

**TEKSTİL BOYAR MADDELERİN  
MİKROBİYAL RENK GİDERİMİ**

Hülya KARACA  
Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı  
Ocak-2007

**Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu  
Başkanlığı tarafından desteklenmiştir. Proje No: 051024**

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Hülya KARACA' nın “Tekstil Boyar Maddelerinin Mikrobiyal Renk Giderimi” başlıklı **Biyoloji** Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans Tezi 15.12.2006 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

### Adı-Soyadı İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Prof. Dr. MERİH KIVANÇ .....

Üye : Prof. Dr. KIYMET GÜVEN .....

Üye : Doç. Dr. YAĞMUR TUNALI .....

Üye : Doç. Dr. SEMRA İLHAN .....

Üye :Yard. Doç. Dr. NALAN YILMAZ SARIÖZLÜ .....

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu' nun  
..... tarih ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### TEKSTİL BOYAR MADDELERİNİN MİKROBİYAL RENK GİDERİMİ

Hülya KARACA

Anadolu Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Bölümü

Danışman: Prof. Dr. Merih KIVANÇ  
2006, 73 sayfa

Bu çalışmada Eskişehir Sarar Tekstil A.Ş., Eskişehir şeker fabrikası yanı Porsuk Çayı ve Eskişehir ili çevresindeki farklı tarla topraklarından izole edilen bazı mikroorganizmaların, Eskişehir Sarar Tekstil A.Ş' den elde edilen çeşitli reaktif boyaları üzerindeki dekolorizasyon yeteneği araştırılmıştır. Denenen boyalardan Blue 13 boyasını dekolorize edebilen 4 adet küf izole edilmiştir. İdentifikasyonları yapılan bu küflerin *Aspergillus niveus 1*, *Aspergillus niveus 2*, *Sporotrichum sp.*, *Fusarium moniliforme* olduğu tespit edilmiştir. Bu küflerin Blue 13 boya solüsyonunun çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarında dekolorizasyonu incelenmiş ve her iki koşulda da %90 lara varan sonuçlar elde edilmiştir. Fizyolojik optimizasyon deneylerine (pH, sıcaklık, çalkalama hızı, boya konsantrasyonu) çalkalamalı ortamda devam edilmiş ve sonuçlar varyans analizi ile desteklenerek sunulmuştur. Küflerin ölü pelletleri ile çalışılarak *Sporotrichum sp.*' nin tekrarlı dekolorizasyonuna bakılmış ve 7 gün sonunda %89 renk giderimi elde edilmiştir. Dekolorizasyon sonrasında ardışık kültür ortamda kalan suyun toksisitesi araştırılmış *A. niveus 1* için %40' lık ve %80' lik; *Sporotrichum sp.* için ise %20' lik, %40' lık ve %80' lik su örneklerinin etkili olduğu saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Renk giderimi, fungi, tekstil boyaları, optimizasyon, toksisite

## ABSTRACT

Master of Science Thesis

### DECOLORIZATION OF TEXTILE DYES BY MCROORGANSMS

Hülya KARACA

Anadolu Üiversity  
Graduate School of Sciences  
Biology Program  
Supervisor: Prof. Dr. Merih KIVANÇ  
2006, 73 pages

In these study microorganisims which are taken from Porsuk River where is behind Eskişehir Sugar Factory and fields that contain different types of plants ability of decolorizing. Reactive dyes, which are supplied from Eskişehir Sarar Textile Compony, is researched. Four fungi are isolated which can decolorize Blue 13 after identification study , it is understood that these fungi are; *Aspergillus niveus 1*, *Aspergillus niveus 2*, *Sporotrichum sp.* and *Fusarium moniliforme*. That fungus decolarizate Blue 13 solution and it is searched at agitated and static conditions and %90 decolorization was obtained at these condition, optimization experiments (ph degree, tempature, agitation speed, color concentration) are continued at agitated conditions and results are presented by supporting of variance analysis. Dead pellets of fungi are also searched and decolorozition of *Sporotrichum sp.* are researched repeatedly and was obtained %70 decolorization en of the 7.day. Decolorized water is searched for toxicity. *A.niveus 1*' s %40, %80 dilution and *Sporotrichum sp.*'s %20, %40, %80 dilution are effective for cell.

**Keywords:** Decolorization, fungi, textile dyes, optimization, toxicity.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde bizzat emeği ve değerli desteği ile yolumu çizen sayın danışmanım Prof. Dr. Merih KIVANÇ' a teşekkürlerimi sunarım.

Her aşamada yardımını ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Yağmur TUNALI' ya teşekkür ederim

Sitotoksisite deneylerini yürüten Yard. Doç. Dr. Tansu KOPARAL' a, küflerin tanımlanmasını yapan Yard. Doç. Dr. Alev HALIKI' ye, istatistiksel değerlendirmeleri yapan Araş. Gör. Şenay YOLAÇAN' a, laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımcı olan Uzm. Erdoğan ÇAKIR' a, Araş. Gör. Burçin MUTLU' ya ve Araş Gör. Rasime DEMİRÖZ' e; manevi desteklerinden ve yardımlarından dolayı çalışma arkadaşlarım Emine DİNÇER' e ve M. Taha YILDIZ' a; her zaman yanımda olduğu için kardeşim Derya KARACA' ya ve Burak BÖLEK' e teşekkürlerimi sunarım.

Varlığı ve desteği için İsmail DOBOOĞLU' na teşekkürler.

Ve tüm yaşamım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen sahip olduğum tüm iyi değerlerin kaynağı aileme sonsuz teşekkürler.

Hülya KARACA

Ocak-2007

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
<b>1.GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1. Boyar Maddelerin Özellikleri.....	2
1.1.1. Asit boyalar.....	3
1.1.2. Reaktif boyalar.....	3
1.1.3. Metal kompleks boyalar.....	4
1.1.4. Direkt boyalar.....	4
1.1.5. Bazik boyalar.....	4
1.1.6. Mordant boyalar.....	5
1.1.7. Disperse boyalar.....	5
1.1.8. Pigment boyalar.....	5
1.1.9. Vat boyalar.....	5
1.1.10. Anyonik boyalar ve ingrain boyalar.....	6
1.1.11. Sülfür Boyalar.....	6
1.1.12. Solvent Boyalar.....	6
1.1.13. Florasan renklendiriciler.....	6
1.1.14. Diğer sınıflar.....	7
1.2. Renk Giderim Teknikleri.....	7
1.2.1. Kimyasal metotlar.....	8
1.2.1.1. Oksidasyon.....	8
1.2.2. Fiziksel yöntemler.....	11
1.2.2.1. Adsorpsiyon.....	11
1.2.3. Biyolojik yöntemler.....	13
1.2.3.1. Bakteriyal renk giderimi.....	13

1.2.3.2. Alg Kùltürleri ile Dekolorizasyon.....	17
1.2.3.3. Fungal Dekolorizasyon.....	17
<b>2. MATERYAL VE METODLAR.....</b>	<b>20</b>
2.1. Materyal.....	20
2.1.1. Boyar maddeler.....	20
2.1.2. Mikroorganizmalar.....	20
2.1.3. Besiyerleri ve Çözeltiiler.....	20
2.1.3.1. Besiyerleri.....	20
2.1.3.2. Çözeltiiler.....	22
2.2. Metot.....	23
2.2.1. Dekolorizasyon yeteneğine sahip bakterilerin izolasyonu.....	23
2.2.2. Dekolorizasyon yeteneğine sahip küflerin izolasyonu.....	23
2.2.4. Küflerin boyanarak mikroskopta görüntülenmesi.....	24
2.2.3. Dekolorizasyon çalışmaları.....	24
2.2.4. Boyarmadde konsantrasyonunun belirlenmesi.....	25
2.2.4.1. Spektrum ölçümü.....	25
2.2.4.2. Günlük olarak boyar madde konsantrasyonunun belirlenmesi.....	25
2.2.5. Çeşitli Çevresel Koşulların Dekolorizasyon Üzerindeki Etkisinin Belirlenmesi.....	26
2.2.5.1. Farklı pH ların dekolorizasyona etkisinin belirlenmesi.....	26
2.2.5.2. Farklı sıcaklık değerlerinin dekolorizasyona etkisinin belirlenmesi.....	25
2.2.5.3. Farklı alkalama hızlarının lerin dekolorizasyon etkisinin belirlenmesi.....	26
2.2.5.4. Boyar madde konsantrasyonunun dekolorizasyon üzerine etkisi.....	27
2.2.6. Ölü hücrelerle dekolorizasyon.....	27
2.2.7. Tekrarlı deneylerin yapılması.....	27
2.2.9. Enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	28
2.2.9.1. Lakkaz aktivitesinin ölçümü.....	28
2.2.10. Toksikite deneylerinin yapılması.....	28

2.2.10. İstatistiksel değerlendirme.....	29
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>30</b>
3.1. Dekolorizasyon Yeteneğine Sahip Bakterilerin İzolasyonu ve İdentifikasyonu.....	30
3.2. Dekolorizasyon Yeteneğine Sahip Küflerin İzolasyonu ve İdentifikasyonu.....	30
3.3. Dekolorizasyon Çalışmalarında Kullanılan Boyaraddeye Ait Kalibrasyon Eğrisi.....	32
3.4. Boya Solüsyonlarının Dekolorizasyonu.....	32
3.4.1. Statik koşullarda dekolorizasyon .....	32
3.4.2. Çalkalamalı koşullarda dekolorizasyon.....	34
3.4.3. Statik ve çalkalamalı koşullardaki dekolorizasyonların karşılaştırılması.....	36
3.5. Çeşitli Çevresel Koşulların Dekolorizasyon Üzerindeki Etkisinin Belirlenmesi.....	38
3.5.1. Farklı başlangıç pH larının dekolorizasyon üzerine etkisi.....	38
3.5.2. Farklı sıcaklıkların dekolorizasyon üzerine etkisi.....	43
3.5.3. Farklı çalkalama hızlarının dekolorizasyon üzerine etkisi.....	47
3.5.4. Boyar madde konsantrasyonunun dekolorizasyona etkisi.....	52
3.6. Ölü Hücrelerle Dekolorizasyon.....	53
3.7. Tekrarlı Dekolorizasyon.....	54
3.8. Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	55
3.9. Sitotoksisite Deneyleri.....	56
<b>4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>58</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>68</b>



## ŞEKİLLER DİZİNİ

3.1. <i>A.niveus</i> 1.....	30
3.2. <i>A.niveus</i> 2.....	30
3.3. <i>Sporotrchum</i> sp.....	31
3.4. <i>Fusarium moniliorme</i> .....	31
3.5. Blue 13'e ait kalibrasyon eğrisi.....	32
3.6. <i>A. niveus</i> 1, <i>A. niveus</i> 2, <i>Sporotrichum</i> sp. <i>F. moniliforme</i> 'nin Blue 13 boyasını statik koşullarda zamana bağlı olarak dekolorizasyon yüzdesi....	33
3.7. <i>A. niveus</i> 1 , <i>A. niveus</i> 2, <i>Sporotrichum</i> sp., <i>F. moniliforme</i> 'nin Blue 13 boyasını çalkalamalı koşullarda zamana bağlı olarak dekolorizasyon yüzdesi.....	35
3.8. <i>Aspergillus niveus</i> 1 ' in blue 13 boyasını farklı başlangıç pH larında zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi.....	39
3.9. <i>Aspergillus niveus</i> 2'nin blue13 boyasını farklı başlangıç pH larında zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi.....	40
3.10. <i>Sporotrichum</i> sp.' nin blue 13 boyasını farklı başlangıç pH larında zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi.....	41
3.11. <i>Fuasrium moniliforme</i> ' nin blue 13 boyasını farklı başlangıç pH larında zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi.....	41
3.12. <i>Aspergillus niveus</i> 1'in blue 13 boyasını farklı sıcaklıklarda zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi.....	43
3.13. <i>Aspergillus niveus</i> 2'nin blue 13 boyasını farklı sıcaklıklarda zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi .....	44
3.14. <i>Sporotrichum</i> sp. 'nin blue 13 boyasını farklı sıcaklıklarda zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi.....	45
3.15. <i>Fusarium moniliforme</i> 'nin blue 13 boyasını farklı sıcaklıklarda zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi.....	46
3.16. <i>Aspergillus niveus</i> 1'in blue 13 boyasını farklı çalkalama hızlarında zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi.....	48
3.17. <i>Aspergillus niveus</i> 2'nin blue 13 boyasını farklı rpm lerde zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi.....	49

3.18. <i>Sporotrichum sp.</i> 'nin blue 13 boyasını farklı rpm lerde zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi.....	50
3.19. <i>Fusarium moniliforme</i> ' nin blue 13 boyasını farklı rpm lerde zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi.....	50
3.20. <i>Sporotrichum sp.</i> 'nin farklı konsantrasyondaki blue 13 boyasını zamana bağlı dekolorizasyonu.....	52
3.21. <i>A.niveus 1</i> , <i>A.niveus 2</i> , <i>Sporotrichum sp.</i> , <i>F.moniliforme</i> ' nin ölü hücrelerini 13 boyasını zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi.....	53
3.22. <i>Sporotrichum sp.</i> İle Blue 3 boyasının tekrarlı dekolorizasyon yüzdesi.....	55
3.23. <i>A.niveus 1</i> ' in sitotoksosite sonuçları.....	56
3.24. <i>Sporotrichum sp.</i> ' nin sitotoksosite sonuçları.....	57
3.25. <i>Sporotrichum sp.</i> ' nin 500mg/l boya içeren su örneğinin sitotoksosite sonuçları.....	57

## ÇİZELGELER DİZİNİ

3.1. Dekolorizasyon çalışmalarında kullanılan küflerin blue 13 boyasını statik Koşullarda dekolorizasyon yüzdesi.....	34
3.2. Dekolorizasyon çalışmalarında kullanılan küflerin blue 13 boyasını çalkalamalı koşullarda dekolorizasyon yüzdesi.....	36
3.3. Statik ve çalkalamalı koşulların dekolorizasyon üzerine etkisinin varyans analizi.....	37
3.3. (Devam) Statik ve çalkalamalı koşulların dekolorizasyon üzerine etkisini varyans analizi.....	38
3.4. pH' ın dekolorizasyona etkisinin varyans analizi.....	42
3.5. Sıcaklığın dekolorizasyon üzerine etkisinin varyans analizi.....	46
3.5. (Devam) Sıcaklığın dekolorizasyon üzerine etkisinin varyans analizi.....	47
3.6. Çalkalama hızlarının dekolorizasyon üzerine etkisinin varyans analizi.....	51
3.7. Ölü ve canlı hücrelerin dekolorizasyon yüzdelерinin karşılaştırılması .....	54

## 1. GİRİŞ

İnsan ırkı oluşumundan bu yana renkleri dünyasına katmak için çaba göstermiştir. Yumurta kabuklarını, kuştüylerini ve mağaralarının duvarlarını renklendirmek amacıyla farklı maddeler kullanmışlardır. Bilim adamları milattan önce 15.000 yılında ilk insanın topraktan sarı, siyah, beyaz ve kırmızımsı pigmentler elde ettiğini kaydetmişlerdir. Yerleşik hayata ve tarıma geçiş ile birlikte 7.000-2.000 yıl önce insanlar dokumaları denemeye başlamış ve böylece renkleri kendi üzerlerinde de kullanma fırsatı bulmuşlardır. Bilim adamları renkler ve liflerin ilişkisinin tam olarak ne zaman başladığını bilemese de arkeologlar tarafından Danimarka civarlarında 1. yüzyıla ait mavi ve henüz tam olarak tanımlanamamış kırmızı boyalara rastlanmıştır (Dhuinnshleibhe, 2000).

Organik doğal renklendiriciler, direkt ve mordant olmak üzere ikiye ayrılırlar. Çoğu doğal boya mordant boyadır. Aromatik bağlıdır ve bitki, böcek, fungus ve likenlerden köken almaktadırlar (Dhuinnshleibhe, 2000).

Sentetik boya üretimi ise 1856' da İngiliz kimyacı W.H. Perkin' in mavi boya yerine kullanılacak olan ve çok iyi boyama özelliğine sahip daha sonraları anilin mor veya mauve diye anılan kuinini keşfi ile başlamıştır. Bu buluşu yenileri takip etmiş ve boyalar pazar da görülmeye başlamıştır. Pazar 1865' de Kekule tarafından moleküler yapılı benzenin keşfiyle daha da gelişmiştir. 20. yüzyılın başında sentetik boyar maddeler tamamen doğal boyar maddelerin yerini almıştır (Druding, 1982).

Tekstil endüstrisi tarafından atık sulara verilen birçok kimyasal çevreyi ve halk sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Alkali fenol etoksilaz gibi kimyasallar sucul türlerin metabolizmasını etkilemekte ve etilendiamintetraasetikasit (EDTA) ve dietilentriaminpentaasetikasit (DTPA) gibi kimyasallar metallerle kararlı bileşikler oluşturmakta ve bio çeşitliliği olumsuz yönde etkilemektedir (Santos, 2005).

Boyalı atık sular sadece renkleri nedeni ile estetik probleme yol açmaz bunun yanında alıcı ortama 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 oluşmasını da beraberinde getirir (Yeşilada, 2003). Bu bağlamda boyar madde içeren tekstil endüstrisi atık sularının renk giderim prosesi ekolojik açıdan önem kazanmaktadır. Ancak kompleks kimyasal yapılarına ve sentetik kökenlerine bağlı olarak, boyar maddelerin giderilmesi oldukça zor bir işlemdir. Tüketicinin isteğine bağlı olarak yapıları sürekli değişmekte ve giderim işlemi daha da zorlaşmaktadır.

### 1.1. Boyar Maddelerin Özellikleri

Dünya çapında her yıl yaklaşık olarak  $10^9$  kg boya üretilmektedir. Üretilen bu boyar maddelerin yaklaşık olarak %20-25' i atık olarak doğal ortamlara verilmektedir. Boya molekülleri kromofor ve oksokromlardan oluşur. Kromoforlar çift bağla elektron sisteme bağlanıp onu delokalize ederek boyaya rengini veririler. Oksokromlar ise elektron sistemin enerjisini değiştirerek kromoforların ipliğe daha sıkı bağlanmasını sağlarlar. Genel kromoforlar  $-C=C-$ ,  $-C=O$ ,  $-C=O$ ,  $-N=N-$ ,  $-NO_2$  ve guinoid bağlarıdır. Genel oksokromlar ise;  $-NH_3$ ,  $-COOH$ ,  $-SO_3H$  ve  $-OH$  dır (Zee, 2002).

Kimyasal yapılarına ve kromoforlarına bağlı olarak 20-30 çeşit boya ayırt edilmektedir. Azo (monoazo, diazo, triazo, polyazo), antrokinon fitalosiyenin ve triarilmetan boyaları en çok tercih edilen gruplardır. Azo boyaları tüm boyar maddelerin %60-70 ini oluşturur ve bunları antrokinonlar izler (Vandevivere, 1998). Antrokinon bazlı boyalar erimiş aromatik yapılarından dolayı degridasyona dirençlidirler. Bazik boyalar yüksek parlaklığa ve yüksek renk yoğunluğuna sahiptirler ve bu da onların yine zor dekolorize olmalarına sebep olur. Metal bazlı kompleks boyalar ise doğal su kaynaklarına krom salarlar ki bu krom kanserojendir (Anklir, 1981).

Color Indeks (C.I.) de ticari boyalar renklerine, yapılarına ve uygulama yöntemlerine göre; Society of Dyers ve American Association of Textile Chist and Colorists' ler tarafından 1924' den beri her üç ayda bir düzenlenmektedir. Color Indeks' de boyalar 15 farklı sınıfta toplanmaktadır.

### 1.1.1. Asit boyalar

Asit boyalar Color Indeks (C.I) deki en büyük sınıf olup 2000 den fazla boyayı içermektedir. Asit boyalar yün, ipek, poliamit, modifiye akril gibi nitrojen içeren dokuları boyamak için kullanılan anyonik bileşiklerdir. Dokumaların  $-NH_4$  iyonlarına katyonik olarak bağlanırlar. Asit boyalar içinde ticari öneme sahip en önemli 3 grup azo, antrokinonlar ve triarilmetanlardır. Bu boyalar 39 derecenin üstündeki sıcaklıklarda sıvı şekilde uygulanır. Moleküler ağırlıkları 200' den 900' e kadar değişir (Zee, 2002).

### 1.1.2. Reaktif boyalar

Reaktif boyalar dokumalardaki  $-OH$ ,  $-NH$ , ve  $-SH$  grupları ile kovalent bağ oluştururlar. Reaktif boyaya bağlanma prensibi ise; heterosiklik aromatik zincirler klor ve flor moleküllerinin yerlerine geçerler. Reaktif boyalar ilk olarak 1956' da üretilmiş olup 1980' de marketlerde 66 çeşit reaktif boyaya rastlanmıştır. Bu sayı iki yılda 139' a çıkmış ve 1990' lar da yaklaşık olarak yılda 19,7 milyon kg reaktif boya üretilmeye başlanmıştır. Reaktif boyalarla boyama sürecinde reaktif grupların hidrolizi istenmeyen yan ürünlerin oluşmasını sağlar ve bu da fiksasyon derecesini düşürür. Fiksasyon derecesini yükseltmek amacı ile yüksek oranlarda tuz ve serum eklenmesine rağmen %10–50' si dokumalarla reaksiyona girmeyip su ortamında kalmaktadır. Renkli atık sularda en çok tespit edilen boya reaktif boyalardır (Zee, 2002).

Tekstil atık su renk gideriminin de reaktif boyalara yoğunlaşmanın sebepleri; reaktif boyalar toplam boya pazarının %20–30 pay içermektedir. Özellikle pamuğu boyamak için kullanılırlar ve pamuk dünya iplik üretiminin yarısını içerir. İkinci sebep ise yukarıda da belirtildiği gibi boyama sırasında boyanın %10–50' si dokumaya bağlanmayıp atık suya verilmektedir. Sonuç olarak boyahane atık suları  $0,6-0,8/dm^{-3}$  boya içermektedir (Vadevivre, 1998). Son olarak geleneksel atık su arıtım tesisleri ki bunlar sorpsiyon ve aerobik biodegradasyona dayalı çalışırlar düşük giderim verimine sahiptirler dolayısıyla renkli su akıntılarını önleyemezler ve bu da halk şikâyetlerine neden olur.

### **1.1.3. Metal kompleks boyalar**

Colour Indeks' de yer alan asit ve reaktif boyaların birçoğu metal kompleks boyalardır. Bir metal atomunun (krom, bakır, kobalt veya nikel) bir veya iki boya molekülü ile güçlü kompleksler oluşturması ile meydana gelirler. Metal kompleks boyaları genel olarak azo bileşikleridir. Colour Indeks' de listelenmiş olan azo boyalarının 1/6'sı metal komplekstir (Brown, 1987).

### **1.1.4. Direkt boyalar**

Direkt boyar maddeler genellikle sülfonik asitlerin, bazen de karboksillik asitlerin sodyum tuzlarıdır. Yani renkli kısmı oluşturan iyon anyon şeklindedir. Pek çoğu yapı bakımından azo boyarmaddeleri grubuna girer. Liflere Van der Vals kuvvetleri ile bağlanırlar. Direkt boyarmaddeler ucuzlukları, boyama işlemlerinin çok basit oluşu ve boyama sırasında elyafın yıpranmaması gibi üstünlükleri nedeni ile önemlerini korumaktadırlar. Genellikle, selülozik elyafın boyanmasında kullanılan bu boyar maddelerin bazıları kâğıt, deri, yün, ipek, naylon ve basit elyafın boyanmasında da kullanılır (Kalemtaş, 2002).

### **1.1.5. Bazik boyalar**

Bazik boyalar katyonik bileşiklerdir. Liflerin asit gruplarına bağlanırlar. Bazik boyar maddeler organik bazların klorürü veya asetat tuzları şeklindedir. Yün, ipek ve pamuk üzerinde ışığa ve yıkamaya karşı dayanıklılıkları çok düşüktür. Bugün reaktif boyarmaddeler ile pamuk üzerinde oldukça parlak renkler elde edildiğinden bazik boyalar pamuk boyacılığında önemini kaybetmişlerdir. Ancak poliakrilonitril üzerinde ışığa dayanıklılıkları iyi olduğundan orlon boyanmasında geniş ölçüde kullanılırlar. Bazik boyalar Colour Indeks' de % 5' lik bir yer kaplamaktadırlar (Kalemtaş, 2002).

### **1.1.6. Mordant boyalar**

Mordant boyalar mordantların ilavesi ile dokumalara fiske olurlar. Mordant boyama en eski boyama yöntemlerinden biri olmasına rağmen kullanım oranı %23 olup Color Indeks' de bu gruba ait yaklaşık 600 boya bulunmaktadır. Yün, deri, ipek, kâğıtların boyanmasında kullanılır. Birçok mordant boya azo, oksazine veya triarilmetane bileşikleri içerirler (Zee, 2002).

### **1.1.7. Disperse boyalar**

Dispers boyar maddeler amino grup ve hidroksil grupları ihtiva eden, düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Boyama esnasında, elyaf ile boyar maddedeki amino grup ve hidroksil grupları arasında hidrojen bağları meydana gelmekte ve dolayısıyla Van der vals kuvvetleri önemli rol oynamaktadır. Polyester elyaf hidrofobi özellik gösterdiğinden büyük molekülü boyar maddeler elyaf içine kolay nüfus edemezler. Bu nedenle polyesterin boyanmasında en çok kullanılan boyar maddeler dispers boya maddeleridir. Color Indeks' de yaklaşık olarak 1400 farklı boya bulunmaktadır (Zee, 2002 ).

