

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**EVERZOL RED TEKSTİL BOYARMADDESİNİN SERBEST VE
İMMOBİLİZE *COPRINUS PLICATILIS* İLE BİYOLOJİK
GİDERİMİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE CANPOLAT TOPUZ

DENİZLİ, ARALIK - 2013

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA**



**EVERZOL RED TEKSTİL BOYARMADESİNİN SERBEST VE
İMMOBİLİZE *COPRINUS PLICATILIS* İLE BİYOJİK
GİDERİMİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MERVE CANPOLAT TOPUZ

DENİZLİ, ARALIK - 2013

KABUL VE ONAY SAYFASI

Merve CANPOLAT TOPUZ tarafından hazırlanan “Everzol Red Tekstil Boyarmaddesinin Serbest Ve İmmobilize *Coprinus plicatilis* İle Biyolojik Gideriminin Araştırılması” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 20.12.2013 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Hatice ARDAĞ AKDOĞAN

Üye
Prof. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN

Üye
Doç. Dr. Özlem ÖZEN KARAKUŞ



Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez PAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü 15/01/2014
03/14 Yönetim Kurulunca onaylanmıştır.



Prof. Dr. Nuri KOLSUZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü tarafından 2013 FBE018 nolu proje ile desteklenmiştir.

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.



MERVE CANPOLAT TOPUZ

ÖZET

EVERZOL RED TEKSTİL BOYARMADESİNİN SERBEST VE İMMOBİLİZE *COPRINUS PLICATILIS* İLE BİYOLOJİK GİDERİMİNİN ARAŞTIRILMASI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MERVE CANPOLAT TOPUZ
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
BİYOKİMYA
(TEZ DANIŞMANI: YRD. DOÇ. DR. HATİCE ARDAĞ AKDOĞAN)

DENİZLİ, ARALIK - 2013

Bu çalışmanın amacı; özellikle boyarmadde ve tekstil endüstrisi işletmeleri tarafından kullanılan ve bu işletmelerden çevreye bırakılan atık su içerisindeki önemli kirlilik faktörü olan sentetik boyarmaddelerin düşük maliyetle ve kısa sürede biyolojik olarak arıtılmasının araştırılmasıdır.

Bu amaçla, *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Coprinus plicatilis* beyaz çürükçül fungusları tarafından Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyolojik giderimi araştırılmıştır. Kültür ortamındaki boyarmadde konsantrasyonu değişimi spektrofotometre ile izlendi. En iyi biyolojik giderimi *Coprinus plicatilis* beyaz çürükçül fungusunun gerçekleştirdiği tespit edildi.

Daha sonra aspartik asit, glisin, arginin aminoasitlerinin boyarmadde giderimi üzerine etkisi araştırıldı. Aminoasit etkisine bakıldığında, aspartik asit bulunan ortamda en iyi giderim elde edilmiştir.

Coprinus plicatilis farklı taşıyıcılar üzerine (Amberlite XAD-7, kum, jelâtin, kaolin, kaliks[4]aren, p-tert bütikalisks[4]aren) immobilize edilerek, Everzol Red 3BS boyarmaddesi için en iyi taşıyıcı seçildi. Amberlit XAD-7 ile immobilize edilmiş *Coprinus plicatilis* tarafından boyarmaddenin tamamı degrade edildi. Biyodegradasyon sonuncu günündeki tüm örnekler FT-IR' de analiz edildi. İmmobilize *Coprinus plicatilis* ile Everzol Red 3BS başarılı bir şekilde biyolojik giderime uğratılabildi.

ANAHTAR KELİMELER: Biyodegradasyon, Beyaz Çürükçül Fungus, *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Coprinus plicatilis*, Everzol Red 3BS.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF EVERZOL RED TEXTILE DYE
BIYODEGRADATION BY FREE AND IMMOBILIZED *COPRINUS*
PLICATILIS
MSC THESIS
MERVE CANPOLAT TOPUZ
PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
CHEMISTRY
BIOCHEMISTRY
(SUPERVISOR: ASIST. PROF. DR. HATICE ARDAG AKDOGAN)

DENİZLİ, DECEMBER 2013

The aim of this study is to investigate the biological treatment of synthetic dyes, at a low cost and in the shortest possible time, which are used especially dye and textile industries and are an important polluting agent in the waste water dumped into the environment by these industries.

In this present work; sub-tropical white rot fungi, *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Coprinus plicatilis* were investigated for their ability to degrade Everzol Red 3BS and determined very good degrader (*Coprinus plicatilis*).

Effects of aminoacids (glycine, aspartic acid, arginine) was investigated on the removal of direct blue 15 by *Coprinus plicatilis*. The results showed that increasing aminoacids concentration decreased the removal of Everzol Red 3BS.

The fungus *Coprinus plicatilis* was immobilized in several carrier matrices: Amberlite XAD-7, sand, kaolin, gelatin, kalix[4]aren, p-tert kalix[4]aren and then selected matrice was used as a biosorbent for degradating Everzol Red 3BS. Immobilized organisms with Amberlit XAD-7 removed 100% of 10.0 mgL⁻¹ within 23 hours in batch system. There was an attempt to identify metabolites via FT-IR at the end of the decolorization.

It was concluded that immobilized *Coprinus plicatilis* achieved the biodegradation of Everzol Red 3BS.

KEYWORDS: *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Coprinus plicatilis*, Everzol Red 3BS, Biodegradation, White rot fungus.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	viii
SEMBOL LİSTESİ	ix
ÖNSÖZ	x
1. GİRİŞ	11
1.1 Boyarmaddeler	12
1.1.1 Boyama Özelliklerine Göre Boyarmaddeler.....	13
1.2 Tekstil Atık Sularından Boyarmaddelerin Arıtım Yöntemleri.....	14
1.2.1 Kimyasal Yöntemler	15
1.2.1.1 Oksidasyon.....	15
1.2.1.2 Ozonlama	16
1.2.1.3 Fotokimyasal Yöntem	16
1.2.1.4 Sodyum hipoklorit (NaOCl).....	16
1.2.1.5 Kimyasal Floklaştırma Ve Çöktürme Yöntemi.....	17
1.2.2 Fiziksel Yöntemler.....	17
1.2.2.1 Adsorpsiyon ve İyon Değişimi Yöntemi.....	17
Aktif Karbon Yöntemi	17
1.2.3 Biyolojik Yöntemler	17
1.2.3.1 Anaerobik Yöntem	18
1.2.3.2 Aerobik Yöntem.....	18
1.3 Beyaz Çürükçül Funguslar	19
1.4 Beyaz Çürükçül Funguslarla Yapılan Çalışmalar	21
1.5 İmmobilizasyon	22
1.5.1 Tutuklama (immobilizasyon) Yöntemleri	23
1.5.2 Tutuklamanın (İmmobilizasyon) Mikroorganizmalara Etkisi	24
1.5.3 İmmobilize Hücrelerle Boyarmadde Giderimi	25
2. MATERYAL METOT	26
2.1 Materyaller	26
2.1.1 Cihazlar.....	26
2.1.2 Kimyasallar	26
2.1.3 Çalışmada Kullanılan Boyarmadde	26
2.1.4 Destek Materyalleri.....	27
2.1.4.1 p-tert-bütil kaliks[4]aren Sentezi.....	27
2.1.4.2 Kaliks[4]aren Sentezi	27
2.1.5 Mikroorganizma.....	28
2.2 Ortamlar ve Analitik Yöntemler.....	28
2.2.1 Kültür Ortamları	28
2.2.2 Örnek Alma.....	28
2.3 Serbest Hücreler ile Everzol Red 3BS Giderimi	28
2.4 Ölü Hücreler ile Everzol Red 3BS Biyosorpsiyonu	29
2.5 Everzol Red 3BS Biyodegradasyonu Üzerine Aminoasit Etkisi.....	29
2.6 Taşıyıcı Materyalin Hazırlanması	29

2.7	<i>Coprinus plicatilis</i> 'in İmmobilizasyonu.....	30
2.7.1	Jelâtin ile <i>Coprinus plicatilis</i> 'in İmmobilizasyonu.....	30
2.8	İmmobilize <i>Coprinus plicatilis</i> ile E. Red 3BS'in Biyodegradasyonu30	
2.9	FT-IR analizi	30
3.	BULGULAR ve TARTIŞMA	31
3.1	Everzol Red 3BS Yıkımı için Uygun Organizmanın Belirlenmesi....	31
3.1.1	<i>Trametes versicolor</i> ile Everzol Red 3BS Biyodegradasyonu.....	31
3.1.2	<i>Pleurotus ostreatus</i> ile Everzol Red 3BS Biyodegradasyonu	32
3.1.3	<i>Coprinus plicatilis</i> ile Everzol Red 3BS Biyodegradasyonu.....	33
3.2	Everzol Red 3BS Biyodegradasyonu Üzerine Aminoasit Etkisi.....	35
3.2.1	Everzol Red Biyodegradasyonu Üzerine Glisin Etkisi.....	35
3.2.2	Everzol Red Biyodegradasyonu Üzerine Aspartik asit Etkisi	37
3.3	İmmobilize <i>Coprinus plicatilis</i> 'in E. Red 3BS ile Biyodegradasyonu44	
3.3.1	Amberlite XAD-7 ile İmmobilize Edilmiş <i>Coprinus plicatilis</i> 'in E. Red 3BS ile biyodegradasyonu	44
3.3.2	Jelâtin Tarafından İmmobilize Edilmiş <i>Coprinus plicatilis</i> 'in E. Red 3BS ile Biyodegradasyonu	46
3.3.3	Kaolin ile İmmobilize Edilmiş <i>Coprinus plicatilis</i> 'in E. Red 3BS İle Biyodegradasyonu	49
3.3.4	Kum Tarafından İmmobilize Edilmiş <i>Coprinus plicatilis</i> 'in E. Red 3BS ile Biyodegradasyonu	52
3.3.5	p-tert-bütilkaliks[4]aren ile İmmobilize Edilmiş <i>Coprinus plicatilis</i> 'in E. Red 3BS ile Biyodegradasyonu.....	55
3.3.6	Kaliks[4]aren ile İmmobilize Edilmiş <i>Coprinus plicatilis</i> 'in E. Red 3BS ile Biyodegradasyonu	58
4.	SONUÇ	62
5.	KAYNAKLAR.....	65
6.	ÖZGEÇMİŞ	69

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 Everzol Red 3BS kimyasal yapısı.....	26
Şekil 3.2 <i>P. ostreatus</i> ile Everzol red 3BS'in biyodegradasyonu	32
Şekil 3.3 <i>C. plicatilis</i> ile Everzol red 3BS'in biyodegradasyonu	33
Şekil 3.4 % 0,1 Glisin içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-48h)	36
Şekil 3.5 % 0,3 Glisin içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-45-72h)	36
Şekil 3.6 % 0,5 glisin içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-96h).....	37
Şekil 3.7 % 0,1'lik Aspartikasit içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-45-96h)	38
Şekil 3.8 % 0,3 Aspartik asit içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-24-30h) .	39
Şekil 3.9 % 0,5 Aspartik asit içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-12-24-30h).	39
Şekil 3.10 % 0,1 Arginin içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-72h).	41
Şekil 3.11 % 0,3 Arginin içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-45-72h).....	41
Şekil 3.12 % 0,5 Arginin içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-45-72h).....	42
Şekil 3.13 FT-IR analizleri A; Everzol red 3BS B; Glisin bulunan ortamda yıkım sonrası FT-IR C; Aspartikasit bulunan ortamda yıkım sonrası FT-IR D; Arginin bulunan ortamda yıkım sonrası FT-IR.....	43

Şekil 3.14 İmmobilize <i>C. plicatilis</i> ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyodegradasyonu (Amberlit XAD-7)	44
Şekil 3.15 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spekturumları A; Biyodegradasyon öncesi B;Biyodegradasyon Sonrası (Amberlit XAD-7).	45
Şekil 3.16 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (Amberlit XAD-7)	46
Şekil 3.17 İmmobilize <i>C. plicatilis</i> ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyodegradasyonu (Jelatin)	47
Şekil 3.18 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spekturumları A; Biyodegradasyon öncesi B;Biyodegradasyon Sonrası (Jelatin).....	48
Şekil 3.19 Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (jelatin)	49
Şekil 3.20 İmmobilize <i>C. plicatilis</i> ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin Biyodegradasyonu (Kaolin)	50
Şekil 3.21 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin Biyodegradasyon Sonrası FT-IR (Kaolin)	51
Şekil 3.22 Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (Kaolin)	52
Şekil 3.23 İmmobilize <i>C. plicatilis</i> ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyodegradasyonu (Kum).....	53
Şekil 3.24 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin Biyodegradasyon Sonrası FT-IR (Kum)	54
Şekil 3.25 Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (Kum)	55
Şekil 3.26 İmmobilize <i>C. plicatilis</i> ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyodegradasyonu (p-tert-bütüikaliks[4]aren)	56
Şekil 3.27 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spekturumları A; Biyodegradasyon öncesi B;Biyodegradasyon Sonrası (p-tert-bütüikaliks[4]aren).....	57
Şekil 3.28 Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (p-tert-bütüikaliks[4]aren) (0-20-36h).....	58
Şekil 3.29 İmmobilize <i>C. plicatilis</i> ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyodegradasyonu (kaliks[4]aren).....	59

Şekil 3.30 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spekturumları A; Biyodegradasyon öncesi B;Biyodegradasyon Sonrası (kaliks[4]aren)..	60
Şekil 3.31 Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (kaliks[4]aren) (0-27-36h).....	61

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin % biyodegradasyon oranları ...	32
Tablo 3.2 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin % biyodegradasyon oranları ...	33
Tablo 3.3 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin % biyodegradasyon oranları ...	34
Tablo 3.4 Farklı funguslarla Everzol red 3BS yıkım yüzdeleri.....	34
Tablo 3.5 Everzol Red 3BS % Biyodegradasyon Oranları (Glisin Etkisi)	35
Tablo 3.6 Everzol Red 3BS % Biyodegradasyon Oranları (Aspartik asit Etkisi).....	38
Tablo 3.7 Everzol Red 3BS % Biyodegradasyon Oranları (Arginin Etkisi)....	40
Tablo 3.8 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin %biyodegradasyon oranları (Amberlit XAD-7).....	45
Tablo 3.9 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin %biyodegradasyon oranları (jelatin)	47
Tablo 3.10 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin % biyodegradasyon oranları (Kaolin)	50
Tablo 3.11 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin %biyodegradasyon oranları (Kum)	53
Tablo 3.12 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin %biyodegradasyon oranları (p- tert-bütikaliks[4]aren)	56
Tablo 3.13 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin % biyodegradasyon oranları (kaliks[4]aren)	59

SEMBOL LİSTESİ

MnP	:Mangan Peroksidaz
LiP	:Lignin Peroksidaz
Lac	:Lakkaz
<i>C. plicatilis</i>	: <i>Coprinus plicatilis</i>
<i>T. versicolor</i>	: <i>Trametes versicolor</i>
<i>P. osteratus</i>	: <i>Pleurotus ostreatus</i>
E. Red 3BS	:Everzol Red 3BS

ÖNSÖZ

Çalışmamda bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, tecrübeleri ile bana yol gösteren, desteğini ve ilgisini hiçbir zaman esirgemeyen, en önemlisi yüksek lisans yapmamda çok büyük katkısı olan Sayın Hocam Yrd. Doç. Dr. Hatice ARDAĞ AKDOĞAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında destek ve onaylarını gördüğüm, Kimya Bölümündeki tüm hocalarıma, her zaman ilgilerini esirgemeyen Uzman ve Araştırma Görevlisi hocalarıma teşekkürlerimi ve saygılarımı sunuyorum.

Tez çalışmam sırasında immobilizasyon destek materyali olarak kullandığım p-tert-bütikaliks[4]aren ve kaliks[4]aren bileşiklerinin sentezi için laboratuvarını açan Doç. Dr. Haselettin DELİGÖZ ve sentez çalışmalarında yardımcı olan Dr. Serkan ELÇİN'e tüm içtenliğimle teşekkür ediyorum.

Çalışmalarım esnasında desteklerini gördüğüm, Tez jüri üyeleri; Prof. Dr. Nazime MERCAN DOĞAN ve Doç. Dr. Özlem ÖZEN KARAKUŞ hocalarıma katkılarından dolayı teşekkürlerimi ve saygılarımı sunuyorum.

Öğrenim hayatım boyunca hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan ve yaşamımın her anında benden desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Mehmet TOPUZ'a ve canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

MERVE CANPOLAT TOPUZ

1. GİRİŞ

Evsel, endüstriyel, tarımsal ve diğer kullanımlar sonucunda kirlenmiş veya özellikleri kısmen ya da tamamen değişmiş sular, maden ocakları ve cevher hazırlama tesislerindeki sular ve yapılaşmış kaplamalı ve kaplamasız şehir bölgelerinden, cadde otopark ve benzeri alanlardan yağışların yüzey veya yüzey altı akması sonucunda gelen sular atık su olarak tanımlanır [1]. Endüstriyel atık suları gıda, tekstil, kâğıt ve selüloz, kimya petrol, kömür madenleri, metal, sentetik kauçuk/plastik ve diğer işletmelerden çıkan sular olarak düşünülebilir. Tekstil endüstrisi diğer endüstriyel sektörlere nazaran deşarj hacmi ve çıkış suyu kompozisyonu göz önüne alındığında çevreyi en çok kirleten endüstri olarak nitelendirilmektedir [2,3].

Boyama işlemi, tekstil endüstrisinin en önemli proseslerinden biri olmakla beraber yoğun renk ve aynı zamanda refrakter (konvansiyonel arıtma sistemlerinde arıtılmayan) madde içeren endüstriyel atık su miktarının da önemli kısmını oluşturmaktadır. Renk parametresi, gerek estetik açıdan gerekse çevre dengesi açısından ciddi problemler yaratmaktadır. Koyu renkli sular güneş ışınlarının geçişini engelleyerek fotosentezi yavaşlatmaktadır. Rengin artması, fotosentez hızını yavaşlattığından canlı hayatını olumsuz yönde etkilemektedir.

Yapısal özellikleri ve çevre kirlenmesi açısından taşıdıkları önemleri nedeniyle boyama işlemlerinden kaynaklanan atık suların arıtma seçeneklerinin tanımlanmasında boyarmaddelerin arıtılabilirliklerinin araştırılması önem taşımaktadır. Tekstil endüstrisi atık sularından renk gideriminde kimyasal çöktürme, oksidasyon, elektrokoagülasyon gibi fizikokimyasal arıtma metotları kullanılmaktadır. Tekstil endüstrisi atık suları için önerilen fiziksel ve kimyasal yöntemlerin yüksek maliyet gerektirmeleri ve her boyarmadde için kullanılamıyor olmaları, uygulanmalarının sınırlı olmasına neden olmuştur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar birçok boyarmadde türünü atık sudan giderebilme yeteneğine sahip yaygın mikroorganizma türlerinin mevcudiyetini vurgulamış ve biyoteknolojik metotları ön plana çıkarmıştır [4]. Biyoteknolojik teknikler, fermantasyon, enzim teknolojisi, hücre doku ve kültürü tekniklerini gibi çeşitli aktiviteleri içermektedir.

Biyoteknolojik süreçlerde temel kavram mikroorganizmaların atık maddeleri besin olarak kullanması ve çevreye zarar vermeyecek bileşiklere dönüştürmesidir [5]. Son yıllarda özellikle lignin ve lignin türevi kompleks aromatik bileşikleri parçalayabilen funguslarla veya funguslardan elde edilen enzimlerle renk giderimi çalışmaları yapılmaktadır.

Mikroorganizmalar, atık maddeleri enzimatik olarak parçalamaktadırlar. Ancak mikroorganizma yerine doğrudan onlardan elde edilen enzimlerin kullanılması birçok avantaj sağlar [6]. Enzimlerin kullanıldığı proseslerde, enzim kaynağı olarak, mikroorganizmaların kullanılması ile diğer yöntemlerde kullanılan havalandırma ve çöktürme tanklarına ihtiyaç olmadığı için, yatırım masrafları azalır. Enzimler seçici ve aktif biyomoleküllerdir ve bir destek üzerine tutuklandıklarında, mikroorganizmalara göre daha geniş pH ve sıcaklık aralığında çalışabilmektedirler.

Bu çalışmada, *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Coprinus plicatilis* subtropikal beyaz çürükçül fungusların, farklı konsantrasyonlardaki (10-100 mg/L) Everzol Red 3BS boyarmaddesini degrades edebilme yetenekleri araştırıldı. Boyarmaddenin biyodegradasyonu için en uygun fungus türü belirlendi. Serbest ve immobilize hücreler ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin yıkımı incelendi. Everzol Red 3BS boyarmadde biyodegradasyonunda aminoasit etkisi araştırıldı.

1.1 Boyarmaddeler

Boyarmadde; bir materyale kendiliğinden veya uygun reaksiyon maddeleri sayesinde renk veren organik maddelerdir. Renk madde üzerine düşen ışınların absorpsiyon, yansıma değerleri ile ilgili olarak ortaya çıkar [7].

