>					
<b>% 0.05'lik</b>	91.10±0.70 <sup>a</sup>	83.84±0.18 <sup>a</sup>	85.46±0.05 <sup>a</sup>	67.91±0.40 <sup>a</sup>	26.94±0.56 <sup>a</sup>
<b>% 1'lik</b>	89.12±0.29 <sup>az</sup>	87.36±0.16 <sup>ax</sup>	73.64±3.29 <sup>az</sup>	66.27±2.33 <sup>ay</sup>	61.93±2.87 <sup>ax</sup>
<b>PAS</b>					
<b>% 5'lik</b>	87.04±0.40 <sup>a</sup>	82.65±0.05 <sup>a</sup>	76.54±0.20 <sup>a</sup>	72.88±0.34 <sup>a</sup>	71.73±0.19 <sup>a</sup>
<b>% 10'luk</b>	89.61±0.41 <sup>ax</sup>	85.02±0.34 <sup>ax</sup>	84.90±0.14 <sup>ax</sup>	78.47±1.06 <sup>ax</sup>	76.90±1.84 <sup>ax</sup>
<b>Bakır</b>					
<b>0.5 mM</b>	87.31±0.06 <sup>a</sup>	80.48±1.53 <sup>b</sup>	57.11±0.98 <sup>b</sup>	59.51±2.24 <sup>a</sup>	80.41±2.68 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlardaki (kontrol) renk giderimi yüzdeleri fungus peletlerinin kullanım sayılarına göre kıyaslandığında, ek maddeler kontrol grubuna göre fungus peletlerinin renk giderimi verimini önemli düzeyde artırmıştır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlar (kontrol) kıyaslandığında fungus peletlerinin renk giderimi verimi açısından önemli düzeyde farklılık yoktur ( $p > 0.05$ ).

<sup>c</sup> Kontrol grubu değerleri ek madde ilave edilen renk giderimi ortamlarında elde edilen renk giderimi veriminden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Boyalı ortamlara eklenen yüksek miktardaki ek maddelerin fungus peletlerinin renk giderimine etkisi düşük miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> Ek madde konsantrasyonları arasında fungus peletlerinin renk giderimine verimine etki açısından önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

<sup>z</sup> Boyalı ortamlara eklenen düşük miktardaki ek maddelerin renk giderimine etkisi yüksek miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.6.** Ek madde ilave edilen ortamlarda *F. trogii* peletleri ile Reaktif Mavi 198'in tekrarlı-kesikli süreçle renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)							
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
<b>Kontrol</b>	<b>89.41±0.95</b>	<b>88.01±0.96</b>	<b>65.03±1.00</b>	<b>54.16±0.43</b>	<b>43.36±0.54</b>	<b>33.54±0.10</b>	17.28±0.26	9.27±0.16
<b>Glukoz</b>								
<b>1 g/L</b>	88.65±0.54 <sup>c</sup>	86.69±2.41 <sup>c</sup>	80.18±2.45 <sup>a</sup>	75.37±0.80 <sup>a</sup>	74.61±1.27 <sup>a</sup>	73.53±0.49 <sup>a</sup>	74.54±1.09 <sup>a</sup>	73.564±4.13 <sup>a</sup>
<b>2 g/L</b>	87.18±1.78 <sup>by</sup>	87.04±2.21 <sup>by</sup>	88.33±0.73 <sup>ax</sup>	80.91±1.21 <sup>ax</sup>	78.10±2.26 <sup>ax</sup>	79.31±1.68 <sup>ax</sup>	79.31±1.31 <sup>ax</sup>	82.38±2.24 <sup>ax</sup>
<b>Maya özütü</b>								
<b>0.1 g/L</b>	85.55±0.73 <sup>b</sup>	85.65±1.11 <sup>c</sup>	42.11±2.68 <sup>c</sup>	32.43±1.84 <sup>c</sup>	21.56±4.70 <sup>c</sup>	--	--	--
<b>1 g/L</b>	87.63±0.16 <sup>cy</sup>	79.14±3.32 <sup>ay</sup>	61.16±2.18 <sup>cx</sup>	51.72±2.64 <sup>bx</sup>	33.96±2.54 <sup>cx</sup>	--	--	--
<b>Pepton</b>								
<b>0.1 g/L</b>	86.17±0.53 <sup>c</sup>	84.95±2.75 <sup>c</sup>	53.71±4.76 <sup>c</sup>	30.83±3.32 <sup>c</sup>	22.71±1.73 <sup>c</sup>	--	--	--
<b>1 g/L</b>	87.67±0.18 <sup>cx</sup>	75.79±1.68 <sup>cy</sup>	35.53±3.45 <sup>cz</sup>	30.09±0.21 <sup>cy</sup>	22.71±3.36 <sup>cy</sup>	--	--	--
<b>Melas</b>								
<b>% 0.05'lik</b>	80.80±0.34 <sup>c</sup>	63.61±0.36 <sup>c</sup>	65.50±0.14 <sup>b</sup>	50.96±1.18 <sup>c</sup>	20.214±0.47 <sup>c</sup>	7.69±0.14 <sup>c</sup>		
<b>% 1'lik</b>	84.11±0.27 <sup>cx</sup>	85.20±0.16 <sup>cx</sup>	57.30±0.69 <sup>cz</sup>	43.55±3.72 <sup>cz</sup>	36.63±0.56 <sup>bx</sup>	35.95±4.53 <sup>bx</sup>	23.523±1.64 <sup>a</sup>	--
<b>PAS</b>								
<b>% 5'lik</b>	60.08±0.35 <sup>c</sup>	51.06±0.43 <sup>c</sup>	49.00±0.20 <sup>c</sup>	44.38±0.32 <sup>c</sup>	44.20±0.28 <sup>a</sup>	55.71±0.25 <sup>a</sup>	42.42±0.25 <sup>a</sup>	38.70±0.42 <sup>a</sup>
<b>% 10'luk</b>	81.23±0.62 <sup>cx</sup>	72.52±2.99 <sup>cx</sup>	68.28±1.05 <sup>ax</sup>	70.195±1.19 <sup>ax</sup>	73.05±4.85 <sup>ax</sup>	62.01±4.57 <sup>ax</sup>	60.10±2.94 <sup>ax</sup>	56.16±0.64 <sup>ax</sup>
<b>Bakır</b>								
<b>0.5 mM</b>	84.85±0.28 <sup>c</sup>	84.81±1.60 <sup>c</sup>	77.85±0.00 <sup>a</sup>	77.53±0.36 <sup>a</sup>	82.20±0.26 <sup>a</sup>	80.16±0.45 <sup>a</sup>	81.61±0.48 <sup>a</sup>	85.20±0.42 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlardaki (kontrol) renk giderimi yüzdeleri fungus peletlerinin kullanım sayılarına göre kıyaslandığında, ek maddeler kontrol grubuna göre fungus peletlerinin renk giderimi verimini önemli düzeyde artmıştır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlar (kontrol) kıyaslandığında fungus peletlerinin renk giderimi verimi açısından önemli düzeyde farklılık yoktur ( $p > 0.05$ ).