### **1.1.8. Pigment boyalar**

Pigment boyalar küçük bir grup olup hızla artış göstermektedir. Color Indeks' de isimlendirilen boyaların %25' i pigment boyalardır. Çözünmez boyalardır (Anonim, 1998).

### **1.1.9. Vat boyalar**

Vat boyalar suda çözünmeyen ve selüloz fiberlerini boyamak için kullanılan boyalardır. Sodyum ditiyonit ile indirgenmiş boyalar çözülebilir ve dokumalara emdirilebilir özelliktedir. Bir sonraki aşamada, oksidasyonla boya yeniden çözünmez forma dönüştürülür. Vat boyaların hemen hemen tümü



antrakuinon veya indigodur. İndigolar vat boyaların en eski gruplarından olup yaklaşık 5000 yıllık bir tarihe sahiptir (Zee, 2002).

#### **1.1.10. Anyonik boyalar ve ingrain boyalar**

Anyonik ve ingrain boyalar bağlanma bileşikleri ile reaksiyona giren suda çözünmeyen boyalardır. Bu reaksiyon dokuma üzerinde uygulanır (Zee, 2002).

#### **1.1.11. Sülfür boyalar**

Heterosiklik S içeren bağlarla oluşmuş polimerik aromatik komplekslerdir. Sülfür boyaları ile boyama vat boyalarında olduğu gibi indirgenme yükseltgenme içerir. Genel olarak selüloz dokumaları boyamak için kullanılırlar (Zee, 2002).

#### **1.1.12. Solvent boyalar**

Solvent boyalar non-iyonik boyalardır ve plastik gibi eriyebilir malzemeleri boyamak için kullanılırlar. Tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılmamalarına rağmen diğer alanlarda artan şekilde kullanılmaktadır. Çoğu solvent boya diazo bileşikleridir ve bazı moleküler düzenlemelere maruz kalırlar (Zee, 2002).

#### **1.1.13. Florasan renklendiriciler**

Genel düşünceye göre boya olarak kabul edilmezler çünkü düşük renk yoğunluğuna sahiptirler. Kimyasal yapılarına bağlı olarak farklı sınıflara ayrılmaktadırlar. Birçok florasan renklendiriciler triazinil birimleri ve suda çözülebilen gruplar içerirler (Zee, 2002).

#### 1.1.14. Diğer sınıflar

Yukarıda bahsi geçen boyalardan başka Color Inddeks' de gıda boyaları ve doğal boyalarda bulunmaktadır. Gıda boyaları tekstil boyaları olarak kullanılmamaktadır. Doğal boyalar ise boyama sürecinde kısıtlı kullanım alanına sahiptir (Zee, 2002).

#### 1.2. Renk Giderim Teknikleri

Tekstil endüstrisi atık suları, boyar madde bakımından oldukça çeşitlilik gösteren ve sentetik boyaların büyük bir grup oluşturduğu atık sulardır. Renkli bileşikler atık suyun organik bakımdan genelde az bir miktarını oluştursalar da, deşarj edildikleri noktalarda öncelikle ortamın estetik açıdan kirlenmesine neden olmaktadır. Deşarj edilen renkli atık sular suda yaşayan primer üreticilerin fotosentezi için gerekli olan ışığın geçirgenliğini azaltmakta ve ekosisteme önemli ölçüde zarar vermektedir. Tekstil endüstrisi atık sularının KOİ/BOİ<sub>5</sub> oranı 3-4 arasında değişmekte olup, bunun anlamı ise biyolojik olarak zor ayrışabilirliktir (Vandevivere ve ark. 1998).

Geçmişte, tekstil fabrikaları atık sularının saflaştırılması için bölgesel arıtım sistemleri kullanılmıştır. Biyolojik yöntemlere dayanan bu sistemlerin birçok dirençli sentetik boyanın gideriminde etkisiz olduğu görülerek daha etkili yöntemler araştırılmış ve test edilmiştir. Öncelikli olarak fiziksel ve kimyasal metotlar denenerek bunlar zaman zaman biyolojik yöntemlerle birleştirilmiştir (Banat ve ark. 1999).

Kullanılan fiziko-kimyasal teknikler; membran filtrasyon, koagülasyon/flokülasyon, çöktürme, flotasyon(yüzdürme), adsorpsiyon, iyon değişimi, elektroliziz, ultrasonik minerilizasyon, ilerlemiş yükseltgenme ve kimyasal indirgenme prosesleridir. Biyolojik teknikler ise bakteriyal ve fungal biyosorpsiyon, aerobik, anaerobik, anoksik, veya kombine anaerobik/aerobik arıtım sistemlerinden oluşmuştur. Bu boya tekniklerinden hangisinin kullanılacağı birtakım ekonomik ve teknik imkanlara bağlıdır. Örneğin,

- Boya tipi,
- Atık su içeriği,
- Gerekli kimyasalların dozu ve maliyeti,
- Enerji ve materyal maliyeti,
- Çevresel zarar

Boyalı atık sular genel olarak fiziksel ve kimyasal arıtım prosesleri ile arıtılmaktadır. Ancak bu arıtım prosesleri yüksek maliyet, zehirli yan ürünlerin oluşumu, aşırı miktarda enerji tüketimi, konsantre çamur oluşumu ve farklı karakterdeki tüm atık sulara adapte edilememe gibi dezavantajlara sahiptir (Banat ve ark., 1999; McMullan, 2001). Bu dezavantajlar nedeniyle tekstil endüstrisi atık sularının bioremediasyonu ucuz ve çevreye dost bir arıtım teknolojisi olması nedeni ile hala cazip bir çözüm olarak görülmektedir (Banat ve ark. 1999).

### **1.2.1. Kimyasal metotlar**

Tekstil atık sularının kimyasal metotlarla arıtılması uzun yıllardan beri en çok rağbet gören yöntem olmuştur. Bunun en büyük nedeni şüphesiz atık su kalitesinde meydana gelen değişikliklerin kullanılan kimyasalda veya uygulanan dozda yapılan değişikliklerle kolayca tolere edilebilir olmasıdır (Socha, 1991). Tekstil endüstrisi atık sularının arıtımında kullanılan kimyasal yöntemler oksidasyon altında sıralanmaktadır.

#### **1.2.1.1. Oksidasyon**

Oksidasyon kimyasal yöntemler içinde en çok kullanılan yöntemdir. Bunun nedeni ise uygulamasının kolay oluşudur. Kimyasal oksidasyonla boya içeren atık sulardan boyanın uzaklaştırılması, boya molekülündeki aromatik halkanın açılmasını sağlayan oksidasyon ile gerçekleşir (Robinson ve ark. 2001).

## **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Fe (II) tuzları (Fenton ayracı)**

Fenton ayracı ile yapılan arıtım ön oksidasyon ve koagülasyon olmak üzere iki adımda gerçekleşir. Atık suların fenton ayracı ile arıtılmasında renk yok edildiği gibi adsorbe olabilir organohalidler de giderilebilmektedir. Ayrıca, metal-kompleks türündeki boyalardan kaynaklanan ağır metaller, demir oksitlerle birlikte nötralizasyon basamağında çöktürülebilmektedir.

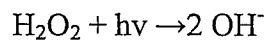
Bu yöntemin dezavantajı ise; proses floklaşma işlemi de içerdiğinden atık sudaki kirleticiler çamura transfer olurlar ve çamur problemi ortaya çıkar. Konsantre safsızlıklar içeren çamurun yakılarak yok edilmesi gerekir ki bu yöntem çevreye dost bir metot değildir (Raghavacharya, 1997).

## **Ozonlama**

Ozonlama; yüksek yapılu boya moleküllerinin daha küçük yapılu organik moleküllere dönüşmesine yardımcı olur. Çıkış sularının rengi bu metotla etkili bir şekilde uzaklaştırılabilir. Fakat başlıca küçük organik bileşiklerin oluşmasından dolayı arıtılmış atık suyun KOİ konsantrasyonunda çok az bir değişme görülmektedir. Ozonlama su ve atık su arıtımında birçok amaç için kullanılmaktadır. Ancak ozonlama süresince oluşturulan ara ve son ürünlerin reaksiyonları çok az bilinmektedir (Kalemtaş, 2002).

## **Fotokimyasal yöntem**

Bu yöntem boya moleküllerini; hidrojen peroksit varlığında, UV radyasyonu ile CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O' a dönüştürür. Parçalanma yüksek konsantrasyondaki hidroksil radikallerinin oluşmasıyla meydana gelir yani UV hidrojen peroksidi aktive ederek iki hidroksil radikaline parçalanmasını sağlar.



Boyar maddenin giderim hızı; UV radyasyonunun giderim şiddetine, pH' a, boyar maddenin yapısına ve boya banyosunun kompozisyonuna bağlıdır (Robinson ve ark., 2001). Genellikle, pH 7' de, UV radyasyon şiddeti yüksek olduğunda, farklı boya sınıfları için farklı değerler alan optimum miktarda hidrojen peroksit uygulandığında ve boya banyosu yükseltgenme potansiyeli peroksitten büyük olan oksitleyici maddeler içermediğinde etkili bir renk giderimi söz konusudur (Slokar ve Marechal, 1998). Boya içeren atık suların fotokimyasal yöntemlerle ayrılmasının en önemli avantajı atık çamur oluşmaması ve kötü kokulara neden olan organiklerin önemli derecede azaltılmasıdır.

### **Sodyum hipoklorit ( NaOCI )**

Renkli atıksuların kimyasal oksidasyonu klorlu bileşiklerle de mümkündür. Bu metotta, Cl<sup>-</sup> boya molekülünün amino grubuna etki eder ve azo bağının kırılmasını sağlar. Klor konsantrasyonundaki artış ile birlikte renk giderimi de artar. Sodyum hipoklorit ile renk giderimi asit ve direk boyalar için tatmin edici sonuçlar vermektedir. Reaktif boyaların arıtımı için ise daha uzun zamana ihtiyaç vardır. Metal kompleks boya çözeltileri arıtmadan sonra kısmen renkli kalırken dispers boya çözeltilerinde NaOCI ile renk giderimi gerçekleşmez (Slokar ve Marechal, 1998).

### **Elektrokimyasal yöntem**

Bu yöntem 1990' ların ortalarında geliştirilen yeni bir yöntemdir. Boya gideriminde etkili bir şekilde kullanılabilirliği açısından yöntem bazı önemli avantajlara sahiptir. Kimyasal madde tüketimi çok azdır veya yoktur ve çamur oluşumu söz konusu değildir. Oldukça etkili ve ekonomik bir boya giderimi sağlar. Renk gideriminde ve dirençli kirleticilerin parçalanmasında yüksek verim gösterir. Tekstil boyar maddesi içeren atık suların elektrokimyasal olarak arıtıldığı bir çalışmada titanyum-platin anodu kullanılmış ve 18 dakikalık aktif arıtım süresinden sonra KOİ, BOİ değerlerindeki ve renkteki azalmanın %80' leri aştığı belirlenmiştir (Vlyssides ve ark., 2000). Yöntemin en büyük dezavantajı tehlikeli

bileşiklerin oluşma olasılığıdır. Yüksek akım hızlarının renk gideriminde doğrudan bir azalmaya neden olması diğer bir dezavantajdır.

### **Kimyasal flokleştirme ve çöktürme yöntemi**

Bu yöntemde flokleştirme ve çökelme kimyasal maddeler yardımı ile sağlanır. Flokleştirme atıksuya katılan kimyasal maddelerle meydana gelir ve bu yöntem ile çözünmüş maddelerle kolloidler giderilir. En çok kullanılan kimyasallar  $Al_2(SO_4)_3$ ,  $FeCl_3$ ,  $FeSO_4$  dir. Kimyasal çöktürme yönteminde inşaat masraflarından ziyade işletme masrafları önem taşımaktadır. Özellikle flokleştirme maddeleri ve meydana gelen çamurun bertaraf edilmesi, giderlerin önemli bir kısmını teşkil etmektedir (Kocaer ve Alkan, 2002).

### **Kucurbituril arıtım**

Kucurbituril, glioluril ve formaldehitin devirsel bir polimeridir (Karcher ve ark., 1999). Kucurbituril şekli balkabağına benzediği için bu şekilde adlandırılmıştır. Uril bileşiğın yapısında bir üre monomerinin bulunduğunu belirtir. Kucurbiturilin aromatik bileşikler ile konuk-konukçu kompleksleri oluşturduğu bilinmektedir (Mock, 1995). Diğer bir olası mekanizma ise hidrofobik interaksyonlar veya çözünmeyen kucurbituril-boya-kasyon agregatlarının oluşumudur. Endüstriyel olarak uygulanabilir olması için kucurbiturilin sabit yataklı sorpsiyon filtreleri ile birleştirilerek kullanılması gerekir (Karcher ve ark., 1999).

## **1.2.2. Fiziksel yöntemler**

### **1.2.2.1. Adsorpsiyon**

Adsorpsiyon teknikleri geleneksel yöntemler için fazla renk bırakan kirleticilerin giderimindeki verimlilikten dolayı son yıllarda ilgi görmektedir. Adsorpsiyon ekonomik açıdan makul bir yöntemdir ve yüksek kalitede ürün

oluşumu sağlar. Adsorpsiyon süreci, boya-sorbent etkileşimi, absorbanın yüzey alanı, tanecik büyüklüğü, sıcaklık, pH ve temas süresi gibi pek çok fiziko-kimyasal faktörün etkisi altındadır.

Adsorpsiyonla renk gideriminde en çok kullanılan yöntem aktif karbondur. Katyonik, mordan ve asit boyaalarının adsorplanmasında oldukça etkilidir ve daha az olmakla birlikte dispers, direkt, vat, pigment ve reaktif boyaaların adsorplanmasında da kullanılır. (Raghavacharya, 1997). Performansı kullanılan karbonun tipine ve atık suyun karakteristiğine bağlıdır. Rejenerasyon ve tekrar kullanım performansta azalmaya neden olurken bu dezavantaj aşırı miktarda aktif karbon kullanılması ile giderilebilir. Ancak aktif karbon pahalı bir malzemedir.

Adsorban olarak kullanılabilen diğer bir malzeme bataklık kömürüdür. Bataklık kömürü boya içeren atık sulardaki polar organik bileşikleri ve geçiş metalleri adsorplayabilmektedir. Adsorban olarak bataklık kömürünün kullanımı özellikle bol bulunduğu İrlanda ve İngiltere gibi ülkelerde söz konusudur. Bataklık kömürü aktif karbona göre daha ucuzdur ancak aktif karbonun toz halinde olması nedeni ile yüzey alanı genişlemektedir. Ağaç kırıntıları, uçucu kül-kömür karışımı, silika jeller, doğal killer, mısır koçanı gibi malzemeler de, boya gideriminde adsorban olarak kullanılabilir. Bunların ucuz ve elde edilebilir oluşu boyar madde giderimindeki kullanımlarını ekonomik açıdan cazip kılmaktadır (Robinson ve ark., 2001).

## **Membran filtrasyonu**

Filtrasyon membranları ultrafiltrasyon, nanofiltrasyon ve ters osmozdur. Ters osmoz membranları çoğu iyonik türler için %90' nın üzerinde verim gösterir. Boya banyoları çıkış sularındaki boyalar ve yardımcı kimyasallar tek bir basamakta giderilmiş olur. Ancak yüksek ozmotik basınç aralığı ters osmoz uygulamalarını sınırlamaktadır. Nanofiltrasyon membranları negatif yüzeysel yüklerinden dolayı iyon seçicidirler. Membranların bu karakteristiğine bağlı olarak boyalı atık sularda bulunan bir kısım yardımcı kimyasallar membrandan geçebilmektedir (Machenbach, 1998). Ayırma işlemi sonucunda oluşan konsantre atığın yok edilmesi oldukça güçtür ve maliyeti oldukça yüksektir. Ayrıca

membranın tıkanma riskinin olması ve belirli aralıklarla değiştirilmesinin gerekli olması da birer dezavantajdır. Bu filtrasyon metodu düşük konsantrasyonda boya içeren atıksuyun tekstil fabrikası içine süzülerek yeniden kullanılmak istendiği durumlar için uygundur (Robinson ve ark., 2001).

## **İyon değişimi**

Boya içeren atık suların arıtımında iyon değiştiricilerin kullanılması henüz yeterince yaygın değildir. Bunun ana nedeni, iyon değiştiricilerle arıtılarak olumlu sonuç alınan boya sınıfının kısıtlı olmasıdır. Yöntemde atıksu, mevcut değişim bölgeleri doygunluğa erişinceye kadar iyon değiştirici reçineler üzerinden geçer. Bu şekilde boyar madde içeren atık sulardaki hem katyonik hem de anyonik boyalar uzaklaştırılabilmektedir. Yöntemin avantajları, rejenerasyonla adsorban kaybının bulunmaması, çözücünün kullanıldıktan sonra iyileştirilebilmesi ve çözünebilir boyaların etkin şekilde giderilebilmesidir. En büyük dezavantajı ise yöntemin maliyetli oluşudur (Robinson ve ark., 2001).

### **1.2.3. Biyolojik yöntemler**

Biyolojik tekniklerle renk giderimi boyaların mikrobiyal biotransformasyonuna dayanmaktadır. Boyalar uzun ömürlü ve kararlı olarak dizayn edildiklerinden biyolojik degradasyonları kolay değildir. Bununla birlikte boyaların tam veya kısmi degradasyonu için saf veya karışık bakteri, fungus veya alg kültürleri kullanılmıştır (Zee, 2002).

#### **1.2.3.1. Bakteriyal renk giderimi**

Boyaların biyolojik olarak giderilebilirliğine bakarken onların uygulama sınıfından çok kimyasal yapılarına bakılmaktadır. Araştırmacılar daha çok azo boyalarının bakteriyal degradasyonu üzerine yoğunlaşmıştır. Azo boyaları aerobik bakteriyal biodegradasyona dirençlidir (Ganes, 1994).



Antrokinon bazlı boyalar aerobik olarak giderilebilirler. Anaerobik şartlar altında ise antrokinon boyaların transformasyonu guinonun hidroquinona indirgenmesi ile sınırlıdır. Bazı antrokinon bazlı boyalar anaerobik şartlarda, su fazından çözünmez pigmentlerin oluşumu ile giderilebilir (Brown, 1983).

Trifenilmetan boyaların aerobik olarak hızlı bir şekilde giderilebileceği görülmüştür (Azmi ve ark., 2005). Fakat bu boyaların aktif çamur sistemlerinde degradasyona dirençli olduğu görülmüştür.

Fitalosiyanın boyalarının biyolojik degradasyonları mümkün değildir. Dekolorizasyonları ise anaerobik koşullarda gerçekleşmektedir (Beydilli, 2000).

### **Actinomyces:**

*Actinomyces*’ ler özellikle *Streptomyces* türleri lignin biodegradasyonunda rol oynayan ekstraselüler peroksidaz üretmektedir. Bu prokaryotik peroksidazlar suda çözünen polimerik bileşiklerin üretimi için ligninin başlangıç oksidasyonunda görevlidir. *Actinomyces*’ ler çeşitli ksenobiyotik bileşiklere karşı hidroksilasyon, oksidasyon ve dealkilasyon reaksiyonlarını katalizler (Goszczyński ve ark., 1994). *Actinomyces*’ lerin tekstil boyalarını mineralize ve dekolore etme yeteneği başlangıç olarak dokuz farklı grup tarafından araştırılmıştır. Ball ve arkadaşları (1989) 20 tür *Actinomyces* ile çalışmıştır. Bunların polimerik boya Poly R’ yi dekolore etme yeteneklerini incelemişlerdir. 20 suştan sadece 3’ ü renk gideriminde başarılı olmuştur. Bu suşlar *Streptomyces badius* 252, *Streptomyces sp. strain EC22* ve *Thermomonospora fusca MT800* olarak bildirilmiştir.

Zhou ve Zimmerman (1993) ise 159 *Actinomyces*’ in dekolore etme yeteneğini araştırmışlardır. Bu araştırmada araştırmacılar gerçek atık su kullanmışlardır. İzolatlardan 83’ ü pozitif sonuç vermiştir.

Idaho Üniversitesi’ nde beyaz çürükçül fungusların ve *Streptomyces*’ lerin aerobik olarak dekolore etme yeteneği incelenmiştir. Başlangıç olarak 14 *Streptomyces* ile çalışılmış ve bu mikroorganizmaların Poly B-411, Poly R-478, Remazol Brillan Blue R (RBBR) boyalarını dekolore etme yeteneği incelenmiştir. RBBR ve Poly B-411 için benzer sonuçlar elde edilmiştir. Gözlem

sonuçlarına göre suşlar glikoz varlığında ekstraselüler H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretmiş Streptomyces türleri tarafından üretilen ekstraselüler peroksidaz ve enzimler *P. chysosporium* tarafından üretilen Mn (II) peroksidaza benzer substrat spesifitesi göstermiştir (McMullan, 2001).

Crowford' un grubu *Streptomyces chrnofuscus* A11 in dekolorizasyon yeteneğini incelemiş ve bu izolatın dekolorizasyon yeteneğinin lignolitik aktivite ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (Mcmullan, 2001).

### **Diğer Aerobik Bakteriler**

Belli *Actinomycetes'* lerin yanısıra aerobik dekolorizasyon ve mineralizasyon yeteneğinde olan bakteriler de bulunmuştur. Sulfonlanmış azo bileşiklerinin karboksilenmiş analogları bakteriler tarafından karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır. *Pseudomonas* strain K24' den orange 1 azoredüktaz ve orange 2 azoredüktaz saflaştırılmış ve karakterize edilmiştir. Bu iki enzim azo benzene redüktaz olarak sınıflandırılmıştır (Mcmullan, 2001).

Bihmel ve arkadaşları (1998) tarafından yapılan çalışmada identifiye edilmemiş S5 izolatından sulfonlanmış azo bileşiği 4-karboksi-4' sulfoazobenzen den tek karbon ve enerji kaynağı olarak yararlanılmıştır.

Azo boyalarına ek olarak diğer boyaları da aerobik olarak metabolize eden başka bakteriler gözlenmiştir. Sarnaik ve Kanekar (1999), trifenilmetan boyası metil viyoleti aerobik mineralizasyona uğratan *Pseudomonas mendocina* MCM B-402 ile çalışmışlardır. Metil viyoletiler karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılmış ve *P. mendocina* boyayı tanımlanamamış metabolitlere parçalamıştır.

### **Tekstil boyalarının anaerobik dekolorizasyonu ve biyodegradasyonu**

Anaerobik şartlar altında azo boyalarını dekolorize etme yeteneğinde olan birçok bakteri mevcuttur. Bakteriler tekstil boyalarındaki azo bağlarını kırarak renksiz aromatik aminlerin oluşumu neticesinde boya dekolorizasyonunu sağlarlar. Aromatik aminlerin toksik ve mutojenik olabileceği saptanmıştır (Chung ve ark. 1992).

Azo boyalarının anaerobik şartlar altında degradesyonu başlangıç olarak azo bağlarının parçalanmasını gerektirir. Bu süreç azoredüktazlar tarafından katalizlenmektedir. Bu enzimler oksijensiz koşullarda elektronların azo boyalarına transferini kolaylaştırır. Bu sitoplazmik enzimlerin rolü tam olarak bilinmemektedir.

Bazı intestinal bakterilerin de azo boyalarını ve onların polimerik türevlerini dekolorize edebilme yeteneğinde olduğu gözlenmiştir. Bu polimerik azo boyaları bakteriyal hücre membranından geçebilirler. Azo boyalarının anaerobik olarak indirgenmesi molekülün toplam mineralizasyonundan zordur. Azo boyalarının yanı sıra başka boyaları da oksijensiz koşullarda degrade edebilen bakterilere rastlanmıştır. Henderson ve arkadaşları (1997) insan gastro-intestinal anoksik bakterilerinin bir trifenilmetan boyası olan malaşit yeşilini indirgediğini gözlemişlerdir.

### **Boyaların anaerobik / aerobik biyodegradesyonu**

Anaerobik / aerobik arıtım birbirinin ardı sıra veya birlikte kullanılabilir. Sırasal veya eş zamanlı arıtım sistemlerinde anaerobik zondaki bakterileri karbon kaynağı, enerji kaynağı ve azo bağının açılmasını sağlayacak oksido-redüksiyon tepkimeleri ile destekleyecek yardımcı substratlara ihtiyaç vardır.

Azo boyalarının yıkım ürünlerini bertaraf edebilmek için bu proses geliştirilmiştir. Anaerobik basamakta, azo boyaları renksiz aromatik aminlere indirgenir. Bu aromatik aminler aerobik şartlar altında metabolize edilir.

En azından belirli azo boyalarının anaerobik / aerobik arıtım sistemleri ile mineralize edilebilmesine rağmen bu strateji ciddi dezavantajlara sahiptir. Arıtımın amacı azo boyalarının gerçek anlamda mineralize edilmesi olmasına rağmen azo boyalarının anaerobik redüksiyonu sırasında oluşan aminlerin çoğunun aerobik şartlarda stabil olmaması ve ootoksidasyona uğraması ciddi bir problemdir (Mcmulan, 2001).

### 1.2.3.2. Alg kültürleri ile dekolorizasyon

*Chlorela* ve *Osillatoria*'nın birçok türü azo boyalarını aromatik aminlere ve aromatik aminlerden daha ötesine daha basit organik bileşiklere veya CO<sub>2</sub>'e degrede edebilme yeteneğindedir. Bazı algler birkaç azo boyasını tek karbon ve nitrojen kaynağı olarak kullanır. Böyle aglerin dengeleme havuzlarında aromatik aminleri taşımada rol oynayabileceği düşünülmektedir (Banat ve ark., 1999).