Kromofor, organik bir molekül içinde renkli görünümü sağlayan atom, atom grubu veya elektronlardır. Kromofor gruplarının hepsi azot, nitro, nitroso ve karbonil grubu gibi çift bağ içerirler. Boyarmadde içersinde yer alan ve kromofor içeren aromatik halkalı bileşiklere kromojen denir. Genellikle bunların renkleri soluk olduğundan oksokrom denilen elektron verici hidroksil, amin, karboksil, sülfö gibi birinci dereceden yer değiştiricilerin ve antioksochrom denilen karbonil, nitrozo gibi ikinci dereceden yer değiştiricilerin bağlanmasıyla hem renk koyulaşır hem de renkli bileşik liflere karşı afinite kazanarak boyarmadde niteliği kazanır [7,8]. Boyar

maddeler; çözünebilirlik, kimyasal yapı, boyama özellikleri gibi çeşitli karakteristikleri göz önüne alınarak sınıflandırılır [9].

1.1.1 Boyama Özelliklerine Göre Boyarmaddeler

- Bazik (katyonik),
- Asit (anyonik),
- Direkt,
- Mordan,
- Küp,
- İnkışaf,
- Metal,
- Dispersiyon,
- Pigment
- Reaktif boyarmaddeler olarak sınıflandırılmaktadırlar.

Bazik (katyonik) boyarmaddeler; Organik bazların hidroklorürleri şeklinde olup, katyonik grubu renkli kısımda taşırlar. Pozitif yük taşıyıcı olarak N (Azot) veya S (Kükürt) atomu içerirler. Yapılarından dolayı bazik (proton alan) olduklarından anyonik grup içeren liflerle bağlanırlar. Başlıca poliakrilonitril, kısmen de yün ve pamuk elyafın boyanmasında kullanılırlar [10].

Asit Boyarmaddeler: OH^- , SO_3H , COOH gibi oksokrom grupları içerirler. Bu boyalar Na^+ , K^+ , Ca^+ , NH_4^+ vb. gruplarla tuz oluştururlar ve çözelti içinde negatif yükü verecek şekilde iyonlaşırlar. Yün, ipek ve derilerin boyanmasında kullanılırlar.

Direkt boyarmaddeler (Substantif Boyarmaddeler); genellikle sülfonik, bazen de karboksilik asitlerin sodyum tuzlarıdır. Yapı bakımından direkt ve asit boyarmaddeler arasında kesin bir sınır bulunmamaktadır.

Mordan boyarmaddeleri asidik veya bazik fonksiyonel gruplar içerirler. Bitkisel ve hayvansal elyaf ile kararsız bileşikler oluştururlar. Mordan sözcüğü, boyarmaddeyi elyafa tespit eden madde veya bileşim anlamını taşır. Birçok doğal ve sentetik boyarmadde bu sınıfa girmektedir.

Küp boyarmaddeleri; karbonil grubu içeren ve suda çözünmeyen boyar maddelerdir. Bunlar indirgeme ile suda çözünür hale getirilirler ve bu halde elyafa çektilirler [10].

Elyaf üzerinde oluşturularak son şekline dönüştürülebilen bütün boyarmaddeler inkişaf boyarmaddeleridir. Azoik boyarmaddeler de denilen bu boyarmaddeler ile fitalosiyanın boyarmaddeleri de bu sınıfa girmektedirler.

Belirli gruplara sahip bazı azo boyarmaddeleri ile metal iyonlarının kompleks oluşturduğu boyarmaddeler metal kompleks boyarmaddeleridir. Kompleks oluşumunda azo grubu rol oynar. Metal katyonu olarak Co, Cu ve Ni iyonları kullanılmaktadır [10].

Dispersiyon boyarmaddeleri suda eser miktarda çözünebilen, bu nedenle sudaki dispersiyonları halinde uygulanabilen boyarmaddelerdir. Bu boyarmaddeler, boyama işlemi sırasında dispersiyon ortamından hidrofob elyaf üzerine difüzyon yolu ile çekilmektedirler.

Pigment boyarmaddeler, bağlayıcı madde denilen sentetik reçineler ile elyaf yüzeyine bağlanan boyarmaddelerdir [10].

Reaktif boyarmaddeler, ülkemizde en çok tüketilen boyarmaddelerdir. Reaktif grupların reaktifliklerine göre yüksek reaktifliğe sahip boyarmaddeler ve düşük reaktifliğe sahip boyarmaddeler olmak üzere iki sınıfta toplanırlar. Yüksek reaktifliğe sahip boyarmaddeler vinilsülfon, diklorotriazin, difloroprimidin gibi reaktif grup içeren boyarmaddelerdir. Yüksek reaktifliğe sahip boyarmaddelerle düşük reaktifliğe sahip boyarmaddelere oranla daha hızlı boyama sağlanır ve aynı zamanda kimyasal madde ve enerji tüketimi daha azdır. Düşük reaktifliğe sahip boyarmaddelerle boyama işleminde ise hidroliz tehlikesinin daha az olması nedeniyle boyarmadde kaybı daha azdır [11,12].

1.2 Tekstil Atık Sularından Boyarmaddelerin Arıtım Yöntemleri

Tekstil endüstrisinde boyama işlemi kumaşa renk vermek için yapılır. Boyarmaddeli atık suların karakterizasyonu, boyarmaddelerin kimyasal yapısındaki

farklılıklardan ve boyama prosesinin değişim göstermesinden dolayı oldukça zordur [13].

Günümüzde boyarmaddelerin arıtımı büyük ölçüde fiziksel ve kimyasal yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Ancak bu yöntemlerin maliyeti oldukça yüksektir ve ortaya çıkan büyük miktardaki konsantre çamurun giderilmesi problemlere neden olmaktadır. Bu nedenle büyük hacimli atık sulardaki boyarmaddelerin etkili ve ekonomik bir şekilde giderilmesi için biyolojik sistemler gibi alternatif sistemlere gereksinim vardır [14].

1.2.1 Kimyasal Yöntemler

Tekstil atık sularının kimyasal yöntemlerle arıtılması uzun yıllardan beri en çok rağbet gören yöntemlerden biri olmuştur. Bunun en büyük nedeni şüphesiz atık su kalitesinde meydana gelen değişikliklerin kullanılan kimyasalda veya uygulanan dozda yapılan değişikliklerle kolayca tolere edilebilir olmasıdır [15]. Tekstil endüstrisi atık sularının arıtımında en yaygın olarak kullanılan kimyasal yöntemler oksidasyon yöntemleri, kimyasal çöktürme ve flokülasyon yöntemi gibi yöntemler ile arıttır.

1.2.1.1 Oksidasyon

Oksidasyon kimyasal yöntemler içinde en yaygın olarak kullanılan renk giderme yöntemidir. Bunun en büyük nedeni uygulanmasının basit oluşudur. Kimyasal oksidasyon sonucu boyarmadde molekülündeki, aromatik halka kırılarak boyarmadde giderilir. Oksitleyici ajan olarak hidrojen peroksit kullanılır. Hidrojen peroksit UV ile aktif hale getirilerek serbest OH radikallerinin oluşması sağlanır. OH radikalleri organik maddeyi okside ederek parçalanmasını sağlarlar [16].

1.2.1.2 Ozonlama

Ozon uygulamaları 70' li yılların başında başlamıştır. Ozonlama ile dikkate değer boyutlarda renk giderimi sağlanabilmektedir. Ozonla oksidasyon kronik hidrokarbonları ve aromatik hidrokarbonları degrade edebilir. Gaz fazında olduğu için çevreye atık su veya çamur bırakmaz. Boyarmaddelerin kromofor guruplarının oluşturduğu toksik özellikleri azaltır. Kimyasal oksijen ihtiyacını düşürür. Ozonun dezavantajı yarı ömrünün çok kısa olması ve maliyetinin yüksek olmasıdır. Ozonlama sonucu elde edilen renk giderimi boyarmaddelerin cinsine göre farklılık göstermektedir [16].

Strickland ve Perkins (1995) tarafından yapılan çalışmada 30 dakikalım bir zaman süresince ozonlanan azoik, dispers/sülfür ve reaktif boyarmadde içeren atık sularda başarılı bir renk giderimi sağlarken vat boyarmaddesi içeren atık sularda aynı başarıyı göstermemiş ve renk giderimi %50 ile sınırlı kalmıştır [17].

1.2.1.3 Fotokimyasal Yöntem

Bu yöntemle boyarmadde molekülleri, hidrojen peroksit varlığında UV radyasyonu ile karbondioksit ve suya kadar parçalanırlar. Parçalama sonucu yüksek miktarda hidroksil radikalleri oluşur. Bu hidroksil radikalleri organik atıkları okside ederler [14].

1.2.1.4 Sodyum hipoklorit (NaOCl)

Klor boyarmaddelerdeki amino gurplarına etki eder ve azo bağlarını koparır. Ancak aromatik aminler salgılandığı için bu yöntem çok nadir kullanılır. Alıcı ortamda olumsuz etkiler yaratır. Sodyum hidroksit ile renk giderimi asit ve direkt boyarmaddeler için tatmin edici sonuçlar vermektedir. Reaktif boyarmaddelerin arıtımı için ise uygun değildir [18].

1.2.1.5 Kimyasal Floklaştırma Ve öktürme Yöntemi

Bu yöntemde floklaşma ve çökelme kimyasal maddeler yardımıyla sağlanır. Atık suya katılan kimyasal maddeler yardımıyla meydana gelen floklaşma ile çözünmüş maddeler ve kolloidler giderilir. En çok kullanılan kimyasallar arasında $Al_2(SO_4)_3$, $FeCl_3$, $FeSO_4$ ve kireç sayılabilir [14].

1.2.2 Fiziksel Yöntemler

1.2.2.1 Adsorpsiyon ve İyon Değişimi Yöntemi

Adsorpsiyon ve iyon değişim yöntemi renk gideriminin iki temel mekanizmasıdır. Bu mekanizma boyarmadde sorbent interaksiyonu, sorbent yüzey alanı, partikül büyüklüğü, pH ve zaman gibi fizikokimyasal faktörlerden etkilenir [16].

Aktif Karbon Yöntemi

Aktif karbon yöntemi en sık kullanılan yöntemlerden biridir. Katyonik mordant ya da asidik boyarmaddeleri gidermede oldukça etkilidir. Performansı karbona ve atık suyun karakteristiğine bağlıdır. Aktif karbon yöntemi pahalıdır ancak aktive edilerek tekrar kullanılabilir. Biyoloji arıtıcıların etki etmediği kimyasallar için kullanılmaktadır [17].

1.2.3 Biyolojik Yöntemler

Biyolojik arıtım yöntemleri fiziksel ve kimyasal arıtım yöntemlerine nazaran çok daha ekonomik bir yöntemdir. Fiziksel ve kimyasal yöntemler her boyarmadde için kullanılamazlar ve uygulama alanları sınırlıdır. Biyolojik arıtım, kimyasal ve fiziksel arıtıma göre daha az çamur üretir, maliyeti daha düşüktür, alıcı ortamlar için zararlı yan ürünler oluşturmaz bu nedenle tekstil endüstrisi atık suları için ideal bir

arıtım yöntemidir. Biyolojik arıtım aerobik veya anaerobik şartlarda gerçekleştirilir [14].

1.2.3.1 Anaerobik Yöntem

Anaerobik arıtım oksijensiz ortamda gerçekleşen arıttır. Organik maddelerin oksijensiz ortamda metan, karbondioksit ve suya dönüştürüldüğü bir süreçtir. Boyarmaddelerle yapılan anaerobik parçalanma çalışmaları, özellikle aerobik ortamda parçalanamayan suda çözünebilir reaktif azo boyarmaddeler üzerinde yoğunlaşmıştır.

Çift bağı azot halkasına bağı bu boyarmaddelerin aerobik proseslerle arıtılabilirliğinin mümkün olmaması anaerobik arıtmanın ön arıtma olarak kullanılmasını gerektirmektedir. Anaerobik olarak renk gideriminin gerçekleşebilmesi için ilave karbon kaynağına ihtiyaç vardır. Anaerobik sistemin büyük bir avantajı biyogaz üretimidir. Oluşan biyogaz ısı ve güç kaynağı olarak yeniden kullanılabilir ve enerji maliyetini düşürür. Birçok atık su çeşidi için uygulanabilmesi, enerji gerektirmemesi, hatta fazladan enerji üretebilmesi, düşük teknolojiyle çalışabilmesi ve maliyetinin düşük olması gibi avantajlara sahiptir [5,16]. Çıkış sularının ozonlandıktan sonra tekrar kullanılabilmesi arıtım tesisi için kimyasal madde ve su tasarrufu sağlamaktadır [17].

1.2.3.2 Aerobik Yöntem

Endüstriyel atık suların arıtılmasında yaygın olarak kullanılan konvansiyonel aktif çamur sistemidir. Aktif çamur sistemi dengeleme, havalandırma, çöktürme ve dezenfeksiyon süreçlerinden oluşur. Aktif çamur kolloidal çözünmüş maddelerin mikroorganizmalar ile çökebilir biyolojik floklara dönüştürüldüğü süreçtir ve bu süreçte havalandırma havuzu içindeki mikroorganizmaların askıda tutulması esastır.

Biyolojik arıtma ünitesi, havalandırma sonucu organik maddelerin askıda büyüyen mikroorganizmalar tarafından parçalanması prensibiyle çalışır. Tekstil endüstrisindeki bazı boyarmadde bileşikleri ya biyolojik olarak çok zor

indirgenebilmekte ya da inert kalmaktadır. Suda iyi çözünen bazik, direkt ve bazı azo boyarmadde atıklarının olması durumunda mikroorganizmalar bu tür bileşikleri biyolojik olarak indirgeyememekle birlikte boyarmaddenin bir kısmını adsorbe ederek atık suyun rengini almakta ve renk giderimi sağlanabilmektedir [5].

Odunsu bitkilerde bulunan, yapısal polimer lignini parçalayabilen ve ksenobiyotik maddelerin parçalanması amaçlı çalışmalarda en yaygın olarak kullanılan beyaz çürükçül küf *Phanerochaete chrysosporium*' un, lignin peroksidaz, manganzeze bağlı peroksidaz gibi enzimleri kullanarak boyarmaddeleri parçalayabildiği bilinmektedir [16]. Ancak beyaz küflerin, ligninolitik enzimlerinin düşük pH değerlerinde (pH 4,5-5) aktif olması ve atık sularda bulunma ihtimali düşük olan tiamin ile veratril maddelerine ihtiyaç duyması gibi dezavantajları vardır [19].

1.3 Beyaz Çürükçül Funguslar

Saprofit funguslar, doğal olarak meydana gelmiş lignin gibi bitkisel kökenli büyük moleküllerin neredeyse tümünü parçalayabilen çok sayıda hücre dışı enzim üretirler. Bu özelliklerinden dolayı, biyojeokimyasal döngülerin gerçekleşmesinde önemli rol oynarlar [20]. Az da olsa bu tip enzimleri oluşturan bakteriler de vardır. Odunun yapısında bulunan maddeleri parçalama özelliğine göre funguslar ikiye ayrılır. Kahverengi çürükçüller, selüloz ve hemiselülozu parçalarken lignine dokunmazlar, böylelikle odun daha koyu bir renk alır. Kahverengi çürükçüllere *Serpula lacrymans*, *Laetiporus portentosus* ve *Fomitopsis lilacino-gilva* örnek olarak verilebilir. Beyaz çürükçüller ise hücre çeperini oluşturan selüloz ve hemiselülozu gibi polisakkaritlerin yanında lignini de parçalarlar. Lignin uzaklaştırıldığı için odun daha acık bir renk alır [20]. Beyaz çürükçül funguslara *Chrysosporium lignorum*, *Trametes versicolor*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Stereum hirsutum*, *Pleurotus ostreatus*, *Hebeloma crustuliniform*, ve *Armillaria luteobubalina*, *Schizophyllum commune* ve *Daldinia concentrica* örnek olarak verilebilir. Beyaz çürükçül funguslar, organik moleküller üzerinde rol oynayan çeşitli enzimleri üretirler. Özgül olmayan bu enzimler parçalanmaya karşı dirençli olan kirleticilerin yıkımında etkin

olarak kullanılabilirler. Lignin, kâğıt endüstrisinde de istenmeyen bir bileşiktir.

Lignin bu endüstride pahalı ve çevreye zarar veren kimyasal bir işleme uzaklaştırılmaktadır [21]. Bu nedenle beyaz çürükçül funguslar kâğıt endüstrisinde kullanım alanı bulmaktadırlar. Beyaz çürükçül funguslar, biyoteknolojide pestisit, trinitrotoluen (TNT) içeren atık su boşaltımları ve kâğıt endüstrisi tarafından üretilen klorlanmış lignin atıkları gibi çeşitli kompleks fenol içeren bileşikler parçalamakta da kullanılır [22]. Bu fungusların lakkaz, lignin peroksidaz ve mangan peroksidaz gibi sekonder metabolitleri, polisiklik aromatikleri, poliklorlanmış bifenil ve dioksinleri, DDT'yi ve birçok klorlu fenolik bileşikler parçalayabilir [23], tekstil boyarmaddelerinin renk gideriminde kullanılabilir [24].

Beyaz çürükçül funguslar, fenol oksidazlar ve peroksidazlar dışında baksa enzimler de salgırlar. Bu fungusların sahip olduğu enzimleri üçe ayırmak mümkündür. İlki oduna atak yapan enzimlerdir. Bunlar hem karbonhidrat bileşenlerinin (selüloz, hemiselülozu) üzerinde hem de lignin üzerinde rol oynarlar. İkinci grup, süperoksit dismutaz ve glioksal oksidazı içerir. Bunlar birinci gruptaki enzimlerle birlikte çalışır ancak tek başına odunu etkilemezler. Üçüncü grup ise glikoz 1-oksidad, aril alkol oksidad, piranoz 2-oksidad, sellobioz dehidrogenazı kapsar. Bu enzimlerin hepsi lignin degradasyonunda rol oynar [25].

Beyaz çürükçül mantarların ve bu mantarlardan saflaştırılan enzimlerin kullanıldığı biyoteknolojik çalışmalara pek çok örnek vermek mümkündür. Bunlar arasında;

1. Enzim üretiminde kullanımı
2. Ağır metallerin biyolojik adsorpsiyonunda kullanımı
3. Boyarmaddelerin ve tekstil fabrikası atık sularının renginin gideriminde kullanımı
4. Kâğıt ve kâğıt hamuru üreten endüstrilerde ligninin parçalanmasında kullanımı
5. Zeytinyağı fabrikası atık suyunun arıtımında/renginin gideriminde kullanımı
6. Mikrobiyal protein kaynağı olarak kullanımı
7. Hormon üretiminde kullanımı
8. Pestisid ve herbisid 'lerin biyolojik yıkımında kullanımı

9. Kâğıt, tekstil ve petrokimya endüstrilerinden alıcı ortama bırakılan endüstriyel atıkların toksisitesinin azaltılmasında kullanımı
10. Anti-kanser ilaçlarının üretiminde katalizör olarak kullanımı
11. Son zamanlarda kozmetik ve dermatolojik ürünlerin hazırlanmasında kullanımı
12. Nanobiyoteknoloji alanında biosensör olarak kullanımı.

1.4 Beyaz Çürükçül Funguslarla Yapılan Çalışmalar

Amaral ve ark. (2004), tarafından yapılan çalışmalarda *Trametes versicolor*'ın 3 adet sentetik tekstil boyarmaddesinin (R.Orange 4, R.Red 23 ve R.Black 5) eşit miktarda karışımıyla oluşturulan sentetik atık su ve gerçek tekstil atık suyundaki renk giderimi araştırılmıştır. Glikoz'un varlığında ve yokluğunda sürdürülen bu çalışmalarda farklı boyarmadde konsantrasyonları (0, 50, 100 ve 300 mg/L) test edilmiştir. 10 günlük süre sonunda glikozun varlığında ve pH 4,5 iken 50-100 mg/L boyarmadde konsantrasyonlarında rengin %97'si; 300 mg/L boyarmadde konsantrasyonunda %87'si giderilmiştir. 42 kez sulandırılmış gerçek tekstil atık suyunda ise 50 mg/L boyarmadde konsantrasyonunda renk giderimi %92 olarak saptanmıştır [26].

Yeşilada ve ark. (2003), tarafından yürütülen bu çalışmada başlangıç pH'ı, boyarmadde konsantrasyonları, pellet miktarı, sıcaklık ve çalkalama gibi çeşitli koşulların *Funalia trogii*'nin renk giderimi aktivitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Başlangıç pH'sı hariç bütün durumların *F.trogii*'nin renk giderim aktivitesi üzerine önemli olduğu saptanmıştır. *F.trogii* pelletlerinin renk aktivitesinin uzunluğu tekrarlı-kesikli çalışmalarda ayrıca araştırılmıştır. 13-132 mg/L gibi düşük boyarmadde konsantrasyonlarında paletlerin renk giderim verimi 5 gün için yüksek ve karalı kalmıştır. Boyarmadde konsantrasyonunun 264 mg/L olduğu durumlarda tekrarlı-kesikli çalışmalarında ilk 3. gününde yaklaşık %96 oranında yüksek renk giderim verimi elde edilmiştir. Fakat renk giderim verimi çalışmanın 5. gününün sonunda düşmüştür. Pellet miktarının değiştirilmesi renk giderim yüzdesini arttırdığı gözlenmiştir. *F.trogii*'nin renk giderim aktivitesini uzatmak ve verimini arttırmak için test ortamına MnSO₄, NH₄Cl, glikoz ve peynir altı suyu ilave edilmiştir.