<sup>c</sup> Kontrol grubu değerleri ek madde ilave edilen renk giderimi ortamlarında elde edilen renk giderimi veriminden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Boyalı ortamlara eklenen yüksek miktardaki ek maddelerin fungus peletlerinin renk giderimine etkisi düşük miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> Ek madde konsantrasyonları arasında fungus peletlerinin renk giderimine verimine etki açısından önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

<sup>z</sup> Boyalı ortamlara eklenen düşük miktardaki ek maddelerin renk giderimine etkisi yüksek miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.7.** Ek madde ilave edilen ortamlarda *F. trogii* peletleri ile Reaktif Yeşil 19'un tekrarlı-kesikli süreçle renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)				
	1.	2.	3.	4.	5.
<b>Kontrol</b>	88.54±0.23	87.27±0.22	64.64±2.18	40.62±0.6	6.24±0.74
<b>Glukoz</b>					
1 g/L	78.27±5.52 <sup>c</sup>	85.46±0.23 <sup>c</sup>	87.89±0.88 <sup>a</sup>	49.329±1.54 <sup>a</sup>	40.11±0.31 <sup>a</sup>
2 g/L	84.58±0.41 <sup>cx</sup>	86.33±0.99 <sup>by</sup>	78.45±4.55 <sup>az</sup>	44.07±5.94 <sup>ay</sup>	30.00±3.47 <sup>az</sup>
<b>Maya özütü</b>					
0.1 g/L	83.76±0.77 <sup>c</sup>	78.93±0.13 <sup>c</sup>	38.45±0.88 <sup>c</sup>	33.33±1.19 <sup>c</sup>	20.42±1.76 <sup>a</sup>
1 g/L	87.31±1.03 <sup>bx</sup>	72.40±3.32 <sup>cz</sup>	51.94±3.85 <sup>cx</sup>	31.56±1.86 <sup>cy</sup>	18.03±5.06 <sup>ay</sup>
<b>Pepton</b>					
0.1 g/L	82.63±0.23 <sup>c</sup>	76.13±2.02 <sup>c</sup>	40.59±0.58 <sup>c</sup>	25.54±0.91 <sup>c</sup>	21.98±1.24 <sup>a</sup>
1 g/L	86.87±1.09 <sup>cx</sup>	69.82±4.56 <sup>cy</sup>	30.76±5.25 <sup>cz</sup>	26.66±1.86 <sup>cy</sup>	18.43±3.38 <sup>ay</sup>
<b>Melas</b>					
%					
0.05'lik	87.93±0.22 <sup>c</sup>	74.80±0.22 <sup>c</sup>	71.49±0.16 <sup>a</sup>	64.05±0.16 <sup>a</sup>	47.52±0.43 <sup>a</sup>
% 1'lik	89.12±0.81 <sup>bx</sup>	85.49±0.55 <sup>cx</sup>	68.53±1.42 <sup>az</sup>	64.28±3.99 <sup>ay</sup>	44.25±3.16 <sup>az</sup>
<b>PAS</b>					
% 5'lik	76.47±0.05 <sup>c</sup>	72.82±0.24 <sup>c</sup>	74.84±2.20 <sup>a</sup>	63.91±0.24 <sup>a</sup>	56.218±0.34 <sup>a</sup>
% 10'luk	89.43±0.30 <sup>ax</sup>	83.33±0.26 <sup>cx</sup>	81.33±0.29 <sup>ax</sup>	74.92±0.80 <sup>ax</sup>	66.36±0.60 <sup>ax</sup>
<b>Bakır</b>					
0.5 mM	87.16±0.11 <sup>c</sup>	85.35±0.41 <sup>c</sup>	75.77±4.16 <sup>a</sup>	82.26±0.39 <sup>a</sup>	84.66±2.86 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlardaki (kontrol) renk giderimi yüzdeleri fungus peletlerinin kullanım sayılarına göre kıyaslandığında, ek maddeler kontrol grubuna göre fungus peletlerinin renk giderimi verimini önemli düzeyde artırmıştır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlar (kontrol) kıyaslandığında fungus peletlerinin renk giderimi verimi açısından önemli düzeyde farklılık yoktur ( $p > 0.05$ ).

<sup>c</sup> Kontrol grubu değerleri ek madde ilave edilen renk giderimi ortamlarında elde edilen renk giderimi veriminden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Boyalı ortamlara eklenen yüksek miktardaki ek maddelerin fungus peletlerinin renk giderimine etkisi düşük miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> Ek madde konsantrasyonları arasında fungus peletlerinin renk giderimine verimine etki açısından önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