### 1.2.3.3. Fungal dekolorizasyon

Lignin degrede eden beyaz çürükçül funguslar aromatikleri geniş ölçüde degrede edebilirler. Bu özellik genel olarak lignin peroksidaz (LiP), mangan peroksidaz (MnP) ve lakkaz gibi lignolitik enzimlerle ilişkilidir. Bu ekstraselüler enzimler tarafından katalizlenen reaksiyon oksidasyon reaksiyonudur (Zee, 2002).

Mikroorganizmalarla yapılan dekolorizasyon çalışmalarının çoğu beyaz çürükçüllere dayanmaktadır. Bu grup organizmalar kompleks polimerik yapıya sahip olan lignini mineralize etme yeteneğindedir. Doğal substrat olmalarının yanında beyaz çürükçüller çok çeşitli inatçı organik kirleticileri de mineralize etme yeteneğindedir. Beyaz çürükçüller substrat spesifitesi bakımından diğer biodegradatif bakterilerden ayrılırlar. Degredasyonda rol alan bu enzimlerden LiP; veratil alkol gibi non-fenolik aromatik bileşiklerin oksidasyonunu katalizler; MnP fenolik bileşikleri okside etme yeteneğindedir ve lakkaz ise fenolik substratların oksidasyonunu gerçekleştirir.

Eaton ve arkadaşları (1980), beyaz çürükçüllerden *Phanerochaete chrysosporium* ve *Tinctoporia* ile yaptıkları ilk çalışmada oldukça net sonuçlar elde ettiklerinden dolayı o dönemden itibaren *Phanerochaete chrysosporium* azo boyası içeren rekalsitrat ksenobiyotik bileşiklerin degredasyonunu yapmak üzere çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır.

Cripps ve arkadaşları (1990), Polymeric B-411, Polymeric R-481, ve Polymeric Y- 606 boyalarının *P. chrysosporim* ile degredasyonu sırasında

dekolorizasyonun ikincil metabolik aktiviteyle gerçekleştiğini, sürecin çok yavaş olduğunu ve dekolorizasyon için 8 gün gerektiğini bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada yine *P. chrysosporium*' un Orange II, Tropaeofin O, Congo Red, Azure B boylarını deġrede edebilme yeteneğine bakılmıştır. Renk giderim sürecinin boyanın kompleksliğine, besiyerindeki nitrojen varlığına ve lignolitik aktiviteye bağlı olduğu gözlenmiştir. Düşük nitrojen varlığında 6 saatte %90 dekolorizasyon sağlanırken nitrojen miktarı arttırıldığında 5 gün sonunda %63–93 dekolorizasyon sağlanabilmiştir. Ayrıca başka boylarla da *P. chrysosporium* aktivitesi denenmiş ve bazı çalışmalarda ligninaz aktivitesini arttırmak amacı ile besi ortamına veratil alkol eklenmiştir. (Paszczynski ve Crawford, 1991). Ortamda nitrojen miktarı sınırlandırıldığında lignolitik aktivite artmakta dolayısıyla LiP ve MnP dekolorizasyonda aktif görev almaktadır. (Prie ve Gold, 1991). Lignolitik aktivitenin ifadesi için enzim kofaktörünün varlığı ve ortam pH' ı da önemli kriterlerdendir. pH sadece biyosorpsiyon kapasitesini değil aynı zamanda boya solüsyonunun rengini ve bazı boyların çözünürlüğünü de etkiler bu nedenle pH renk gideriminde oldukça etkili bir faktördür. Fu ve Viraraghavan (2000) boya solüsyonun başlangıç pH' ının hem boya moleküllerinin kimyasını hem de fungal biyokitlenin gelişimini etkilediğini belirlemişlerdir.

*P. chrysosporium* dışında da dekolorizasyon çalışmaların da çeşitli funguslar kullanılmıştır. *Funalia trogii*, *Trametes versicolor*, *Bjercandera adusta*, *Plorotus* ve *Phlebia*, *Geotricum candidum* gibi funguslarla da çalışmalar yapılmıştır (McMullan, 2001).

### **Beyaz rkl mantarlar tarafından azo boylarının dekolorizasyonunda kullanılan mekanizmalar**

*P. chrysosporium*' dan elde edilen lignin peroksidaz tarafından gerçekleştirilen, bir azo boya olan 1-(4'asetamidofenilazo)-2-naftol' un oksidasyonu sonucunda 1,2-nafokinon ve asetanilid oluşmuştur; bu lignin peroksidazın okside formunun boyanın fenolik halkasından iki e<sup>-</sup> kopardığına ve bunun da naftol halkasının C-1 karbonunda uygun karbonyum iyonunun oluşumuna neden olduğuna işaret edilmiştir. Bu karbonyum iyonu daha sonra

suyun nükleofilik atağı ile naftokinon ve kararsız bir fenildiazine yıkılabilen ara ürüne dönüşür.

Sulfonlanmış azo boyalarının fungal peroksidazlar tarafından okside edilmesinin enzimatik mekanizması birbirinden bağımsız iki araştırmacı tarafından çalışılmıştır; ilk çalışmada 3,5-dimetil-4-hidroksiazobenzen-4-sulfonik asit ve 3 metoksi-4-hidroksiazobenzen-4-sulfonamidi *P. chrysosporium*' dan elde edilen peroksit preparasyonu ile inkübe edilerek oluşan ürünler kütle spektrokopisi ile analiz edilmiştir (Goszczyński ve ark. 1994). Tanımlanan ürünlere bakılarak boyaların ilkin bir oksidatif aktivasyona uğradıkları ve bunun sonunda karonyum iyonunun oluştuğu ileri sürülmüştür. Daha sonra bu katyonik türlere su tarafından nükleofilik bir atak gerçekleştirildiği öne sürülmüştür. İncelenen metabolitlere bakılarak bu kararsız ara ürünün azo grubunun simetrik veya asimetrik bölünmesi ile parçalanabileceği tahmin edilmiştir. Oluşan oksidasyon ürünleri; sonuçta çeşitli spontan reaksiyonlarla farklı reaksiyonlara dönüşür. Yapılan ikinci çalışmada ise; *P. chrysosporium*' dan elde edilen saflaştırılmış bir lignin peroksidaz preparasyonu 3, 5-dimetil-4-hidroksiazobenzen-4-sulfonik asit ve Asid Orange 7' nin oksidasyonu için kullanmıştır. Bir önceki çalışma ile karşılaştırıldığında 3, 5-dimetil-4-hidroksiazobenzen-4-sulfonik asit ve Asid Orange 7' den bir ara ürün olarak bir 4-sulfofenilhidroperoksit' in oluştuğu görülmüştür. Bu araştırmacılara göre, azo boyalarının ikincil aromatik ürünü kuinonlardır (Chivukula ve ark., 1995).

Yapılan çalışmada sucül ortamlarda çeşitli ekolojik problemlere yol açan reaktif boyalarla çalışılmıştır. Doğal ortamlardan izole edilen çeşitli mikroorganizmaların bu boyayı dekolorizasyon yeteneği araştırılmış her bir mikroorganizma için optimum koşullar belirlenmiştir.

## **2. MATERYAL VE METOD**

### **2.1. Materyal**

#### **2.1.1. Boyar maddeler**

Yellow HR Gold (Orange 12), Polkatif Viyolet H3R (Violet 1), Ambifiks Blue H5R (Blue 13), Şarлак P2R-mix (Red 13 – Red 33) boyları Eskişehir Sarar Tekstil (A.Ş)' den temin edilerek renk giderimi çalışmalarında kullanılmışlardır.

#### **2.1.2. Mikroorganizmalar**

Kullanılan mikroorganizmalar Eskişehir ili çevresinde farklı bitkilerin yetiştiği tarla topraklarından, Eskişehir Şeker Fabrikası yanı Porsuk çayından, Eskişehir Sarar Tekstil A.Ş atık suyundan izole edilmiştir.

#### **2.1.3. Besiyerleri ve Çözeltiler**

##### **2.1.3.1. Besiyerleri**

###### **Potato Dextrose Agar**

Patato Dextrose Agar (merck) besiyeri litreye 39 g olacak şekilde distile suda çözülüp otoklavda 1.5 atmosfer basınç ve 120°C' de 15 dakika steril edilmiştir.

###### **Potato Dextrose Broth**

Potato Dextrose Broth (acumedia) besiyeri litreye 24 g olacak şekilde distile suda çözülüp otoklavda 1.5 atmosfer basınç ve 120°C' de 15 dakika steril edilmiştir.

### **Nutrient Agar**

Nutrient Agar (fluka) besiyeri litreye 20 g olacak şekilde distile suda çözülüp otoklavda 1.5 atmosfer basınç ve 120°C' de 15 dakika steril edilmiştir.

### **Yeast Malt Extract Agar**

Malt extract	10 g
Yeast extract	4 g
Glukoz	4 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözülüp, otoklavda 1.5 atmosfer basınç ve 120 °C sıcaklıkta, 15 dakika steril edilmiştir.

### **Nişasta Kazein Agar**

Çözünebilir nişasta	10 g
Kasein hidrolizati	0,3 g
KNO <sub>3</sub>	2 g
NaCl	2 g
K <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2 g
MgSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O	0,05 g
CaCO <sub>3</sub>	0,02 g
Fe <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> . 7 H <sub>2</sub> O	0,0025 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

1 ml methanol içinde 0.1 g siklohegzimit çözdürülüp; 1000ml besiyerine 1ml olacak şekilde ilave edilmiştir.

Besiyeri içeriği distile suda çözülüp, otoklavda 1.5 atmosfer basınç ve 121 °C sıcaklıkta, 15 dakika steril edilmiştir.



### Lakkaz üretimi için besiyeri

D-glukoz	20 g
L-asparajine	2,5 g
D,L-fenilalanin	0,15 g
Adenine	0,0275 g
Tiamin HCl	50µg
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g
MgSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O	0,5 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> . 2H <sub>2</sub> O	0,1 g
CaCl <sub>2</sub>	0.01 g
FeSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O	0,01 g
MnSO <sub>4</sub> . 4 H <sub>2</sub> O	0.001 g
ZnSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O	0.001 g
CuSO <sub>4</sub> . 5 H <sub>2</sub> O	0.002 g

Besiyeri içeriği distile suda çözülüp, otoklavda 1.5 atmosfer basınç ve 121 °C sıcaklıkta, 15 dakika steril edildikten sonra pH' ı 5' e ayarlanmıştır.

Çalışmalarda mikroorganizmaları dekolorizasyon yeteneğine göre ayırmak için kullanılan boyalı besiyerleri ise; Patoto Dextrose Agar, Nişasta Kazein Agar ve Nutrient Agar içeriğine % 0.01 boya eklenerek hazırlanmıştır (Chen ve ark., 2003).

#### 2.1.3.2. Çözeltiler

##### Boyar madde çözeltileri

Blue 13 boyasının distile su kullanılarak %0,01' lik çözeltisi hazırlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan boya çözeltisi 1.5 atmosfer basınç altında ve 120°C sıcaklıkta 15 dakika steril edildikten sonra dekolorizasyon çalışmalarında kullanılmıştır (Yeşilada ve ark., 2002).

Boya çözeltileri günlük hazırlanmıştır.

## **1 N HCl Çözeltisi**

% 37' lik HCl çözeltisinden 8,4 ml alınıp distile su ile 100 ml hacme tamamlanarak hazırlanmıştır.

## **1N NaOH Çözeltisi**

4 g NaOH 100 ml distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

Gerekli olduğu durumlarda besiyerinin ve boya solüsyonlarının pH' ını ayarlamak için 1 N HCl çözeltisi ve 1 N NaOH çözeltileri kullanılmıştır.

## **2.2. Metot**

### **2.2.1. Dekolorizasyon yeteneğine sahip bakterilerin izolasyonu**

Dekolorizasyon yeteneğine sahip bakterilerin izolasyonu için Eskişehir ili çevresinde farklı bitkilerin yetiştiği tarla topraklarından, Eskişehir Şeker Fabrikası yanı Porsuk Çayı, Eskişehir Sarar Tekstil A.Ş. atık suyundan alınan örneklerden hazırlanan dilüsyonlar Yeast Malt Extract (YMA), Nişasta Kazein Agar (NKA) besiyerlerine yayma plak yöntemiyle ekilmiştir. Örnekler 30°C ve 37°C de 5 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda farklı koloniler seçilerek alındıkları besiyeri içeriğine çizgi ekim yöntemi ile ekilerek saflaştırmaları yapılmıştır. Saf olarak elde edilen bakteriler %0,01 boya içeren izole edildikleri katı besiyerlerine nokta ekim yöntemi ile ekilmiş ve 5 gün süre ile inkübasyona bırakılarak dekolorizasyon yeteneklerine bakılmıştır. Kolonileri etrafında renk giderimi tespit edilen bakteriler gliserole alınarak 4°C' de stoklanmıştır.

### **2.2.2. Dekolorizasyon yeteneğine sahip küflerin izolasyonu**

Küf izolasyonu ise; Eskişehir ili çevresinde farklı bitkilerin yetiştiği tarla topraklarından, Eskişehir Şeker Fabrikası yanı Porsuk Çayı ve Eskişehir Sarar Tekstil A.Ş. atık suyundan alınan örneklerden dilüsyonlar hazırlanmıştır. %0,01

boya içeren Patoto Dextrose Agar (PDA) besiyeri hazırlanmış ve Petri kutularına aktarılmıştır. Dilüsyonlar Petri kutularına yayma ekim yöntemi ile ekilmiştir. Etrafında renk giderimi gerçekleştirdiği görülen küfler giderdiği boyayı içeren katı besiyerlerine çift tekrarlı ekilmiştir. Tekrarlı ekimler sonucunda da renk giderimi gerçekleştiren küfler yatık agara pasajlanarak stokları hazırlanmıştır.

#### **2.2.4. Küflerin boyanarak mikroskopta görüntülenmesi**

Dekolorizasyon çalışmasında kullanılan küflerden öze yardımı ile küçük bir parça alınarak lam üzerine yerleştirilmiştir. Daha sonra küfün üzerine laktofenol pamuk mavisinden 2–3 damla damlatılmış ve üzerine lamel kapatılarak ışık mikroskobunun immersiyon objektifinde preparat üzerine sedir yağı damlatılarak hücreler incelenmiştir.

#### **2.2.3. Dekolorizasyon çalışmaları**

Dekolorizasyon çalışmalarında kullanılan biyokitlenin üretimi için öncelikle küfler PDA besiyeri bulunan Petri kutularına ekilmiş ve oda sıcaklığında 7 gün süre ile inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon süresi sonunda bu plaklardan öze yardımı ile alınan sporlar, içerisinde 100 ml Patoto Dextrose Broth (PDB) besiyeri bulunan 250 ml' lik Erlen Mayer şişelerine inoküle edilmiş ve 120 rpm' de, 30°C' de 7 gün süre ile inkübasyona bırakılmışlardır. İnkübasyon süresi sonunda oluşan pelletler steril şartlarda süzülerek besiyerinden ayrılmış ve dekolorizasyon çalışmalarında kullanılmıştır.

Dekolorizasyon çalışmaları statik ve çalkalamalı olarak ve 3 paralel halinde yürütülmüştür. Dekolorizasyon; 250 ml' lik Erlen Mayer şişelerinde 50' şer ml, %0,01 boya içeren çözeltiler ile yapılmıştır. Bunların dışında ölçümlerin yapıldığı her gün için kontrol amaçlı, boya çözeltileri içeren fakat pellet içermeyen Erlen Mayer şişeleri hazırlanmış ve bu Erlen Mayer şişelerinde abiyotik mekanizmaya bağlı renk gideriminin gerçekleşip gerçekleşmediği spektrofotometrik değişime bakılarak izlenmiştir. Aynı zamanda boyasız ortamda küflerin gelişimini kontrol etmek ve boyar maddenin test küfü üzerinde inhibe

edici etki oluşturup oluşturmadığını araştırmak amacıyla boya solüsyonu içermeyen sadece küf içeren Erlen Mayer şişeleri hazırlanmıştır.

Her bir Erlen Mayer şişesine daha önce süzölmüş pelletlerden yaş ağırlığı 2 g olacak şekilde inokölasyon yapılmıştır. Statik inkübasyon oda sıcaklığında bir hafta süre ile; çalkalamalı inkübasyon ise 30°C' de 120 rpm' de yine 1., 2., 3., 5., ve 7. günler de olmak üzere bir hafta süre ile gerçekteştirilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca her üç paralel seride alınan örnekler öncelikle 15.000 rpm' de 30 dakika santrifüye edilmiş, süpernatatların, spektrofotometrede, boyanın maksimum absorbans verdiği dalga boyunda absorbans değerleri okunarak boya konsantrasyonları belirlenmiştir.

### **2.2.5. Boyar madde konsantrasyonunun belirlenmesi**

#### **2.2.5.1. Spektrum ölçümü**

Besiyerindeki boya konsantrasyonunun doğrudan tespiti mümkün olmadığı için boyar madde konsantrasyonundaki değişim besiyerinin absorbans değerindeki değişime bağlı olarak izlenmiştir. Boyar madde içeren besiyerinin absorbans değeri o boyar maddenin maksimum absorbans verdiği dalga boyunda ölçölmüştür. Bunun için boyar madde solüsyonunun UV visible spektrofotometrede spektrum ölçümü yapılmıştır. Maksimum absorbans değerinin hangi dalga boyunda yapıldığı belirlenmiş, o değer boyar madde için tespit edilmiş ve sonraki absorbans ölçömlerinin tümü o dalga boyunda yapılmıştır.

#### **2.2.5.2. Günlük olarak boyar madde konsantrasyonunun**

#### **belirlenmesi**

İnkübasyon süresi boyunca 1., 2., 3., 5., ve 7. günlerde kültür sıvısından 3 paralel halinde örnekler alınmıştır. Daha sonra örnekler süspanse partököülleri elemine etmek amacı ile 15.000 rpm' de 30 dakika santrifüje edilmiştir. Santrifüjün ardından süpernatatların UV visible spektrofotometrede absorbans değerleri ölçölerek boya konsantrasyonları belirlenmiştir. Ölçömler boyanın

maksimum absorbans verdiği dalga boyunda her bir paralel için 3 kez okunarak yapılmıştır.

## **2.2.6. Çeşitli evresel koşulların dekolorizasyon üzerindeki etkisinin belirlenmesi**

### **2.2.6.1. Farklı pH' ların dekolorizasyona etkisinin belirlenmesi**

Farklı pH' ların dekolorizasyona etkisini belirlemek amacı ile diğer tüm koşullar sabit tutulmak kaydıyla, boyalı besiyerlerinin başlangıç pH' ları 3, 5, 7 olacak şekilde ayarlanmıştır. pH değerlerinin ayarlanmasında 1 N HCl ve 1 N NaOH özelteleri kullanılmıştır. Boya solüsyonları otoklavlandıktan sonra dekolorizasyon çalışmalarında kullanılmışlardır. Bir hafta boyunca ekstraselüler sıvıdan günlük olarak alınan örnekler 15.000 rpm' de 30 dak. santrifüje edildikten sonra süpernatantların spektrofotometrede absorbansları ölçülmüş ve ortamda kalan boya miktarları izlenmiştir.

### **2.2.6.2. Farklı sıcaklık değerlerinin dekolorizasyona etkinin belirlenmesi**

Farklı sıcaklık değerlerinin dekolorizasyona etkisini belirlemek amacı ile diğer tüm koşullar sabit tutulmak kaydı ile, boyalı solüsyonlar otoklavlandıktan sonra pelletler ile ekimleri yapılmış ve sıcaklıkları 20°C, 30°C, 35°C olacak şekilde inkübasyona bırakılmışlardır. Bir hafta boyunca ekstraselüler sıvıdan günlük olarak alınan örnekler 15.000 rpm' de 30 dak. santrifüje edildikten sonra süpernatantların spektrofotometre de absorbansları ölçülmüş ve ortamda kalan boya miktarları izlenmiştir.

### **2.2.6.3. Farklı alkalama hızlarının dekolorizasyona etkisinin belirlenmesi**

Farklı alkalama hızlarının dekolorizasyon üzerine etkisini belirlemek amacı ile diğer tüm koşullar sabit tutulmak kaydı ile boyalı solüsyonlar

otoklavlandıktan sonra pelletler ile inoküle edilmiş ve 100 rpm, 120 rpm ve 150 rpm' lerde otoklavda 1.5 atmosfer basınç ve 121 °C sıcaklıkta, 15 dakika steril inkübasyona bırakılmışlardır. Bir hafta boyunca kültür sıvısından günlük olarak alınan örnekler 15.000 rpm' de 30 dak. santrifüje edildikten sonra süpernatantların spektrofotometrede absorbanları ölçülmüş ve ortamda kalan boya miktarları izlenmiştir.

#### **2.2.6.4. Boyar madde konsantrasyonunun dekolorizasyon üzerine**

##### **etkisi**

Diğer koşullar sabit tutulmak kaydı ile boya çözeltilerinin boya konsantrasyonu değiştirilerek, kullanılan mikroorganizmanın boya çözeltilisini dekolorizasyon oranı izlenmiştir. Boya konsantrasyonu 100 mg/l ve 500 mg/l' ye ayarlanmıştır.

#### **2.2.7. Ölü hücrelerle dekolorizasyon**

Ölü hücreler ve canlı hücrelerin dekolorizasyon yeteneğini karşılaştırmak amacı ile canlı hücrelerin 120°C de 15 dakika otoklavda sterilizasyonu sonucu elde edilen ölü pelletler 50 ml' sinde %0,01 boya içeren 250 ml lik Erlen Mayer şişelerine inoküle edilmişlerdir. 120 rpm' de 30°C' de bir hafta süre ile inkübasyona bırakılmışlardır. Erlen Mayer şişelerinden günlük olarak 3 paralel halinde alınan örnekler 15.000 rpm' de 30 dak. santrifüje edildikten sonra süpernatantların spektrofotometre de absorban değerleri ölçülmüş ve ortamda kalan boya miktarları izlenmiştir.

#### **2.2.8. Tekrarlı deneylerin yapılması**

En iyi dekolorizasyon değerini veren küf için belirlenen optimum şartlarda 3 paralel halinde dekolorizasyon deneyleri yapılmış, kullanılan küfler süzme işleminden sonra tekrarlı olarak aynı konsantrasyonda boya içeren solüsyonlara inoküle edilmiş, süpernatantın spektrofotometrede absorban değeri belirlenerek dekolorizasyon değerlerine bakılmıştır.

### 2.2.9. Enzim aktivitesinin belirlenmesi

4 küfün yatık-agar stok kültürleri 2.5 ml distile su içinde suspanse edildikten sonra hazırlanan miselyum suspansiyonu steril koşullarda 250 ml besiyeri (enzim aktivitesi belirlemek için kullanılan besiyeri) içeren 1000 ml' lik Erlen Mayer şişelerine inoküle edilmiştir.

30 °C' de, 150 rpm' de on günlük inkübasyon süresince dördüncü günden itibaren kültür sıvısından alınan 2 ml örnek 15.000 rpm'de 15 dak. santrifüj edildikten sonra lakkaz aktivitesi ölçümlerinde kullanılmıştır (Kirk ve ark., 1978)

#### 2.2.9.1. Lakkaz aktivitesinin ölçümü

Enzim aktivitesini belirlemek amacı ile substrat olarak 0.2 M sodyum acetatın (pH 5) içinde 3,6 mM Diamonyum 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat (ABTS) kullanılmıştır.

1 ml kültür sıvısından, 1 ml ABTS çözeltisinden alınarak 405 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbans ölçülmüştür (Heinzkill ve ark., 1998).

### 2.2.10. Toksisite deneylerinin yapılması

#### Sitotoksisite testi

V79 379A (Chinese hamster akciğer fibroblast benzeri) hücreleri 56°C' de su banyosunda inaktif hale getirilmiş %10' luk Fetal Bovine Serum, Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), Penicilin-Streptomycin ve %9,2 NaHO<sub>3</sub> içeren besiyerinin bulunduğu 25 cm<sup>3</sup>' lük doku kültürü şişelerinde %95 hava ve %5 CO<sub>2</sub>'li gaz ortamında ve 37°C'de inübe edilmiştir.

Uygun koşullarda çoğalmaya bırakılan hücreler doku kültürü şişesi yüzeyini %70 oranında kapladıkları zaman 1ml Tripsin-EDTA ile 1-2 dak. inkübatörde bekletilerek doku kültürü şişe tabanından kaldırılmıştır. Trypan blue boyası ile boyanan hücreler, Thoma lamı yardımıyla 3 kez sayılarak MTT ((3-(4,5-dimetiltiaol-2-il)-2, 5-difenil tetrazolyum bromür) testi için 96 kuyucuklu plakalara 1x10<sup>4</sup> hücre olacak şekilde ekilmiştir. Hücrelerin yapışması ve yeni

ortama alışması için 37°C' de 24 saat inkübe edilmişlerdir. 24 saat inkübasyon süresi sonunda hücrelerin üzerindeki besiyerleri dökülerek uzaklaştırılmıştır. Daha sonra hücreler 10X'lik medyum kullanılarak hazırlanan su örnekleri ile 24 saat muamele edilmişlerdir (Ferretti ve ark., 2007). Son konsantrasyonları %80, %40 ve %20 olacak şekilde ayarlanmıştır.