P.chryosporium'un azo ve heterosiklik boyarmadde Orange II, Tropaeolin O, Congo Red, Azure B boyarmaddelerini biyolojik olarak yıktığı gösterilmiştir [24].

1.5 İmmobilizasyon

İmmobilizasyon (tutuklama), enzimlerin katalitik aktivitelerini kaybetmeden sürekli ve defalarca kullanımlarını sağlamak üzere, fiziksel veya kimyasal olarak bir destek materyali üzerine tutturulması olarak tanımlanır.

Endüstriyel ve analitik proseslerin çoğu, sulu ortamda gerçekleşir. Bu proseslerde enzimler, substrat çözeltisi ile karıştırılır ve ortamda ürün elde edildikten sonra enzimler ekonomik olarak geri kazanılamazlar. Ayrıca sürekli üretim proseslerinde serbest enzimler kullanılamazlar. Enzimlerin sadece bir kere kullanılmaları ve pahalı olmaları nedeniyle, bu proseslerin maliyetleri oldukça yüksektir. Bu nedenle enzimler suda çözünmeyen bir desteğe immobilize edilerek hem defalarca kullanılabilen hem de sürekli proseslere uygulanabilmektedir. Böylece, önemli miktarda ekonomik kazanç elde edilmektedir. Günümüzde çok sayıda immobilize enzim endüstride kullanılmaktadır [27].

Genel olarak immobilizasyon uygulamaları enzim sistemleri haricinde, uygun destek materyallerine ilaç, protein, mikroorganizma, bitki ve hayvan hücreleri, biyosensör ve biyoreaktör uygulamaları ve kontrollü ilaç salınım sistemlerinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Tarihte ilk enzim immobilizasyonu 1916 yılında Nelson ve Grifin tarafından adsorpsiyon yöntemiyle yapılmıştır. Nelson ve Grifin sakkarozu hidroliz etmek için maya invertazını mangal kömürüne adsorbe etmişlerdir. Immobilize enzim sistemlerinin pratik olarak ilk kullanımı ise Grobhofer ve Scheilth (1954) tarafından yapılmıştır. Araştırmalarında; karboksipeptidaz, diastaz, pepsin ve ribonükleaz enzimlerini poliaminostiren reçinesine kovalent bağlanma ile immobilize etmişler ve bu immobilize enzim türevlerinin kinetik parametrelerini incelemişlerdir. Daha sonra da immobilizasyon çalışmaları dünyanın her tarafında yaygınlaşmış ve çeşitli enzimler değişik amaçlarla immobilize edilmiştir [28].

1.5.1 Tutuklama (immobilizasyon) Yöntemleri

Tutuklama yöntemleri 5 grupta incelenir.

- 1) Yüzeye Tutunma
- 2) Kovalent Bağlama
- 3) Çapraz Bağlama
- 4) Mikrokapsülleme
- 5) İnert bir Desteğe Tutuklama

Yüzeye Tutunma

Destek maddesi olarak sentetik veya biyolojik kökenli organik maddeler kullanılır. Bağlanma zayıf ve birim hacimdeki katalitik kapasite ile sınırlıdır. Fakat biyokatalizleyici hazırlamadaki kolaylık ve zehirleyici kimyasal maddelerin olmaması yöntemin avantajlı yönleridir. Yüzeye tutunmayı etkileyen başlıca faktörler; tutucu özellikleri, mikroorganizmanın özellikleri, çevre özellikleridir.

Kovalent Bağlama

Hücreler ile destek maddeleri arasında tersinmez kovalent bağ oluşur. Daha çok enzimlerin tutuklanmasında kullanılan bir yöntemdir. Kovalent bağlar, adsorbsiyon kuvvetlerinden daha güçlü ve daha karardır. Hücre yüzeyindeki karboksil gruplarını aktifleştirmek için ortama karboimit gibi bazı kimyasal maddeler eklenir. Bu reaktif grup içeren maddeler zehirli maddedir ve enzim aktivitesinin azalmasına neden olur.

Çapraz Bağlama

Bağlanma tepkimesi tersinmezdir. Fiziksel ve kimyasal olmak üzere iki tür çapraz bağlama vardır. Kimyasal çapraz bağlamada hücreler birbirine aldehit ve amin gibi çok fonksiyonlu maddeler ile bağlanırlar. Bu maddelerin zehirli olmaları yöntemin kararlılığını sınırlar. Fiziksel çapraz bağlama ise çöktürme ve küçük boyutlarda tabakalaşma ile yapılır.

Mikrokapsülleme

Bu yöntemde hücreler yarı geçirgen bir zarıdan oluşan mikro kapsüller içine tutuklanır. Sistemin temeli zarın seçiciliğine dayanır. Zarın gözenek çapından büyük olan hücre molekülleri zar dışına yayılamazlar. Bu yöntem ancak küçük molekül ağırlıklı ürün eldesinde kullanılabilir. Mikro kapsüller genellikle küreseldir.

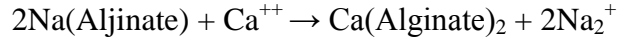
İnert Bir Desteğe Tutuklama (İmmobilizasyon)

En çok kullanılan tutuklama yöntemlerinden biridir. Hücreler bir jel içine çeşitli yöntemlerle hapsedilirler poliakrilamid, metal hidroksitler, agar, kollajen, aljinat, karregen gibi maddeler ile jel oluşturulur. Jel oluşumu iyonik yük değişimi, çöktürme, kovalent veya çapraz bağlama ile sağlanır.

1.5.2 Tutuklamanın (İmmobilizasyon) Mikroorganizmalara Etkisi

Eşit miktarda tutuklanmış ve serbest mikroorganizmanın aktiviteleri karşılaştırıldığında, hücre aktivitesinin serbest hücreden daha büyük veya daha küçük olabileceği görülmüştür. Aktivite azalmasının nedeni, a) tutuklamada kullanılan bazı maddelerin zehir etkisi, b) heterojen sistemlerdeki difüzyon kısıtlamalarıdır. Aktivite artışının nedeni ise; tek enzim içeren sistemlerde geçirgenliğin artışı, çok enzim içeren sistemlerde ise protein sentezi veya hücre büyümesidir. Bazı araştırmacılar ise aktivitenin ısı muamelesi, özel iyonlar, yüzey aktif maddeler ve bazı organik çözücüler ile artırılabilceğini tespit etmiştir. Bu artış hücre duvarlarının kısmen veya tamamen kırılmasıyla açıklanabilir. Tutuklama sonrası yarı ömrün 10-20 kat artması mümkündür. Tutuklanmış *E.coli* hücrelerinin oksijen kullanımı ve agarlı besiyerinde üremesi, canlılığını kanıtlayan bulgulardır. Deaktivite olmuş tutuklanmış hücrelerin zengin besi ortamında bekletilmekle tekrar aktifleştikleri gözlenmiştir. Tutuklanıp depo edilmiş hücrelerinde tutuklandıktan sonra bozulmadıkları elektron mikroskobu ile yapılan araştırmalar sonucu bulunmuştur. Tutuklandıktan sonra hücrelerin canlılıklarını korudukları da saptanmıştır. Aljinik asit 1881 yılında, Stanford tarafından kahverengi alglerden ekstraksiyonla elde edilmiştir. Bu alglerdeki aljinik asit içerdiği % 20-40 arasında değişmekte olup, hücre zarının temel bileşenlerini

oluşturur. Sodyum, kalsiyum ve magnezyum tuzları şeklinde bulunan aljinatlar aljinik asitin tuzlarıdır.



Aljinattın diğer materyallerden daha çok tercih edilmesinin nedenlerine ek olarak;

- biyoparçalanabilirlik
- hidrofilik özellik
- karboksilik grup içermesi
- doğal kökenli olmasını gösterebiliriz [29].

1.5.3 İmmobilize Hücrelerle Boyarmadde Giderimi

Raghukumar ve arkadaşları 2004 yılında yayınladıkları bir çalışmada, bataklık bölgeden izole edilen beyaz çürükçül funguslardan *Flavodon flavus*'u poliüretan köpük taşıyıcı üzerine immobilize edip, immobilize hücre ile polisiklik aromatik hidrokarbon ailesi üyelerinden olan benzo(a) piren'i beş gün içinde %68 biyodegradasyona uğrattığını tespit etmişlerdir [30]. İmmobilizasyonla ilgili bir diğer çalışmada, en iyi lakkaz üretimi amacıyla, *Trametes hirsuta*'nın için aljinat boncukları, poliüretan köpük, naylon sünger ve paslanmaz çelik sünger üzerlerine immobilizasyonu test edilmiştir. İnkübasyonun sekizinci gününden sonra paslanmaz çelik sünger üzerine immobilize olmuş, *Trametes hirsuta*'nın en yüksek lakkaz aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir [31].

Wu ve Yu 2007 yılında *Phanerochaete chrysosporium*'un farklı taşıyıcı matrisler (Ca-aljinat, Ca-aljinat polivinil alkol ve Pektin) üzerine immobilizasyonunu araştırıp, Pektin'in çok düşük mekanik dayanıklığa sahip olmasına karşın, Ca-aljinat'ın oldukça yüksek mekanik dayanıklığa sahip olduğu bulunmuştur [32].

2. MATERYAL METOT

2.1 Materyaller

2.1.1 Cihazlar

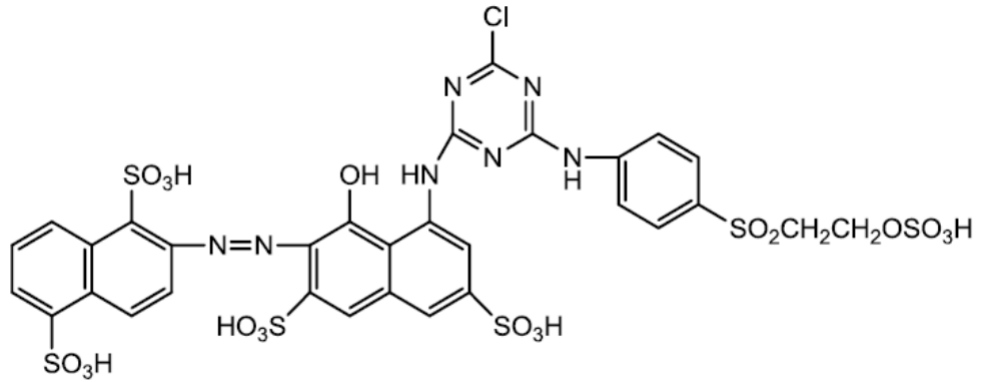
Deneysel çalışmalarda;

- SCHIMADZU UV 2100 UV/Visible spektrofotometre
- PERKİN ELMER SPEKTRUM BX 1000 FT-IR sistem
- Santrifüj (Nüve NF048)
- Otoklav (Nüve OT40L)
- pH metre (HANNA instruments HI221)
- Etüv (Nüve FN 400)
- Isıtmalı Karıştırıcı (Wisestir MSH-20A) kullanılmıştır.

2.1.2 Kimyasallar

Kullanılan kimyasallar ve substratlar Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI, USA) ve Sigma (St.Loui, MO, USA)'dan sağlandı.

2.1.3 Çalışmada Kullanılan Boyarmadde



Şekil 2.1 Everzol Red 3BS kimyasal yapısı

2.1.4 Destek Materyalleri

Kum olarak Denizli Bölgesinden temin edilen inşaat kumu kullanıldı. Kullanım öncesinde modifikasyona uğratıldı. Jelâtin kullanılacak boyutlara getirildi. Amberlite XAD-7 ve Kaolin Sigma kalitede kullanıldı (St.Loui, MO, USA). Kaliks[4]aren Pamukkale Üniversitesi Kimya Bölümü Organik Kimya Laboratuvarında sentezlenmiştir.

2.1.4.1 p-tert-bütil kaliks[4]aren Sentezi

Üç boyunlu balonun içine 5 g p-tertiyerbutilfenol, 12,4 mL %37'lik formaldehit çözeltisi ve 0,24 g sodyum hidroksit ilave edildi ve manyetik karıştırıcı ile 30 dk oda sıcaklığında üç boyunlu balonun ağızları açık şekilde karıştırıldı. Daha sonra 1 saat 100-120°C'de ısıtıldı. Reaksiyon karışımı ilk başta renksiz olmasına rağmen 1 saat sonunda açık sarı olan renk daha da koyulaştı ve reaksiyon karışımının köpürdüğü gözlemlendi. Köpüren kahverengi sarı olan reaksiyon karışımı manyetik ısıtıcıdan çekildi ve oda sıcaklığına kadar soğutuldu. Daha sonra üzerine 170 mL ılık difenil eter konularak çözünmesi için 1 saat karıştırıldı. Reaksiyon karışımının bulunduğu üç boyunlu balona bir geri soğutucu takıldı. Yine 110-120 °C'de ısıtmaya ve karıştırılmaya başlandı. Reaksiyon karışımı kahverengi siyah renge döndükten sonra oda sıcaklığına soğutuldu ve üzerine 300 mL etil asetat ilave edildi ve 30 dk karıştırıldı. Daha sonra süzüldü. Filtre edilen materyal iki kere 20 mL etil asetatla, bir kere 40 mL asetik asitle, iki kere 20 mL suyla ve iki kere 10 mL asetonla yıkandı.

2.1.4.2 Kaliks[4]aren Sentezi

p-tert-butilkaliks[4]aren, kuru toluende (675 mL) çözülür ve üzerine fenol (32 g; 340 mmol) ilave edilir. AlCl₃ (76 g; 570 mmol) 10 dakika ara ile üç kısımda ilave edilir. Son AlCl₃ ilavesinden sonra 4 saat azot atmosferinde oda sıcaklığında karıştırılır. Daha sonra buz banyosuna alınır ve üzerine 0,2 M HCl ilave edilir. Organik ve sulu faz ayrılır ve nötralleştirilir. Organik faz MgSO₄ ile kurutulur. oluşan sarı renkli çözelti distillenir ve üzerine 500 mL metanol ilave edilir. Metanol

ilavesi ile çöken bej renkli madde süzülür, kurutulur. Kloroform–metanol sisteminde kristallendirilir ve beyaz renkli kristaller halinde Kaliks[4]aren elde edilir.

2.1.5 Mikroorganizma

Çalışmada kullanılan beyaz çürükçül fungus kültürleri; *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Coprinus plicatilis* Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Bölümünden temin edildi. Fungusların makroskopik ve mikroskopik özelliklerine göre tür tanımlaması Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Anabilim Dalında Y. Mikrobiyolog Tekin Gezer tarafından yapıldı.

2.2 Ortamlar ve Analitik Yöntemler

2.2.1 Kültür Ortamları

Subtropikal beyaz çürükçül funguslardan, *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Coprinus plicatilis* % 2 (w/v) malt ekstrakt içeren ortamlarda 4°C’de saklandı ve 26°C’de 3 gün aktive edildi. Miseller steril % 0,9 NaCl ile 100 mL % 2 malt ekstrakt broth (pH 4,5) içeren 250 mL’lik erlenlere aktarıldı ve 4 gün 26°C ve 175 rpm’de orbital çalkalayıcıda inkübe edildi. Oluşan pelletler, 10 g/L glikoz, 1,0 g/L NH₄H₂PO₄, 0,05g/L MgSO₄.7H₂O, 0,01 g/L CaCl₂, 0,025 g/L maya özütü içeren lakkaz üretim ortamına aktarıldı [33].

2.2.2 Örnek Alma

Günlük periyotlarla steril ortamlarda 1 mL örnek alınarak boyarmadde renk giderimi spektrofotometrik olarak izlendi.

2.3 Serbest Hücreler ile Everzol Red 3BS Giderimi

Kültür ortamları kullanılarak Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyolojik giderimi çalışıldı. Enzim üretim (50 mL) ortamına 100 mg/L, 75 mg/L, 50 mg/L, 25

mg/L, 10 mg/L derişimlerdeki Everzol Red 3BS ilave edilip (Pazarlioglu vd 2005), 26°C’de 175 rpm’de inkübe edildi. Günlük periyotlarla ortamlardan örnekler alındı.

2.4 Ölü Hücreler ile Everzol Red 3BS Biyosorpsiyonu

Coprinus plicatilis % 2 (w/v) malt ekstrakt agar 26°C’de 4 gün aktive edildi. *Coprinus plicatilis* otoklavlandı ve lakkaz enzim ortamına dekante edildi. Belirlenen boyarmadde miktarları ilave edilerek farklı konsantrasyonlardaki boyarmaddenin absorbands değerleri UV spektrofotometresinde (425nm) okuma yapıldı.

2.5 Everzol Red 3BS Biyodegradasyonu Üzerine Aminoasit Etkisi

Arginin ve aspartik asit ve glisin aminoasitlerinin Everzol Red 3BS Biyodegradasyonu üzerine etkisi araştırıldı. Lakkaz enzim ortamına 10-100 mg/L farklı konsantrasyonlardaki boyarmadde ve steril edilmiş %0,1, %0,2 ve %0,3 konsantrasyonlarında aminoasit ilave edildi. UV spektrofotometrede (425nm) ölçümler yapıldı.

2.6 Taşıyıcı Materyalin Hazırlanması

Amberlite XAD-7 (20-60 Mesh), Kaolin, Kum, kaliks[4]aren ve p-tert-bütikaliks[4]aren taşıyıcıları otoklavlanarak kullanıldı. Ponza (16-20 Mesh) ve kum 3 N HCl ile yıkandı. Ardından sulu fazda Cl⁻ iyonları kalmayınca kadar saf su ile yıkandı. İkinci adımda taşıyıcı 0,5 M NaOH ile muamele edildi, saf su ile yıkandı ve etüvde kurutuldu. Kurutulan kum 900 °C’lik fırında 1 saat bekletildi.

2.7 *Coprinus plicatilis*'in İmmobilizasyonu

Kaolin, kum, Amberlite XAD-7 (20-60 Mesh), kaliks[4]aren ve ter-kaliks[4]aren destek materyalleri otoklavlanarak kullanıldı. 10 g/L glikoz, 1,0 g/L $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 0,05g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01 g/L CaCl_2 , 0,025 g/L maya özütü içeren lakkaz enzim ortamı 5 ayrı erlene 50' şer ml konularak 20 dk otoklavlandı. 0,5 g glikoz ilavesinden sonra her erlene *Coprinus plicatilis* pelletleri ilave edildi. Hücrelerin taşıyıcılar üzerinde adsorpsiyonları için optimum koşullar belirlendi. İmmobilizasyonun başlangıcından itibaren belirli aralıklarla ortamdan alınan örneklerin OD560 (560 nm'deki optik yoğunluk) değerleri okunarak tutunmayan hücre yoğunluğu belirlendi. Amberlite XAD-7 ile 21 saatte, kaolinle 22 saatte, kum ile 19 saatte, kaliks[4]aren ile ve p-tert-bütikaliks[4]aren 3,5 saatte hücre immobilize edildi.

2.7.1 Jelâtin ile *Coprinus plicatilis*'in İmmobilizasyonu

%20'lik jelâtin solüsyonu hazırlandı. 10 ml %20'lik jelâtin solüsyonu ve 10 ml *Coprinus plicatilis* hücresi karıştırıldı. Sıcaklık 35 °C ye geldiğinde karışım düz zemine döküldü ve 24 saat boyunca 4 °C de buzdolabında bekletildi. Sodyum asetat tamponu hazırlandı. Jelâtin ile immobilize olmuş olan *Coprinus plicatilis* 24 saat sonunda, asetat tamponuyla ve saf su ile 15 dk yıkandı. %70'lik invert şeker içinde 4°C de 2 saat bekletildi.

2.8 İmmobilize *Coprinus plicatilis* ile E. Red 3BS'in Biyodegradasyonu

Amberlite XAD-7, kaolin, jelâtin, kum, kaliks[4]aren ve ter-kaliks[4]aren ile immobilize *Coprinus plicatilis*, lakkaz enzim ortamına dekante edildi. 0,5 g glikoz ve belirlenen boyarmadde miktarları ilave edilerek farklı konsantrasyonlardaki absorbans değerleri UV spektrofotometrede (425 nm) ölçümler yapıldı.