<sup>z</sup> Boyalı ortamlara eklenen düşük miktardaki ek maddelerin renk giderimine etkisi yüksek miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.8.** Ek madde ilave edilen ortamlarda *F. trogii* peletleri ile A. Mavi 74'ün tekrarlı-kesikli süreçle renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)									
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
<b>Kontrol</b>	<b>94.83±0.29</b>	<b>89.71±0.48</b>	<b>82.68±0.96</b>	<b>81.55±0.12</b>	<b>82.78±0.74</b>	<b>67.10±0.48</b>	<b>61.52±0.32</b>	<b>38.20±0.18</b>	<b>31.80±0.39</b>	<b>6.46±0.35</b>
<b>Glukoz</b>										
<b>1 g/L</b>	96.87±0.12 <sup>a</sup>	96.91±0.18 <sup>a</sup>	96.67±0.03 <sup>a</sup>	94.23±1.87 <sup>a</sup>	92.10±3.19 <sup>a</sup>	94.91±0.36 <sup>a</sup>	63.44±0.00 <sup>a</sup>	94.16±0.61 <sup>a</sup>	94.64±0.72 <sup>a</sup>	94.21±1.58 <sup>a</sup>
<b>2 g/L</b>	96.59±0.36 <sup>ay</sup>	96.75±0.22 <sup>ay</sup>	96.12±0.69 <sup>ay</sup>	95.74±0.29 <sup>ay</sup>	95.71±0.66 <sup>ay</sup>	96.204±0.24 <sup>ax</sup>	95.50±0.00 <sup>ax</sup>	95.95±0.17 <sup>ax</sup>	96.92±0.07 <sup>ax</sup>	96.17±0.42 <sup>ax</sup>
<b>Maya özütü</b>										
<b>0.1 g/L</b>	96.52±0.31 <sup>a</sup>	96.25±0.05 <sup>a</sup>	87.767±1.76 <sup>a</sup>	77.30±0.39 <sup>c</sup>	57.94±1.09 <sup>c</sup>	49.54±1.53 <sup>c</sup>	34.53±1.88 <sup>c</sup>	21.05±0.91 <sup>c</sup>	--	--
<b>1 g/L</b>	95.90±0.03 <sup>az</sup>	94.58±1.08 <sup>az</sup>	94.10±0.64 <sup>ax</sup>	92.50±1.47 <sup>ax</sup>	90.81±0.39 <sup>ax</sup>	86.59±0.38 <sup>ax</sup>	78.93±0.79 <sup>ax</sup>	72.62±0.53 <sup>ax</sup>	55.76±1.00 <sup>a</sup>	39.47±2.69 <sup>a</sup>
<b>Pepton</b>										
<b>0.1 g/L</b>	96.38±0.05 <sup>a</sup>	96.40±0.01 <sup>s</sup>	72.89±0.81 <sup>c</sup>	64.23±0.37	39.76±0.61 <sup>c</sup>	53.54±0.83 <sup>c</sup>	39.19±0.38 <sup>c</sup>	30.53±1.79 <sup>c</sup>	--	--
<b>1 g/L</b>	95.71±0.18 <sup>az</sup>	95.68±0.36 <sup>az</sup>	89.62±2.66 <sup>ax</sup>	78.88±1.19 <sup>cx</sup>	49.187±2.30 <sup>cx</sup>	58.23±0.22 <sup>cx</sup>	39.76±1.16 <sup>cy</sup>	18.57±0.49 <sup>cz</sup>	--	--
<b>Melas</b>										
<b>% 0.05'lik</b>	75.74±0.20 <sup>c</sup>	88.91±0.21 <sup>c</sup>	68.64±0.08 <sup>c</sup>	29.19±1.36 <sup>c</sup>	12.60±0.19 <sup>c</sup>	8.85±0.47 <sup>c</sup>	--	--	--	--
<b>% 1'lik</b>	93.25±0.11 <sup>cx</sup>	93.07±0.11 <sup>ax</sup>	81.73±1.89 <sup>bx</sup>	65.95±1.49 <sup>cx</sup>	60.90±2.80 <sup>cx</sup>	57.74±2.52 <sup>cx</sup>	56.188±0.48 <sup>cx</sup>	32.87±0.54 <sup>cx</sup>	--	--
<b>PAS</b>										
<b>% 5'lik</b>	89.82±0.31 <sup>c</sup>	86.07±0.34 <sup>c</sup>	87.72±0.34 <sup>a</sup>	91.68±0.14 <sup>a</sup>	92.25±0.27 <sup>a</sup>	93.09±0.10 <sup>a</sup>	92.28±0.05 <sup>a</sup>	78.32±0.44 <sup>a</sup>	71.62±0.65 <sup>a</sup>	64.50±0.27 <sup>a</sup>
<b>% 10'luk</b>	91.49±0.72 <sup>cx</sup>	84.52±0.66 <sup>cz</sup>	70.41±2.43 <sup>cz</sup>	70.61±2.12 <sup>cz</sup>	58.35±0.76 <sup>cz</sup>	58.55±0.76 <sup>cz</sup>	53.51±0.36 <sup>cz</sup>	42.55±1.13 <sup>az</sup>	19.74±0.24 <sup>cz</sup>	6.856±0.35 <sup>az</sup>
<b>Bakır</b>										
<b>0.5 mM</b>	95.39±0.07 <sup>a</sup>	95.11±0.32 <sup>a</sup>	94.05±0.36 <sup>a</sup>	94.47±0.58 <sup>a</sup>	95.96±0.05 <sup>a</sup>	96.14±0.07 <sup>a</sup>	96.25±0.03 <sup>a</sup>	96.83±0.05 <sup>a</sup>	96.30±1.18 <sup>a</sup>	95.47±0.07 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlardaki (kontrol) renk giderimi yüzdeleri fungus peletlerinin kullanım sayılarına göre kıyaslandığında, ek maddeler kontrol grubuna göre fungus peletlerinin renk giderimi verimini önemli düzeyde artmıştır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlar (kontrol) kıyaslandığında fungus peletlerinin renk giderimi verimi açısından önemli düzeyde farklılık yoktur ( $p > 0.05$ ).

<sup>c</sup> Kontrol grubu değerleri ek madde ilave edilen renk giderimi ortamlarında elde edilen renk giderimi veriminden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Boyalı ortamlara eklenen yüksek miktardaki ek maddelerin fungus peletlerinin renk giderimine etkisi düşük miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> Ek madde konsantrasyonları arasında fungus peletlerinin renk giderimine verimine etki açısından önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