### **MTT ölçümü**

Su örnekleri ile 24 saat muamele edilen hücrelerden inkübasyon süresi sonunda besiyerleri dökülerek uzaklaştırılmıştır. Hücreler 5 mg/ml MTT boyası ile canlı hücrelerin metabolik aktiviteleri sonucu MTT boyasının suda çözülme formazan tuzu haline dönüştürülebilmesi için karbondioksit inkübatöründe 2 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda hücrelerden MTT boyası dökülerek uzaklaştırılmıştır. Canlı hücreler tarafından oluşturulan formazan tuzlarının çözülmesi için her bir kuyucuğa 0,1 ml DMSO (dimetilsülfoksit) ilave edilmiştir. Plakalardaki hücrelerin optik densiteleri ELISA cihazında 570 nm dalga boyunda okutulmuştur. Su örneği ile muamele edilmeyen kontrol hücre canlılığı %100 kabul edilerek, deney hücrelerinin canlılık oranları yüzde olarak ifade edilmiştir. Bu test 3 kez tekrar edilmiştir (Mosmann 1983).

### **İstatistiksel Değerlendirmeler**

MTT deney sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmeleri için SPSS (Statistics Program for Social and Science) istatistik programı kullanılmıştır. Elde edilen verilerin tek yönlü ANOVA ve Post-Hoc testlerinden Tukey uygulanarak anlamlılıkları belirlenmiştir. Anlamlılık değeri  $p < 0,05$  kabul edilmiştir.

#### **2.2.11. İstatistiksel Değerlendirme**

Yapılan optimizasyon çalışmalarının anlamlı olup olmadığını ve her bir çevresel koşuldaki hangi kriterin hangi küf için en uygun olduğu anlamak için anava tablosunu kullanarak varyans analizi yapılmıştır.



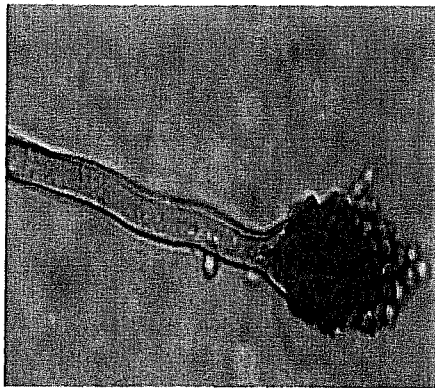
### 3. BULGULAR

#### 3.1. Dekolorizasyon Yeteneğine Sahip Bakterilerin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

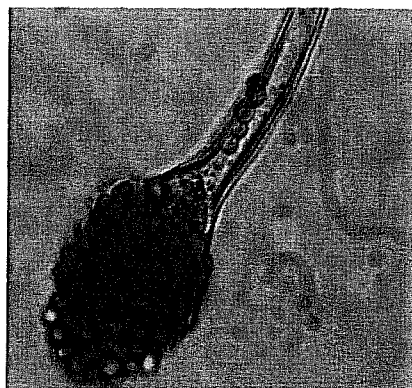
Dekolorizasyon yeteneğine sahip bakterileri izole etmek için Eskişehir ili çevresinde farklı bitkilerin yetiştiği tarla topraklarından, Eskişehir Şeker Fabrikası yanı Porsuk Çayı ve Eskişehir Sarar Tekstil A.Ş. atık suyundan alınan örneklerden izole edilen 200 bakteriden kayda değer dekolorizasyon yeteneğinde olan bakteriye rastlanmamıştır.

#### 3.2. Dekolorizasyon Yeteneğine Sahip Küflerin İzolasyonu ve İdentifikasyonu

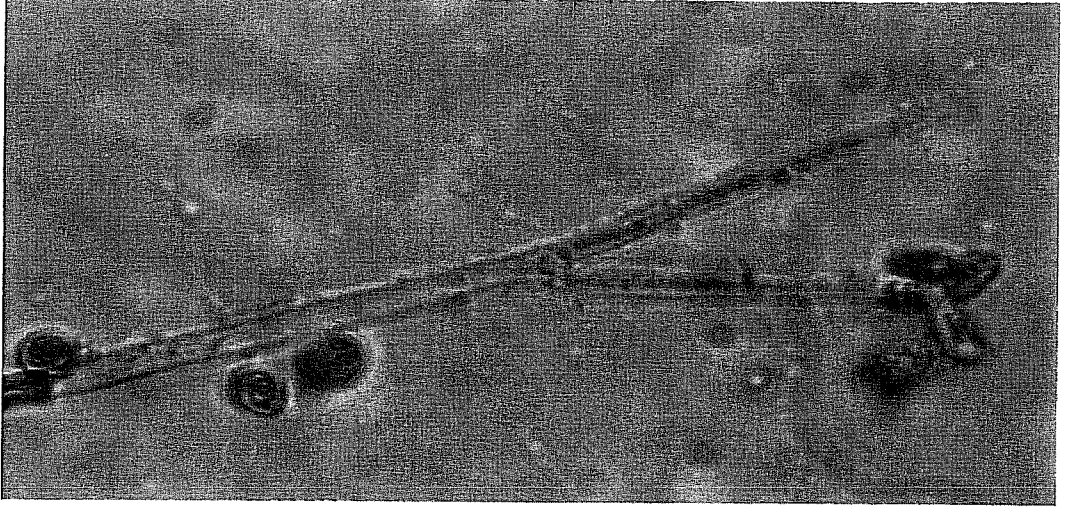
Eskişehir ili çevresinde farklı bitkilerin yetiştiği tarla topraklarından, Eskişehir Şeker Fabrikası yanı Porsuk Çayı ve Eskişehir Sarar Tekstil A.Ş. atık suyundan alınan örneklerden izole edilen 110 küf 4 farklı boya üzerine denenmiş ve sadece Blue 13 boyasını dekolorize etme yeteneğinde olan 4 izolat elde edilmiştir ve bu nedenle çalışmalara blue 13 boyası ile devam edilmiştir. İzolatların identifikasyonu Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümünden Yard. Doç. Dr. Alev HALİKİ tarafından yapılmıştır. Patlıcan kök toprağından elde edilen izolat 1' in *Aspergillus niveus* 1 (Şekil 3.1), 2. izolatın *Aspergillus niveus* 2 (Şekil 3.2), Eskişehir şeker fabrikası yanı Porsuk Çayından elde edilen izolat 3' ün *Sporotrichum* sp. (Şekil 3.3) ve 4. izolatın *Fusarium moniliforme* (Şekil 3.4) olduğu tespit edilmiştir.



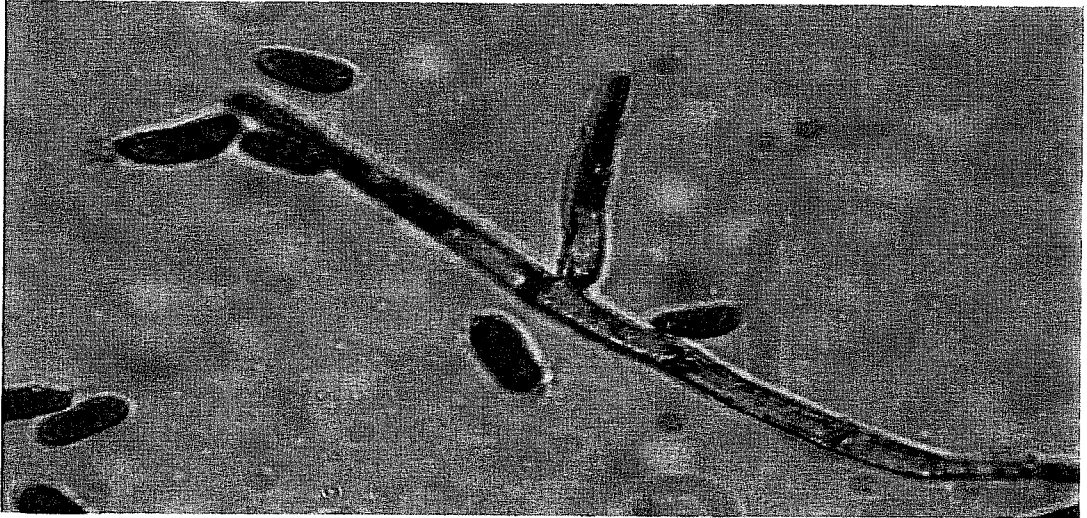
Şekil.3.1. *A. niveus* 1



Şekil.3.2. *A. niveus* 2

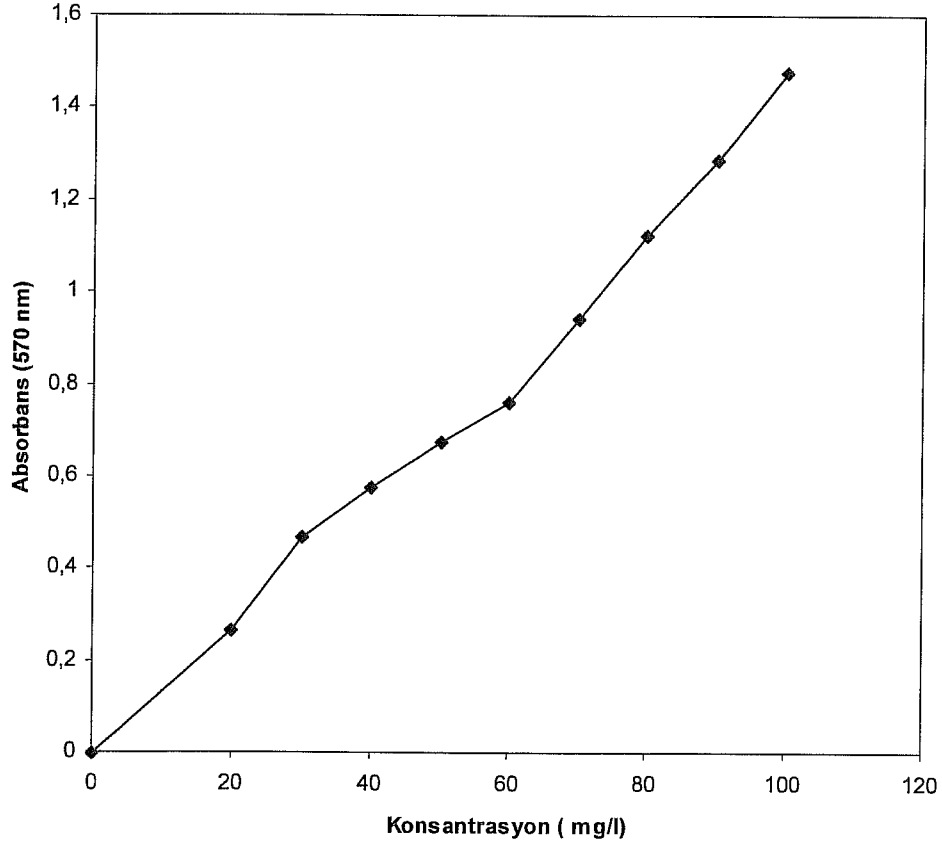


Şekil 3.3. *Sporotrichum* sp.



Şekil 3.4. *Fusarium moniliforme*

### 3.3. Dekolorizasyon Çalışmalarında Kullanılan Boyar Maddeye Ait Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 3.9. Blue 13'e ait kalibrasyon eğrisi

### 3.4. Boya Solüsyonlarının Dekolorizasyonu

#### 3.4.1 Statik koşullarda dekolorizasyon

Dekolorizasyon çalışmalarında kullanılan küflerin, statik koşullarda, Blue 13 boyasını zamana bağlı dekolorizasyon oranı Şekil 3.10' da verilmiştir. Statik koşullarda dekolorizasyon çalışması üç paralel haline yürütülmüş olup verilen değerler bu üç sonucun ortalamasıdır.

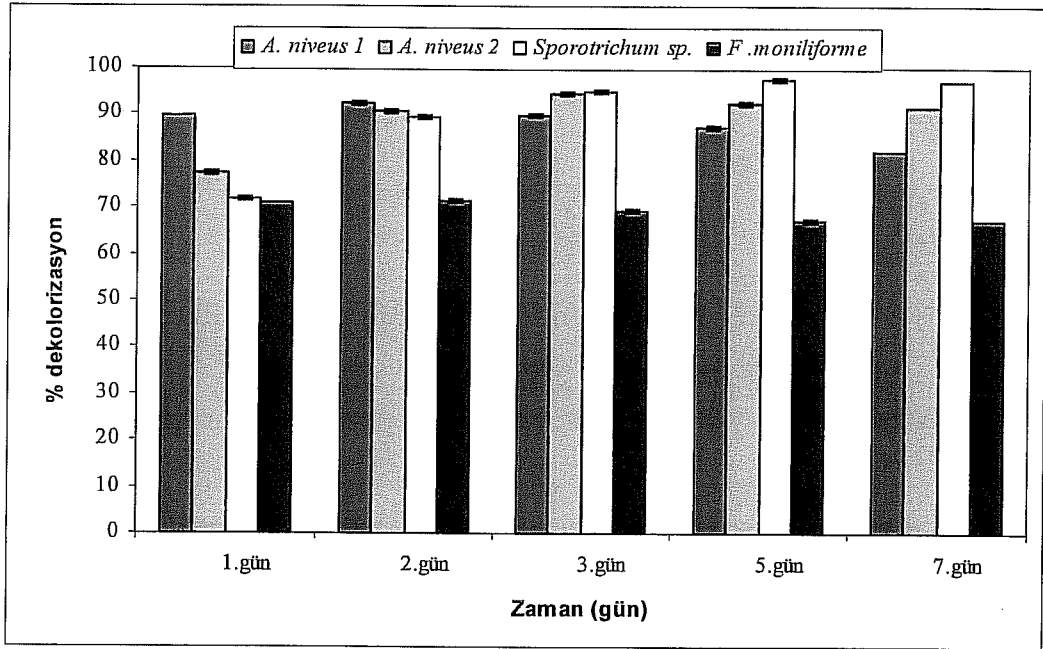
Statik koşullarda; *A. niveus* 1, 1.gün ortamdaki boyanın %89,88' ini dekolorize etmiştir. Bir hafta sonunda bu oran %82,22' ye düşmüştür. *A. niveus*

1' in statik koşullarda Blue 13 boya solüsyonunu 7 gün süresince dekolorizasyon yüzdesi ortalama %82,22 olarak tespit edilmiştir.

Şekil 3.6' da görüldüğü gibi *A. niveus* 2 tarafından Blue 13 boyasının 1. gün %77,49' u dekolorize edilirken en yüksek dekolorizasyon değerine üçüncü gün ulaşılmış ve boyanın %94,49' u dekolorize edilmiştir. Bir hafta sonunda dekolorizasyon %' si 91,55' tir.

*Sporotrichum sp.* 1. gün Blue 13 boyasının %71,62' sini dekolorize ederken bu oran her gün artış göstermiş ve 7. gün sonunda dekolorizasyon % 97,05' ye çıkmıştır.

*Fusarium moniliforme*' nin dekolorizasyon sonuçları diğer küflere göre daha düşük olup birinci gün boyanın % 71,01' ini dekolorize ederken bu oran bir hafta boyunca biraz daha düşüş göstermiş ve 7.gün sonunda %67,03' ü bulmuştur.



Şekil 3.6. *A. niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum sp.*, *F. moniliforme*'nin Blue 13 boyasını statik (30°C, pH 5'de)koşullarda zamana bağı dekolorizasyon yüzdesinin SPSS Anova Tukey s- b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları (p<0,05) grafik üzerinde gösterilmiştir

Abiyotik kontrol Erlen Mayer şişelerinden inkübasyon süresi boyunca alınan örneklerin absorbans değerleri okunmuş ve konsantrasyonlar belirlenmiştir. Bir hafta boyunca alınan örneklerin konsantrasyonlarda herhangi bir değişikliğe rastlanmamıştır.

**Çizelge 3.1.** Dekolorizasyon çalışmalarında kullanılan küflerin Blue 13 boyasını statik koşullarda (30°C, pH 5’de) dekolorizasyon yüzdesi

Küfler	Dekolorizasyon Yüzdesi				
	1.gün	2.gün	3.gün	5.gün	7.gün
<i>Aspergillus niveus 1</i>	% 89.88	% 92.13	% 89.74	% 87.1	% 82.22
<i>Aspergillus niveus 2</i>	% 77.49	% 90.41	% 94.49	% 92.43	% 91.55
<i>Sporotrichum sp.</i>	% 71.62	% 89.33	% 95.01	%97.26	% 97.05
<i>Fusarium moniliforme</i>	% 71.01	% 71.56	% 69.42	% 67.03	% 67.03

Çizelge 3.1’ den anlaşıldığı gibi 4 izolatuın statik koşullarda ki dekolorizasyon yüzdeleri oldukça yüksek olup en yüksek dekolorizasyonu %97,26 ile *Sporotrichum sp.* gerçekleştirmiştir.

### 3.4.2. Çalkalamalı koşullarda dekolorizasyon

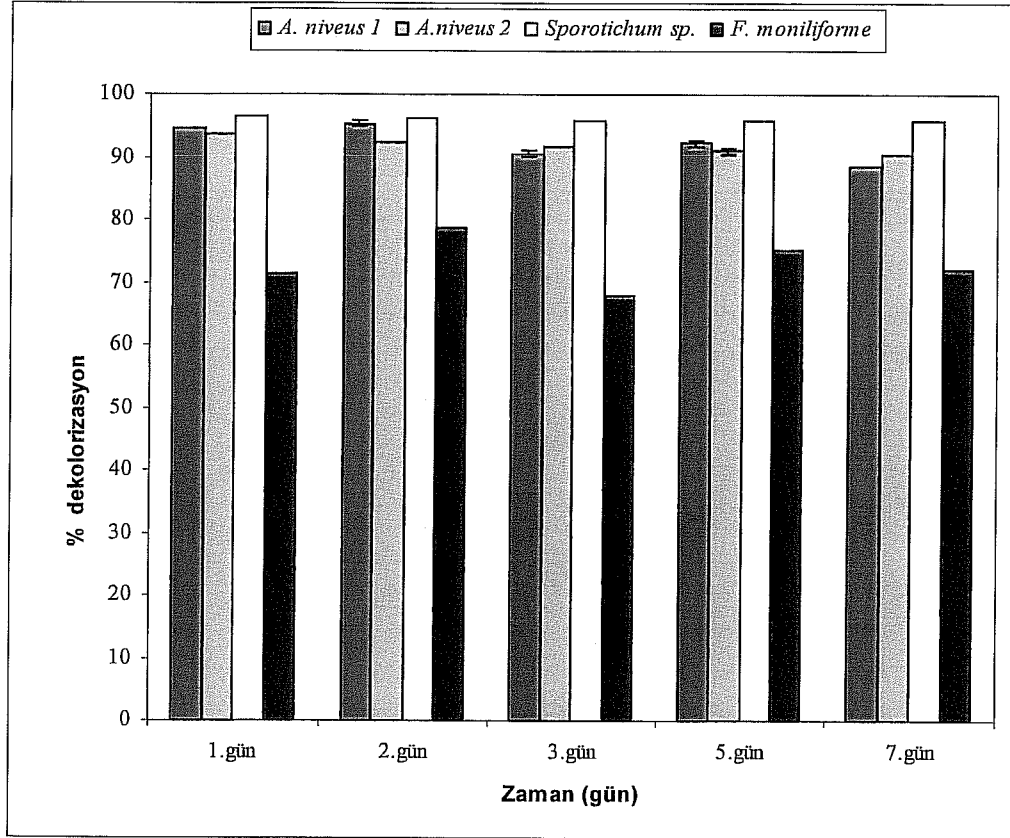
Çalkalamalı koşullarda gerçekleştirilen dekolorizasyon çalışmaları ile her bir küfün zamana bağlı olarak Blue 13 boyasını dekolorize etme oranı gözlenmiştir. Çalışmalar 120 rpm ve 30 °C’ de üç paralel halinde yürütülmüştür. Verilen sonuçlar bu üç değerin ortalamasıdır.

Şekil 3.7’ de görüldüğü gibi *A. niveus 1*’ in dekolorizasyon oranı 1. ve 2. gün oldukça yüksek olup %94,62 ve %95,38’ tir. Diğer günler dekolorizasyon oranı biraz daha düşmüş ve 7. gün dekolorizasyon %88,67 olmuştur.

*A. niveus 2* ile yapılan çalışmada ise birinci gün ortamdaki boyanın %93,73’ ü dekolorize edilmiş ve bu oran her gün %1 azalmıştır. 7. gün sonunda dekolorizasyon yüzdesinin %90,57 olduğu görülmüştür (Şekil 3.7).

*Sporotrichum sp.* oldukça yüksek dekolorizasyon değerine sahip olup birinci gün ortamdaki boyanın %96.64' ünü gidermiş bu oran yedi gün sonunda sadece %1 değişmiş ve % 95.91 olmuştur (Şekil 3.7).

*Fusarium moniliforme*' nin ise birinci gün (%71.56) ve 7.gün (%72.11) sonunda dekolorizasyon yüzdeleri birbirine yakındır (Çizelge 3.2).



Şekil.3.7. *A. niveus 1*, *A. niveus 2*, *Sporotrichum sp.*, *F. moniliforme*'nin Blue 13 boyasını çalkalamalı koşullarda (120 rpm, 30°C, pH 5) zamana bağlı olarak dekolorizasyon yüzdesinin SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

**Çizelge 3.2.** Dekolorizasyon çalışmalarında kullanılan küflerin Blue 13 boyasını çalkalamalı koşullarda (120 rpm, 30°C, pH 5) dekolorizasyon yüzdesi

Küfler	Dekolorizasyon Yüzdesi				
	1.gün	2.gün	3.gün	5.gün	7.gün
<i>Aspergillus niveus</i>	% 94.62	% 95.38	% 90.59	% 92.24	% 88.67
<i>Aspergillus niveus</i>	% 93.73	% 92.24	% 91.78	% 91.01	% 90.57
<i>Sporotrichum sp.</i>	% 96.64	% 96.25	% 96	% 95.82	% 95.91
<i>Fusarium moniliforme</i>	% 71.56	% 78.8	% 68.01	% 75.10	% 72.11

Çizelge 3.2’ de verildiği gibi her bir küfün çalkalamalı koşullarda Blue 13 boyasını dekolorizasyon yüzdeleri birbirinden farklı olup yedi gün sonunda dekolorizasyon yüzdelerine bakıldığında en iyi dekolorizasyonun *Sporotrichum sp.* tarafından sağlandığı görülmektedir. *A. niveus* 1 ve 2’ nin dekolorizasyon yüzdeleri birbirine yakın olup *F. moniliforme*’ nin dekolorizasyon yüzdesi en düşüktür.

### 3.4.3. Statik ve Çalkalamalı Koşullardaki Dekolorizasyonların

#### Karşılaştırılması

İzole edilen dört adet küfle yapılan çalkalamalı ve statik koşullardaki dekolorizasyon çalışmaları sonucunda farklı değerler elde edilmiştir (Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2).

*A. niveus* 1’ in çalkalamalı koşullardaki dekolorizasyon yüzdelerinin statik koşullardaki dekolorizasyon değerlerine oranla daha iyi olduğu fark edilmektedir. Özellikle birinci gün bu fark açıkça görülmektedir statik koşullarda dekolorizasyon yüzdesi %89,88 iken çalkalamalı koşullarda %94,62’ dir.

*A. niveus* 2’ nin statik koşullardaki dekolorizasyonu birinci gün düşük olmakla birlikte (%77,49) bu değer ikinci günden itibaren artış göstermiştir. Çalkalamalı koşullardaki dekolorizasyon değerlerine bakıldığında birinci gün yüksek bir dekolorizasyon yüzdesine sahip olan izolatu dekolorizasyon değerleri 24 saatten sonra her gün %1 düşmüştür. *A. niveus* 2’ nin her iki koşuldaki

dekolorizasyon değeri birbirine oldukça yakın olup ilk 48 saatte çalkalamalı koşullardaki dekolorizasyonun statik koşullara göre biraz daha iyi olduğu görülmektedir.

Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2' den *Sporotrichum sp.*' nin dekolorizasyon değerlerinin oldukça yüksek olduğunu görülmektedir. *Sporotrichum sp.*' de *A. niveus* 2' de olduğu gibi statik koşullardaki dekolorizasyon değeri 1., 2., ve 3., günlerde çalkalamalı koşullardaki oranlara göre daha düşüktür. *Sporotrichum sp.*' nin 1. gün çalkalamalı ortamdaki dekolorizasyon değeri %96,64' tür.

*F. moniliforme*'nin dekolorizasyon değerleri diğer üç küfe göre daha düşüktür. Yine bu izolatu da statik ve çalkalamalı ortamdaki dekolorizasyon sonuçları birbirine oldukça yakın olup yedinci gün sonunda statik ortamda değişim görülmezken çalkalamalı ortamda dekolorizasyonun biraz daha arttığı gözlenmiştir.