2.9 FT-IR analizi

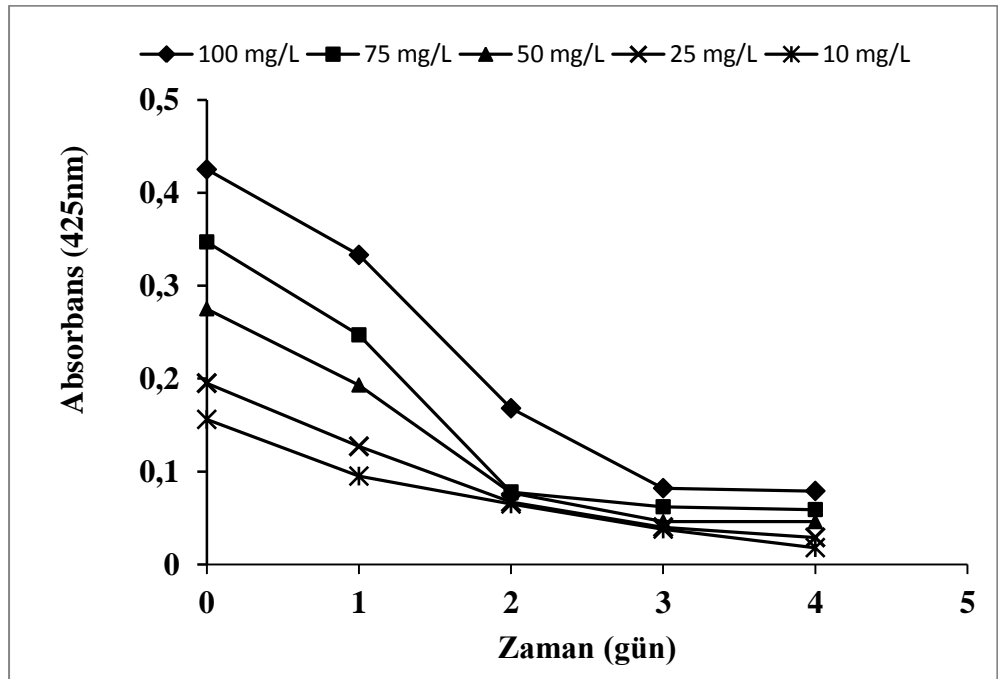
Perkin Elmer spektrometre BX FT-IR sistemi kullanılarak saf boyarmaddenin ve son gün örneklerinin FT-IR spektrumları alındı.

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1 Everzol Red 3BS Yıkımı için Uygun Organizmanın Belirlenmesi

3.1.1 *Trametes versicolor* ile Everzol Red 3BS Biyodegradasyonu

T. versicolor'in glikoz içeren ortamlarda farklı konsantrasyonlardaki (100-10 mg/L) Everzol Red 3BS boyarmaddesini degrades edebilme yeteneği araştırıldı. 4 gün periyodik olarak alınan örneklerin konsantrasyonu Uv spektrofotometre ile ölçüldü. *T. versicolor* tarafından 10 mg/L konsantrasyonundaki boyarmadde 4 günde %88 oranında giderildi.



Şekil 3.1 *T. versicolor* ile Everzol red 3BS'in biyodegradasyonu

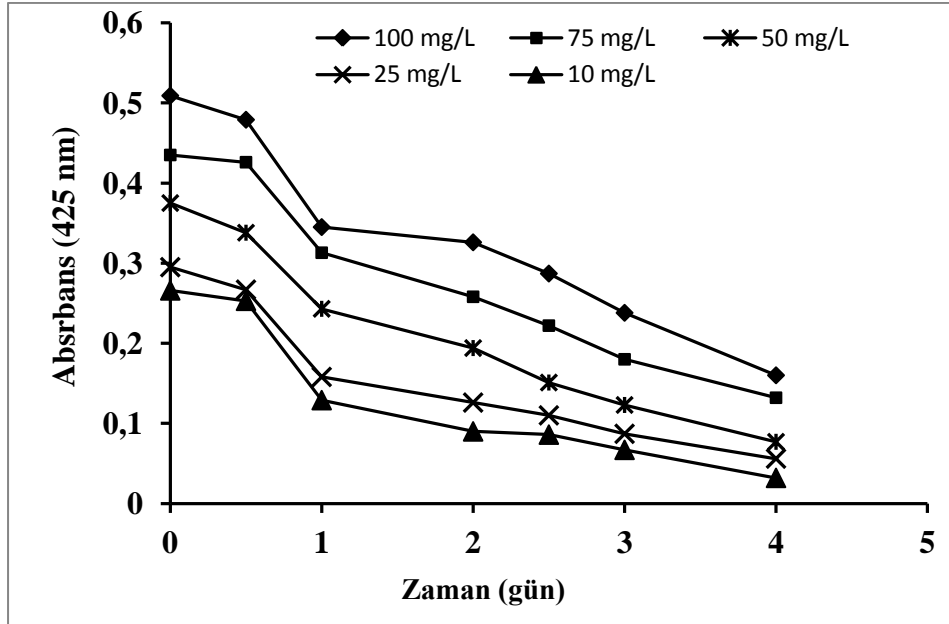
Farklı konsantrasyonlardaki boyarmaddenin biyodegradasyon ve biyosorpsiyon yüzdeleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin % biyodegradasyon oranları

	Boyarmadde konsantrasyonu (mg/L)				
	100	75	50	25	10
% Giderim	81,41	82,99	83,27	85,13	88,46
% Biyosorpsiyon	53,52	47,04	31,96	46,15	44,68
% Biyodegradasyon	27,89	35,95	51,31	38,98	43,73

3.1.2 *Pleurotus ostreatus* ile Everzol Red 3BS Biyodegradasyonu

P. ostreatus glikoz içeren ortamlarda farklı konsantrasyonlardaki (100-10 mg/L) Everzol Red 3BS boyarmaddesini degrades edebilme yeteneği araştırıldı. 5 gün periyodik olarak alınan örneklerin konsantrasyonu Uv spektrofotometre ile ölçüldü. *P. ostreatus* tarafından 10 mg/L konsantrasyonundaki boyarmadde 5 günde yaklaşık %88 oranında giderildi.



Şekil 3.2 *P. ostreatus* ile Everzol red 3BS'in biyodegradasyonu

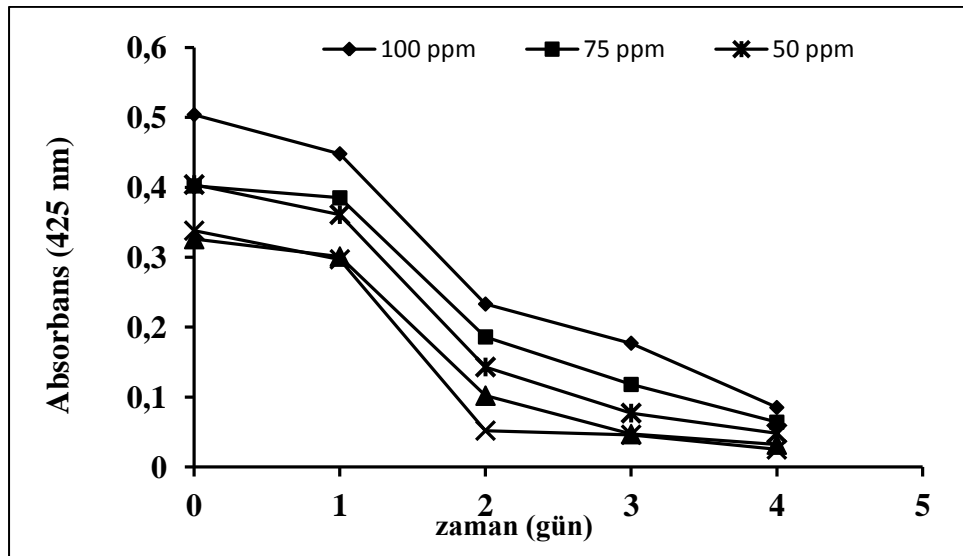
Farklı konsantrasyonlardaki boyarmaddenin biyodegradasyon ve biyosorpsiyon yüzdeleri Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin % biyodegradasyon oranları

	Boyarmadde konsantrasyonu (mg/L)				
	100	75	50	25	10
% Giderim	68,57	69,65	79,47	81,02	87,97
% Biyosorpsiyon	32,05	35,64	42,79	49,34	42,25
% Biyodegradasyon	36,52	34,01	36,68	31,68	45,72

3.1.3 *Coprinus plicatilis* ile Everzol Red 3BS Biyodegradasyonu

C. plicatilis glikoz içeren ortamlarda farklı konsantrasyonlardaki (100-10 mg/L) Everzol Red 3BS boyarmaddesini degrede edebilme yeteneği araştırıldı. 4 gün periyodik olarak alınan örneklerin konsantrasyonu Uv spektrofotometre ile ölçüldü. *P. ostreatus* tarafından 10 mg/L konsantrasyonundaki boyarmadde 4 günde yaklaşık %94 oranında giderildi.



Şekil 3.3 *C. plicatilis* ile Everzol red 3BS’in biyodegradasyonu

Farklı konsantrasyonlardaki boyarmaddenin biyodegradasyon ve biyosorpsiyon yüzdeleri Tablo 3.3’de verilmiştir.

Tablo 3.3 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin % biyodegradasyon oranları

	Boyarmadde konsantrasyonu (mg/L)				
	100	75	50	25	10
% Giderim	83,13	84,08	88,12	90,18	92,60
% Biyosorpsiyon	13,82	10,66	7,87	8,38	7,03
% Biyodegradasyon	69,31	73,42	80,25	81,8	85,57

Farklı funguslara ilişkin yıkım yüzdeleri Tablo 3.4’de verildi. En iyi biyolojik giderim *Coprinus plicatilis* suşunda gözlemlendi. Kullanılan diğer funguslar ile karşılaştırıldığında, *Coprinus plicatilis*’in diğer funguslara göre yıkımdaki üstünlüğü muhtemelen daha genç olması ile açıklanabilir.

Tablo 3.4 Farklı funguslarla Everzol red 3BS yıkım yüzdeleri

Funguslar	% Yıkım (10mg/L)
<i>T. versicolor</i>	88,46
<i>P. ostreatus</i>	87,97
<i>C. plicatilis</i>	92,6

3.2 Everzol Red 3BS Biyodegradasyonu Üzerine Aminoasit Etkisi

3.2.1 Everzol Red Biyodegradasyonu Üzerine Glisin Etkisi

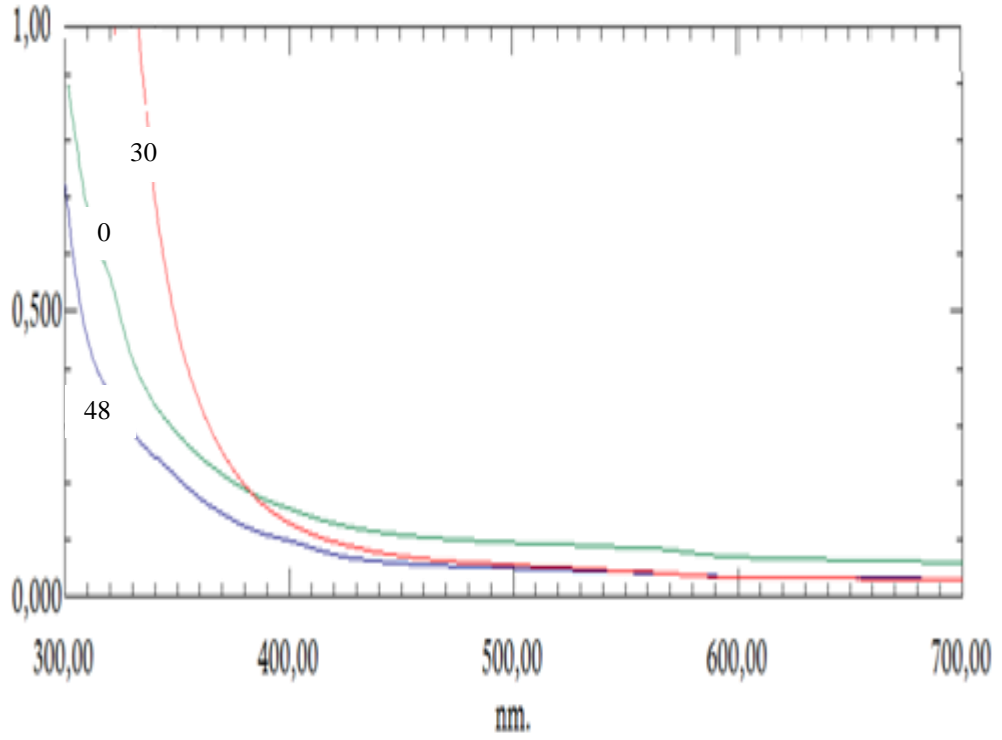
Steril edilen lakkaz enzim ortamlarına;

-Farklı konsantrasyonlarda (100-10 mg/L) Everzol red 3BS

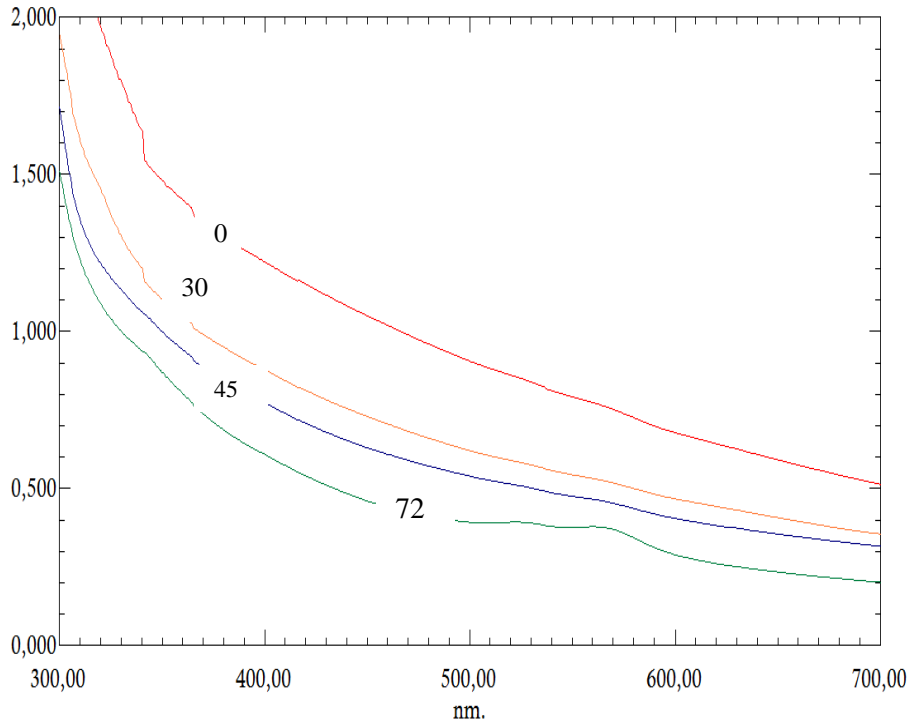
-Farklı konsantrasyonlarda (%0,1-0,5) glisin ilave edilip, degradasyona glisin aminoasidinin etkisi araştırılmıştır. Biosorpsiyon çalışması yapılarak boyarmaddenin ne kadarının hücreye absorplandığı kontrol edilmiştir. Bulunan sonuçlar Tablo 3.5’de verilmiştir.

Tablo 3.5 Everzol Red 3BS % Biyodegradasyon Oranları (Glisin Etkisi)

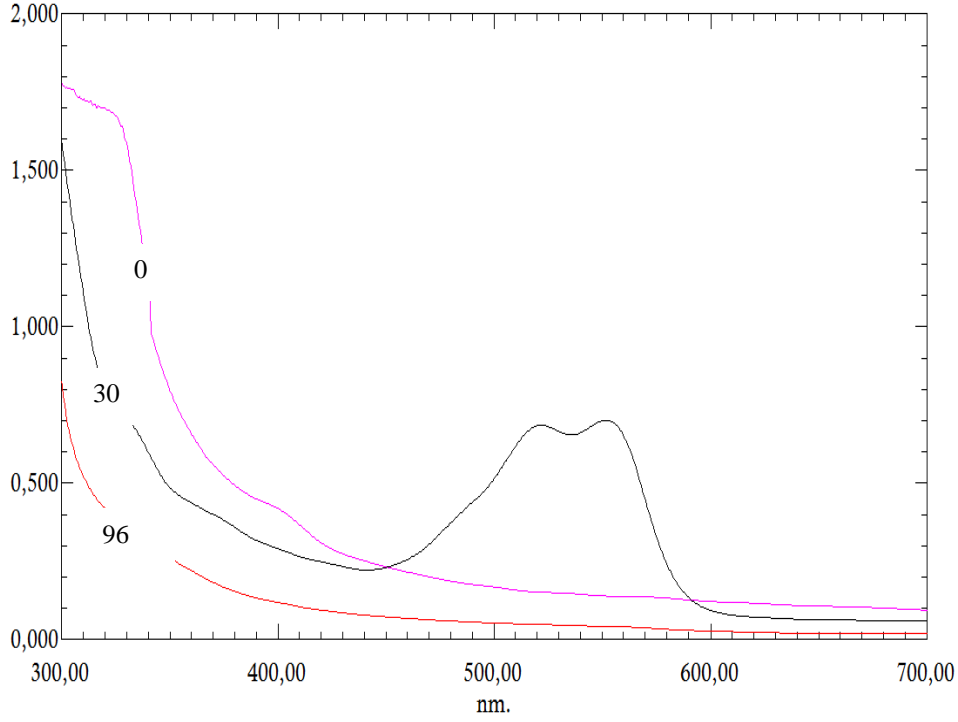
	% Glisin	Boyarmadde konsantrasyonu (mg/L)				
		100	75	50	25	10
%Yıkım		21,27	22,37	42,21	62,09	66,66
%Biyosorpsiyon	%0,1	11,07	11,10	26,09	24,48	14,72
%Biyodegradasyon		10,20	11,27	16,12	37,61	51,94
%Yıkım		31,04	40,80	45,77	63,84	75,95
%Biyosorpsiyon	%0,3	16,20	18,44	25,71	10,47	24,82
%Biyodegradasyon		14,84	22,36	20,06	53,37	51,13
%Yıkım		39,80	43,23	57,42	73,98	83,83
%Biyosorpsiyon	%0,5	14,01	24,23	34,91	31,20	23,88
%Biyodegradasyon		25,79	19	22,51	42,78	59,95



Şekil 3.4 % 0,1 Glisin içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-48h)



Şekil 3.5 % 0,3 Glisin içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-45-72h)



Şekil 3.6 % 0,5 glisin içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-96h)

Everzol red 3BS boyarmadde gideriminde glisin etkisine baktığımızda; ortamda bulunan glisin miktarı artıka biyodegradasyon oranın artığı gözlemlenmiştir. %0,1 glisin bulunan ortamda Everzol red 3BS boyarmadde giderim oranı %67 olarak bulunmuştur. %0,3 glisin bulunan ortamda ise %76, %0,5 glisin bulunan ortamda ise %84 oranında giderim gözlenmiştir. 0. dakikadan itibaren alınan örneklerin 425 nm'deki dalga boyu taramalarına bakıldığında ortamdaki boyarmadde konsantrasyonunun azaldığı gözlenmiştir.