<sup>z</sup> Boyalı ortamlara eklenen düşük miktardaki ek maddelerin renk giderimine etkisi yüksek miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.9.** Ek madde ilave edilen ortamlarda *P.chrysosporium* peletleri ile Reaktif Mavi 171'in tekrarlı-kesikli süreçle renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)				
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün
<b>Kontrol</b>	<b>91.68±0.60</b>	<b>68.19±0.74</b>	<b>52.89±1.15</b>	<b>27.48±1.63</b>	<b>1.20±0.57</b>
<b>Glukoz</b>					
<b>1 g/L</b>	92.40±0.62 <sup>b</sup>	61.65±3.68 <sup>c</sup>	34.72±3.51 <sup>c</sup>	29.66±3.02 <sup>b</sup>	21.56±0.52 <sup>a</sup>
<b>2 g/L</b>	92.40±0.23 <sup>by</sup>	73.36±1.78 <sup>ax</sup>	54.85±0.93 <sup>bx</sup>	32.86±0.70 <sup>ay</sup>	13.49±0.17 <sup>az</sup>
<b>Maya özütü</b>					
<b>0.1 g/L</b>	90.80±0.88 <sup>b</sup>	59.94±1.28 <sup>c</sup>	38.57±4.43 <sup>c</sup>	26.90±1.83 <sup>b</sup>	20.28±0.68 <sup>a</sup>
<b>1 g/L</b>	90.99±0.27 <sup>by</sup>	64.19±0.54 <sup>cx</sup>	61.29±4.61 <sup>ax</sup>	52.20±4.09 <sup>ax</sup>	29.63±2.89 <sup>ax</sup>
<b>Pepton</b>					
<b>0.1 g/L</b>	90.40±0.86 <sup>b</sup>	74.10±1.38 <sup>a</sup>	61.47±2.02 <sup>a</sup>	39.15±3.33 <sup>a</sup>	29.30±2.45 <sup>a</sup>
<b>1 g/L</b>	91.35±0.06 <sup>by</sup>	62.74±5.08 <sup>cz</sup>	52.53±1.38 <sup>bz</sup>	39.88±0.06 <sup>cy</sup>	28.10±5.05 <sup>ay</sup>
<b>Melas</b>					
<b>%</b>					
<b>0.05'lik</b>	90.63±0.65 <sup>b</sup>	85.97±0.05 <sup>a</sup>	72.56±0.13 <sup>a</sup>	41.14±0.48 <sup>a</sup>	23.88±0.20 <sup>a</sup>
<b>% 1'lik</b>	82.76±0.75 <sup>cz</sup>	82.58±2.41 <sup>az</sup>	86.39±3.56 <sup>ax</sup>	75.18±5.70 <sup>ax</sup>	50.04±5.38 <sup>ax</sup>
<b>PAS</b>					
<b>% 5'lik</b>	91.18±0.11 <sup>b</sup>	81.50±0.45 <sup>a</sup>	82.33±0.34 <sup>a</sup>	77.97±0.11 <sup>a</sup>	75.49±0.24 <sup>a</sup>
<b>% 10'luk</b>	88.67±3.85 <sup>by</sup>	85.96±0.25 <sup>ax</sup>	84.35±0.93 <sup>ax</sup>	81.02±3.73 <sup>ay</sup>	77.84±0.89 <sup>ax</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlardaki (kontrol) renk giderimi yüzdeleri fungus peletlerinin kullanım sayılarına göre kıyaslandığında, ek maddeler kontrol grubuna göre fungus peletlerinin renk giderimi verimini önemli düzeyde artırmıştır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlar (kontrol) kıyaslandığında fungus peletlerinin renk giderimi verimi açısından önemli düzeyde farklılık yoktur ( $p > 0.05$ ).

<sup>c</sup> Kontrol grubu değerleri ek madde ilave edilen renk giderimi ortamlarında elde edilen renk giderimi veriminden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Boyalı ortamlara eklenen yüksek miktardaki ek maddelerin fungus peletlerinin renk giderimine etkisi düşük miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> Ek madde konsantrasyonları arasında fungus peletlerinin renk giderimine verimine etki açısından önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

<sup>z</sup> Boyalı ortamlara eklenen düşük miktardaki ek maddelerin renk giderimine etkisi yüksek miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.10.** Ek madde ilave edilen ortamlarda *P.chrysosporium* peletleri ile Reaktif Mavi 198'in tekrarlı-kesikli süreçle renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)				
	1.	2.	3.	4.	5.
<b>Kontrol</b>	<b>91.95±0.31</b>	<b>83.39±0.69</b>	<b>68.27±0.32</b>	<b>41.00±0.32</b>	<b>8.01±2.34</b>
<b>Glukoz</b>					
<b>1 g/L</b>	93.10±0.26 <sup>a</sup>	54.55±2.20 <sup>c</sup>	53.64±3.13 <sup>c</sup>	43.57±5.10 <sup>b</sup>	29.61±1.55 <sup>a</sup>
<b>2 g/L</b>	92.86±0.34 <sup>by</sup>	62.77±0.59 <sup>by</sup>	51.72±1.25 <sup>by</sup>	34.73±2.29 <sup>by</sup>	19.78±2.51 <sup>by</sup>
<b>Maya özütü</b>					
<b>0.1 g/L</b>	90.56±0.06 <sup>c</sup>	76.38±0.69 <sup>c</sup>	59.91±2.32 <sup>c</sup>	43.05±4.68 <sup>b</sup>	30.90±3.25 <sup>a</sup>
<b>1 g/L</b>	91.10±0.42 <sup>bx</sup>	60.78±3.29 <sup>cz</sup>	53.85±4.34 <sup>cz</sup>	43.89±1.54 <sup>ay</sup>	34.90±1.92 <sup>ay</sup>
<b>Pepton</b>					
<b>0.1 g/L</b>	90.28±0.28 <sup>c</sup>	62.66±3.10 <sup>c</sup>	50.64±1.09 <sup>c</sup>	38.35±0.69 <sup>b</sup>	22.74±1.99 <sup>a</sup>
<b>1 g/L</b>	92.16±0.28 <sup>bx</sup>	62.28±2.64 <sup>cy</sup>	50.02±0.24 <sup>cy</sup>	41.24±4.50 <sup>by</sup>	30.55±5.60 <sup>ax</sup>
<b>Melas</b>					
<b>%</b>					
<b>0.05'lik</b>	89.91±0.33 <sup>c</sup>	63.64±0.39 <sup>c</sup>	47.34±0.20 <sup>c</sup>	25.61±0.20 <sup>c</sup>	19.71±0.67 <sup>a</sup>
<b>% 1'lik</b>	82.18±0.90 <sup>cz</sup>	83.06±2.25 <sup>bx</sup>	75.39±1.13 <sup>ax</sup>	30.69±1.70 <sup>cx</sup>	20.50±1.70 <sup>ay</sup>
<b>PAS</b>					
<b>% 5'lik</b>	91.20±0.28 <sup>b</sup>	37.08±0.19 <sup>c</sup>	39.61±0.34 <sup>c</sup>	39.67±0.29 <sup>b</sup>	36.89±0.28 <sup>a</sup>
<b>% 10'luk</b>	87.31±0.28 <sup>cz</sup>	85.51±1.28 <sup>ax</sup>	81.12±0.23 <sup>ax</sup>	62.23±1.47 <sup>ax</sup>	39.45±2.60 <sup>ax</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlardaki (kontrol) renk giderimi yüzdeleri fungus peletlerinin kullanım sayılarına göre kıyaslandığında, ek maddeler kontrol grubuna göre fungus peletlerinin renk giderimi verimini önemli düzeyde artırmıştır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlar (kontrol) kıyaslandığında fungus peletlerinin renk giderimi verimi açısından önemli düzeyde farklılık yoktur ( $p > 0.05$ ).