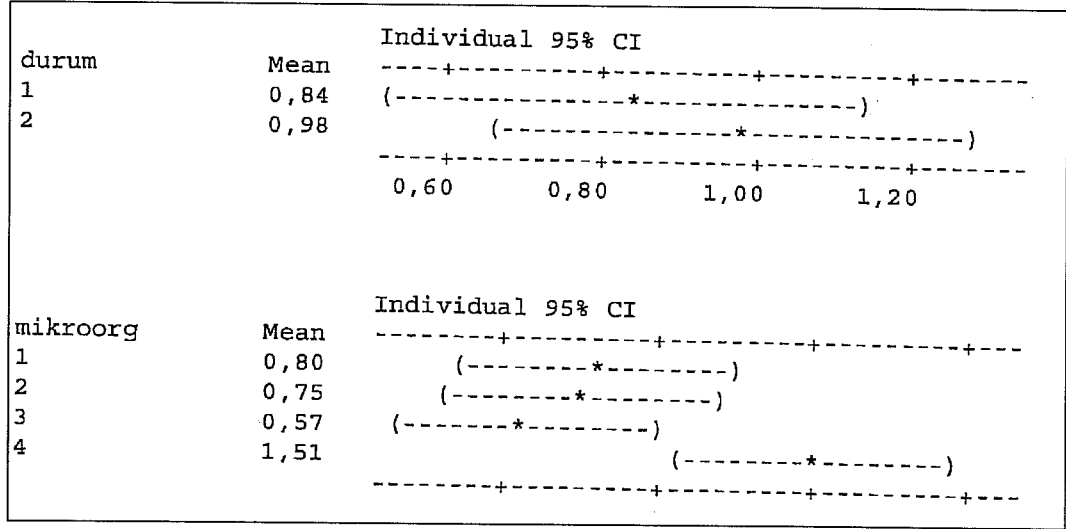
Çalkalamalı ve statik koşullardaki dekolorizasyonların istatistiksel değerlendirmesine baktığımızda statik ve çalkalamalı koşulların tek başına dekolorizasyon üzerine etkisinin olmadığını ancak ortama mikroorganizma eklendiğinde durumların dekolorizasyon üzerinde anlamlı etkisi olduğu görülmüştür. Durum 1 çalkalamalı ortamı durum 2 ise statik ortamı ifade etmektedir. Statik ve çalkalamalı ortamların dekolorizasyon üzerinde benzer etkili olduğu çalkalamalı ortamın etkisinin biraz daha anlamlı olduğu görülmüştür.

Çizelge.3.3. Statik ve çalkalamalı koşulların dekolorizasyon üzerine etkisinin varyans analizi

Analysis of Variance for boyadege					
Source	DF	SS	MS	F	P
durum	1	0,198	0,198	0,43	0,517
mikroorg	3	5,117	1,706	3,70	0,022
Interaction	3	16,211	5,404	11,71	0,000
Error	32	14,770	0,462		
Total	39	36,297			



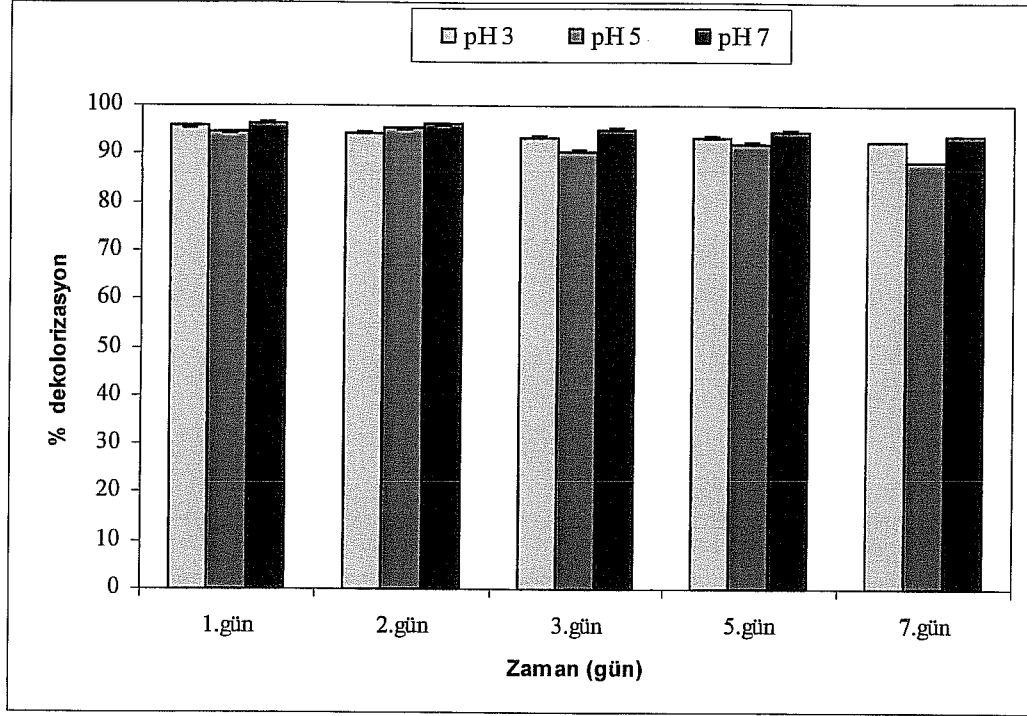
**Çizelge.3.3. (Devam) Statik ve çalkalamalı koşulların dekolorizasyon üzerine etkisinin varyans analizi**



### 3.5. Çeşitli Çevresel Koşulların Dekolorizasyon Üzerindeki Etkisinin Belirlenmesi

#### 3.5.1. Farklı başlangıç pH' larının dekolorizasyon üzerine etkisi

Boya solüsyonlarının başlangıç pH' ları 3, 5, 7' ye ayarlanmış ve Blue 13 boyasının *A. niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum sp.*, *F. moniliforme* tarafından zamana bağlı olarak dekolorizasyon oranları belirlenmiştir.



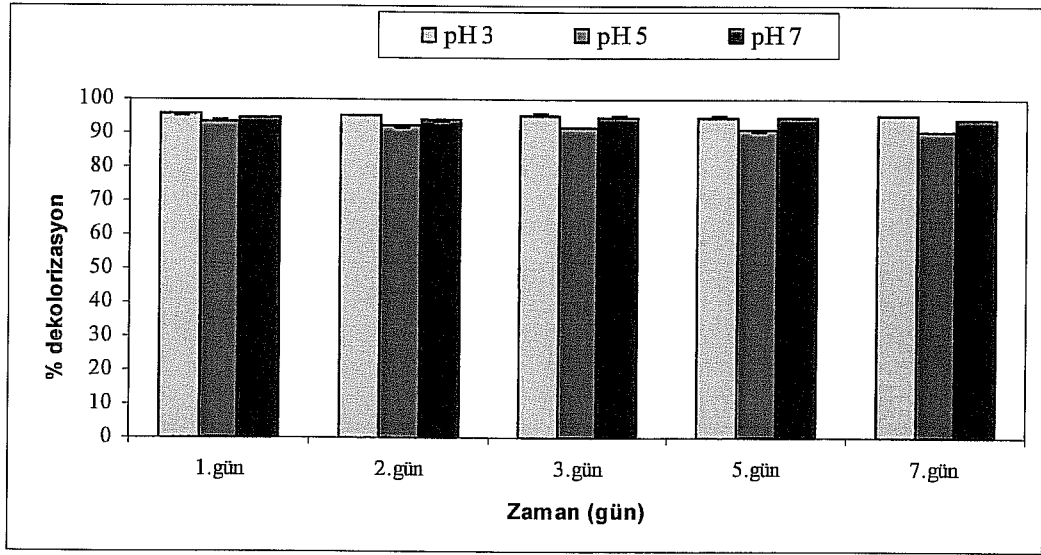
**Şekil 3.8.** *A. niveus* 1' in Blue 13 boyasını farklı başlangıç pH' larında zamana bağlı dekolorizasyonu 30°C'de ve 120 rpm'de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

*A. niveus* 1 diğer pH değerleri ile kıyaslandığında en iyi dekolorizasyonu pH 7' de gerçekleştirmiştir. Her üç başlangıç pH' ında ilk iki gün elde edilen dekolorizasyon değeri yüksek olup üçüncü günden itibaren dekolorizasyonda artış kaydedilmiştir (Şekil 3.8).

pH 3' de ilk gün %95,76 dekolorizasyon gerçekleştirilmiş, bu oran bir hafta sonunda %92,78 olmuştur. pH 5' de ilk gün ki dekolorizasyon değeri %94,62 iken ikinci gün %1 artmış üçüncü gün %5 azalmıştır. Bir hafta boyuca değerler değişkenlik göstermiş olup düzenli değişim kaydedilmemiştir. pH 7' de ise ilk 24 saatte %96,43 dekolorizasyon sağlanmış olup bir hafta sonunda ortamdaki boya miktarı biraz daha artmıştır ve yedi gün sonunda dekolorizasyon %94 olmuştur.

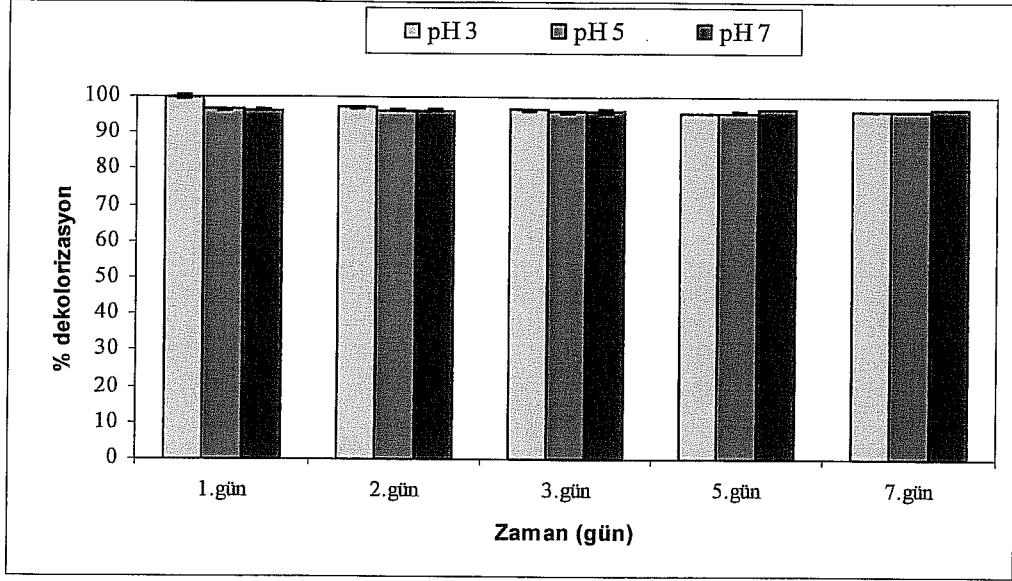
*A. niveus* 2' nin dekolorizasyon değerleri Şekil 3.9' da verilmiştir. İlk 24 saatte en iyi dekolorizasyon yüzdesine pH 7' de ulaşılmıştır. pH 5' de ise

ortamdaki boya konsantrasyonu birinci gün 5,33 mg/l iken bu değer her gün biraz daha artmış ve 7. gün sonunda 9,42 mg/l' ye ulaşılmıştır. En iyi dekolorizasyona pH 3' de gerçekleşmiştir. Birinci gün ortamda 4,42 mg/l boya bulunurken dekolorizasyon %95,69 olarak belirlenmiştir. Dekolorizasyon oranı 3. ve 7. günlerde biraz daha artmış olup ortamdaki boya konsantrasyonun 3,73 mg/l ve 3,8 mg/l, dekolorizasyon yüzdelerinin ise %95,56 ve %95,4 olduğu gözlenmiştir.

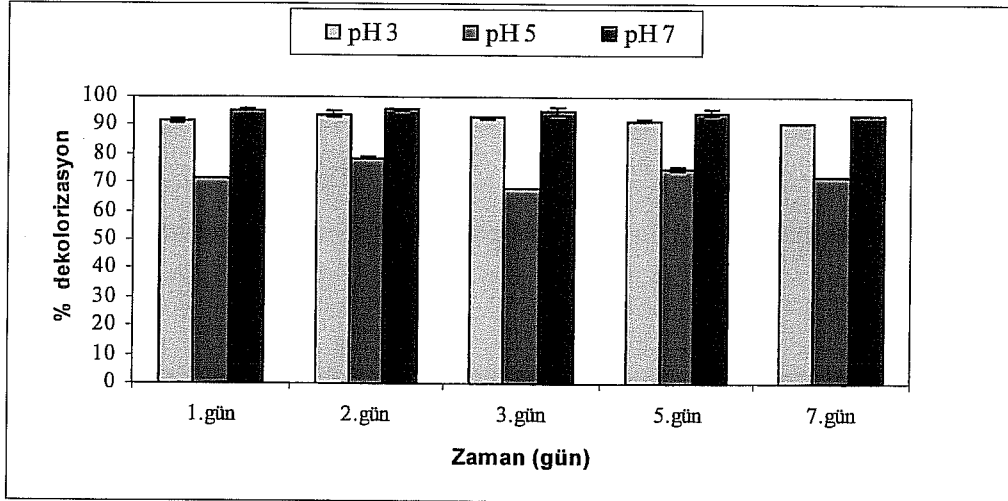


**Şekil 3.9.** *A. niveus* 2'nin Blue13 boyasını farklı başlangıç pH' larında zamana bağlı dekolorizasyonu 30°C'de ve 120 rpm'de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

*Sporotrichum sp.* en hızlı dekolorizasyonu pH 3' de gerçekleştirmiştir. İlk 24 saatte ortamdaki boya konsantrasyonu sıfırdır. Sonraki günlerde boya konsantrasyonları artmış olup bir hafta sonunda ortamdaki boya konsantrasyonu 3,71 mg/l olmuştur. pH 5' de günlük dekolorizasyon yüzdeleri birbirine oldukça yakın olup %96 civarlarında olduğu tespit edilmiştir. *Sporotrichum sp.* için her üç başlangıç pH' ında gerçekleştirilen dekolorizasyonun birbirine yakın olup pH 7' de ki dekolorizasyon değerinin diğerlerine göre çok az daha yüksek olduğu ve bir hafta sonunda %96,68 oranında dekolorizasyon yapıldığı saptanmıştır (Şekil 3.10).



Şekil. 3.10. *Sporotrichum sp.*' nin Blue13 boyasını farklı başlangıç pH' larında zamana bağlı dekolorizasyonu 30°C'de ve 120 rpm'de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir



Şekil.3.11. *F. moniliforme*' nin Blue13 boyasını farklı başlangıç pH' larında zamana bağlı dekolorizasyonu 30°C'de ve 120 rpm'de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

*F. moniliforme* pH 3' de en iyi dekolorizasyon değerine ikinci gün ulaşmıştır. Daha sonraki günlerde ortamdaki boya konsantrasyonu artmış dekolorizasyon yüzdesi düşmüştür. pH 5' de ilk iki gün dekolorizasyon değerleri birbirinin aynı olup üçüncü günden itibaren ortamdaki boya konsantrasyonunda artış gözlenmiştir. pH 7' de ise diğerlerine göre daha iyi dekolorizasyon değerleri elde edilmiştir. İlk gün dekolorizasyon %95,3 iken yedinci gün sonunda bu oran % 93,94' e düşmüştür.

Çizelge 3.4. pH' ın dekolorizasyona etkisinin varyans analizi

Analysis of Variance for boyadege					
Source	DF	SS	MS	F	P
PH	2	7,3223	3,6611	90,93	0,000
mikroorg	3	9,6136	3,2045	79,59	0,000
Interaction	6	10,8593	1,8099	44,95	0,000
Error	48	1,9325	0,0403		
Total	59	29,7277			

		Individual 95% CI			
PH	Mean	-----+-----+-----+-----+-----			
1	0,285	(-*-*)			
2	0,976	(-*-*)			
3	0,194	(-*-*)			
		-----+-----+-----+-----+-----			
		0,250	0,500	0,750	1,000

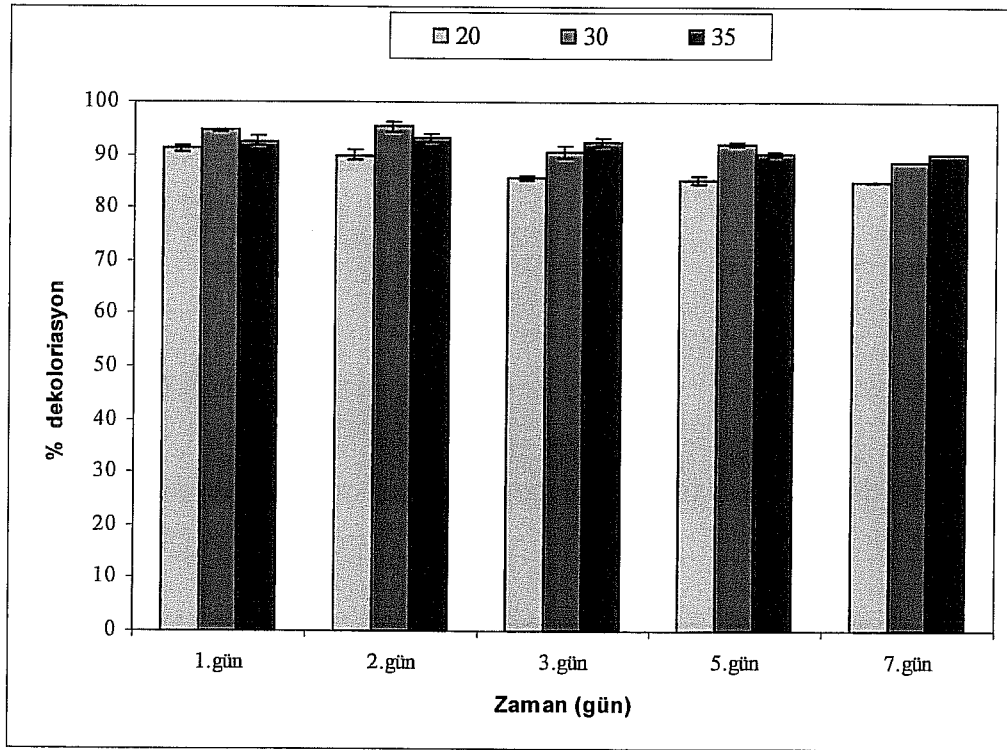
		Individual 95% CI			
mikroorg	Mean	-----+-----+-----+-----+-----			
1	0,354	(-*-*)			
2	0,372	(-*-*)			
3	0,068	(-*-*)			
4	1,146	(-*-*)			
		-----+-----+-----+-----+-----			
		0,000	0,350	0,700	1,050

pH' ın dekolorizasyon üzerine etkisine anavo tablosundan bakıldığında pH' ın, mikroorganizmaların ve etkileşimlerinin renk giderimi üzerinde anlamlı etkisi olduğu görülmüştür. Çizelge 3.4' de pH sütunundaki 1, 2 3 değerleri pH 3,

5, 7' yi ifade etmektedir. Mikroorganizmalar sütununda ise 1 *A. niveus* 1' i, 2 *A. niveus* 2' yi, 3 *Sporotrichum sp.*' yi, 4 ise *F. moniliforme*' yi ifade etmektedir. Anova tablosuna göre farklı pH' larda en iyi renk giderimi *Sporotrichum sp.* tarafından gerçekleştirilmiştir.

### 3.5.2. Farklı sıcaklıkların dekolorizasyon üzerine etkisi

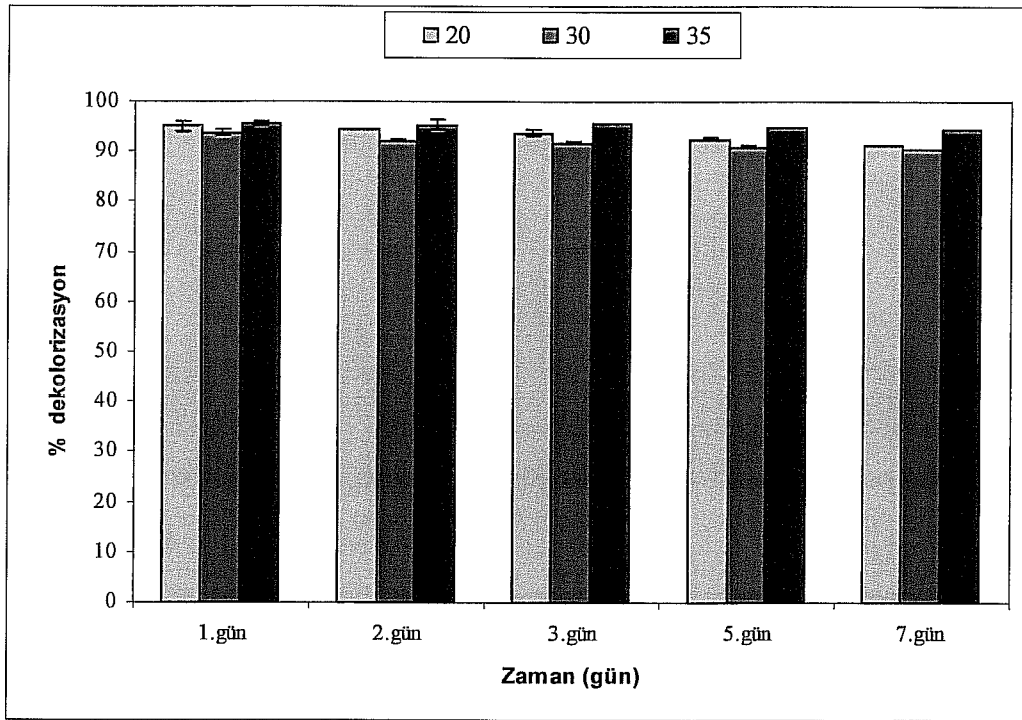
*A. niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum sp.*, *F. moniliforme* boya solüsyonu içeren Erlen Mayer şişelerinde diğer koşullar sabit tutulmak kaydı ile farklı sıcaklıklarda (20°C, 30°C, 35°C) inkübasyona bırakılmışlardır. Günlük olarak alınan örneklerin absorbans değeri değişimine bakılarak dekolorizasyon değerleri kaydedilmiştir.



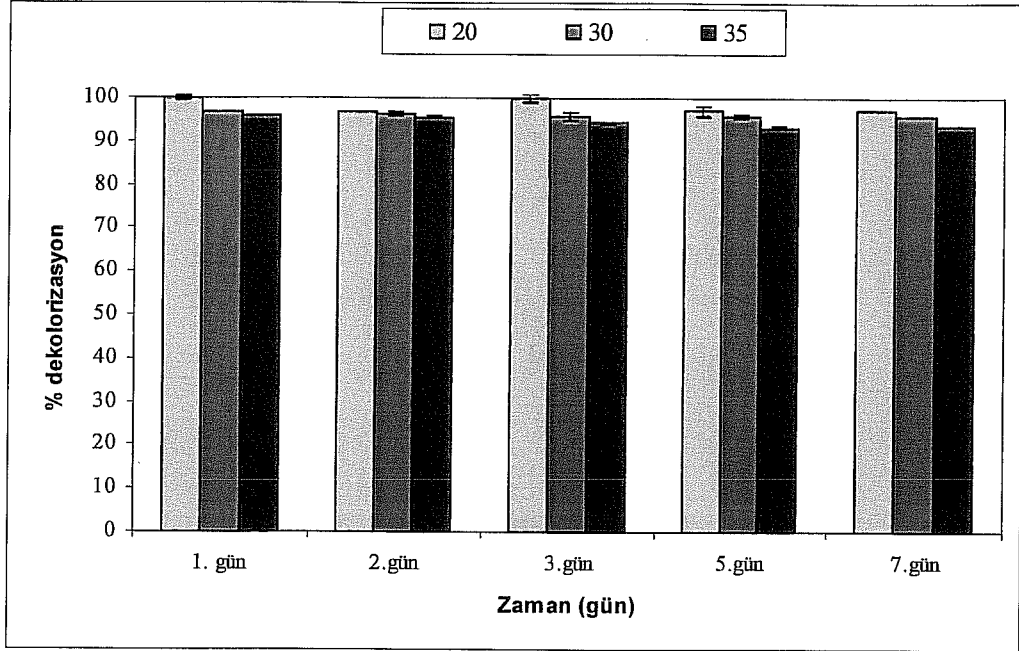
Şekil 3.12. *A. niveus* 1' in Blue 13 boyasını farklı sıcaklıklarda zamana bağlı dekolorizasyonu pH 5' de ve 120 rpm' de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

*A. niveus* 1' in 20°C' deki dekolorizasyonu diğer sıcaklıklara göre daha düşüktür. En düşük dekolorizasyon yüzdesi 85,04 olup yedinci günde elde edilmiştir. En hızlı dekolorizasyona 30°C' de rastlanmıştır. 30°C' de ilk 24 saatte dekolorizasyonun % 94,42 olduğu gözlenmiştir. Bu oran her gün biraz daha düşmüştür. 35°C deki dekolorizasyon ilk 24 saatte %92,66 olup bir hafta sonunda ortamdaki boya konsantrasyonu artmış dekolorizasyon %90,23' e düşmüştür (Şekil 3.12). En hızlı ve bir hafta sonunda en yüksek dekolorizasyona 30°C' de ulaşılmıştır.

*A. niveus* 2' nin en yüksek dekolorizasyonu gerçekleştirdiği sıcaklık 35°C olup birinci ve üçüncü günlerde %95,58 dekolorizasyon değerine ulaşılmıştır. 30°C' de ortamdaki boya konsantrasyonunun 20°C' dekine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.13).