3.2.2 Everzol Red Biyodegradasyonu Üzerine Aspartik asit Etkisi

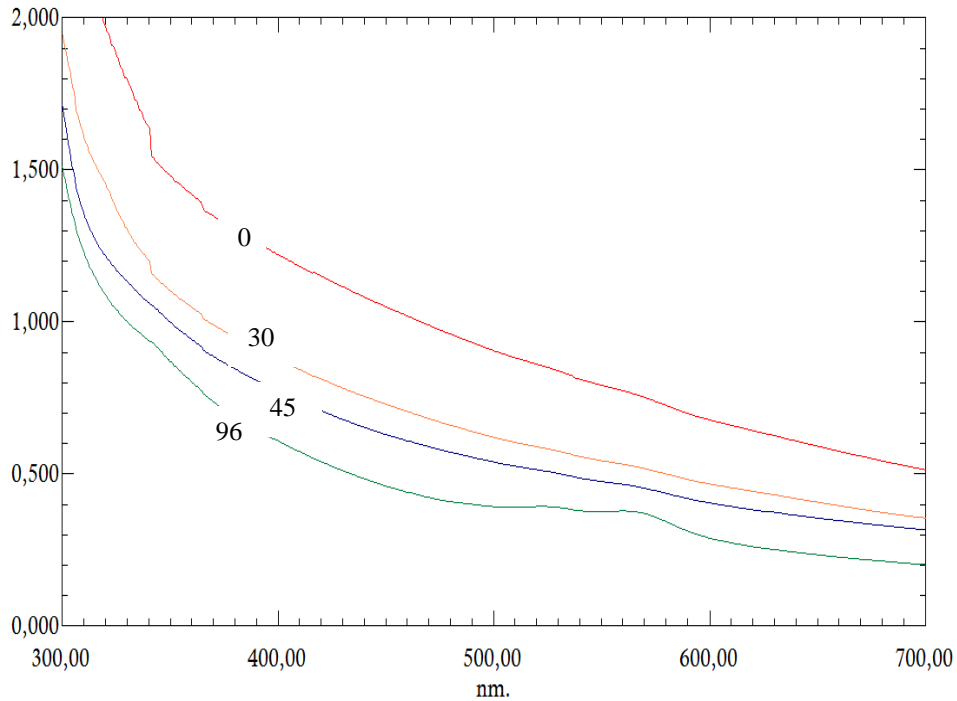
Steril edilen lakkaz enzim ortamlarına;

-Farklı konsantrasyonlarda (100-10 mg/L) Everzol red 3BS

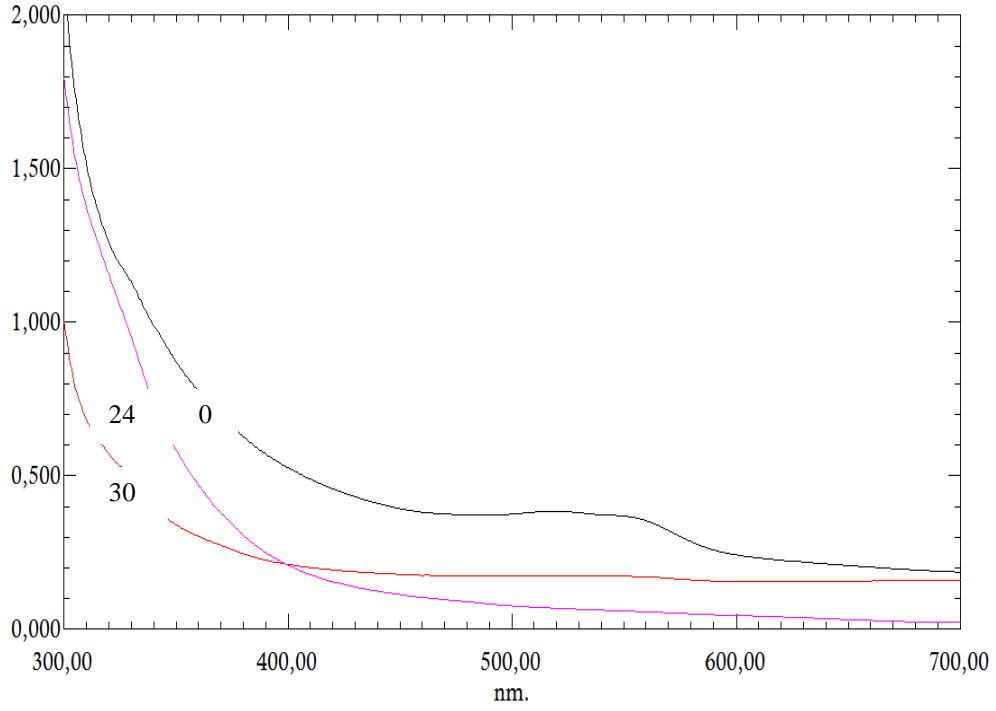
-Farklı konsantrasyonlarda (%0,1-0,5) aspartik asit ilave edilip, degradasyona glisin aminoasidinin etkisi araştırılmıştır. Biosorpsiyon çalışması yapılarak boyarmaddenin ne kadarının hücreye absorplandığı kontrol edilmiştir. Bulunan sonuçlar Tablo 3.6'de verilmiştir.

Tablo 3.6 Everzol Red 3BS % Biyodegradasyon Oranları (Aspartik asit Etkisi)

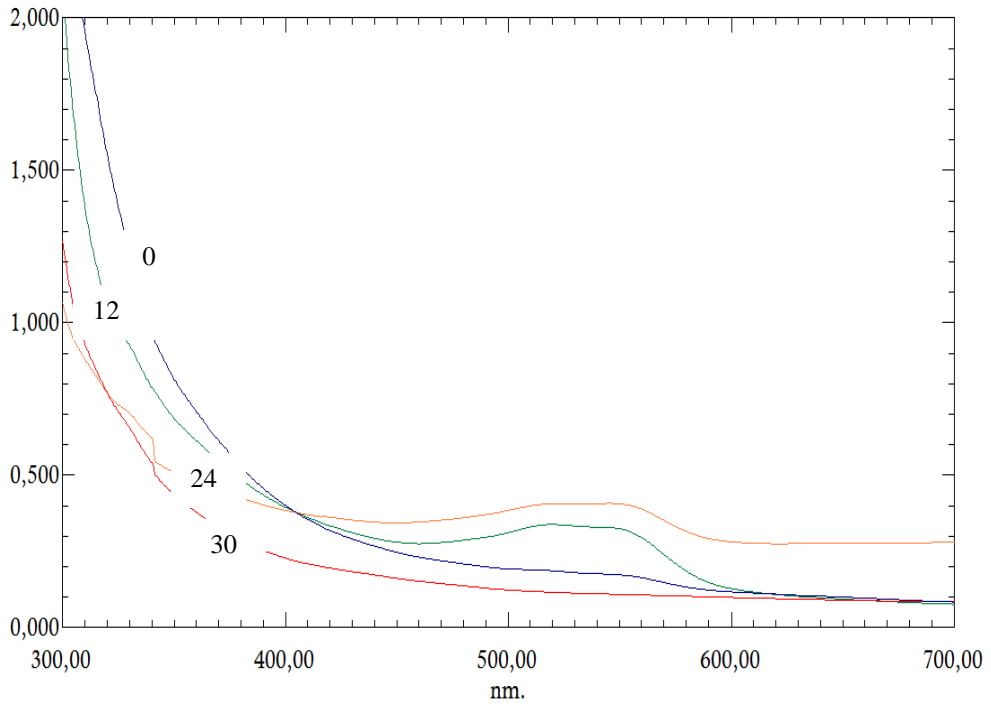
Boyarmadde konsantrasyonu (mg/L)						
	% Aspartik asit	100	75	50	25	10
%Yıkım		44,15	47,79	52,56	55,73	70,89
%Biyosorpsiyon	%0,1	12,93	18,63	10,67	7,68	7,15
%Biyodegradasyon		31,22	29,16	41,89	42,01	63,74
%Yıkım		46,53	48,03	52,65	73,80	82,18
%Biyosorpsiyon	%0,3	3,13	6,19	5,92	3,58	3,57
%Biyodegradasyon		43,40	41,84	46,73	70,22	78,61
%Yıkım		48,20	49,21	61,99	81,15	91,30
%Biyosorpsiyon	%0,5	3,43	6,01	1,57	2,46	2,46
%Biyodegradasyon		44,77	43,20	60,42	78,69	88,84



Şekil 3.7 % 0,1 Aspartik asit içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumunu (0-30-45-96h)



Şekil 3.8 % 0,3 Aspartik asit içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-24-30h)



Şekil 3.9 % 0,5 Aspartik asit içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-12-24-30h).

Everzol red 3BS boyarmadde gideriminde aspartik asit etkisine baktığımızda; ortamda bulunan aspartik asit miktarı artıkça biyodegradasyon oranının arttığı gözlemlenmiştir. %0,1 aspartik asit bulunan ortamda Everzol red 3BS boyarmadde giderim oranı %71 olarak bulunmuştur. %0,3 aspartik asit bulunan ortamda ise %82, %0,5 aspartik asit bulunan ortamda ise %91 oranında giderim gözlenmiştir. 0. dakikadan itibaren alınan örneklerin 425 nm'deki dalga boyu taramalarına bakıldığında ortamdaki boyarmadde konsantrasyonunun azaldığı gözlenmiştir.

3.2.3 Everzol Red Biyodegradasyonu Üzerine Arginin Etkisi

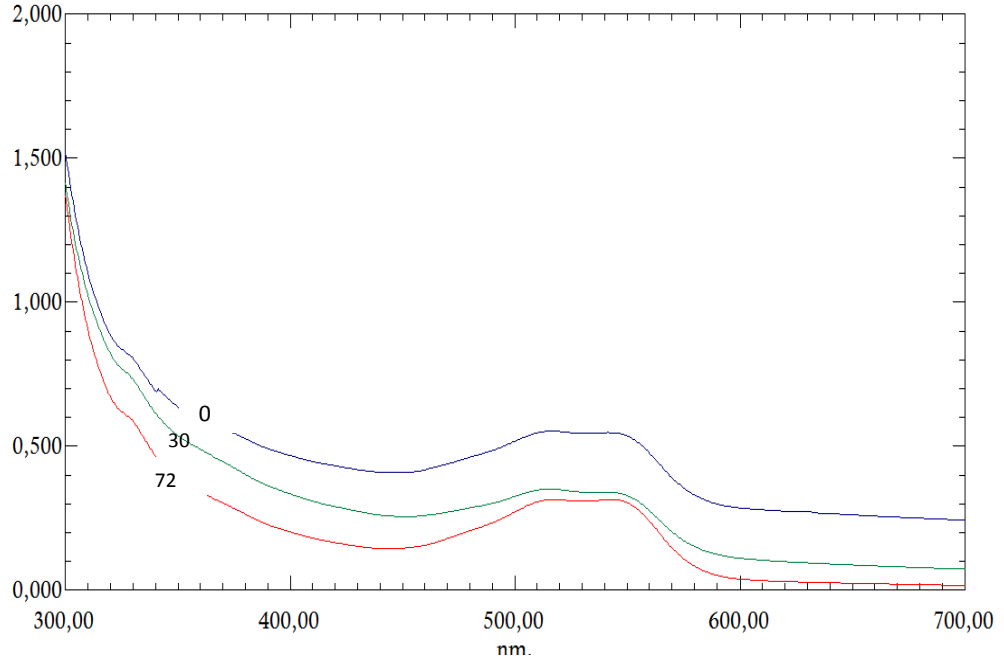
Steril edilen lakkaz enzim ortamlarına;

-Farklı konsantrasyonlarda (100-10 mg/L) Everzol red 3BS

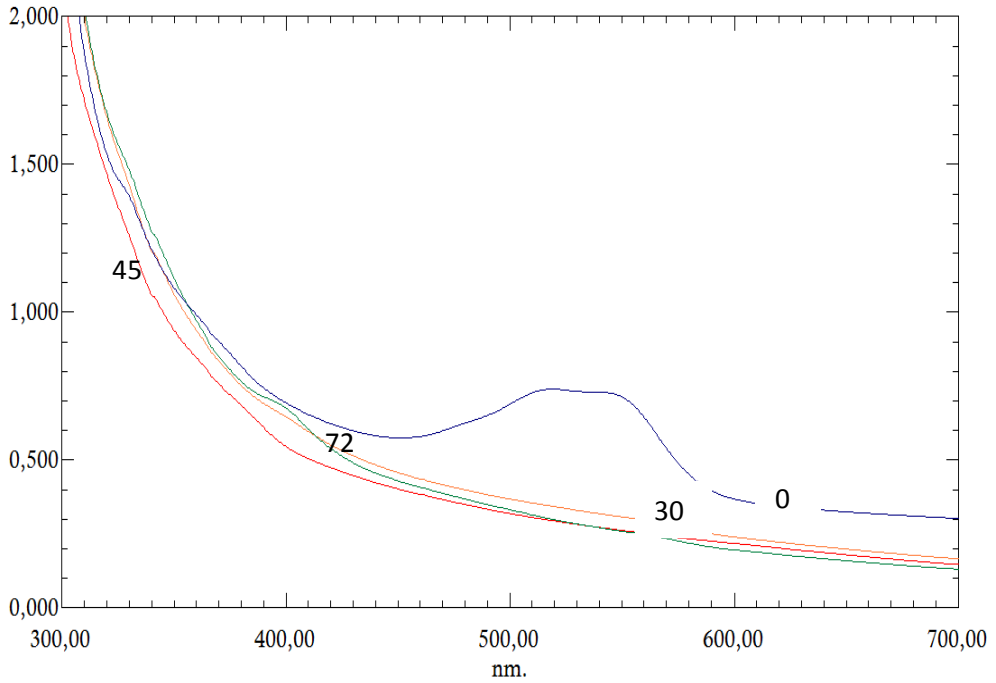
-Farklı konsantrasyonlarda (%0,1-0,5) arginin ilave edilip, degradasyona glisin aminoasidinin etkisi araştırılmıştır. Biosorpsiyon çalışması yapılarak boyarmaddenin ne kadarının hücreye absorplandığı kontrol edilmiştir. Bulunan sonuçlar Tablo 3.6'de verilmiştir.

Tablo 3.7 Everzol Red 3BS % Biyodegradasyon Oranları (Arginin Etkisi)

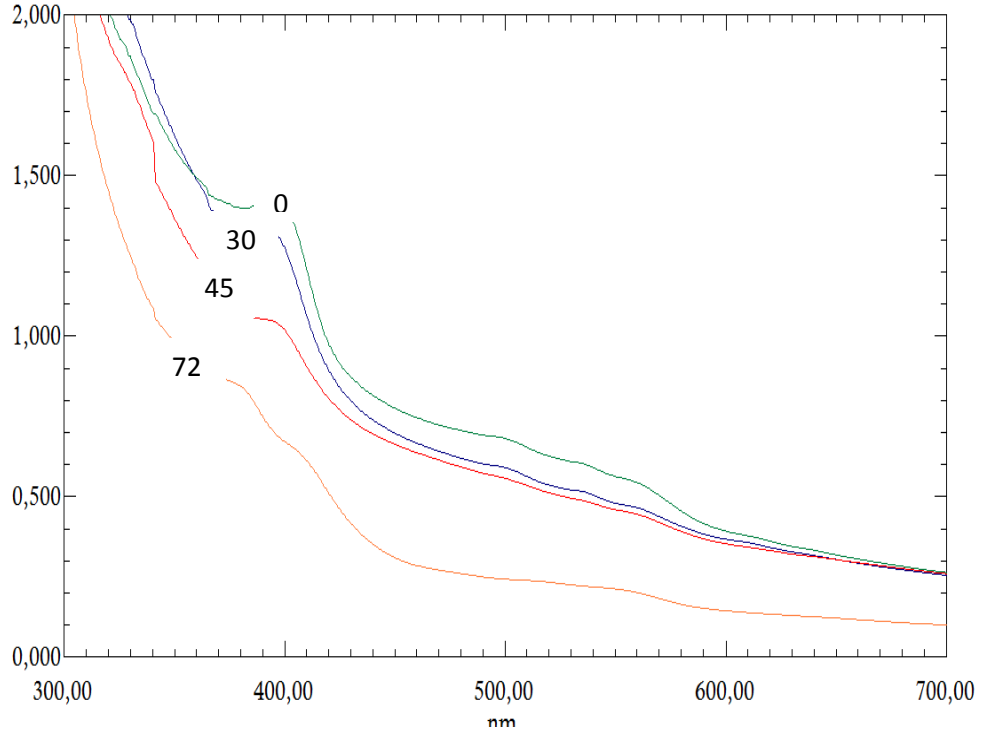
	% Arginin	Boyarmadde konsantrasyonu (mg/L)				
		100	75	50	25	10
%Yıkım		39,26	42,60	44,35	47,11	50,22
%Biyosorpsiyon	%0,1	27,34	25,77	25,57	15,87	16,35
%Biyodegradasyon		11,92	16,83	18,78	31,24	33,87
%Yıkım		42,08	43,34	51,04	52,07	54,08
%Biyosorpsiyon	%0,3	11,46	15,58	10,12	14,74	12,97
%Biyodegradasyon		30,62	27,76	40,92	37,33	41,11
%Yıkım		42,91	48,82	54,67	61,76	65,41
%Biyosorpsiyon	%0,5	4,89	6,68	5,90	5,60	12,20
%Biyodegradasyon		38,02	42,14	48,77	56,16	53,21



Şekil 3.10 % 0,1 Arginin içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-72h).

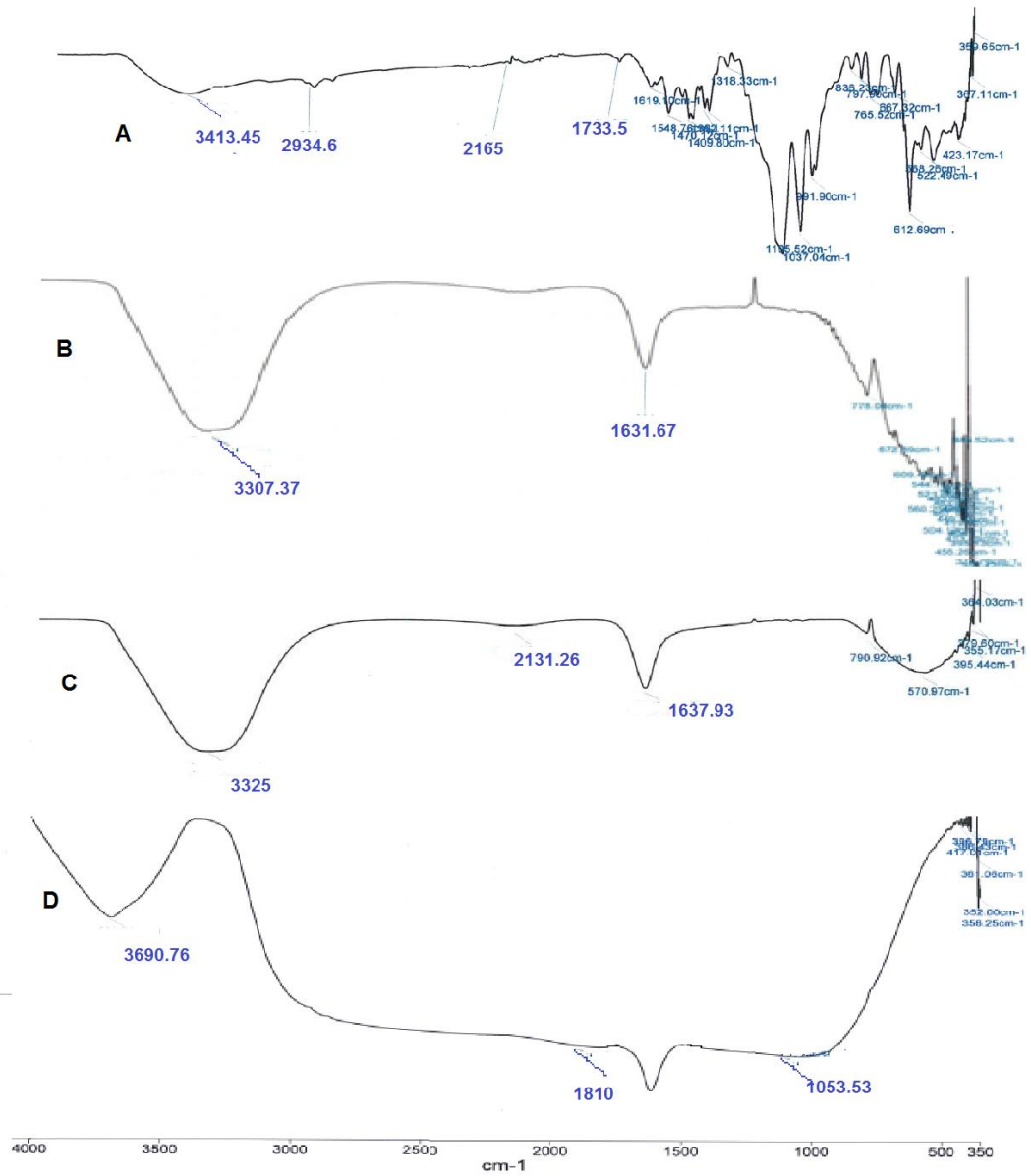


Şekil 3.11 % 0,3 Arginin içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-45-72h).



Şekil 3.12 % 0,5 Arginin içeren ortamdaki Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (0-30-45-72h).

Everzol red 3BS boyarmadde gideriminde arginin etkisine baktığımızda; ortamda bulunan arginin miktarı artıka biyodegradasyon oranının artığı gözlemlenmiştir. %0,1 arginin bulunan ortamda Everzol red 3BS boyarmadde giderim oranı %50 olarak bulunmuştur. %0,3 arginin bulunan ortamda ise %54, %0,5 arginin bulunan ortamda ise %65 oranında giderim gözlenmiştir. 0. dakikadan itibaren alınan örneklerin 425 nm'deki dalga boyu taramalarına bakıldığında ortamdaki boyarmadde konsantrasyonunun azaldığı gözlenmiştir.



Şekil 3.13 FT-IR analizleri A; Everzol red 3BS B; Glisin bulunan ortamda yıkım sonrası FT-IR C; aspartik asit bulunan ortamda yıkım sonrası FT-IR D; Arginin bulunan ortamda yıkım sonrası FT-IR.