<sup>c</sup> Kontrol grubu değerleri ek madde ilave edilen renk giderimi ortamlarında elde edilen renk giderimi veriminden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Boyalı ortamlara eklenen yüksek miktardaki ek maddelerin fungus peletlerinin renk giderimine etkisi düşük miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> Ek madde konsantrasyonları arasında fungus peletlerinin renk giderimine verimine etki açısından önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

<sup>z</sup> Boyalı ortamlara eklenen düşük miktardaki ek maddelerin renk giderimine etkisi yüksek miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.11.** Ek madde ilave edilen ortamlarda *P.chrysosporium* peletleri ile Reaktif Yeşil 19'un tekrarlı-kesikli süreçle renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)				
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün
<b>Kontrol</b>	<b>91.55±0.17</b>	<b>74.47±0.79</b>	<b>43.96±0.19</b>	<b>22.56±0.31</b>	<b>1.705±0.33</b>
<b>Glukoz</b>					
<b>1 g/L</b>	92.46±0.17 <sup>a</sup>	64.53±1.67 <sup>c</sup>	52.70±4.10 <sup>a</sup>	41.71±4.21 <sup>a</sup>	25.10±1.03 <sup>a</sup>
<b>2 g/L</b>	92.82±0.11 <sup>ax</sup>	70.73±3.03 <sup>bx</sup>	57.16±0.44 <sup>ax</sup>	39.68±0.87 <sup>ay</sup>	26.01±0.82 <sup>ay</sup>
<b>Maya özütü</b>					
<b>0.1 g/L</b>	90.64±0.66 <sup>b</sup>	63.91±3.91 <sup>c</sup>	50.10±3.10 <sup>a</sup>	40.00±1.13 <sup>a</sup>	27.64±4.36 <sup>a</sup>
<b>1 g/L</b>	91.66±0.06 <sup>bx</sup>	48.42±4.25 <sup>cz</sup>	40.33±3.59 <sup>bz</sup>	31.74±3.83 <sup>az</sup>	18.50±3.42 <sup>az</sup>
<b>Pepton</b>					
<b>0.1 g/L</b>	90.13±0.33 <sup>c</sup>	59.10±1.42 <sup>c</sup>	53.14±3.17 <sup>a</sup>	43.02±3.20 <sup>a</sup>	27.75±2.75 <sup>a</sup>
<b>1 g/L</b>	91.69±0.06 <sup>bx</sup>	51.51±2.56 <sup>cz</sup>	41.68±4.49 <sup>bz</sup>	31.74±2.78 <sup>az</sup>	28.47±2.70 <sup>ay</sup>
<b>Melas</b>					
<b>% 0.05'lik</b>	91.30±0.24 <sup>b</sup>	81.52±0.13 <sup>a</sup>	78.21±0.38 <sup>a</sup>	60.10±0.17 <sup>a</sup>	21.21±0.45 <sup>a</sup>
<b>% 1'lik</b>	84.59±0.75 <sup>cx</sup>	81.93±1.68 <sup>ay</sup>	77.55±1.56 <sup>ay</sup>	42.80±4.04 <sup>az</sup>	22.80±2.04 <sup>ax</sup>
<b>PAS</b>					
<b>% 5'lik</b>	90.87±0.25 <sup>c</sup>	55.32±0.20 <sup>c</sup>	52.21±0.25 <sup>a</sup>	53.49±0.47 <sup>a</sup>	55.06±0.05 <sup>a</sup>
<b>% 10'luk</b>	88.48±0.97 <sup>cz</sup>	82.08±1.20 <sup>ax</sup>	88.11±0.26 <sup>ax</sup>	80.83±0.99 <sup>ax</sup>	70.68±1.29 <sup>ax</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlardaki (kontrol) renk giderimi yüzdeleri fungus peletlerinin kullanım sayılarına göre kıyaslandığında, ek maddeler kontrol grubuna göre fungus peletlerinin renk giderimi verimini önemli düzeyde artırmıştır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlar (kontrol) kıyaslandığında fungus peletlerinin renk giderimi verimi açısından önemli düzeyde farklılık yoktur ( $p > 0.05$ ).

<sup>c</sup> Kontrol grubu değerleri ek madde ilave edilen renk giderimi ortamlarında elde edilen renk giderimi veriminden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Boyalı ortamlara eklenen yüksek miktardaki ek maddelerin fungus peletlerinin renk giderimine etkisi düşük miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup> Ek madde konsantrasyonları arasında fungus peletlerinin renk giderimine verimine etki açısından önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ ).

<sup>z</sup> Boyalı ortamlara eklenen düşük miktardaki ek maddelerin renk giderimine etkisi yüksek miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.12.** Ek madde ilave edilen ortamlarda *P.chrysosporium* peletleri ile A. Mavi 74'ün tekrarlı-kesikli süreçle renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)				
	1.	2.	3.	4.	5.
<b>Kontrol</b>	<b>86.48±0.89</b>	<b>65.88±0.85</b>	<b>48.77±0.72</b>	<b>33.89±0.36</b>	<b>10.00±0.41</b>
<b>Glukoz</b>					
<b>1 g/L</b>	95.84±0.50 <sup>a</sup>	87.94±1.12 <sup>a</sup>	82.85±2.41 <sup>a</sup>	78.33±2.10 <sup>a</sup>	68.87±1.40 <sup>a</sup>
<b>2 g/L</b>	95.90±0.14 <sup>ay</sup>	81.39±0.44 <sup>az</sup>	77.29±1.13 <sup>az</sup>	68.90±0.31 <sup>az</sup>	57.22±0.37 <sup>az</sup>
<b>Maya özütü</b>					
<b>0.1 g/L</b>	92.14±0.53 <sup>a</sup>	76.97±0.81 <sup>a</sup>	74.29±2.10 <sup>a</sup>	69.01±1.12 <sup>a</sup>	61.10±0.63 <sup>a</sup>
<b>1 g/L</b>	94.96±0.14 <sup>ax</sup>	84.16±0.83 <sup>ax</sup>	73.91±1.30 <sup>ay</sup>	68.98±1.30 <sup>ay</sup>	59.61±0.72 <sup>az</sup>
<b>Pepton</b>					
<b>0.1 g/L</b>	92.03±0.77 <sup>a</sup>	79.84±1.05 <sup>a</sup>	75.66±0.28 <sup>a</sup>	69.62±1.87 <sup>a</sup>	64.59±1.00 <sup>a</sup>
<b>1 g/L</b>	95.87±0.36 <sup>ax</sup>	78.02±2.14 <sup>ay</sup>	74.32±1.77 <sup>ay</sup>	70.02±1.26 <sup>ay</sup>	69.06±1.44 <sup>ax</sup>
<b>Melas</b>					
<b>% 0.05'lik</b>	76.45±0.20 <sup>c</sup>	60.52±0.27 <sup>c</sup>	35.97±0.14 <sup>c</sup>	23.91±0.30 <sup>c</sup>	8.65±1.15 <sup>b</sup>
<b>% 1'lik</b>	67.68±1.33 <sup>cz</sup>	58.14±2.22 <sup>cz</sup>	60.16±0.08 <sup>ax</sup>	52.27±0.60 <sup>ax</sup>	32.27±0.60 <sup>ax</sup>
<b>PAS</b>					
<b>% 5'lik</b>	85.23±0.09 <sup>c</sup>	61.77±0.34 <sup>c</sup>	58.41±0.14 <sup>a</sup>	58.26±0.10 <sup>a</sup>	43.90±0.23 <sup>a</sup>
<b>% 10'luk</b>	71.63±1.25 <sup>cz</sup>	55.99±1.24 <sup>cz</sup>	46.93±2.56 <sup>bz</sup>	45.63±3.95 <sup>az</sup>	32.70±0.96 <sup>az</sup>