**Şekil 3.13.** *A. niveus* 2' nin Blue 13 boyasını farklı sıcaklıklarda zamana bağlı dekolorizasyonu pH 5' de ve 120 rpm' de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

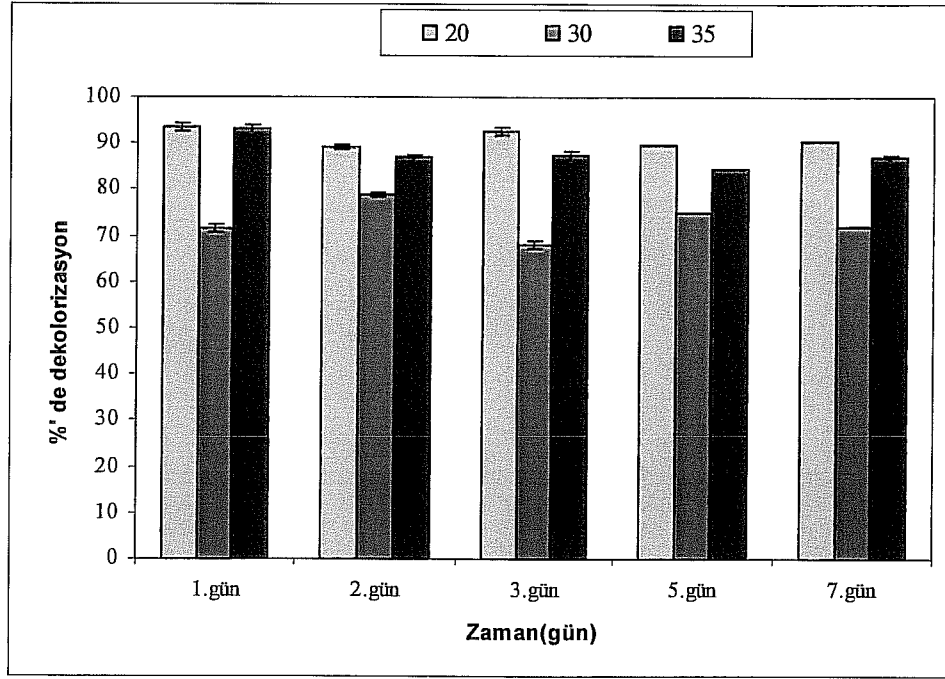


**Şekil 3.14.** *Sporotrichum sp.*'nin Blue 13 boyasını farklı sıcaklıklarda zamana bağlı dekolorizasyonu pH 5'de ve 120 rpm'de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

*Sporotrichum sp.*'nin 35°C' deki dekolorizasyon değeri diğer sıcaklıklara göre daha düşük olup en iyi dekolorizasyon değerine 20°C' de rastlanmıştır. 20°C ' de birinci ve üçüncü günlerde ortamdaki boya konsantrasyonu sıfırdır; yani %100 dekolorizasyon sağlanmıştır. 7. gün ise dekolorizasyonun %97,35 olduğu saptanmıştır. 30°C' deki dekolorizasyon yüzdeleri her gün birbirine oldukça yakın olup birinci gün %96,64 iken yedinci gün %95,91 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.14).

*F. moniliforme* en hızlı dekolorizasyonu birinci gün 20°C' de gerçekleştirmiştir ve %93,64' dir. Dekolorizasyonu en iyi yaptığı sıcaklık 20°C ' dir. Bunu 35°C izlemektedir. 30°C' deki dekolorizasyonu ise diğerlerine göre daha düşüktür (Şekil 3.15).



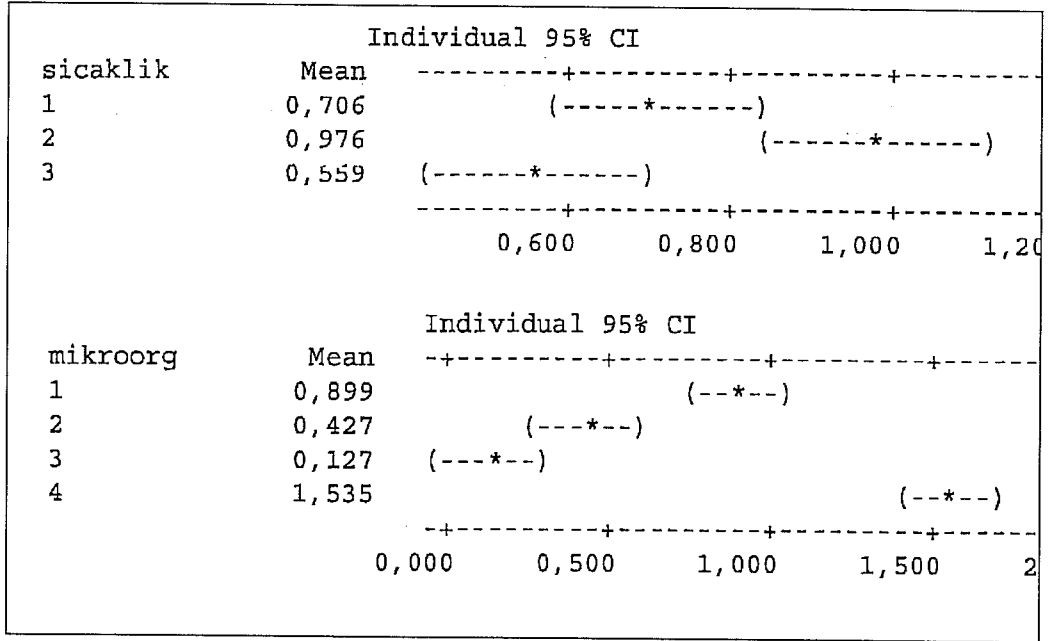


Şekil 3.15. *F. moniliforme*'nin Blue 13 boyasını farklı sıcaklıklarda zamana bağlı dekolorizasyonu pH 5'de ve 120 rpm'de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

Çizelge 3.5. Sıcaklığın dekolorizasyon üzerine etkisinin varyans analizi

Analysis of Variance for boya deg					
Source	DF	SS	MS	F	P
sicaklik	2	1,7883	0,8942	9,98	0,000
mikroorg	3	16,9526	5,6509	63,10	0,000
Interaction	6	11,2067	1,8678	20,86	0,000
Error	48	4,2989	0,0896		
Total	59	34,2466			

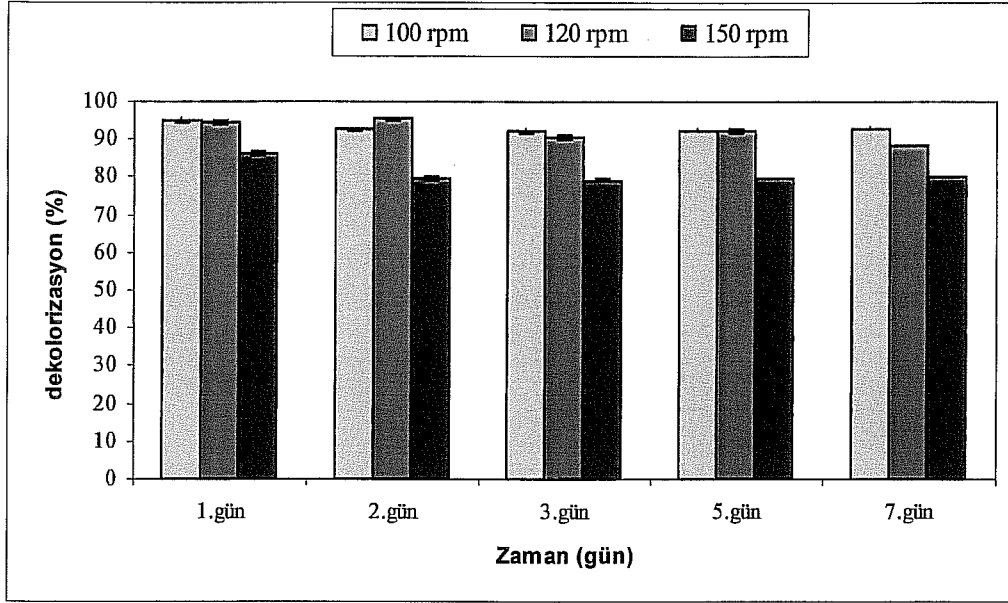
**Çizelge 3.5. ( Devam ) Sıcaklığın dekolorizasyon üzerine etkisinin varyans analizi**



Sıcaklığın dekolorizasyon üzerine etkisini belirlemek amacı ile yapılan istatistiksel değerlendirmede sıcaklığın mikroorganizmalarla birlikte dekolorizasyona etkisinin anlamlı olduğu belirtilmiştir. Sıcaklık 1, 2, 3; 20°C, 30°C ve 35°C' yi ifade etmektedir. Mikroorganizmalar sırası ise *A. niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum sp.* ve *F. moniliforme*' dir. Anova tablosuna göre farklı sıcaklıklarda en iyi renk giderimi *Sporotrichum sp.* tarafından gerçekleştirilmiştir.

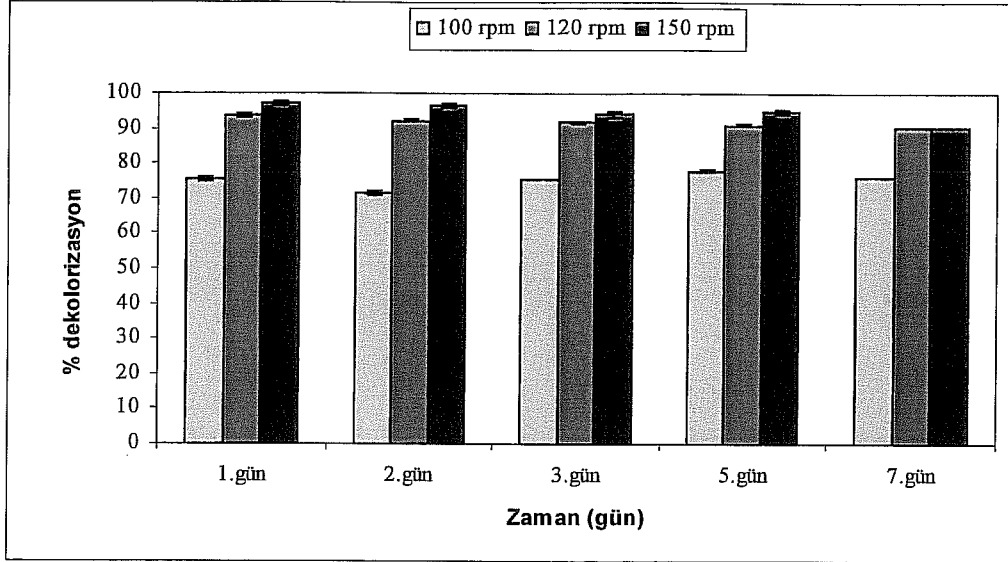
### 3.5.3. Farklı çalkalama hızlarının dekolorizasyon üzerine etkisi

*A. niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum sp.*, *F. Moniliforme*, boya solüsyonu içeren Erlen Mayer şişelerinde diğer koşullar sabit tutulmak kaydı ile farklı çalkalama hızlarında (100rpm, 120rpm, 150rpm) inkübasyona bırakılmışlardır. Günlük olarak alınan örneklerin absorbans değerleri ölçülmüş ve değerler kaydedilmiştir ( Şekil 3.16, Şekil 3.17, Şekil 3.18, Şekil 3.19).



**Şekil 3.16.** *A. niveus* 1'in Blue 13 boyasını farklı çalkalama hızlarında zamana bağlı dekolorizasyonu pH 5'de ve 30°C' de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

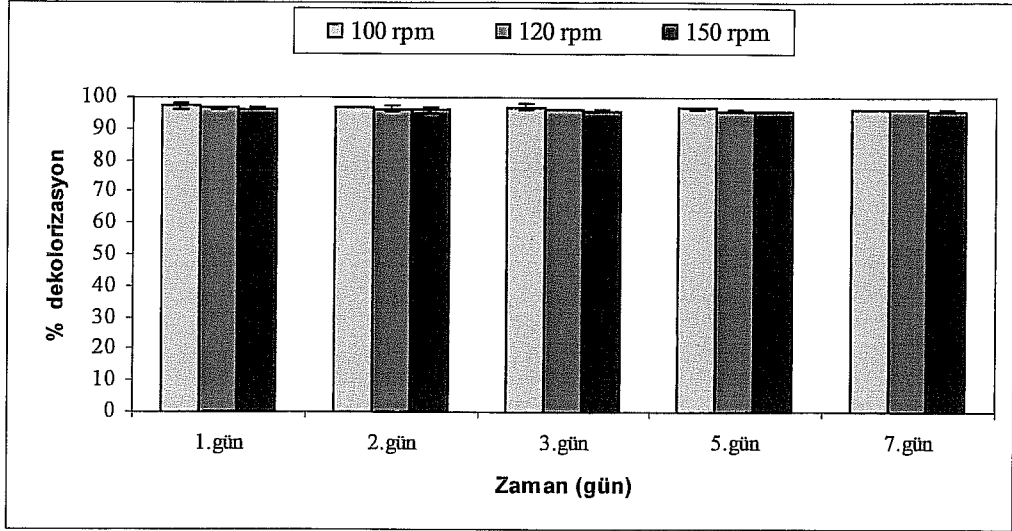
*A. niveus* 1' in farklı çalkalama hızlarındaki dekolorizasyon değerleri Şekil 3.16' da verilmiştir. 100 rpm ve 120 rpm' deki sonuçlar birbirine oldukça yakındır. 95.76' ya varan dekolorizasyon yüzdeleri elde edilmiştir. 150 rpm' lere gerçekleştirilen inkübasyonlarda ortamdaki boya miktarı daha fazladır (Şekil 3.16).



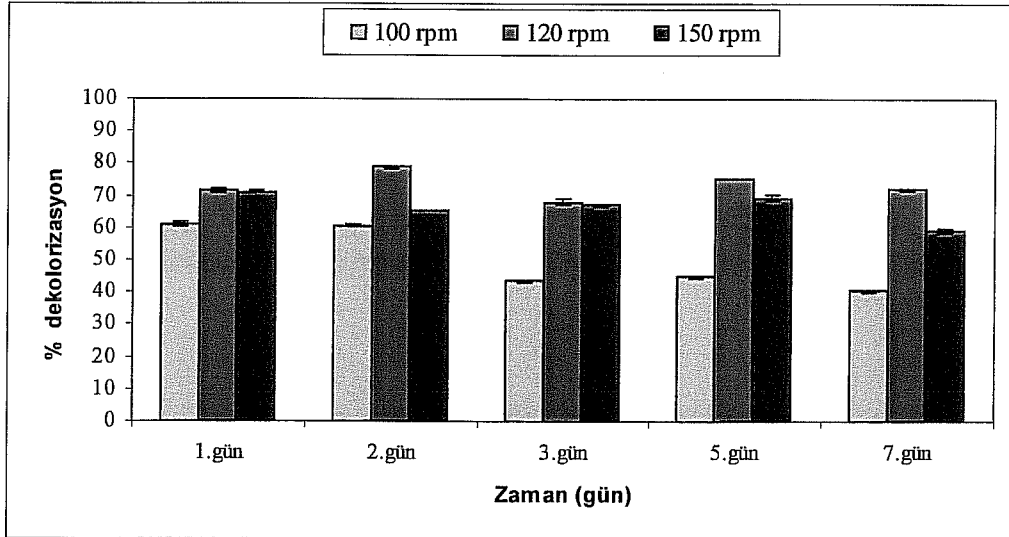
**Şekil. 3.17.** *A. niveus* 2' nin Blue 13 boyasını farklı çalkalama hızlarını zamana bağlı dekolorizasyonu pH 5'de ve 30°C' de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

*A. niveus* 2 en hızlı dekolorizasyonu 150 rpm' de gerçekleştirmiştir. 150 rpm' de ilk 24 saatte %97,13 dekolorizasyona ulaşılmıştır. 120 rpm' deki dekolorizasyon çalışmasında en iyi sonuç birinci gün elde edilmiştir ve %93,73' tür. 120 ve 150 rpm' de ilk 24 saatten sonra ortamdaki boya konsantrasyonunda artış görülmüştür. 100 rpm' de ortamdaki boya konsantrasyonu diğerlerine göre daha fazladır. 100 rpm' de en iyi sonuca 4. gün ulaşılmış olup dekolorizasyon %77,91 dir (Şekil 3.17).

*Sporotrichum sp.* en hızlı dekolorizasyonu 100 rpm' de gerçekleştirmiştir. İlk 24 saatte dekolorizasyon %97,16' dır. *Sporotrichum sp.* için diğer rpm' lerdeki dekolorizasyon değerleri birbirine çok yakındır. Her üç koşulda da yüksek dekolorizasyon sağlamıştır. Bir hafta sonunda ortamdaki boya miktarı 3.5 mg/l civarındadır. Dekolorizasyon yüzdeleri ise 100 rpm için 96,38, 120 rpm için 95,91 ve 150 rpm için 95,8 olarak kaydedilmiştir (Şekil 3.18).



**Şekil 3.18.** *Sporotrichum sp.*' nin Blue 13 boyasını farklı çalkalama hızlarında zamana bağlı dekolorizasyonu pH 5'de ve 30°C' de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir



**Şekil 3.19.** *F. moniliforme*' nin Blue 13 boyasını farklı çalkalama hızlarında zamana bağlı dekolorizasyonu pH 5'de ve 30°C' de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

*F. monilifome'* nin farklı çalkalama hızlarındaki dekolorizasyon değerlerine bakıldığında en iyi dekolorizasyonu 120 rpm' de gerçekleştirdiği görülmüştür. 120 rpm' de en yüksek dekolorizasyona ulaştığı 2. gün, dekolorizasyon %78,8' dir. 150 rpm' deki sonuçlara bakıldığında en iyi dekolorizasyonun ilk 24 saatte yapıldığı görülmüştür. 100 rpm' de gerçekleştirilen inkübasyonda ise ortamdaki boya konsantrasyonu diğer sonuçlara göre daha yüksek olup, en iyi dekolorizasyon ilk 24 saate denk gelmektedir ve dekolorizasyon yüzdesi 61,28 olarak tespit edilmiştir (Şekil 3.19).

Çizelge 3.6. Çalkalama hızlarının dekolorizasyon üzerine etkisinin varyans analizi

Analysis of Variance for boyadege					
Source	DF	SS	MS	F	P
RPM	2	20,930	10,465	35,87	0,000
mikroorg	3	153,660	51,220	175,56	0,000
Interaction	6	36,955	6,159	21,11	0,000
Error	48	14,004	0,292		
Total	59	225,548			

		Individual 95% CI	
	Mean		
mikroorg			
1	1,08	(--*)	
2	1,32	(--*)	
3	0,07	(--*-)	
4	4,36		(--*
		0,00	1,20 2,40 3,60

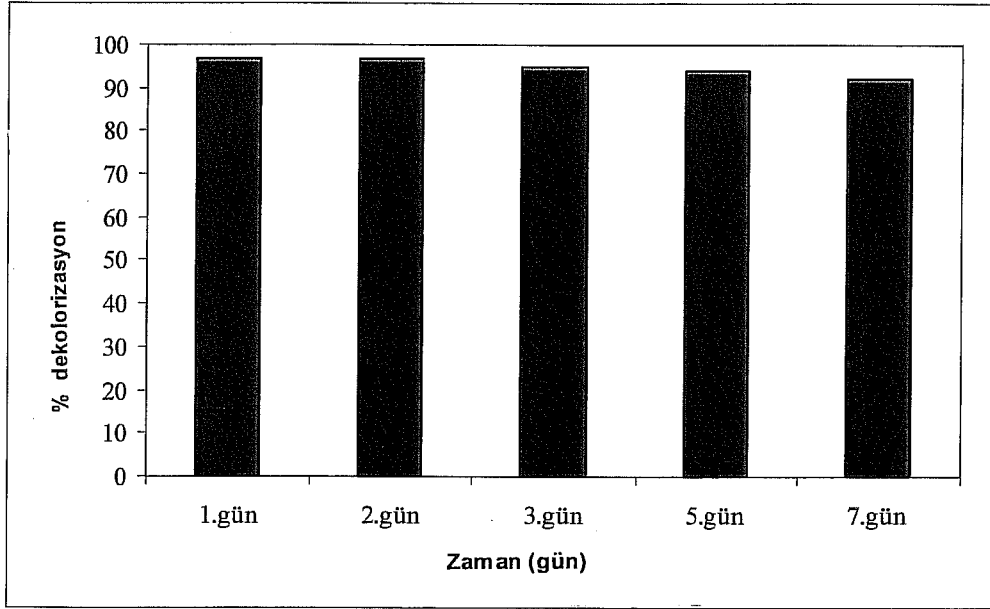
  

		Individual 95% CI	
	Mean		
RPM			
1	2,42		(---*---)
2	0,98	(---*---)	
3	1,72		(---*---)
		1,00	1,50 2,00 2,50

Farklı çalkalama hızlarının dekolorizasyon üzerine etkisine bakmak amacıyla yapılan istatistiksel değerlendirmede rpm'lerin ve mikroorganizmaların dekolorizasyon üzerine anlamlı etkisi olduğu belirtilmiştir. Rpm 1, 2, 3; 100, 120 ve 150 rpm' i ifade etmektedir mikroorganizmalar ise sırası ile *A.niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum sp.* ve, *F. moniliforme'* dir. Değerlendirmeye göre farklı çalkalama hızlarında en iyi renk giderimi *Sporotrichum sp.* tarafından yapılmıştır.

#### 3.5.4. Boyar madde konsantrasyonunun dekolorizasyona etkisi

Boya solüsyonunun içerisindeki boya konsantrasyonu 5 kat artırılmış ve en iyi dekolorizasyon yüzdesine sahip *Sporotrichum sp'* nin 500mg/l boya içeren solüsyonu dekolorizasyon değerleri izlenmiştir (Şekil 3.20).

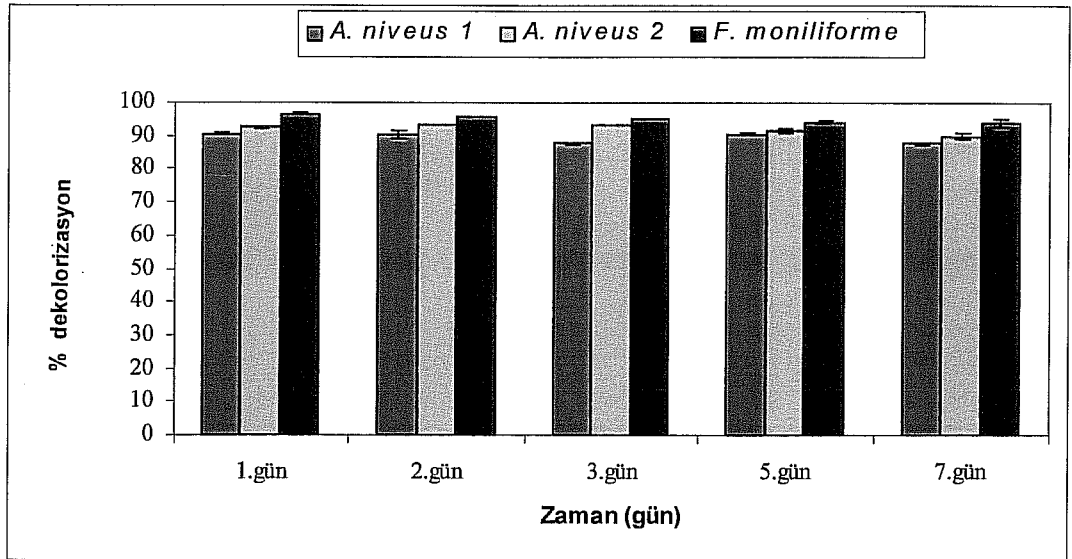


Şekil 3.20. *Sporotrichum sp.*'nin 500 mg/l Blue 13 boyasını zaman bağlı dekolorizasyonu 120 rpm, 30oC ve pH 5' de 3 paralele halinde belirlenmiş ve yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

Boya konsantrasyonu 5 kat artırılmış olmasına rağmen *Sporotrichum sp.*'nin dekolorizasyon değerinin yüksek olup birinci gün ortamdaki boyanın %97,97' sini dekolorize etmiştir. Bu oran her gün biraz daha azalmış ve 7.gün dekolorizasyon oranı %92,05 olarak bulunmuştur (Şekil 3.20).

### 3.6. Ölü Hücrelerle Dekolorizasyon

*A.niveus 1*, *A.niveus 2*, *Sporotrichum sp.*, *F. moniliforme* otoklavlandıktan sonra 250 ml lik Erlen Mayer şişelerindeki 50ml boya solüsyonuna 2 gr olacak şekilde inoküle edilmiş ve dekolorizasyon değerleri belirlenmiştir (Şekil 3.21). Çizelge 3.7 ve Şekil 3.20' de görüldüğü gibi canlı hücre ve ölü hücrelerin dekolorizasyon yüzdeleri birbirine oldukça yakındır. *A. niveus 1*, *A. niveus 2*, *Sporotrichum sp.*'un canlı hücrelerini dekolorizasyonu ölü hücrelerden fazla olmasına rağmen *F. moniliforme* için tam tersi söz konusudur. *F. moniliforme* ölü hücrelerle Blue 13 boyasını ilk gün %96,43 gidermiştir. Bir hafta sonundaki dekolorizasyon %94,03' dür. Çalkalamalı kültürlerde ise en iyi dekolorizasyon değeri %78,8' dir.