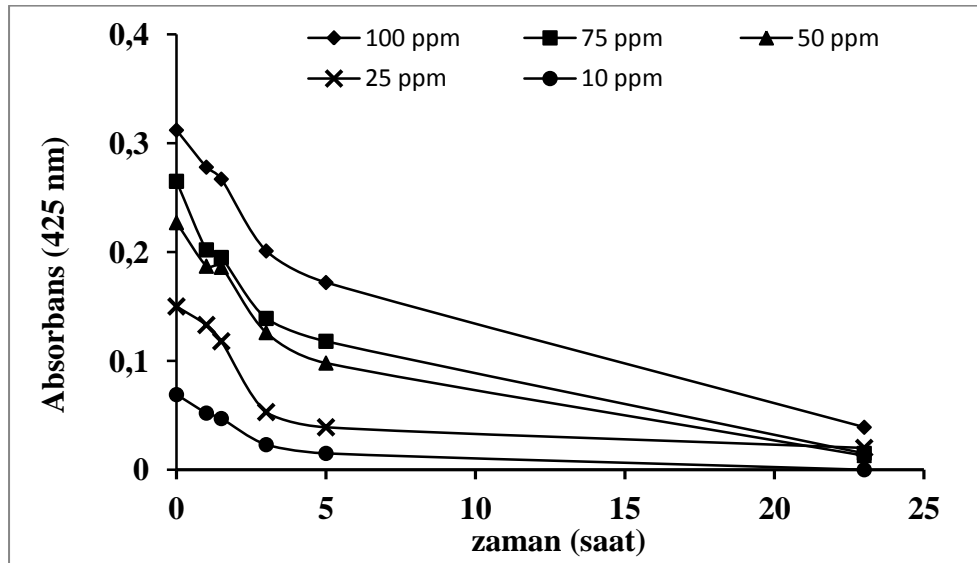
Yapılan çalışmada; yıkım öncesinde FT-IR analizinde $3307,37 \text{ cm}^{-1}$ de $-\text{OH}$ piki H bağı nedeniyle yayvan olarak gözlemlendi. Ayrıca, yıkım sonrasında $1637,81 \text{ cm}^{-1}$ $\text{C}=\text{O}$ (karbonil) pikinin var olduğu tespit edilmiştir. 1548.78 cm^{-1} deki diazo bileşiklerinin ve 1619.10 cm^{-1} deki triazin aromatik bileşiğinin giderildiği gözlemlenmiştir.

3.3 İmmobilize *Coprinus plicatilis*'in E. Red 3BS ile Biyodegradasyonu

Kaolin, jelâtin, kum, Amberlite XAD-7 (20-60 Mesh), Kaliks[4]aren ve p-tert-bütilkaliks[4]aren destek materyalleri kullanıldı. İmmobilizasyon koşullarının optimizasyonu sağlandı.

3.3.1 Amberlite XAD-7 ile İmmobilize Edilmiş *Coprinus plicatilis*'in E. Red 3BS ile biyodegradasyonu

Amberlite XAD-7 ile immobilize edilmiş *Coprinus plicatilis* 21 saat sonunda, lakkaz enzim ortamına dekante edildi. 0,5 g glikoz ve belirlenen boyarmadde miktarları ilave edilerek farklı konsantrasyonlardaki boyarmadde absorbans değerleri UV spektrofotometrede (425nm) ölçümler yapıldı.



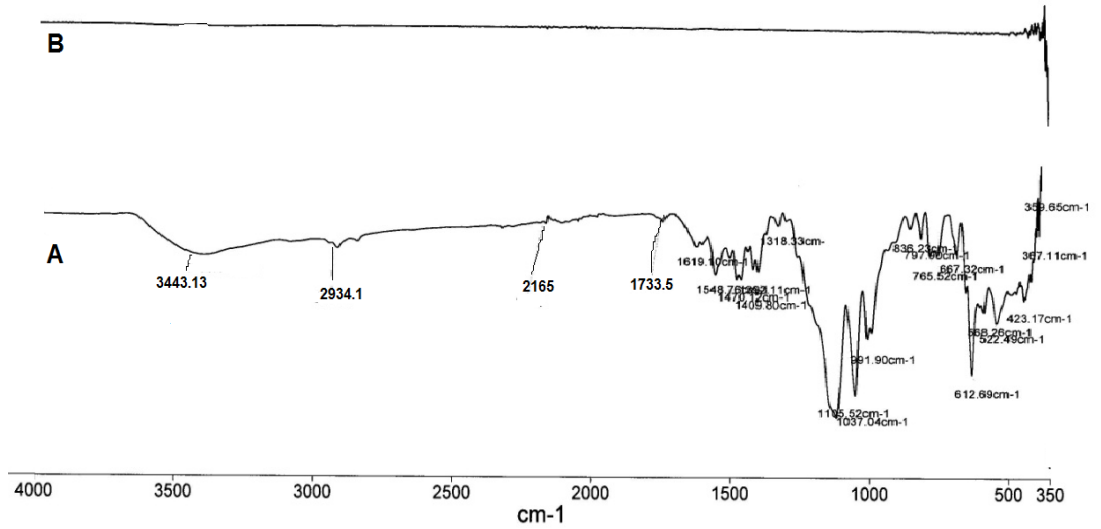
Şekil 3.14 İmmobilize *C. plicatilis* ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyodegradasyonu (Amberlit XAD-7)

İmmobilize *Coprinus plicatilis*'in glikoz içeren ortamlarda 10 mg/L konsantrasyonundaki E. Red 3BS boyarmaddesini degrades edebilme yeteneği, 23 saat boyunca periyodik olarak alınan örnekler sonucunda %100 olarak tespit edilmiştir. İmmobilize *Coprinus plicatilis* ile farklı konsantrasyonlardaki

boyarmaddenin biyodegradasyon ve biyosorpsiyon yüzdeleri Tablo 3.8’de gösterilmiştir.

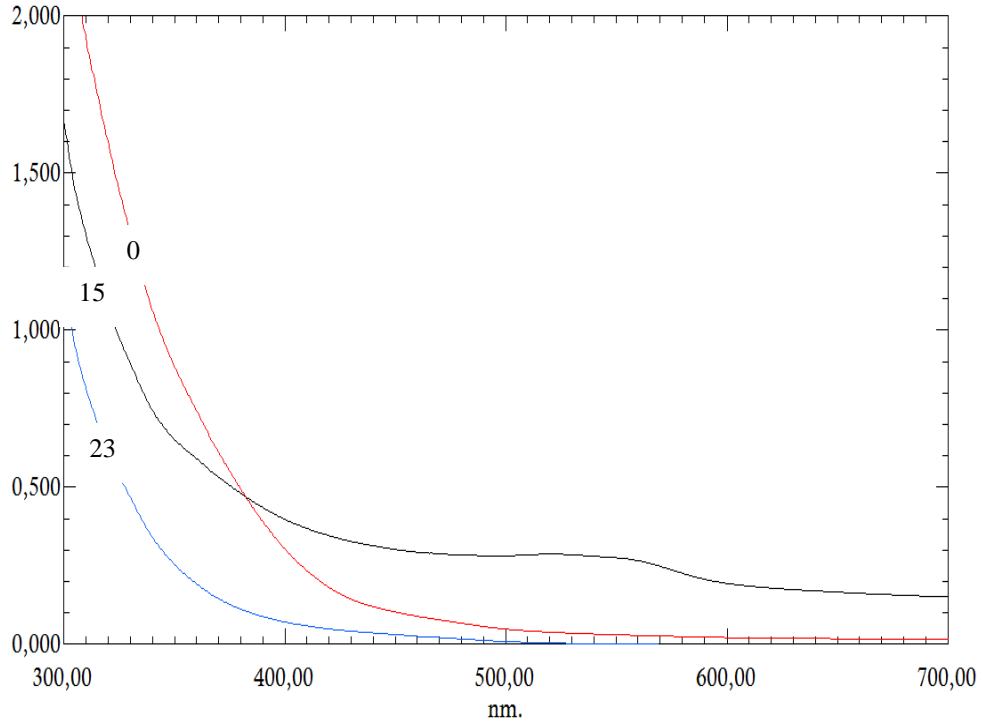
Tablo 3.8 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin %biyodegradasyon oranları (Amberlit XAD-7)

	Boyarmadde konsantrasyonu (mg/L)				
	100	75	50	25	10
%Dekolorizasyon	87,50	86,66	94,27	94,34	100
%Biyosorpsiyon	35,86	53,03	63,33	47,88	43,59
%Biyodegradasyon	51,64	33,63	30,94	46,46	56,41



Şekil 3.15 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spektrumları A; Biyodegradasyon öncesi B;Biyodegradasyon Sonrası (Amberlit XAD-7).

Amberlit XAD-7 ile immobilize edilmiş *C. Plicatilis*, yıkım sonrası alınan örneklerin FT-IR spektrumları saf boyarmaddelerin FT-IR spektrumu ile karşılaştırıldığında saf boyarmaddeye ait piklerin tamamını giderime uğrattığı tespit edilmiştir.

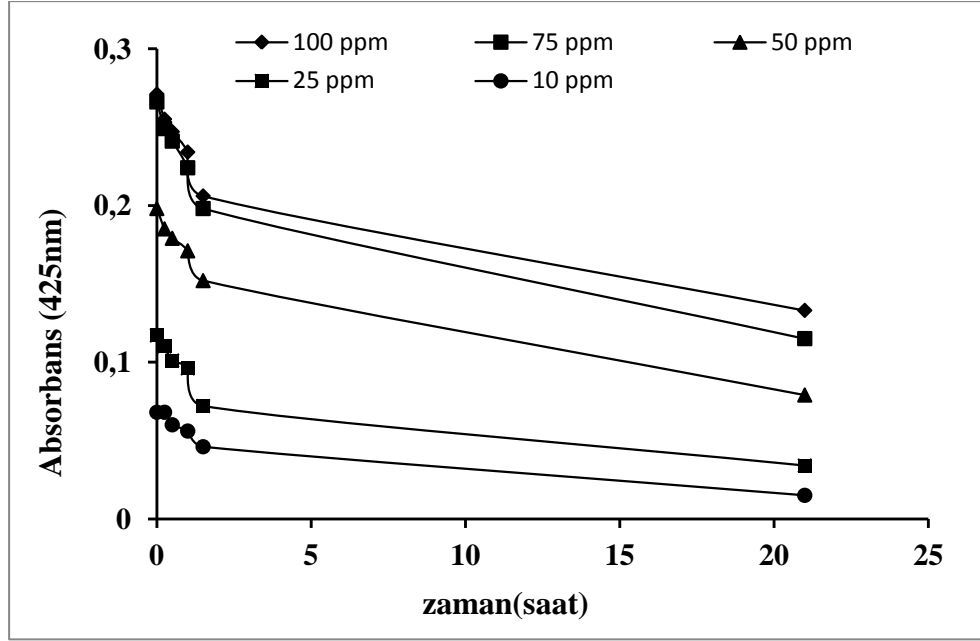


Şekil 3.16 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (Amberlit XAD-7) (0-15-23h)

Amberlit XAD-7 ile immobilize edilmiş *C. Plicatilis*'in Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesini 23 saat sonunda biyolojik giderime uğratmıştır. 0. dakikadan itibaren alınan örneklerin 425 nm'deki UV değerlerine bakılarak boyarmaddenin biyolojik giderime uğratıldığı desteklenmektedir.

3.3.2 Jelâtin Tarafından İmmobilize Edilmiş *Coprinus plicatilis*'in E. Red 3BS ile Biyodegradasyonu

Jelâtin ile immobilize olmuş olan *Coprinus plicatilis* 24 saat sonunda, beş ayrı erlendeki lakkaz enzim ortamına dekante edildi. Belirlenen boyarmadde miktarları ilave edilerek farklı konsantrasyonlardaki boyarmadde absorbans değerleri UV spektrofotometresinde (425nm) ölçümler yapıldı.

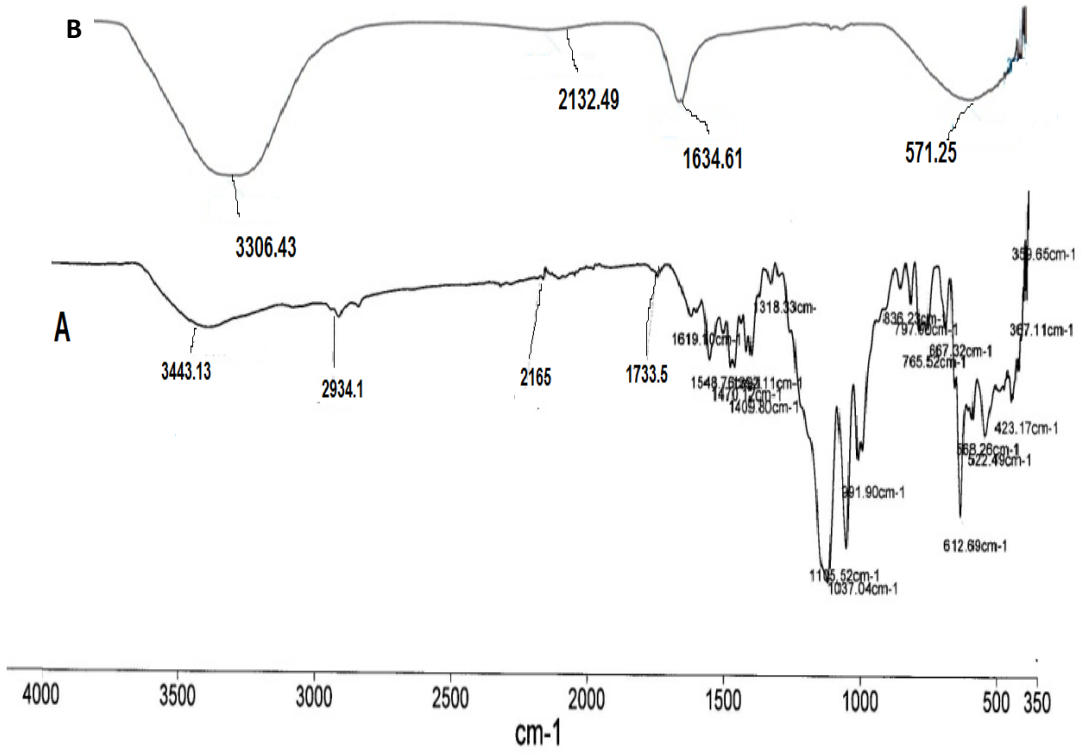


Şekil 3.17 İmmobilize *C. plicatilis* ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyodegradasyonu (Jelâtin)

Jelâtin ile immobilize edilmiş organizmalar ise boyarmaddenin 10.0 mg/L konsantrasyonunu 21 saatte %78 oranında biyolojik yıkıma uğrattı. Destek materyali olarak kullanılan jelâtin statik koşullarda biyolojik yıkımı gerçekleştirerek çalışmada kullanılan diğer destek materyallerine göre biyolojik giderimi kısa sürede %78 oranında tamamladı.

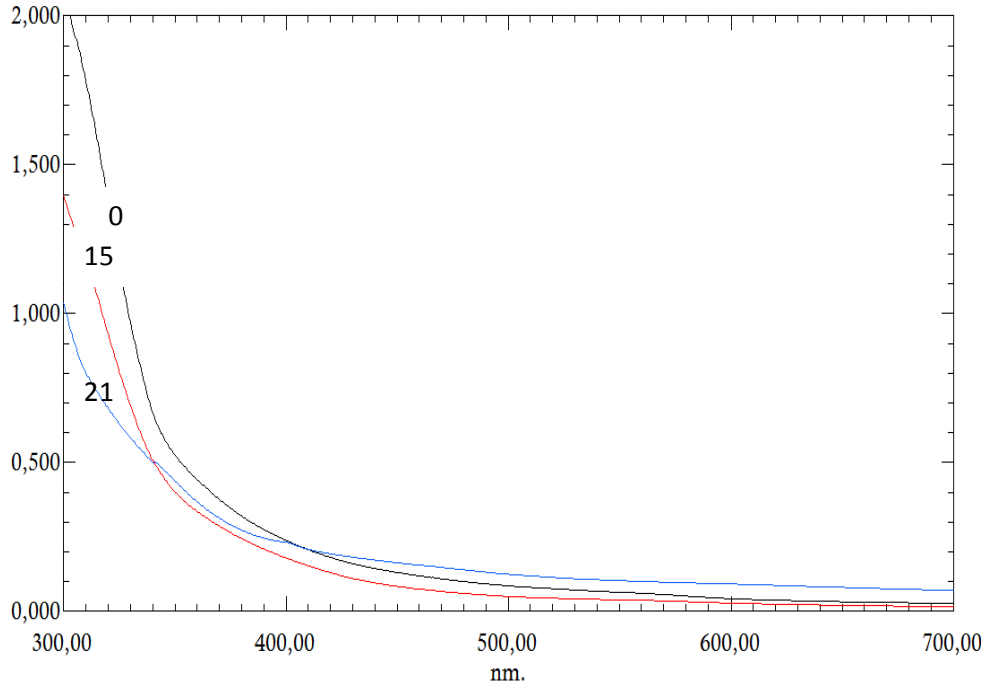
Tablo 3.9 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin %biyodegradasyon oranları (jelâtin)

	Boyarmadde konsantrasyonu (mg/L)				
	100	75	50	25	10
%Dekolorizasyon	50,92	56,76	60,10	70,94	77,94
%Biosorpsiyon	23,32	18,48	13,67	7,69	7,14
%Biyodegradasyon	27,60	38,28	46,43	63,25	70,80



Şekil 3.18 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spektrumları A; Biyodegradasyon öncesi B;Biyodegradasyon Sonrası (Jelâtin).

Biyodegradasyon sonrası alınan örneklerin FT-IR spektrumları, saf haldeki Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spektrumları ile karşılaştırıldığında 1500-1600 cm^{-1} aralığındaki aromatiklik pikinin, 3413 cm^{-1} deki N-H pikinin, boyar maddenin saf haldeki 1318 cm^{-1} deki C-N pikinin ve 675-1000 cm^{-1} aralığındaki C=C piklerinin yıkımdan sonra şiddetinin azaldığı gözlemlenmiştir.



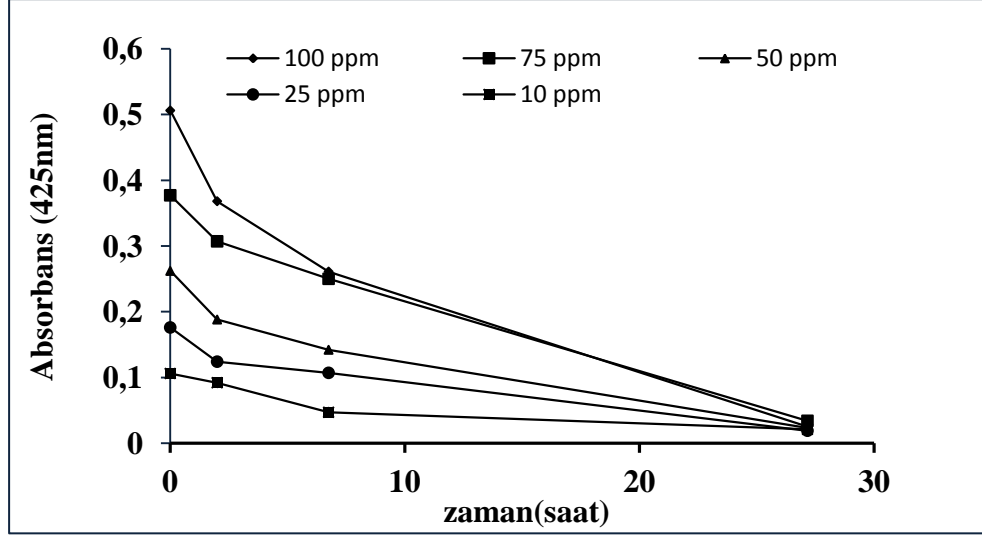
Şekil 3.19 Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (jelâtin) (0-15-21h)

Destek materyali jelâtin olan *C. plicatilis* UV spektrumunu incelediğimizde, 21 saat sonunda biyolojik giderim 10 mg/L konsantrasyonun da maksimum değere sahip olup şekil 3.19’ daki grafikte absorbans değerindeki azalma görülmektedir.

Yapılan bu analizler sonucunda fungusun boyarmaddeyi giderime uğrattığı ve giderim sonucunda herhangi bir toksik metabolit olmadığı gözlenmiştir.

3.3.3 Kaolin ile İmmobilize Edilmiş *Coprinus plicatilis*’in E. Red 3BS İle Biyodegradasyonu

Kaolin ile immobilize olmuş olan *Coprinus plicatilis* 22 saat sonunda lakkaz enzim ortamına dekante edildi. Belirlenen boyarmadde miktarları ilave edilerek farklı konsantrasyonlardaki boyarmaddenin absorbans değerleri UV spektrofotometresinde (425nm) dakikalarında okuma yapıldı.