**PKS:** Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlardaki (kontrol) renk giderimi yüzdeleri fungus peletlerinin kullanım sayılarına göre kıyaslandığında, ek maddeler kontrol grubuna göre fungus peletlerinin renk giderimi verimini önemli düzeyde artırmıştır (**p≤0.05**).

<sup>b</sup> Ek madde içeren ve içermeyen ortamlar (kontrol) kıyaslandığında fungus peletlerinin renk giderimi verimi açısından önemli düzeyde farklılık yoktur (**p>0.05**).

<sup>c</sup> Kontrol grubu değerleri ek madde ilave edilen renk giderimi ortamlarında elde edilen renk giderimi veriminden önemli düzeyde yüksektir (**p≤0.05**).

<sup>x</sup> Boyalı ortamlara eklenen yüksek miktardaki ek maddelerin fungus peletlerinin renk giderimine etkisi düşük miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır (**p≤0.05**).

<sup>y</sup> Ek madde konsantrasyonları arasında fungus peletlerinin renk giderimine verimine etki açısından önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır (**p>0.05**).

<sup>z</sup> Boyalı ortamlara eklenen düşük miktardaki ek maddelerin renk giderimine etkisi yüksek miktardaki ek maddeden önemli düzeyde yüksek olmaktadır (**p≤0.05**).



## 7.2. Tutuklamanın Renk Giderimi Verimi ve Pelet Kullanım Sayısı Üzerine Etkisi

### EK 7.13. Tutuklanmış *T. versicolor* hücreleri ile Reaktif Mavi 171'in renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)						
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
<b>Kontrol</b>	<b>85.53±0.17</b>	<b>83.35±0.41</b>	<b>67.21±0.06</b>	<b>64.77±0.29</b>	<b>63.39±0.27</b>	<b>57.07±0.25</b>	<b>42.75±0.38</b>
<b>Aktif Karbon 0.5 g/50 ml</b>	87.31±0.38 <sup>a</sup>	62.09±1.28 <sup>c</sup>	32.10±1.84 <sup>c</sup>	16.76±1.36 <sup>c</sup>	8.18±1.07 <sup>c</sup>	--	--
<b>Çam Kozalağı 0.2 g/50 ml</b>	83.50±0.17 <sup>c</sup>	78.92±0.92 <sup>c</sup>	38.35±0.33 <sup>c</sup>	31.01±0.30 <sup>c</sup>	5.89±0.79 <sup>c</sup>	--	--
<b>Kalsiyum -aljinat % 1'lik</b>	86.06±0.08 <sup>a</sup>	75.03±0.24 <sup>c</sup>	73.04±0.57 <sup>a</sup>	61.23±0.30 <sup>c</sup>	60.33±0.17 <sup>a</sup>	47.94±0.78 <sup>c</sup>	30.700±0.21 <sup>c</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksektir (p≤0.05).

<sup>b</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletler ile kıyaslandığında önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır (p>0.05)

<sup>c</sup> Serbest peletlerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri tutuklanmış hücrelerden önemli düzeyde yüksektir (p≤0.05).

### EK 7.14. Tutuklanmış *T. versicolor* hücreleri ile Reaktif Mavi 198'in renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)									
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7.gün	8. gün	9. gün	10.gün
<b>Kontrol</b>	<b>92.23±0.22</b>	<b>91.19±0.42</b>	<b>83.94±0.32</b>	<b>83.59±0.18</b>	<b>81.71±0.18</b>	<b>81.57±0.12</b>	<b>53.64±0.16</b>	<b>31.63±0.37</b>	<b>13.20±0.53</b>	<b>4.11±0.58</b>
<b>Aktif Karbon 0.5 g/50 ml</b>	92.51±0.12 <sup>b</sup>	92.16±0.54 <sup>a</sup>	91.29±0.16 <sup>a</sup>	42.84±1.15 <sup>c</sup>	16.16±0.34 <sup>c</sup>	--	--	--	--	--
<b>Çam Kozalağı 0.2 g/50 ml</b>	84.85±0.48 <sup>c</sup>	85.55±0.73 <sup>c</sup>	74.50±3.02 <sup>c</sup>	65.27±2.27 <sup>c</sup>	43.40±0.92 <sup>c</sup>	31.77±1.10 <sup>c</sup>	29.95±0.16 <sup>c</sup>	20.24±0.22 <sup>c</sup>	7.87±0.66 <sup>c</sup>	3.90±0.36 <sup>b</sup>
<b>Kalsiyum-aljinat % 1'lik</b>	84.84±0.33 <sup>c</sup>	89.86±0.32 <sup>c</sup>	91.50±0.27 <sup>a</sup>	77.04±1.09 <sup>c</sup>	48.45±0.89 <sup>c</sup>	46.43±0.94 <sup>c</sup>	37.05±0.87 <sup>c</sup>	--	--	--

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksektir (p≤0.05).

<sup>b</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletler ile kıyaslandığında önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır (p>0.05)

<sup>c</sup> Serbest peletlerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri tutuklanmış hücrelerden önemli düzeyde yüksektir (p≤0.05).