Şekil 3.21. *A.niveus 1*, *A. niveus 2*, *Sporotrichum sp.*, *F.monilifome*' nin ölü

hücrelerini Blue 13 boyasını zamana bağlı dekolorizasyonu 120 rpm ve pH 5' de de 3 paralel halinde belirlenmiş ve yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

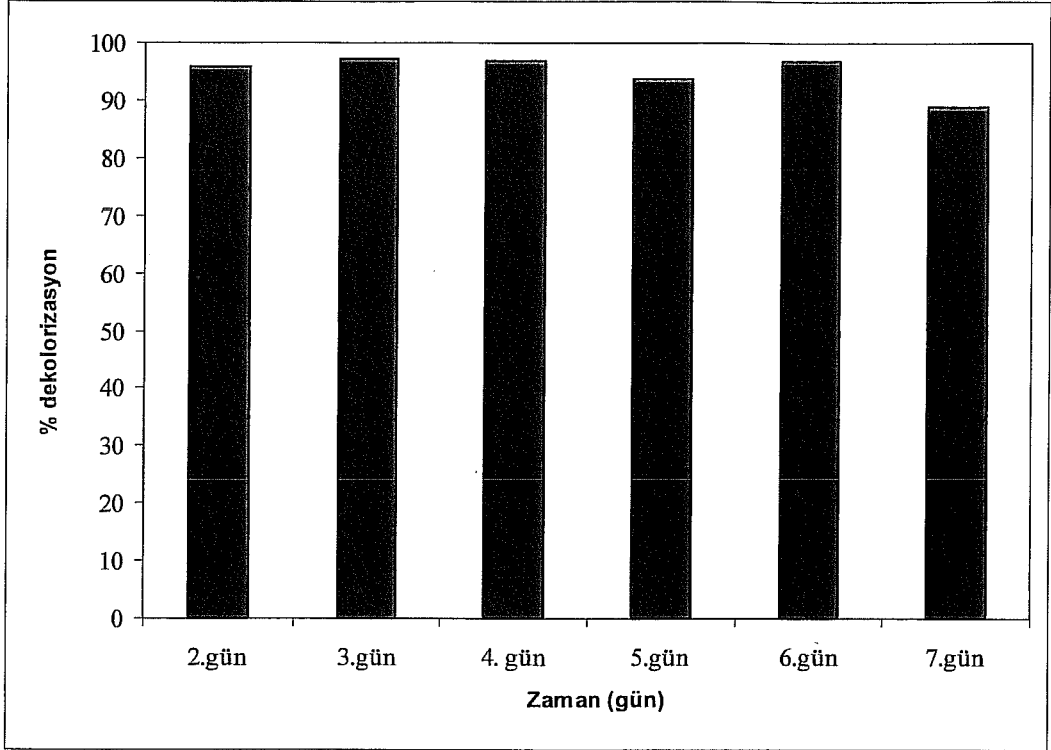


Çizelge.3.7. Ölü ve canlı hücrelerin dekolorizasyon yüzdelerinin karşılaştırılması

		<i>A. niveus 1</i>	<i>A. niveus 2</i>	<i>Sporotrichum</i> <i>sp.</i>	<i>F.</i> <i>moniliforme</i>
1.gün	Ölü hücre	% 90.47	% 92.75	% 95.9	% 96.43
	Canlı hücre	%94.62	% 93.73	% 96.64	% 71.56
2.gün	Ölü hücre	% 90.4	% 93.61	% 95.93	% 95.89
	Canlı hücre	% 95.38	% 92.24	% 96.25	% 78.8
3.gün	Ölü hücre	% 87.93	% 93.18	% 96.08	% 95.07
	Canlı hücre	% 90.59	%91.78	% 96	% 68.01
5.gün	Ölü hücre	% 90.47	% 91.6	% 94.5	% 94.16
	Canlı hücre	% 92.24	% 91.1	% 95.82	% 75.01
7.gün	Ölü hücre	% 87.86	% 90.09	% 93.6	% 94.03
	Canlı hücre	% 88.67	% 90.57	% 95.91	% 72.11

### 3.7. Tekrarlı Dekolorizasyon

Tekrarlı dekolorizasyon deneyleri; izolatlar arasında en iyi dekolorizasyon yeteneğine sahip *Sporotrichum sp.* ile yapılmıştır. 100 mg/l boya içeren Erlen Mayer şişelerine inoküle edilen 2 gr pelletler her gün süzülerek aynı konsantrasyondaki boyalı solüsyonlara inoküle edilmiş ve günlük olarak süpernatantların absorbanları belirlenmiştir.



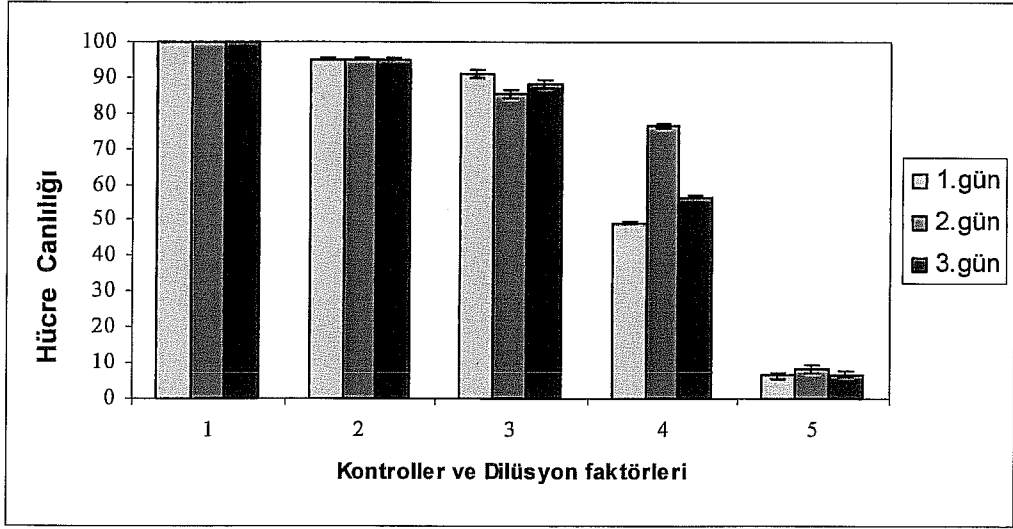
**Şekil 3.22.** *Sporotrichum sp.* ile Blue 3 boyasının tekrarlı dekolorizasyonu 120rpm, 30oC, pH 5’ de 3 paralele halinde yapılmış ve yüzde dekolorizasyon olarak verilmiştir. SPSS Anova Tukey s-b programına göre istatistiksel analizleri yapılmış standart sapmaları ( $p < 0,05$ ) grafik üzerinde gösterilmiştir

*Sporotrichum sp.* birinci gün ortamdaki boyanın %97,4 ‘ ünü gidermiş ikinci gün %96,83 dekolorizasyon sağlarken, üçüncü gün %97,2 dekolorizasyon sağlamıştır. Bir hafta sonunda dekolorizasyon değeri %89.05’ dir (Şekil 3.22).

### 3.8. Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Yapılan yöntemle enzim aktivitesi saptanamamıştır.

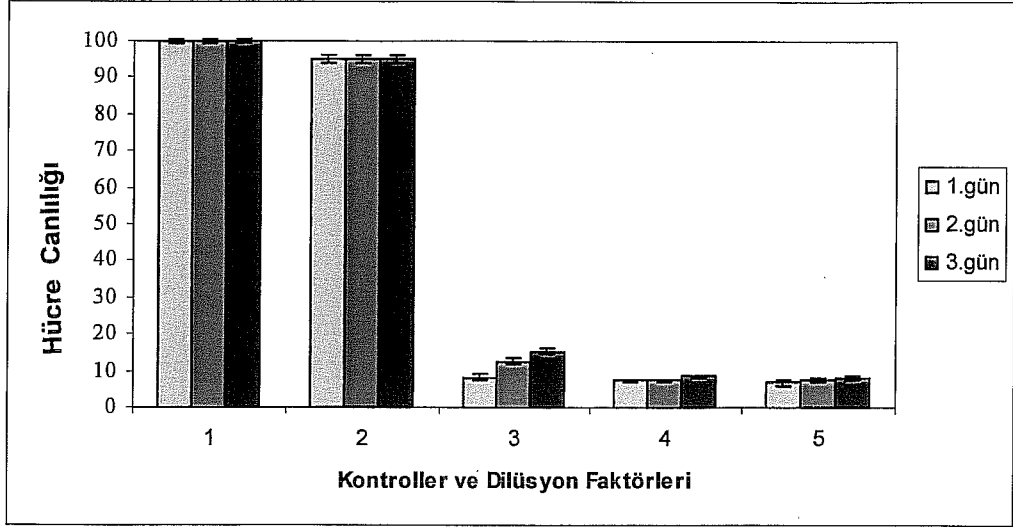
### 3.9. Sitotoksosite Deneyleri



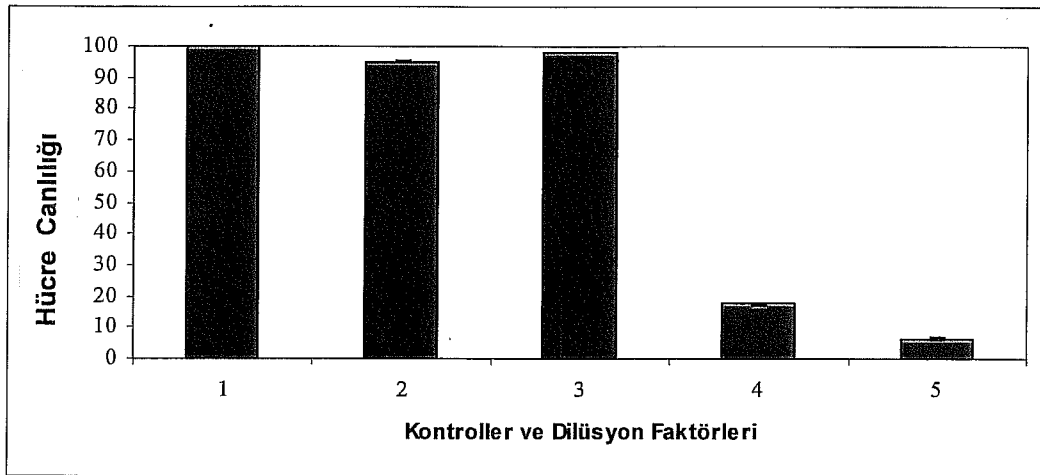
Şekil. 3.23. *A. niveus 1'* in sitotoksosite sonuçları, 1: su örnekleri ile muamele edilmemiş V79 379A hücrelerini, 2: 10× medyum e bidistile su uygulanan V79 379A hücrelerini 3: %20' ik su örnekleini, 4: % 40lık su örneklerini ve 5: %80'lik su örneklerini ifade etmektedir

*A. niveus 1'* in Blue 13 boyasını dekolorize ettiği 1., 2., 3. günlerde kültür sıvısından alınan su örnekleri incelenmiş her 3 gün içinde %40' lık ve %80' lik su örneklerinin etkili olduğu saptanmıştır (Şekil 3.23)

*Sporotrichum sp.* 'nin Blue 13 boyasını dekolorize ettiği 1., 2., 3. günlerde kültür sıvısından alınan su örnekleri incelenmiş her 3 gün içinde %20' lik, %40' lık ve %80' lik su örneklerinin etkili olduğu saptanmıştır (Şekil 3.24)



Şekil. 3.24. *Sporotrichum sp.*' nin sitotoksosite sonuçları, 1: su örnekleri ile muamele edilmemiş V79 379A hücrelerini, 2: 10× medyum e bidistile su uygulanan V79 379A hücrelerini 3: %20' ik su örnekleini, 4: % 40lık su örneklerini ve 5: %80'lik su örneklerini ifade etmektedir



Şekil. 3.25. *Sporotrichum sp.*' nin 500mg/l boya içeren su örneğinin sitotoksosite sonuçları, örnekleri ile muamele edilmemiş V79 379A hücrelerini, 2: 10× medyum e bidistile su uygulanan V79 379A hücrelerini 3: %20' ik su örnekleini, 4: % 40lık su örneklerini ve 5: %80'lik su örneklerini ifade etmektedir

*Sporotrichum sp.*' nin 500 mg/l boya içeren boya solüsyonunu dekolorize ettiği birinci gün kültür sıvısında alınan su örneğinin sitootksisitesine bakılmış ve %40' lık, %80' lik dozların hücre canlılığını etkilediği görülmüştür (Şekil 3.25).

#### 4.SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Eskişehir ili çevresinde farklı bitkilerin yetiştiği tarla topraklarından, Eskişehir Şeker Fabrikası yanı Porsuk Çayı' ndan ve Eskişehir Sarar Tekstil A.Ş. atık suyundan alınan örneklerden elde edilen 110 küf Orange 12, Viyolet 1, Blue 13, Black 9 ve mix ( Red 13 – Red 33) boya ları üzerine denenmiş ve bu küflerden dört tanesinin Blue 13 boyasını dekolorize etme yeteneğinde olduğu saptanmıştır. Elde edilen dört izolatu n identifikasyonu yapıldığında *A. niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum* sp. ve *F. moniliforme* olduğu görülmüştür. Benzer olarak yapılan dekolorizasyon çalışmalarında *Phanerochaete chrysosporium*, *Coriolus versicolor*, *Funalia trogii*, *Pleurotus ostretus*, *Phlebia tremellosa* gibi beyaz çürükçüler; *Umbelopsis isabellina*, *Penicillium geastriovus*, *Apergillus foetidus*, *Rhizopus oryzae* gibi diğer funguslar tarafından çeşitli boya ların metabolik yolla yada biosorpsiyon ile dekolorize edildiği bildirilmiştir (Yu ve Viraraghava, 2001).

Yapılan dekolorizasyon çalışmasında sadece boya solüsyonu kullanılmış olup ortama herhangi bir organik veya inorganik madde eklenmemiştir ve bu ortamda yüksek oranlarda renk giderimi sağlanmıştır. *A. niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum* sp. ve *F. moniliforme* ile Blue 13 boyasını kullanarak yapılan çalışmada 24 saat içerisinde statik koşullarda %71,01- %89,88, çalkalamalı koşullarda ise %71,56- %96,64 oranlarında dekolorizasyon elde edilmiştir. Benzer olarak yapılan çalışmalarda, Yeşilada ve ark. (2003) boya solüsyonları kullanmışlardır ve *F. trogii*, *C. versicolor*, *P. chrysosporium*, *P. florida*, *P. ostretus*, *P. sajor-caju* pelletleri ile Astrozone Black, Blue ve Red boya solüsyonları üzerinde kısa sürede yüksek dekolorizasyon sonuçları elde etmişlerdir. Yine Yeşilada ve ark. (2003) *Phanerochaete chrysosporium* ve indigo boya ları ile yaptıkları çalışmada boya solüsyonları kullanmış ve 4 gün içerisinde %75 dekolorizasyon elde etmişlerdir..

Ancak bazı araştırmacılar ise glikozun dekolorizasyonu arttırdığını belirtmişlerdir (Shavali ve ark., 2000). Kirby ve ark. (2000) *Phanerochaete chrysosporium*' un glikoz varlığında dekolorizasyon yaptığını ifade etmişlerdir. Santos ve ark. (2003) yaptıkları deneylerde dekolorizasyonun ortama ancak glikoz ilavesinden sonra gerçekleştiğini vurgulanmıştır. *Pleurotus pulmonarius* ile

yaptıkları deneylerde ortama glikoz eklediklerinde 19. günde dekolorizasyon elde edebildiklerini belirtmişlerdir. Shin ve ark. (2002) değişen glikoz konsantrasyonlarında *T. versicolor* 'ın glikozsuz ortama göre daha hızlı ya da daha fazla dekolorizasyon yaptığını vurgulamışlardır.

Blue 13 boya solüsyonunu dekolorize etme yeteneği statik ve çalkalamalı koşullarda denenmiş ve dört küfün çalkalamalı ortamda dekolorizasyonun statik ortama göre daha etkili olduğu gözlenmiştir.

*A. niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum sp.* ve *F. moniliforme* ile yapılan çalışmada bu küflerin bir hafta sonundaki, statik ve çalkalamalı ortam dekolorizasyon yüzdelerinin oldukça yüksek ve birbirine yakın olduğu fakat çalkalamalı ortamda statik ortama göre daha hızlı dekolorizasyon elde edildiği görülmüştür. *A. niveus* 1, statik kültürde 7. günde %82,22 renk giderimi sağlarken çalkalamalı kültürde %88,67; *A. niveus* 2 statik kültürde %91,55, çalkalamalı kültürde %90,57, *Sporotrichum sp.* statik kültürde %97,05, çalkalamalı kültürde %95,91; *F. moniliforme* ise statik kültürde %67,03, çalkalamalı kültürde %72,11 dekolorizasyon sağlamıştır. İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmede statik ve çalkalamalı kültürün mikroorganizma ile birlikte dekolorizasyon üzerine anlamlı etkisi olduğunu çalkalamalı ortamın etkisinin biraz daha farklı olduğu ifade edilmiştir (Çizelge 3.3). Bu durum pelletler ile boya moleküllerinin temas etme olasılığının daha hızlı olması ile açıklanabilir. Çünkü statik ortamda tutulan pelletler, ancak bir hafta sonunda çalkalamalı ortam sonuçlarını yakalayabilmişlerdir. Statik ortamda boya ile pelletlerin teması daha uzun sürede gerçekleşmekte ve çalkalamalı ortamda ilk 24 saatte ulaşılan dekolorizasyon sonucuna daha uzun sürede ulaşılmıştır. *A. niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum sp.* ve *F. moniliforme* 'nin Blue 13 boyasını çalkalamalı koşullarda yüksek oranda dekolorize etmeleri Swamy ve Ramsay' ın yaptığı açıklama ile izah edilebilir. Swamy ve Ramsey (1999) çalkalamalı ortamda daha fazla dekolorizasyon olduğunu savunmuş ve bunu çalkalama sonucu oluşan oksijen transferinin ortamda yer alan ve dekolorizasyonda aktif rol oynayan oksidatif enzimlerin ekstraselüler aktivitesini optimuma yükselmekte olduğunu açıklamışlardır. Statik ortamda ise yüzeyde oluşan misel tabakasının içerdeki hücrelere oksijen ulaşmasını engellemesi sonucu enzimlerin çalışmasının inhibe olduğunu ve

dekolorizasyonun düştüğünü belirtmişlerdir. Knapp ve ark. (1996) Orange II boyasının statik koşullarda %45 oranlarında dekolorize edilirken çalkalamalı koşullarda bu değerin %97' lere çıktığını belirtmişlerdir. Yeşilada ve ark. (2002) *F. trogii* pelletlerinin çalkalamalı ve statik ortamlarda Astrazone Red FBL' yi dekolorizasyon yeteneğine bakmışlar ve çalkalamalı ortamda 2 saat içinde %72 renk giderimi elde ederken statik ortamda bu oranın düştüğünü belirtmişlerdir. Yine Yeşilada ve ark. (2003) tarafından yapılan bir başka çalışmada *Phanerochaete chrysosorium* pelletlerinin indigo boyasını dekolorizasyonu çalkalamalı ve statik ortamda denenmiş ve çalkalamalı ortamdaki dekolorizasyon sonuçlarının statik ortama göre daha başarılı olduğu ve %95' lere varan dekolorizasyon sonuçlarına ulaşıldığı ifade edilmiştir.

Bunun aksine bazı araştırcılar statik inkübasyonun dekolorizasyonda daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada Reactive Black 5 boyası *F. trogii* pelletleri ile dekolorize edilmeye çalışılmış, dekolorizasyon statik ortamda gerçekleştirilmiş ve %90 dekolorizasyon sağlanmışır (Mazmaci ve Ünyayar, 2005). Chang ve ark. (2000) *E. coli* NO<sub>3</sub> ile yaptıkları çalışmada C.I. Reactive Red 22 içeren besiyerinin çalkalamalı koşullarda dekolorize edilmediğini fakat aynı boya çözeltilisinin 10 saatlik statik inkübasyon sonucu tamamen dekolorize edildiğini bildirmişlerdir. Çalkalamalı ortamda yer alan oksijenin azoredüktazı inhibe ettiği düşünölmektedir. Kirby ve ark. (2000)' nin yaptığı çalışmaya göre çalkalamalı ortam boya dekolorizasyonunu olumsuz yönde etkilemekte ve çalkalama değeri yükseldikçe dekolorizasyon değeri düşmektedir. Araştırmacılara göre çalkalama dekolorizasyonda rol oynayan lignolitik sistemi baskılamaktadır. *Ph. tremellosa* ile yaptıkları deneylerde statik koşullarda %90' a varan dekolorizasyon elde etmelerine rağmen 250 rpm' de Cibacron Red' in dekolorizasyonunun %27, Remazol Golden Yellow' ın ise % 43 düştüğünü belirtmişlerdir. Ayrıca bu durumun boya moleküllerinin yapısından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

*A. niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum sp.* ve *F. moniliforme*' nin Blue 13 boyasını dekolorize etme yeteneği farklı çalkalama hızlarında incelenmiş ve her bir küf için optimum çalkalama hızı belirlenmeye çalışılmışır. Farklı çalkalama hızlarında (100rpm-120rpm-150rpm) yapılan çalışmada *A. niveus* 1 için optimum

çalkalama hızının 100 rpm olduğu görülmüştür. *A. niveus* 2 ile yapılan çalışmada *A. niveus* 1' in aksine 100 rpm' de ortamdaki boya konsantrasyonu yüksek olup en iyi dekolorizasyonun 120 ve 150 rpm' de olduğu görülmüştür. *Sporotrichum sp.* en hızlı dekolorizasyonunu 100 rpm' de, *F. moniliforme* ise 120 rpm' de gerçekleştirmiştir.

Benzer olarak Yeşilada ve ark. (2002) tarafından yapılan çalışmada, *F. trogii* ile Astrozon Red FB boyasının en yüksek dekolorizasyon değerlerine 100-150 rpm de ulaşılmıştır. Araştırmacılar çalkalama değeri düştükçe dekolorizasyon değerinin de düştüğünü belirtmişlerdir. Maximo ve Costa-Ferreira (2003) *Irpex lacteus* ile yaptıkları dekolorizasyon çalışmalarını 120 rpm' de gerçekleştirmişlerdir. Amaral ve ark. (2003) ise çalışmalarını 180 rpm' de *Trametes versicolor* ile gerçekleştirmişlerdir.

Bulgularımızın aksine bazı araştırmacılar çalkalamanın boya dekolorizasyonunu olumsuz yönde etkilediğini bildirmişlerdir (Kirby ve ark. 2000). Yapılan araştırmalar çalkalamanın kullanılan boyar madde ve mikroorganizmaya bağlı olarak dekolorizasyon üzerinde farklı sonuçlar doğurduğunu göstermiştir. Bu ise mikroorganizmaların dekolorizasyon yaparken kullandıkları yollara ve enzimlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir. *P. chrysosporium* ve *T. versicolor* ' da yer alan oksidatif enzimler %100 oksijen varlığında optimum çalışmaktadır (Swamy ve Ramsey, 1999). Kirby ve ark. (2000) *Ph. tremellosa* kültürünün oksijene tabi tutulduğunda yapay tekstil atık suyunu 14 gün sonunda %98 giderdiğini sadece steril hava kullanıldığında ise renk gideriminin %25 olduğunu ifade etmişlerdir bunu da oksijenin lignolitik aktiviteyi arttırmasına bağlamışlardır.

*A. niveus* 1' in pH 3 ve pH 5' deki dekolorizasyon sonuçları pH 7' deki sonuçlara yakın olup pH 7' de en hızlı dekolorizasyon yaptığı gözlenmiştir. İlk 24 saat içinde pH 7 deki dekolorizasyon yüzdesi 96,43' dür. *A. niveus* 2 için ise en hızlı dekolorizasyon pH 7' de gerçekleştirilirken bir hafta sonunda en yüksek dekolorizasyon sonucuna pH 3' de ulaşılmıştır. *Sporotricum sp.* ilk 24 saatte pH 3' de %100 dekolorizasyon göstermiştir. Bir hafta sonunda en yüksek dekolorizasyon değerine ise pH 7' de ulaşılmıştır. *F. moniliforme* en hızlı dekolorizasyonu pH 5' de göstermiş ve bir hafta sonundaki en yüksek



dekolorizasyona pH 7' de ulaşmıştır. Tüm izolatların pH 3, pH 5, pH 7' deki dekolorizasyon değerleri birbirine oldukça yakındır. Yapılan çalışmada genel olarak pH' ın dekolorizasyon değerlerini etkilemediği görülmüştür. *A. niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum sp.* ve *F. moniliforme'* nin en hızlı dekolorizasyon değerleri farklı pH' larda seyretmektedir. Ve diğer pH' lardaki dekolorizasyon değerleri birbirine oldukça yakındır. Bu durum Yeşilada ve ark. (2002) yaptığı çalışmada olduğu gibi küflerin geniş bir pH aralığında dekolorizasyon yapabildiğini göstermektedir. Yeşilada ve ark. (2002) *F. trogii* pelletleri ile yapıları çalışmalarda farklı başlangıç pH' ları kullanmışlardır. pH 6-11 arası yaptıkları çalışmalarda bu başlangıç pH' larında yüksek dekolorizasyon elde ettiklerini belirtmişlerdir. Yine Yeşilada ve ark. (2003) indigo boyaları ile çalışmışlar ve yaptıkları bu çalışmada hiç bir pH ayarlaması yapmadan yüksek dekolorizasyon sonuçları elde etmişlerdir, pH değişiminin dekolorizasyona etki etmediğini bildirmişlerdir.

Santos ve ark. (2003) inokülüm miktarı ve pH arasındaki ilişkinin önemli olduğunu vurgulamışlardır. *Pleurotus pulmonarius* ile yaptıkları çalışmada en iyi dekolorizasyon yüzdesinin 85 olduğunu ve bunu pH 4.5' da elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Amaral ve ark. (1999) *Trametes versicolor'* un dekolorizasyon değerine bakmışlar; dekolorizasyon süresi boyunca, glikoz varlığında pH' ın sabit kaldığını ve on gün boyunca 3-4.5 değerinde olduğunu belirtmişlerdir. Aksi durumda ise 5. günden itibaren ortamdaki pH' ın 3-4.5' den 6-8' e çıktığı gözlenmiştir. *Trametes versicolor* için en uygun gelişim ve dekolorizasyon pH' ının 4.5 olduğu ve pH 6 civarlarında dekolorizasyonun %50 azaldığı ifade edilmiştir. pH' ın yükselmesi sonucu fungal metabolizmanın değiştiğini buna bağlı olarak da sekonder metabolitlerin üretiminde farklılık olduğunu böylece dekolorizasyon değerinin düştüğünü vurgulamışlardır.