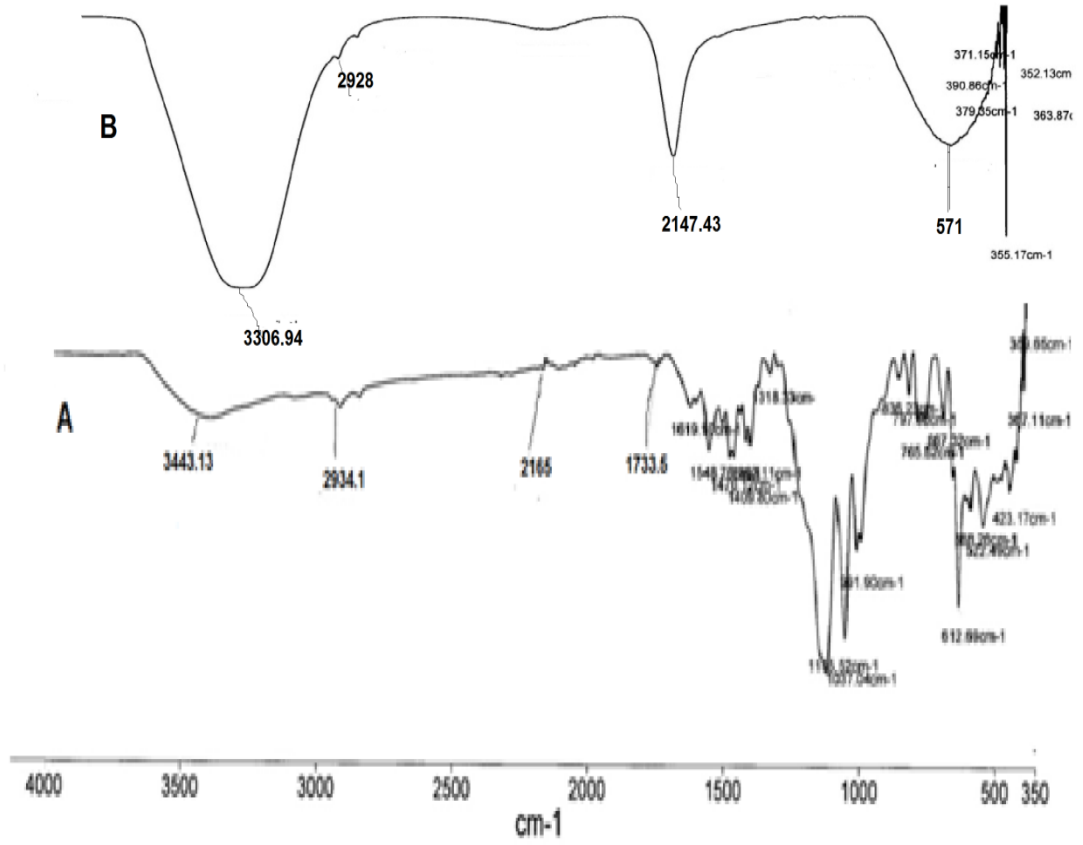


Şekil 3.20 İmmobilize *C. plicatilis* ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin Biyodegradasyonu (Kaolin)

İmmobilize *Coprinus plicatilis*'in glikoz içeren ortamlarda farklı konsantrasyonlardaki E. Red 3BS boyarmaddesini degrede edebilme yeteneği, 27 saat sonunda periyodik olarak alınan örnekler sonucunda tespit edilmiştir. 10 mg/L konsantrasyonunu %80 biyolojik giderime uğratmıştır. Destek materyali kaolin olan immobilize *Coprinus plicatilis* ile farklı konsantrasyonlardaki Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyodegradasyon ve biyosorpsiyon yüzdeleri Tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 3.10 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin % biyodegradasyon oranları (Kaolin)

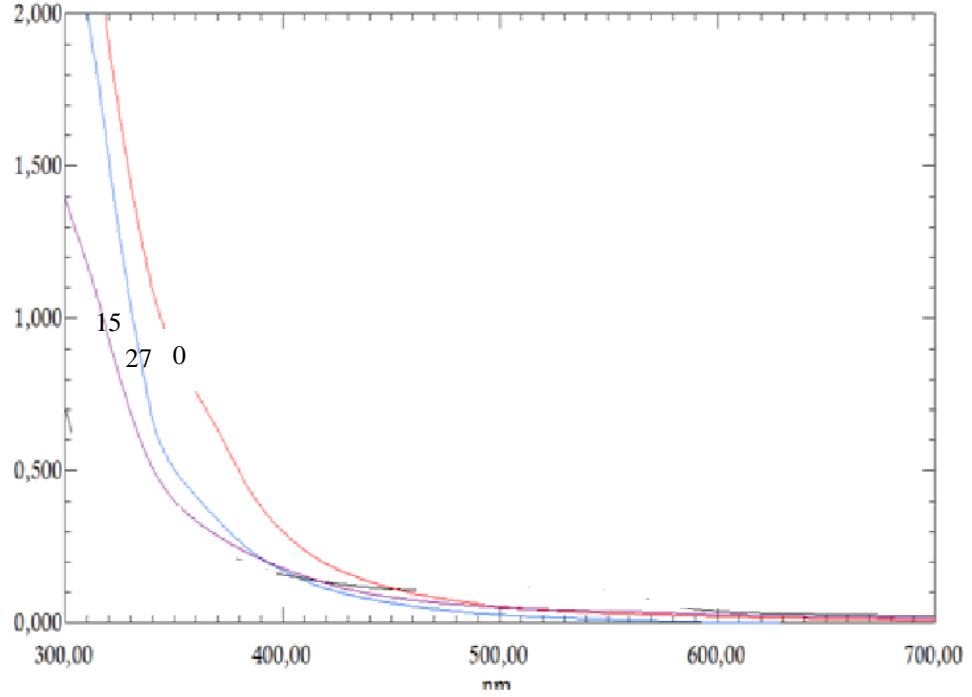
	Boyarmadde konsantrasyonu (mg/L)				
	100	75	50	25	10
%Dekolorizasyon	80,18	89,20	90,98	91,22	95,06
%Biosorpsiyon	50,73	54,42	49,82	46,86	29,85
%Biyodegradasyon	29,45	34,78	41,16	44,36	65,21



Şekil 3.21 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin Biyodegradasyon Sonrası FT-IR (Kaolin)

Kaolin ile immobilize edilmiş organizmalar 27 saatte boyarmaddenin 10.0 mg/L konsantrasyonunu %80 oranında biyolojik giderime uğrattı.

Biyodegradasyon sonrası alınan örneklerin FT-IR spektrumları, saf haldeki Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spektrumları ile karşılaştırıldığında 1500-1600 cm^{-1} aralığındaki aromatiklik pikinin ve 3413 cm^{-1} deki N-H pikinin şiddetinin azaldığı gözlemlenmiştir.

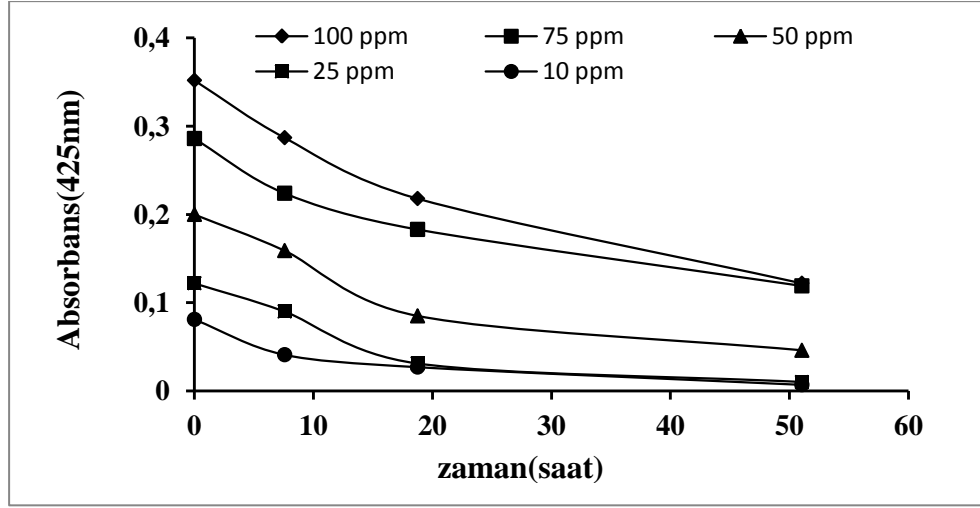


Şekil 3.22 Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (Kaolin) (0-15-27h)

Kaolin ile immobilize edilmiş *C. Plicatilis*'in Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesini 27 saat sonunda biyolojik giderime uğratmıştır. 0. dakikadan itibaren alınan örneklerin 425 nm'deki UV değerlerine bakılarak boyarmaddenin biyolojik giderime uğratıldığı desteklenmektedir.

3.3.4 Kum Tarafından İmmobilize Edilmiş *Coprinus plicatilis*'in E. Red 3BS ile Biyodegradasyonu

Kum ile immobilize olmuş olan *Coprinus plicatilis* 19 saat sonunda, 10 g/L glikoz, 1,0 g/L $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 0,05g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01 g/L CaCl_2 , 0,025 g/L mayaözütü içeren lakkaz enzim ortamına dekante edildi. 0,5 g glikoz ve belirlenen boyarmadde miktarları ilave edilerek farklı konsantrasyonlardaki absorbans değerleri UV spektrofotometresinde (425nm) ölçümler yapıldı.

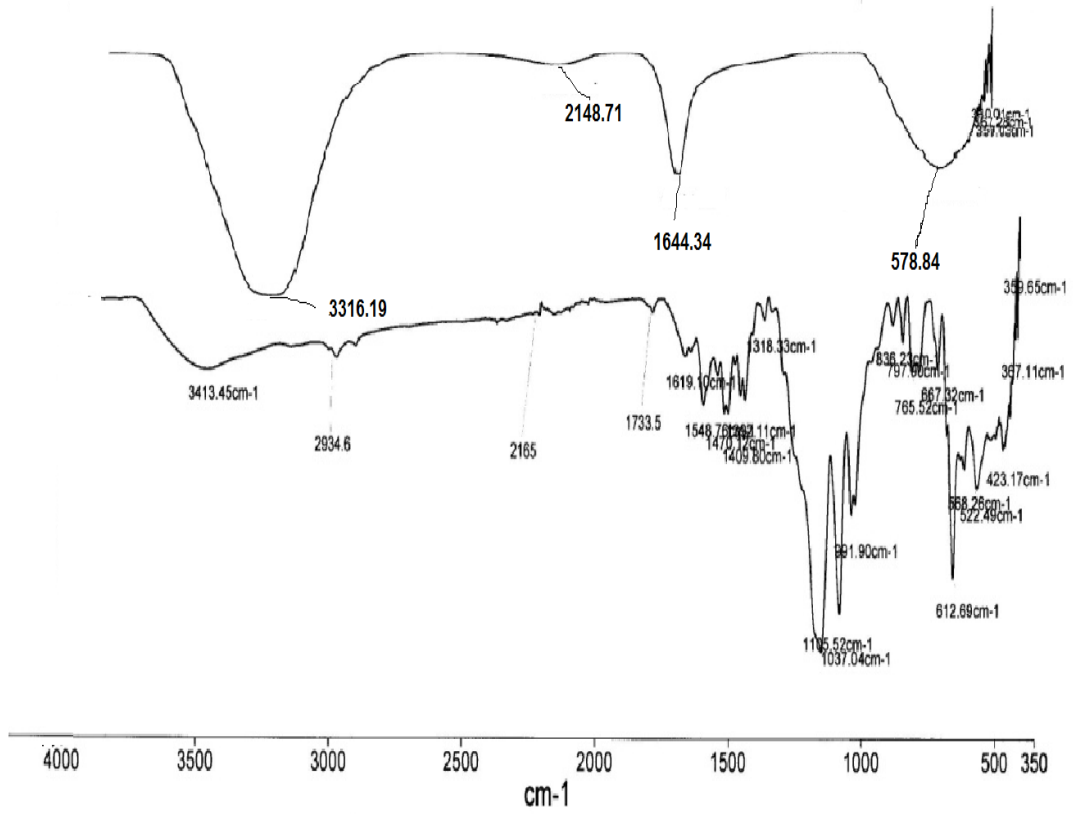


Şekil 3.23 İmmobilize *C. plicatilis* ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyodegradasyonu (Kum)

Kum ile immobilize edilmiş *Coprinus plicatilis* 51 saat sonunda 10.0 mg/L konsantrasyonundaki boyarmaddeyi %92 oranında giderirken 100 mg/L konsantrasyonunu %58 biyolojik giderime uğratmıştır. Şekil 3.23' teki grafikte konsantrasyon azaldıkça absorbans değerlerindeki azalma görülmektedir.

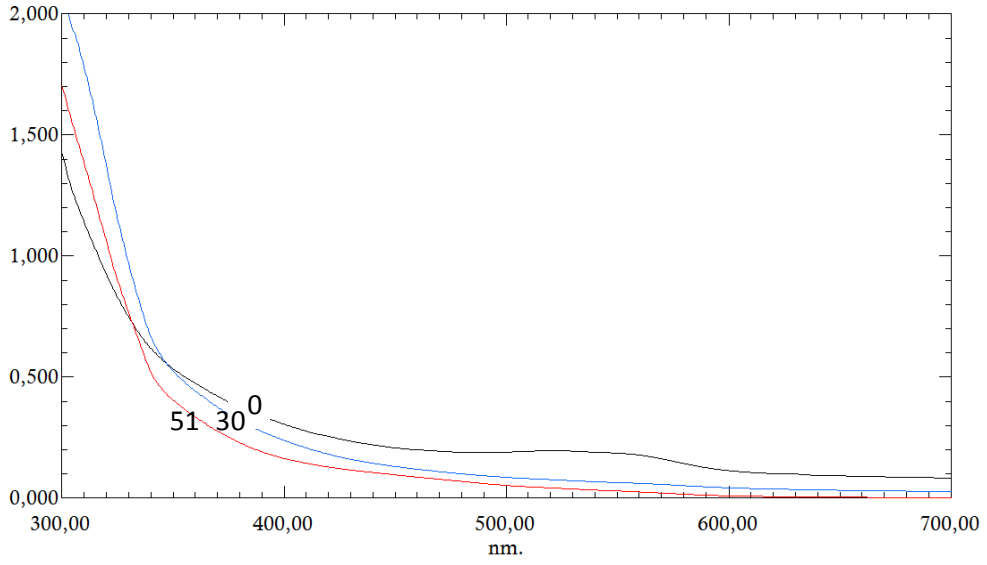
Tablo 3.11 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin %biyodegradasyon oranları (Kum)

	Boyarmadde konsantrasyonu (mg/L)				
	100	75	50	25	10
%Dekolorizasyon	58,39	65,34	77,00	91,35	91,80
%Biyosorpsiyon	30,63	22,61	9,95	30,97	26,23
%Biyodegradasyon	27,76	42,73	67,05	60,38	65,57



Şekil 3.24 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin Biyodegradasyon Sonrası FT-IR (Kum)

Biyodegradasyon sonrası alınan örneklerin FT-IR spektrumları, saf haldeki Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spektrumları ile karşılaştırıldığında saf haldeki 1318 cm^{-1} deki C-N pikinin ve $675\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki C=C piklerinin yıkımdan sonra olmadığı tespit edilmiştir. Boyarmaddenin $1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki aromatiklik pikinin ve 3413 cm^{-1} deki N-H pikinin şiddetinin azaldığı gözlemlenmiştir.

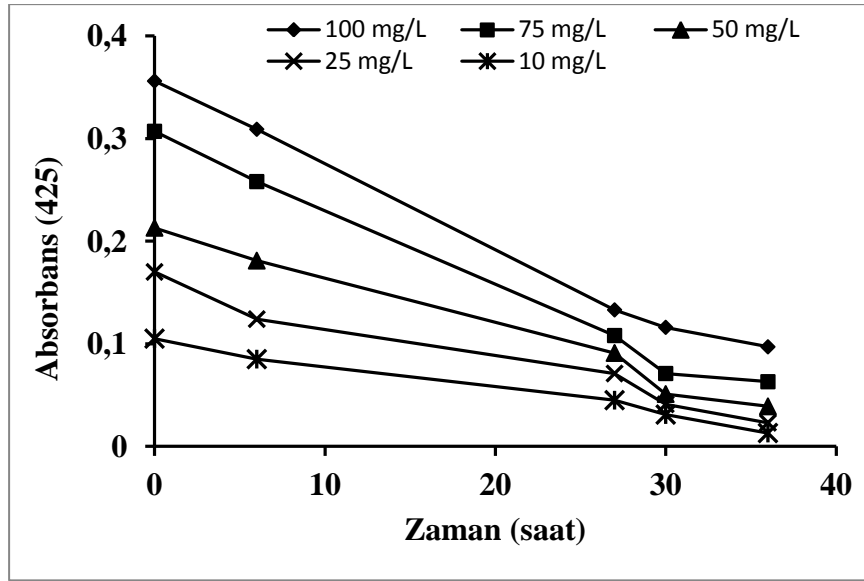


Şekil 3.25 Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (Kum)

Kum ile immobilize edilmiş *C. Plicatilis*, Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesini 51 saat sonunda %92 biyolojik giderime uğratmıştır. 425 nm'deki 0. dakikadan itibaren alınan örneklerin UV spektrumundaki absorbans değerlerine bakılarak boyarmaddenin biyolojik yıkıma uğratıldığı desteklenmektedir.

3.3.5 p-tert-bütüikaliks[4]aren ile İmmobilize Edilmiş *Coprinus plicatilis*'in E. Red 3BS ile Biyodegradasyonu

p-tert-bütüikaliks[4]aren ile immobilize edilmiş *Coprinus plicatilis* 3 saat sonunda lakkaz enzim ortamına dekante edildi. 0,5 g glikoz ve belirlenen boyarmadde miktarları ilave edilerek farklı konsantrasyonlardaki boyarmaddenin absorbans değerleri UV spektrofotometrede (425nm) ölçüldü.

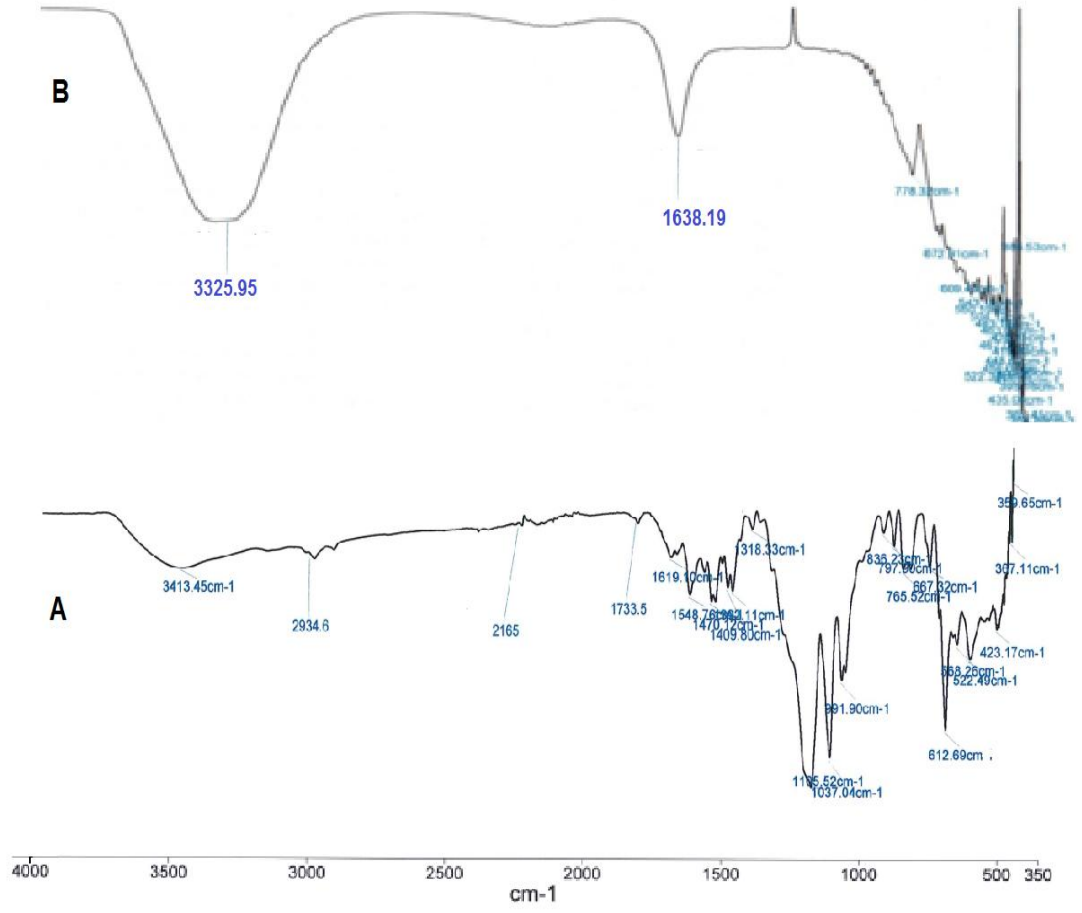


Şekil 3.26 İmmobilize *C. plicatilis* ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyodegradasyonu (p-tert-bütikaliks[4]aren)

p-tert-bütikaliks[4]aren ile immobilize edilmiş *Coprinus plicatilis* 36 saat sonunda 10.0 mg/L konsantrasyonundaki boyarmaddeyi %88 oranında giderirken 100 mg/L konsantrasyonunu %73 biyolojik giderime uğratmıştır. Şekil 3.26' da konsantrasyon azaldıkça absorbans değerlerindeki azalma görülmektedir.