**EK 7.15.** Tutuklanmış *T. versicolor* hücreleri ile Reaktif Yeşil 19'un renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)						
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
<b>Kontrol</b>	<b>85.53±0.17</b>	<b>83.35±0.41</b>	<b>67.21±0.06</b>	<b>64.77±0.29</b>	<b>63.39±0.27</b>	<b>57.07±0.25</b>	<b>42.75±0.38</b>
<b>Aktif Karbon 0.5 g/50 ml</b>	91.77±0.38 <sup>a</sup>	91.08±0.19 <sup>a</sup>	85.75±0.39 <sup>a</sup>	28.47±1.38 <sup>c</sup>	2.94±0.22 <sup>c</sup>	--	--
<b>Çam Kozalağı 0.2 g/50 ml</b>	85.13±0.23 <sup>c</sup>	84.19±0.06 <sup>a</sup>	49.98±3.12 <sup>c</sup>	30.50±0.94 <sup>c</sup>	2.87±0.64 <sup>c</sup>	--	--
<b>Kalsiyum-aljinat % 1'lik</b>	87.54±0.26 <sup>a</sup>	90.29±0.27 <sup>a</sup>	92.51±0.32 <sup>a</sup>	75.78±0.80 <sup>a</sup>	51.51±0.74 <sup>c</sup>	45.66±1.44 <sup>c</sup>	31.52±1.30 <sup>c</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksektir (p≤0.05).

<sup>b</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletler ile kıyaslandığında önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır (p>0.05)

<sup>c</sup> Serbest peletlerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri tutuklanmış hücrelerden önemli düzeyde yüksektir (p≤0.05).

**EK 7.16.** Tutuklanmış *T. versicolor* hücreleri ile Asit Mavi 74'ün renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)									
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
<b>Kontrol</b>	<b>96.79±0.05</b>	<b>96.33±0.12</b>	<b>91.14±0.05</b>	<b>81.71±0.07</b>	<b>71.45±0.19</b>	<b>56.60±0.13</b>	<b>44.26±0.17</b>	<b>30.30±1.37</b>	<b>20.27±0.95</b>	<b>9.70±0.37</b>
<b>Aktif Karbon 0.5 g/50 ml</b>	97.00±0.11 <sup>a</sup>	96.83±0.19 <sup>a</sup>	96.43±0.24 <sup>a</sup>	95.73±0.43 <sup>a</sup>	52.12±0.36 <sup>c</sup>	35.79±0.90 <sup>c</sup>	--	--	--	--
<b>Çam Kozalağı 0.2 g/50 ml</b>	95.46±0.05 <sup>c</sup>	96.83±0.03 <sup>a</sup>	95.02±0.49 <sup>a</sup>	90.14±0.21 <sup>a</sup>	79.90±0.21 <sup>a</sup>	59.33±0.10 <sup>a</sup>	41.64±0.15 <sup>c</sup>	38.09±0.08 <sup>a</sup>	20.80±0.07 <sup>b</sup>	7.93±0.36 <sup>c</sup>
<b>Kalsiyum-aljinat % 1'lik</b>	88.63±0.23 <sup>c</sup>	92.64±0.12 <sup>c</sup>	93.41±0.08 <sup>a</sup>	94.60±0.15 <sup>a</sup>	62.73±0.19 <sup>c</sup>	60.30±0.67 <sup>a</sup>	45.08±2.47 <sup>b</sup>	34.64±1.52 <sup>a</sup>	--	--

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksektir (p≤0.05).

<sup>b</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletler ile kıyaslandığında önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır (p>0.05)

<sup>c</sup> Serbest peletlerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri tutuklanmış hücrelerden önemli düzeyde yüksektir (p≤0.05).

**EK 7.17.** Tutuklanmış *F. trogii* hücreleri ile Reaktif Mavi 171'in renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)				
	1.	2.	3.	4.	5.
<b>Kontrol</b>	<b>84.15±0.27</b>	<b>79.317±0.70</b>	<b>59.83±1.40</b>	<b>39.95±2.14</b>	<b>9.92±0.97</b>
<b>Aktif Karbon 0.5 g/50 ml</b>	82.66±0.50 <sup>c</sup>	76.66±0.39 <sup>c</sup>	39.19±0.54 <sup>c</sup>	21.16±1.11 <sup>b</sup>	10.58±0.61 <sup>b</sup>
<b>Çam Kozalağı 0.2 g/50 ml</b>	66.63±0.11 <sup>c</sup>	33.99±0.11 <sup>c</sup>	20.90±0.07 <sup>c</sup>	6.29±0.82 <sup>c</sup>	1.09±0.50 <sup>c</sup>
<b>Kalsiyum- aljinat % 1'lik</b>	87.43±0.49 <sup>a</sup>	74.97±0.79 <sup>b</sup>	70.53±1.47 <sup>a</sup>	40.27±0.31 <sup>b</sup>	29.16±0.39 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletler ile kıyaslandığında önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ )

<sup>c</sup> Serbest peletlerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri tutuklanmış hücrelerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.18.** Tutuklanmış *F. trogii* hücreleri ile Reaktif Mavi 198'in renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)						
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
<b>Kontrol</b>	<b>89.41±0.95</b>	<b>88.01±0.96</b>	<b>65.03±1.00</b>	<b>54.16±0.44</b>	<b>43.36±0.54</b>	<b>33.54±1.00</b>	<b>17.28±0.26</b>
<b>Aktif Karbon 0.5 g/50 ml</b>	87.25±0.31 <sup>c</sup>	67.43±0.40 <sup>c</sup>	32.11±0.77 <sup>c</sup>	24.87±0.55 <sup>c</sup>	10.45±0.55 <sup>c</sup>	--	--
<b>Çam Kozalağı 0.2 g/50 ml</b>	82.86±0.28 <sup>c</sup>	54.02±0.16 <sup>c</sup>	28.38±0.25 <sup>c</sup>	10.62±0.72 <sup>c</sup>	3.48±0.59 <sup>c</sup>	--	--
<b>Kalsiyum-aljinat % 1'lik</b>	83.00±0.36 <sup>c</sup>	81.24±1.04 <sup>b</sup>	72.88±1.12 <sup>a</sup>	60.64±1.20 <sup>a</sup>	53.30±0.33 <sup>a</sup>	41.84±0.63 <sup>a</sup>	37.07±1.00 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletler ile kıyaslandığında önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ )

<sup>c</sup> Serbest peletlerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri tutuklanmış hücrelerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.19.** Tutuklanmış *F. trogii* hücreleri ile Reaktif Yeşil 19'un renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)				
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün
<b>Kontrol</b>	<b>88.54±0.23</b>	<b>87.27±0.22</b>	<b>64.64±2.18</b>	<b>40.62±0.60</b>	<b>6.24±0.74</b>
<b>Aktif Karbon</b> <b>0.5 g/50 ml</b>	87.63±0.33 <sup>c</sup>	63.91±1.44 <sup>c</sup>	37.61±0.56 <sup>c</sup>	15.56±0.29 <sup>c</sup>	13.49±0.61 <sup>a</sup>
<b>Çam Kozalağı</b> <b>0.2 g/50 ml</b>	84.15±1.06 <sup>c</sup>	44.28±1.64 <sup>c</sup>	23.98±1.34 <sup>c</sup>	2.14±0.21 <sup>c</sup>	1.20±0.08 <sup>c</sup>
<b>Kalsiyum- aljinat</b> <b>% 1'lik</b>	86.88±0.30 <sup>c</sup>	85.86±1.65 <sup>c</sup>	69.27±0.28 <sup>a</sup>	50.18±0.64 <sup>a</sup>	41.51±0.25 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletler ile kıyaslandığında önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ )

<sup>c</sup> Serbest peletlerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri tutuklanmış hücrelerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.20.** Tutuklanmış *F. troglia* hücreleri ile Asit Mavi 74'ün renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)									
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7.gün	8. gün	9. gün	10.gün
<b>Kontrol</b>	94.83±0.29	89.71±0.48	82.68±0.96	81.55±0.12	82.78±0.74	67.10±0.48	61.52±0.32	38.20±0.18	31.80±0.39	6.46±0.34
<b>Aktif Karbon</b>										
<b>0.5 g/50 ml</b>	95.90±0.03 <sup>a</sup>	77.15±0.19 <sup>c</sup>	68.09±0.86 <sup>c</sup>	59.82±1.13 <sup>c</sup>	44.10±1.22 <sup>c</sup>	--	--	--	--	--
<b>Çam Kozalağı</b>										
<b>0.2 g/50 ml</b>	95.17±0.10 <sup>a</sup>	93.22±0.40 <sup>a</sup>	84.93±0.65 <sup>a</sup>	85.42±0.25 <sup>a</sup>	80.67±0.47 <sup>c</sup>	82.55±0.24 <sup>a</sup>	74.75±0.79 <sup>a</sup>	85.65±0.17 <sup>a</sup>	87.42±0.17 <sup>a</sup>	89.14±0.42 <sup>a</sup>
<b>Kalsiyum-aljinat</b>										
<b>% 1'lik</b>	88.58±0.26 <sup>c</sup>	91.64±0.36 <sup>a</sup>	90.19±0.67 <sup>a</sup>	86.91±1.29 <sup>a</sup>	85.46±1.20 <sup>a</sup>	83.84±1.24 <sup>a</sup>	83.13±0.62 <sup>a</sup>	64.83±1.91 <sup>a</sup>	49.16±1.21 <sup>a</sup>	42.09±0.73 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletler ile kıyaslandığında önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ )

<sup>c</sup> Serbest peletlerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri tutuklanmış hücrelerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.21.** Tutuklanmış *P. chrysosporium* hücreleri ile Reaktif Mavi 171'in renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)				
	1.	2.	3.	4.	5.
<b>Kontrol</b>	<b>91.68±0.60</b>	<b>68.19±0.74</b>	<b>52.89±1.15</b>	<b>27.48±1.63</b>	<b>1.20±0.57</b>
<b>Kalsiyum-aljinat % 1'lik</b>	87.60±0.51 <sup>c</sup>	72.52±0.65 <sup>a</sup>	66.54±1.53 <sup>a</sup>	37.47±1.28 <sup>a</sup>	26.14±0.62 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletler ile kıyaslandığında önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ )

<sup>c</sup> Serbest peletlerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri tutuklanmış hücrelerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.22.** Tutuklanmış *P. chrysosporium* hücreleri ile Reaktif Mavi 198'in renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)				
	1.	2.	3.	4.	5.
<b>Kontrol</b>	<b>91.95±0.31</b>	<b>83.39±0.69</b>	<b>68.27±0.32</b>	<b>41.00±0.32</b>	<b>8.01±2.34</b>
<b>Kalsiyum-aljinat % 1'lik</b>	85.10±0.57 <sup>c</sup>	74.82±0.16 <sup>c</sup>	67.34±1.11 <sup>b</sup>	53.22±0.77 <sup>a</sup>	49.17±0.06 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletler ile kıyaslandığında önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ )

<sup>c</sup> Serbest peletlerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri tutuklanmış hücrelerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.23.** Tutuklanmış *P. chrysosporium* hücreleri ile Reaktif Yeşil 19'un renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)				
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün
<b>Kontrol</b>	<b>91.55±0.17</b>	<b>74.47±0.79</b>	<b>43.96±0.19</b>	<b>22.56±0.31</b>	<b>1.705±0.33</b>
<b>Kalsiyum-aljinat % 1'lik</b>	87.13±0.09 <sup>c</sup>	87.13±0.22 <sup>a</sup>	71.16±1.20 <sup>a</sup>	56.24±0.24 <sup>a</sup>	48.03±1.75 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletler ile kıyaslandığında önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ )

<sup>c</sup> Serbest peletlerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri tutuklanmış hücrelerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

**EK 7.23.** Tutuklanmış *P. chrysosporium* hücreleri ile Asit Mavi 74'ün renginin giderimi

PKS	Renk Giderimi (%)				
	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün
<b>Kontrol</b>	<b>86.48±0.89</b>	<b>65.88±0.85</b>	<b>48.77±0.72</b>	<b>33.89±0.36</b>	<b>10.00±0.41</b>
<b>Kalsiyum-aljinat % 1'lik</b>	69.44±0.44 <sup>c</sup>	56.31±0.46 <sup>c</sup>	48.17±0.57 <sup>b</sup>	56.05±0.84 <sup>a</sup>	52.77±0.64 <sup>a</sup>

PKS: Pelet kullanım sayısı.

<sup>a</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletlerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>b</sup> Tutuklanmış hücrelerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri serbest peletler ile kıyaslandığında önemli düzeyde farklılık bulunmamaktadır ( $p > 0.05$ )

<sup>c</sup> Serbest peletlerle elde edilen günlük renk giderimi yüzdeleri tutuklanmış hücrelerden önemli düzeyde yüksektir ( $p \leq 0.05$ ).



## ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Malatya’da doğdu. İlk ve orta öğretimini Malatya’da tamamlayarak 1994 yılında İnönü Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji öğretmenliği bölümünü kazanan Seval CİNG YILDIRIM 1998 yılında buradan mezun oldu. 1998-2001 yılları arasında İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisans Eğitimi tamamlayarak 2001 yılında Doktora eğitimine başladı. 1998-2000 yılları arasında Milli Eğitim Bakanlığı bünyesinde fen bilgisi öğretmenliği yaptı. Şubat 2000 tarihinde İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde araştırma görevlisi olarak göreve başladı. Halen bu görevini devam ettiren Seval CİNG YILDIRIM evli olup, İngilizce bilmektedir.