Swamy ve ark. (1999) pH' ın küflerin gelişimine ve dekolorizasyona etkisini belirlemek amacı ile farklı tamponlar kullanmışlardır. Boya eklenmesi sonucu kültür süpernatanın da pH' ın 4' den 6.8-7.7' ye yükseldiğini ve pelletlerin dağıldığını görmüşlerdir. Bu şartlar altında dekolorizasyon

gerçekleşmemiştir. pH' ın yeniden ayarlanması ile de dekolorizasyona rastlanmamıştır.

Yu ve Viraraghavan (2001) en iyi dekolorizasyonun küfün gelişme pH' ında gerçekleşeceğini vurgulamışlardır. Yapılan çalışmalar bu pH' ın 4-5 olduğunu göstermektedir.

Farklı sıcaklıklarının dekolorizasyona etkisini belirlemek üzere yapılan çalışmada her bir küf için optimum sıcaklığın birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Toh ve ark. (2003) sıcaklığın dekolorizasyon üzerindeki etkisine bakmak amacı ile yaptıkları deneylerde *T. versicolor* CNPR 8107 ile çalışmışlardır. CNPR 8107 Remazol Blue RR' yi 9 gün sonunda 30 ve 37 °C ' de %99 dekolorize etmiştir. Yeşilada ve ark. (2001) ise yaptıkları deneylerde farklı sıcaklıklar denemelerine rağmen en iyi dekolorizasyonun *F. troglia*' nin gelişme sıcaklığı olan 30°C' de gerçekleştiğini vurgulamışlardır. Chen ve ark. (2003) 20-35°C arasında dekolorizasyonun gerçekleştiğini en düşük renk gideriminin ise 35°C de olduğunu ve bunun nedeninin bu sıcaklıkta dekolorizasyonda görevli olan enzimin aktivitesinin düşmesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. *Aeromonas hydrophila* için en uygun sıcaklığı 30°C olarak belirlemişlerdir. Shavali ve ark. (2000) *P. chrysosporium*' un dekolorizasyon yeteneğini 25-40°C arasında denemişler ve maksimum dekolorizasyonun 35°C de gerçekleştiğini 40°C' de fungal gelişimin ve enzim aktivitesinin yavaşlamasından dolayı dekolorizasyonun düştüğünü bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmada *A. niveus* 1 için optimum sıcaklığın 30°C, *A. niveus* 2 için 35°C, *Sporotrichum sp.* ve *F. moniliforme* için ise 20°C olduğu gözlenmiştir. Bu sıcaklıklarda yüksek dekolorizasyon göstermeleri optimum gelişme sıcaklıklarına yada lignolitik enzimlerin bu sıcaklıklardaki aktivitelerinin yüksek olmasına bağlanabilir. *Sporotrichum sp.*'nin optimum gelişim sıcaklığı 25°C' dir. *F. moniliforme*' nin 30°C ve *A. niveus*' un 35°C' dir. Dekolorizasyonda aktif olabilecek lakkaz'ın stabil olduğu sıcaklık kaynak mikroorganizmaya göre değişmekte olup genel olarak 30-50°C arası yüksek aktivite göstermektedir. 60 °C üzerinde aktivitesi hızla düşmektedir (Reimer, 2001) .

Boyar madde konsantrasyonu 500 mg/l olduğunda da *Sporotrichum sp.* yüksek dekolorizasyon sağlamıştır. Benzer olarak yapılan çalışmalarda Yeşilada

ve ark. (2003) farklı konsantrasyonlarda (13, 66, 132, 264 mg/l) boya kullanmışlar ve 264 mg/l boya kullandıklarında ortama ancak glikoz eklendiğinde yüksek dekolorizasyon elde ettiklerini vurgulamışlardır. Amaral ve ark. (2003) 50-100 mg/l boya kullandıklarında dekolorizasyonun %97 olurken 300 mg/l boya kullandıklarında dekolorizasyonun %87'ye düştüğünü bildirmişlerdir.

Ölü hücrelerle yapılan dekolorizasyon çalışmasında canlı hücrelerdeki değerlere yakın değerler elde edilmiştir. Benzer olarak yapılan çalışmalarda Mou ve ark. (1991) *M. verucari* hücrelerini otoklavladıktan sonra elde ettikleri ölü biyokitle ile yaptıkları çalışmada dekolorizasyon değerlerine bakmış ve canlı hücreyle alınan sonuçlarla aralarında fazla fark olmadığını görmüşlerdir. Yeşilada ve ark. (2003) ölü hücrelerle yaptıkları dekolorizasyon çalışmalarında 24 saat sonunda %71 dekolorizasyon elde etmişlerdir. Yine Yeşilada ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada *P. chrysosporium* ve *F. trogii* pelletlerini ölü olarak kullanmışlardır. *P. chrysosporium*'un ölü pelletlerinin dekolorizasyonda kullanılabilir olduğunu belirtmişlerdir. Banquez ve ark. (2004) ölü hücrelerle adsorpsiyonun yüksek olduğunu ve daha sonra desorpsiyonun %5' den daha az olduğunu ve aynı şekilde canlı hücrelerde 2 saat içinde yüksek dekolorizasyon elde edildiğini vurgulamışlardır. Bulgulara göre canlı hücre ve otoklavlanarak elde edilen ölü hücreler ile renk gideriminde başlangıçta büyük fark görülmemesinin nedeni fiziksel adsorpsiyona bağlanabilir. Yine hücrelerin otoklavlanmasından sonra hücre yapısının bozulması nedeni ile boyaların bağlanabileceği alan genişlemiş olabilir.

*Sporotrichum sp.*'nin bir hafta süresince tekrarlı yapılan çalışmasında yüksek dekolorizasyon değerleri elde edilmiştir. 7. tekrar sonucunda ortamdaki boya konsantrasyonu 10.95 mg/l olup %89,05 dekolorizasyon elde edilmiştir. Benzer olarak yapılan çalışmalarda Yeşilada ve ark. (2002) *Funalia trogii* pelletlerinin dekolorizasyon yeteneklerini 13, 66, 132, 264 mg/l boya içeren boya solüsyonlarında 5 gün süre ile tekrarlı olarak denemiş ve 13 ve 66 mg/l boya içeren ortamda dekolorizasyonun 5 gün boyunca devam ettiğini ancak 132 ve 264 mg/l boya içeren ortamlarda ise 2. günden itibaren dekolorizasyonun hızla düştüğünü 246 mg/l boya içeren ortamda birinci tekrardan sonra hiç dekolorizasyonun görülmediğini ifade etmişlerdir. Park ve ark. (2006) *Funalia*

*trogii*' yi kullanarak yaptıkları çalışmada farklı konsantrasyonlarda boyalar kullanmışlar (300-900 mg/l) ve 5 gün tekrarlı çalışmalar yapmışlardır. Farklı boyaları kullanarak yaptıkları çalışmalarda %80 üzerinde dekolorizasyon elde etmişlerdir. Chang ve ark. (2001) azo boyları ile çalışmışlar ve başlangıçta dekolorizasyonun %75-85 iken 4. tekrardan sonra % 55 olduğunu ifade etmişlerdir.

Boyar maddeler küfler tarafından adsorpsiyon ve biyodegradasyonla ortamdaki uzaklaştırılabilir. *A. niveus* 1, *A. niveus* 2, *Sporotrichum sp.* ve *F. moniliforme*' nin dekolorizasyon için karbon kaynağına ihtiyaç duymaması büyük bir avantajdır. Atık suların mikroorganizmanın besin ihtiyacına göre ayarlanmasının oldukça zor olması nedeniyle bu durum bu küflerin kullanımını öncelikli kılmaktadır.

Boyar madde içeren tekstil endüstrisi atık sularındaki boyar madde konsantrasyonu 10-50 mg /l 'dir. Yapılan çalışmada 100 mg/l boya kullanılmış olup küflerin ortamdaki boyayı yüksek oranlarda dekolorize ettiği görülmüştür. Aynı zamanda en iyi dekolorizasyon yüzdesine sahip *Sporotrichum sp.* ile yapılan çalışmada 500 mg/l boya kullanılmış ve küfün bu oranlarda da yüksek dekolorizasyon elde ettiği belirlenmiştir.

Her 4 küfün dekolorizasyon için optimum pH' ları birbirinden farklı olup pH 3, 5, 7' de yüksek dekolorizasyon sonuçları elde edilmiştir. Küflerin bu değişen pH' larda yüksek dekolorizasyon yapmaları dekolorizasyonda görevli enzimlerin geniş pH aralıklarında aktif olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Lakkaz ve peroksidazlar için optimum pH değerleri 4.5-5 olmasına rağmen lakkaz 2-9, peroksidazlar ise 4-10 arası yüksek aktivite göstermektedir. Küfler boya çözeltisi içerisinde gelişme göstermeyip bu değişen pH değerlerinin küflerin gelişimi ile ilgili olduğu düşünülmemektedir.

Her bir küfün farklı sıcaklıklardaki dekolorizasyon değerleri oldukça yüksek olup her birinin optimum sıcaklığı birbirinden farklıdır. Optimum dekolorizasyon sıcaklıklarına bakıldığında *A. niveus* için 30-35°C, *Sporotrichum sp.* ve *F. moniliforme* için 20°C olduğu belirlenmiştir. Bu sıcaklıklar her bir küfün gelişme sıcaklığına yakın olup aynı zamanda lignolitik enzimlerin aktif olduğu sıcaklık değerleri arasındadır.

Ölü hücrelerle yapılan dekolorizasyon çalışmalarında ise her dört küf için >%90 sonuçlar elde edilmiş olup *F. moniliforme* için bu sonuçlar çalkalamalı ve statik ortam sonuçlarından daha iyi değerlerdir. Bu durumu otoklavlanma sonucu küflerin yüzey alanının artmasına ve daha fazla adsorpsiyon yapmalarına bağlayabiliriz. Boyar maddelerin biyodegradasyonu sonucu ortamda oluşabilecek toksik ürünlerin engellenmesi açısından küflerin ölü hücrelerinin de yüksek dekolorizasyon yeteneğine sahip olması büyük önem taşımaktadır.

*Sporotrichum sp.* ile yapılan tekrarlı deneyler sonucunda bir hafta sonunda da küfün ortamdaki boyayı %89 dekolorize ettiği görülmüştür. Yedi kez 100 mg/l boya içeren ortama inoküle edilen küfler her defasında ortamdaki boyayı dekolorize etmişlerdir. Bu durum pelletlerin atık su arıtım tesislerinde uzun süreli kullanılabilceğini göstermektedir.

Sitotoksitesite deneylerinde *A.niveus* 1'in Blue 13 boyasını dekolorize ettiği 1., 2., 3. günlerde kültür sıvısından alınan su örnekleri incelenmiş her 3 gün içinde %40' lık ve %80' lik su örneklerinin etkili olduğu saptanmıştır. *Sporotrichum sp.*' nin Blue 13 boyasını dekolorize ettiği 1., 2., 3. günlerde kültür sıvısından alınan su örnekleri incelenmiş her 3 gün içinde %20' lik, %40' lık ve %80' lik su örneklerinin etkili olduğu saptanmıştır. *Sporotrichum sp*' nin 500 mg/l boya içeren boya solüsyonunu dekolorize ettiği birinci gün kültür sıvısında alınan su örneğinin sitootksitesitesine bakılmış ve %40' lık, %80' lik dozların hücre canlılığını etkilediği görülmüştür. Sitootksitesite deneylerinden alınan sonuçlara göre; ortada boya çok az miktarda kalmasına rağmen hücreler canlılığını yitirebilmektedir bu edenle kültür sıvısında boya moleküllerinin enzimatik yıkımı sonucu yan ürünlerin oluştuğu düşünülmektedir. Yapılan deneylerde lakkaz aktivitesine bakılmış fakat sonuç elde edilememiştir. Enzim aktivitesi ile ilgili çalışmaların geliştirilerek yeniden denenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Sonuç olarak *A. niveus*, *A. niveus* 2, *Sporotrihum sp.*, *F. moniliforme* değişen ortam koşullarında yüksek dekolorizasyon sonuçlarına ulaşmıştır. Tekstil endüstrisi atık sularının içeriğinin kompleks olması neniyle mikroorganizmaların geniş aralıklarda aktivite göstermesi oldukça avantajlı bir durumdur. Bu dört küfün yüksek dekolorizasyon değerlerinden dolayı boyalı atık suların arıtımında

kullanılabileceği düşünölmektedir. Ancak gerçek atık su ile de çalışmaların yapılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- Amaral, P.F.F., Fernandes, D.L.A., Tavares, A.P.M., Xavier, A.B.M.R., Cammarot, M.C.C., Coutinho, J.A.P., Coelho, M.A.Z., (2003), "Decolorization of dyes from textile wastewater by *Trametes versicolor*", Aveiro – Portugal.
- Anklier, R., (1981) "Ecotoxicology of dyestuffs-a joint effort by industry", *Journal of Ecotoxicology and Environmental Safety*, **3**, 59-74, 179.
- Anonim(1998), [http://ifcln1.ifc.org/ifcext/enviro.nsf/AttachmentsByTitle/gui\\_dye\\_WB/\\$FILE/dye\\_PPAH.pdf](http://ifcln1.ifc.org/ifcext/enviro.nsf/AttachmentsByTitle/gui_dye_WB/$FILE/dye_PPAH.pdf).
- Azmi W., Sani K. And Bajerjee, U.C., (1998), "Biodegradation of triphenylmethanedyes", *Enzyme and microbiol. technol.*, **22**, 85-191.
- Ball AS. , Betts WB., McCarthy, AJ., (1989), " Degradation of lignin related compounds by actinomycetes", *A ppl Environ Microbiol* **55**, 1642 1644.
- Banat, I.M., McMullan, G., Meehan, C., Kireby, N., Nigam, P., Smyth, W.F. And Marchant, R., (1999), " Microbial decolorization of textile dyes present in textile industries effluent" , In: *Proceedings of the Industrial Waste, Technical Conference, Indianapolis, USA*, pp 1-16.
- Beydilli, M.I., Matheus, R.D. And Paulostathis, S.G., (2000), "Decolorization of a reactive copper- phthalocyanine dye under ethanogenic conditions. In :1st. World water congress of the international water association" , ( Eds),Paris, 3-7 july,p. 215-222.
- Santos, Andre, (2005), "Reductive decolourisation of dyes by thermophilic anaerobic granular sludge", Phd thesis, University of Arizona.
- Blanquez, P., Casas, N., Font, X., Gabarrell, X., Sarra, M., Caminal, G., Vicent, T., (2004), "Mechanism of textile metal dye biotransformation by *Trametes versicolor*", *Water Research*, **38**, 2166-2172.

- Bilhmel, S., Contzen, M., Stolz, A., Knackmuss HJ., (1998), " Isolation of a bacterial strain with the ability to utilize the sulfonated az compound 4-carboxy- 4'-sulfo-azobenzene as the sole source of carbon and energy", *Appl. environ. Microbiol.* , **64**, 2315-2317
- Brown, D. and Laboureur, P., (1983), "The degradation of dyestuffs: Part I- Primary biodegradation under anaerobic conditions", *Chemosphere*, **12**, 397-404
- Brown, D., (1987) , " Effects of colorants in te aquaticenviroment", *Exotoxico I. Environ. Saf.*, **13**, 139-147
- Chang, J., Chou, C., Chen, S., (2001), "Decolorization of azo dyes with immobilized *Pseudomonas luteola*", *Process Biochemistry*, **36**, 757-763.
- Chang, J., Kuo, T., Chao, Y., Jin-Yen Ho, Lin, P., (2000), "Azo dyes decolorization with a mutant *Escherichia coli* strain", *Biotechnology Letters*, **22**, 807-812.
- Chen, K., Wu, J., Liou, d., Hwang, S., (2003), "Decolorization of textile dyes by newly isolaed bacterial strains", *Journal of Biotechnology*, **101**, 57-68.
- Chivukula, M., Spadora, J.T. and Renganathan, V., (1995), "Lignin peroxidasecatalysed oxidation of sulfonated azo dyes generates novel sulfophenly hydropeoxides", *Biochemistry*, **34**, 7765-7772.
- Chung, KT., Stevens, SE., Jr. Cerniglia, CR. , (1992), "The reduction of azo dyes by the intestinal microflora", *Crit Rev. Microbiol.*,**18**, 175-190.
- Conneely A.,Smyth, WF., McMullan, G., (1999), " Metabolism of the phthalocyanine texte dye remazol turguise blue by *Phanerochaete chrysosporium*", *FEMSWMicrobiol Lett*, **179**, 333-337.
- Crips, C., Bumpus, JA., Aust, Sd., (1990), " Biodegradatio of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysospoium*", *Appl Environ Microbiol*, **56**, 1114-1118.
- Dhuinnshleibhe, S., (2000), "A brief history of dyestuff and dyeing",  
<http://kws.atlantia.sca.org/dyeing.html>
- Druding, S., (1982) , "Dye history from 2600 BC to the 20th century",  
(<http://www.straw.com/sig/dyehist.html>)



- Eaton, D., Chang, H. M., Kirk, T. K., (1980), "Fungal decolorization of Kraft bleach plant effluent", *Tapp. I.* **63**, 103-109.
- Ferretti, E., Lucentini, L., Veschetti, E., Bonadonna, L., Stamatii, A., Turco, L., Ottaviani, M., (2007), "Screening and identification of unknown contaminants in water destined to human consumption": *A case study*, *Microchemical Journal*, **85 (1)**, 57-64.
- Fu, Y. And Iraraghavan, T., (2000) , "Removal of a dye from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger*", *WaterQual.Res.J.*, **35(1)**, 95-111
- Ganes, R., Boardman, G.D. and Michelsen, (1994), "Decolorization of azo dyes in sludges", *Water res.*, **28**, 1367-1376.
- Goszczyński, S., Paszczyński A., Pasti-Grigsby MB, Crawford RL, Crawford DL, "New pathway for degradation of sulfonated azo dyes by microbial peroxidases of *Phanerochaete chrysosporium* and *Streptomyces chrommofuscus*" *Journal of Bacteriology* , **176**, 1339-1347.
- Heinfling A. Artinez, MJ., Martinez, AT., Bergbauer, M., Szewzyk, U., (1998), "Purification and characterization of peroxidases from the dye-decolorizing fungus *Bjerkandera adusta*" , *FEMS, Microbiol Letts*, **165**, 43-50.
- Henderson, AL., Schmitt, TC., Heinze, TM., Cerniglia CE., (1997), " Reaction of malachite green to leucomalachite green by intestinal bacteria ", *Appl Environ Microbiol.*, **63**, 4099- 4101.
- Kalemtaş, (2002), G., *Tekstilde kullanılan bazı reaktif boyaların fungal dekolorizasyonu*, Yüksek lisans tezi, Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Karcher, S., Cornmuller, A. and Jekel, M., (1999) "Removal of reactive dyes by sorption/complexio with cucurbituril", *Water Sci. Echnol.*, **40**, 435-433.
- Kim, S.J., Ishikawa, K., Hirai, M., Shoda, M., (1995), " Charactistics of a Isolated fungus, *Geotricum candidum* Dec I, Which decolorizes various dyes" , *J.Ferment Bioleng*, **79**, 601-607.
- Kirby, M., Marchant R., McMullan, G., (2000), "Decolourisation of synthetic textile dyes by *Phlebia tremellosa*", *FEMS Microbiol Lett.*, **188**, 93-96.

- Knapp, S. J., Zhang, F., Tapley, K., (1997), "Decolourisation of Orange II by a Wood-Rotting Fungus", *J.Chem.Tech.Biotechnol*, **69**, 289-296.
- Kocaer, F., Alkan, U., (2002), "Boyar madde içeren tekstil atıksularının arıtım alternatifleri", *Uludağ üniversitesi Mühendislik-mimarlık fakültesi dergisi*, cilt 7, sayı 1.
- Machenbach, I., (1998), " Membrane technology for dyehouse effluent treatment", *Membrane technology*, **96**, 7-11.
- Maximo, C., Costa-Ferreira, M., (2004), "Decolorisation of reactive textile dyes by *Irpex lacteus* and lignin modifying enzymes", *Process Biochemistry*, **39**, 1475-1479.
- Mazmaci, A., Ünyayar, A., (2005), "Decolorisation of reactive black 5 by *funalia trogii* immobilised on *Luffa cylindria* sponge" *Process Biochemistry*, **40**, 337-342.
- McMullan, G., Meehan, C., Conneely, A., Kirby, N., Robison, T., Nigam, P., Banat, I.M., Mrchant, R., (2001), "Microbial decolourisation and degradation of textile dyes", *Mirobiol Biotechnol*, **26**, 81-87.
- Mock, V.I, (1995), 'Cucurbituril' , *Top. Curr. Chem.*, **175**, 1-24.
- Mossman, T., (1983), "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays", *J. Immunol. Meth.*, **65**, 55-63.
- Mou, D.G., Lim, K.K. and Shen, H.P., (1991), "Microbial agents for decolourization of dye wastewater", *Biotechnol. Adv.*, **9**, 613-622.
- Park, C., Lee, M., Lee, B., Kim, S., Chase, H., Lee, J., Kim, S., (2006), "Biodegradation and biosorption for decolorization next term of synthetic dyes by *Funalia trogii*" *Biochemical Engineering Journal*,
- Paszczynski, .& Crawford, R.L. , (1991), "Degredation of azo compounds by Ligninase from *Phanerochaete chrysosporium*; involvement of veratryl alcohol", *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **178**, 1056-1063.
- Perie, F. H.& Gold, M.H., (1991), "Mangaese regulation of manganese peroxidase

- expresion and lignin degreation by the white-ro fungus *Dichomitus squalens*", *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 2240-2245.
- Pointing, SB. Bucher VVC., Vrijmoed, LLP., (1992), "Dye decolorization by sub-Tropical basidiomycetous ungiand the effect of metals on decolorizing ability", *World F.Microbiol.*, **58**, 3598-3604.
- Raghavacharya, C., (1997), "Colour remval from indstrial effluents-a comparative review of available technologies ", *Chem. Eng. World*, **32**, 53-54.
- Reimer, P., (2001), *Laccases from Pleurotus ostreatus*, Master thesis, University of Alberta, Kanada.
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R. and Nigam, P., (2001), " Remediation of dyes in textie effluent: A critical rewiev on current treatments technologies with a proposed aternative", *Biores. Technol.*, **77(3)**, 247-255.
- Sarnaik, S., Kanekar, P., (1999), "Biodegedation of methyl vilet by *Pseudomonas mendocina* MCM B-402", *Appl Microbiol Biotechnol*, **52**, 251-24.
- Shahvali, M., Assadi, M.M., Rostami, K., (2000), "Effect of environmental Parameter on decolorization of textile wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*", *Bioennerring*, **23**, 721-726.
- Shin, M., Nguyen, T., Ramsay, J., (2002), "Evaluation of support materials for the surface immobilization and decoloration of amaranth by *Trametes versicolor*", *Microbial Biotechinal*, **60**, 218-223.
- Slokar, Y. M. and Marechal, A.M.L., (1998), "Methods of decoloration of textile wastewaters dyes and pigments", **37(4)**, 335-356.
- Socha, K., (1991), "Treatment of tetile effluents", *Textile Month* , **12**, 52-56.
- Swamy, J., Ramsay, JA., (1999), "The evaluation of white rot fungi in the decoloration of textile dyes.", *Enz. Microbiol Technol.*, **24**, 130-137.
- Toh, Y., Lin Yen, J., Obbard, P. J., Ting, Y., (2003), "Decolourisation of azo dyes by white-rot fungi (WRF) isolated in Singapore", *Enzyme and Microbial Technology*, **33**, 569-575.
- Van der Zee Frank, (2002), *Anaerobic azo dye reduction*, Phd thesis, University of Wageningen, Almanya,

- Vandevivere, P., Robeto, B., Vrstraete, W., (1998), "Treatment and Reuse of Wastewater from the Textile Wet\_Processing Industry", *J.Chem. Technol. Biotechnol*, **72**, 289-302.
- Vlyssides, A.G. Papaioannou, DDDd. Lozidoy, M. Karis, P.K. And Zo0rpa, A.A., (2000), "Testing an electrochemical method for treatment of textile dye wastewater", *Waste Management*, **20**, 59-574.
- Yeşilada Ö., Cing S., Asma D., (2002), "Decolorization of textile dye Astrazon Red FBL by FUNALÍA trogii pellets", *Bioresource*, **81**, 155-157.
- Yeşilada Ö., Cing S., Asma D., (2003), "Decolorization of textile dyes by fungal pellets", *Process Biochemistry*, **38**, 933-938.
- Yeşilada, Ö., Asma, D., Cing, S., Apohan, E., (2003), "Decolorization of Textile Dyeing Wastewater by Phanerochaete chrysosporium", *Folia Microbiol*, **48**, 639-642.
- Yu, F., Viraraghavan, T., (2001), "Fungal decolorization of dye wastewaters: a review", *BioresourceTechnology*, **79**, 251-262.
- Zacaris dos Santos, A., Granhen Taveres, R.C., Gomesda-Costa, M.S., Guedes, A.T., (2003), "Decolorozition of a Mixture of Reactive Dyes by a Strain of the White-Rot Fungus *Pleurotus pulmonarius*", *Deparmanto de Biologia*.
- Zhou, W., Zmermann, W., (1993), "Decolorization of industrial effluents containing reactive dyes by actinomycetes", *FEMS Microial Lett* , **107**, 157-162.