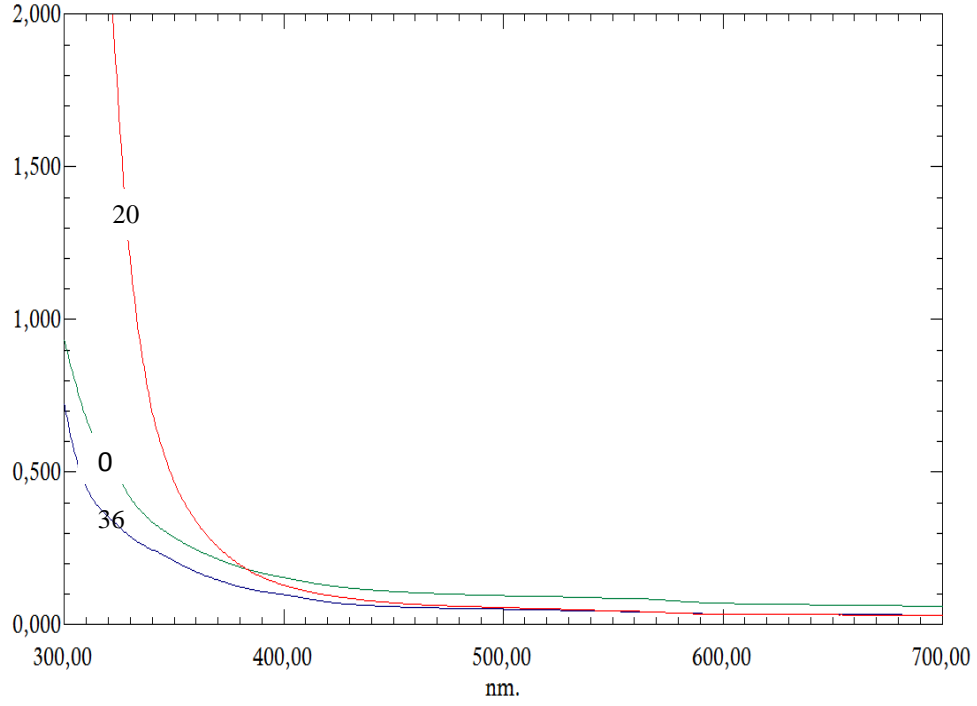
Tablo 3.12 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin %biyodegradasyon oranları (p-tert-bütikaliks[4]aren)

	Boyarmadde konsantrasyonu (mg/L)				
	100	75	50	25	10
%Dekolorizasyon	72,75	79,48	81,69	86,47	87,62
%Biyosorpsiyon	44,82	39,41	33,8	37,05	7,62
%Biyodegradasyon	27,93	40,07	47,89	49,42	80



Şekil 3.27 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spekturumları A; Biyodegradasyon öncesi B;Biyodegradasyon Sonrası (p-tert-bütikaliks[4]aren).

Biyodegradasyon sonrası alınan örneklerin FT-IR spekturumları, saf haldeki Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spekturumları ile karşılaştırıldığında saf haldeki 1318 cm^{-1} deki C-N pikinin ve $675\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki C=C piklerinin yıkımdan sonra olmadığı tespit edilmiştir. Boyarmaddenin $1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki aromatiklik pikinin ve 3413 cm^{-1} deki N-H pikinin şiddetinin azaldığı gözlemlenmiştir.

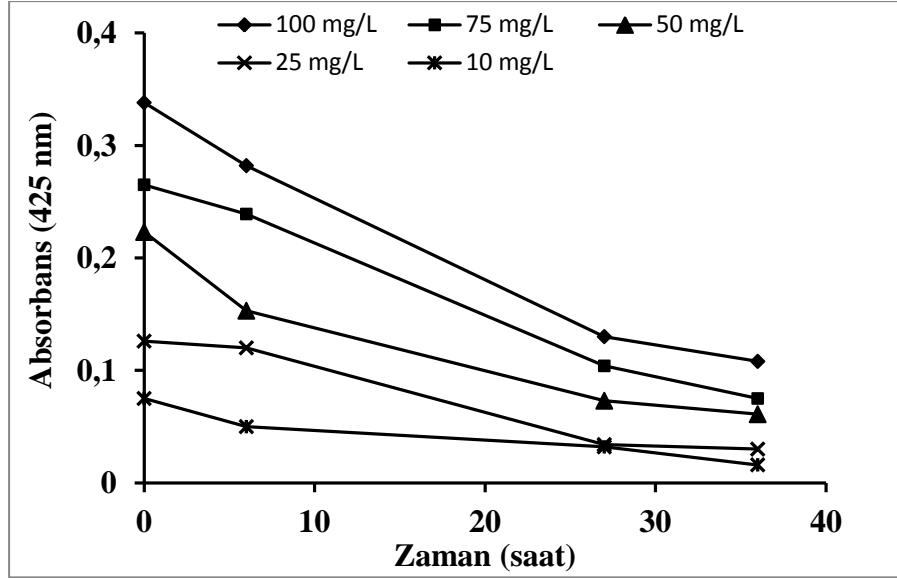


Şekil 3.28 Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (p-tert-bütikaliks[4]aren) (0-20-36h)

p-tert-bütikaliks[4]aren ile immobilize edilmiş *C. plicatilis*, Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesini 36 saatte %88 biyolojik giderime uğratmıştır. 425 nm'deki 0. dakikadan itibaren alınan örneklerin UV spektrumundaki absorbans değerlerine bakılarak boyarmaddenin biyolojik yıkıma uğratıldığı desteklenmektedir.

3.3.6 Kaliks[4]aren ile İmmobilize Edilmiş *Coprinus plicatilis*'in E. Red 3BS ile Biyodegradasyonu

Kaliks[4]aren ile immobilize edilmiş *Coprinus plicatilis* 25 saat sonunda lakkaz enzim ortamına dekante edildi. 0,5 g glikoz ve belirlenen boyarmadde miktarları ilave edilerek farklı konsantrasyonlardaki boyarmaddenin absorbans değerleri UV spektrofotometrede (425nm) ölçüldü.

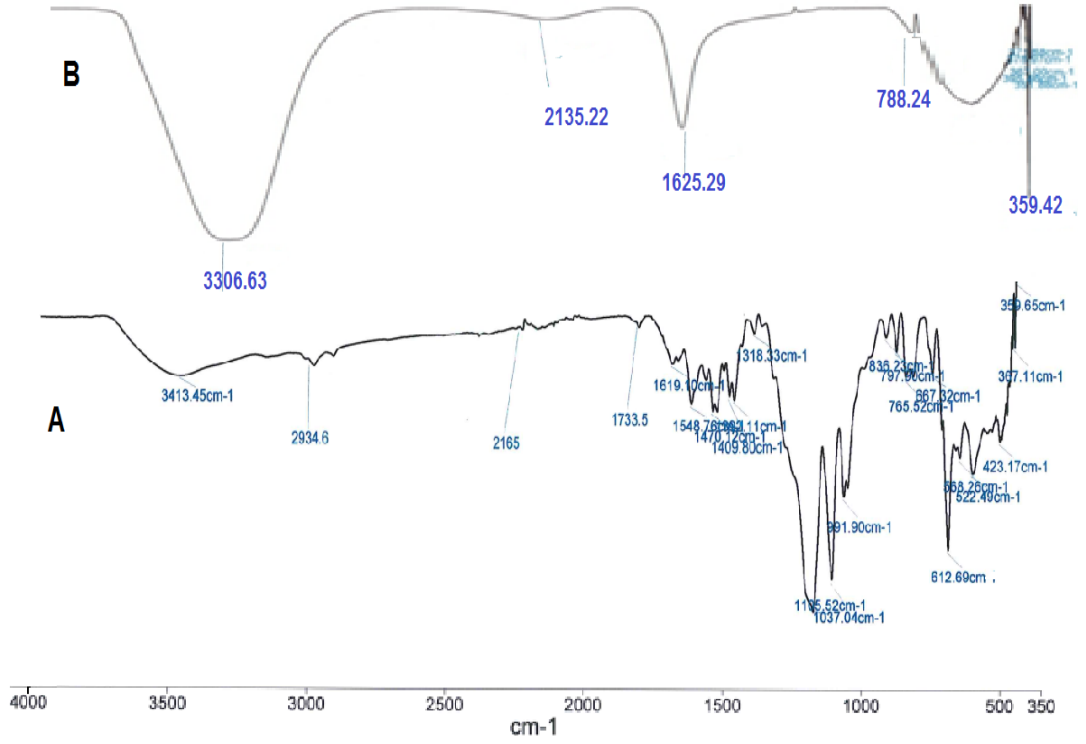


Şekil 3.29 İmmobilize *C. plicatilis* ile Everzol Red 3BS boyarmaddesinin biyodegradasyonu (kaliks[4]aren)

Kaliks[4]aren ile immobilize edilmiş *Coprinus plicatilis* 36 saat sonunda 10.0 mg/L konsantrasyonundaki boyarmaddeyi %78 oranında giderirken 100 mg/L konsantrasyonunu %79 biyolojik giderime uğratmıştır. Şekil 3.29’ da konsantrasyon azaldıkça absorbans değerlerindeki azalma görülmektedir.

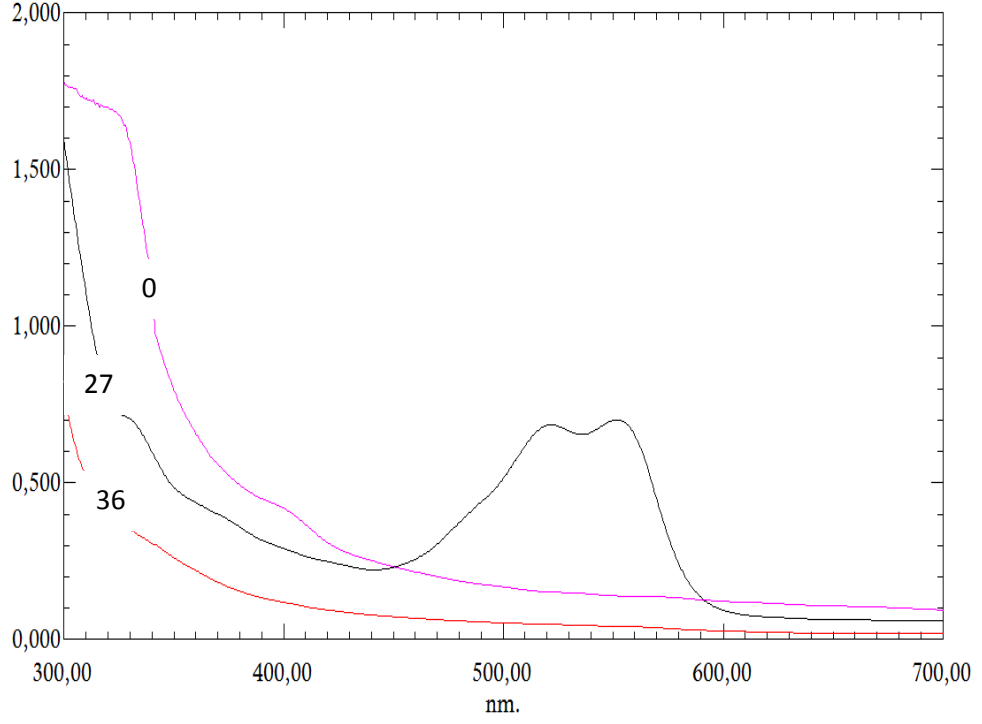
Tablo 3.13 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin % biyodegradasyon oranları (kaliks[4]aren)

	Boyarmadde konsantrasyonu (mg/L)				
	100	75	50	25	10
%Dekolorizasyon	68,05	71,7	72,64	76,19	78,67
%Biyosorpsiyon	17,58	30,68	28,25	33,33	17,39
%Biyodegradasyon	50,47	41,02	44,39	42,86	61,28



Şekil 3.30 Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spektrumları A; Biyodegradasyon öncesi B;Biyodegradasyon Sonrası (kaliks[4]aren).

Biyodegradasyon sonrası alınan örneklerin FT-IR spektrumları, saf haldeki Everzol Red 3BS boyarmaddesinin FT-IR spektrumları ile karşılaştırıldığında saf haldeki 1318 cm^{-1} deki C-N pikinin ve $675\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki C=C piklerinin yıkımdan sonra olmadığı tespit edilmiştir. Boyarmaddenin $1500\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ aralığındaki aromatiklik pikinin ve 3413 cm^{-1} deki N-H pikinin şiddetinin azaldığı gözlemlenmiştir.



Şekil 3.31 Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesinin farklı zamanlardaki UV spektrumu (kaliks[4]aren) (0-27-36h)

kaliks[4]aren ile immobilize edilmiş *C. plicatilis*, Everzol Red 3BS tekstil boyarmaddesini 36 saatte %79 biyolojik giderime uğratmıştır. 425 nm'deki 0. dakikadan itibaren alınan örneklerin UV spektrumundaki absorbans değerlerine bakılarak boyarmaddenin biyolojik yıkıma uğratıldığı desteklenmektedir.

4. SONUÇ

Son yıllarda su kirliliği kontrolü büyük önem kazanmıştır. Tekstil ve boyarmadde sanayilerinin de çevresel sorunlarda büyük payları vardır. Her yıl milyonlarca galon boyarmadde üretilirken, çevreye de bu sanayilerin büyük miktarlarda boyarmadde içeren atık suları bırakılmaktadır. Bununla beraber, reaktif boyarmaddelerin anaerobik degradasyon ürünü olan aromatik aminler toksik ve kanserojenik özelliktedir.

Bu nedenle büyük hacimli atık sulardaki boyarmaddelerin etkili ve ekonomik bir şekilde giderilebilmesi için biyolojik sistemler gibi alternatif yöntemlere gereksinim vardır. Suda çok az miktarda boyarmadde bulunması bile rengi değiştirmekte, suyun geçirgenliğini ve çözünübilirliğini de etkilemektedir. Boyarmaddeler genelde kompleks aromatik yapıda olduklarından arıtımı zordur. Bu yüzden araştırmacılar renk giderimi için alternatif yöntem üzerine çalışmaktadırlar. Biyoteknolojik çalışmalar bu açıdan ümit vericidir.

Çalışmada reaktif boyarmadde grubundan olan Everzol Red 3BS'nin öncelikle üç farklı beyaz çürükçül fungus (*Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* ve *Coprinus plicatilis*) ile yıkımı araştırıldı ve en uygun fungus türü *Coprinus plicatilis* olarak belirlendi. Belirlenen bu fungus türü tarafından *Coprinus plicatilis* yıkım koşulları optimize edildi ve 10 mg/L konsantrasyonundaki Everzol Red 3BS % 90'ın üzerinde yıkıma uğrattığı bulundu. Daha önceki yapılan çalışmalarda da her fungus türünün aynı boyarmaddeyi farklı oranlarda giderdiği tespit edilmiştir [34-36].

Daha sonra *Coprinus plicatilis* ile Everzol Red 3BS giderimi üzerine aminoasit (aspartik asit, arginin, glisin) etkisi araştırılmıştır. En iyi etki aspartik asit aminoasidinde elde edilmiştir. %0,5 aspartik asit içeren ortamda Everzol Red 3BS giderimi %92 olarak bulunmuştur. Bunun nedeni ise; hazırlanan lakkaz enzim ortamının asidik ortamda olması ve aspartik asidin asidik bir aminoasit olması sebebiyle en iyi yıkım aspartik asitte görülmüştür. Ayrıca aminoasit derişimi arttıkça giderimin oranının arttığıda gözlenmiştir [37,38].

Sonraki çalışmada sanayideki boyarmadde kirliliği de esas alınarak bu organizmanın farklı destek materyallerine (Kaolin, Kum, Amberlite XAD-7, Jelâtin, kaliks[4]aren ve p-tert-bütikaliks[4]aren) immobilize edildi.

Amberlite XAD-7 ile immobilize edilmiş *Coprinus plicatilis* tarafından Everzol Red 3BS en iyi biyolojik giderimi oranına sahip olduğu tespit edilmiştir. Amberlite XAD-7 ile immobilize edilmiş organizmalar 23 saat sonunda boyarmaddeyi %100 oranında giderdi (10.0 mg/L). Kum ile immobilize edilmiş *Coprinus plicatilis* 51 saat sonunda boyarmaddeyi %91 giderdi (10.0 mg/L). Kaolin ile immobilize edilmiş organizmalar tarafından 27 saatte boyarmadde %80 oranında biyolojik giderime (10.0 mg/L) uğrattı.

Jelâtin ile immobilize edilmiş organizmalar ise boyarmaddeyi 21 saatte %78 oranında giderdi (10.0 mg/L). Wong ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, lakkaz, PEG içeren aljinat/jelatin boncuklarda immobilize edilmiş ve glutaraldehit ile boncuklar çapraz bağlanmıştır. Optimum koşullarda hazırlanan lakkaz içeren boncuklar tekstil boyar maddesi Red B-3BF gideriminde kullanılmıştır. 10. kez kullanımda % 50 boya giderim verimi saptandığı ifade edilmiştir [39].

Kaliks[4]aren ile immobilize edilmiş organizma boyarmaddeyi 36 saatte %78 yıkıma uğrattırken aynı sürede p-tert-bütikaliks[4]aren ile immobilize edilmiş organizmalar boyarmaddeyi %87 giderime uğrattı. Amberlit XAD-7 ile immobilize edilmiş *C. plicatilis*, yıkım sonrası alınan örneklerin FT-IR spektrumları saf boyarmaddelerin FT-IR spektrumu ile karşılaştırıldığında saf boyarmaddeye ait piklerin tamamını giderime uğrattığı gözlemlendi. Yapılan bu analizler sonucunda fungusun boyarmaddeyi giderime uğrattığı ve giderim sonucunda herhangi bir toksik metabolit olmadığı gözlenmiştir.

Tüm deneyler sonucunda boyarmadde konsantrasyonu arttıkça giderim oranının azaldığı tespit edilmiştir. 2013 yılında yapılan bir çalışmada immobilize hücreler tarafından 100, 150 ve 200 mg/L konsantrasyonlarındaki LG boyarmaddesini sırasıyla 90%, 70% ve 34% oranında giderime uğrattılmıştır [40]. Chakraborty vd yaptıkları çalışmalarında 800 ve 1000 mg/L konsantrasyonlarındaki CR boyarmaddesini *Alternaria alternata* fungusu sırasıyla 78.37% ve 60% giderime uğrattı rapor edilmiştir [41]. Bu araştırmalar sonucunda seçilen beyaz çürükçül

fungusun kirletici olan tekstil atık sularındaki ve diğer sanayi kuruluşlarındaki boyarmaddeleri biyolojik arıtmada etkili olarak kullanılabilceği sonucuna ulaşılmıştır.

5. KAYNAKLAR

- [1] ÜÇPINAR, S., “Sıvı Atıklar”, *Boğaziçi Üniversitesi Çevre Bilimleri Dergisi*, 5, 9-18, (2003)
- [2] UZAL, N., YILMAZ, L., YETİŞ, Ü., “İndigo Boyama Atıklarının Ön Arıtımı: Kimyasal Çöktürme Ön Filtrasyon Süreçlerinin Karşılaştırılması”, *6. Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi*, 429-437, (2005)
- [3] ŞEN, S. and DEMİRER, G. N., “Anaerobic Treatment of Real Textile Wastewater With a Fluidized Bedreactor”, *Water Res.*, 37, 1868-1878, (2003)
- [4] Eichlerova, I., Homolka, L., Nerud, F., “Decolorization of Synthetic Dyes by *Pleurotus ostreatus* Isolates Differing in Ligninolytic Properties”, *Folia Microbiology*, 47 (6), 691-595 (2002)
- [5] O’Neil, C., Hawkes, F. R., Esteves, S., Wilcox, S. J., “Anaerobic-aerobic biotreatment of simulated textile effluent containing varied ratios of starch and azo dye”, *Water Res.*, 34, 2355, (2000).
- [6] Karam J. and Nicel, A. J., “Potential Applications of Enzymes in Waste Treatment” *J. Chem. Tech. Biot.*, 69, 141, (1997).
- [7] Tezer, S., “Tekstil endüstrisi atıksularında yer alan reaktif boyaların biyosorbsiyonunun incelenmesi”, *Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara* (2002)
- [8] Tatlı, A. “Çesitli tekstil boyarmaddelerinin adsorbdiyon/biyosorbsiyonunun karşılaştırılması olarak incelenmesi” *Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara* (2003)
- [9] Kurbanova, R., Mirzaoğlu, R., Ahmedova, G., Şeker, R. And Özcan, E., “Boya ve Tekstil Kimyası ve Teknolojisi”, *Selçuk Üni. Fen-Edeb. Fak. Konya*, 34, 264, (1998).
- [10] Başer, İ. and İnanıcı, Y., “Boyar Madde Kimyası”, *Marmara Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Yayınları*, 90-187, (1990).
- [11] Sumathu, S. and Manju, M. S., “Uptake of reactive textile dyes by *Aspergillus foetidus*”, *Enzyme Microbiol. Technol.*, 27-347 (2000).

- [12] Aksu, Z. and Tezer, S., “Biosorption of reactive dyes on the green alga *Chlorella vulgaris*”, *Process Biochemistry* 40, 1347-1361, (2005).
- [13] Correia, V. M., Stephenson, T., Judd, S. J., “Characteristics of textile wastewaters-a review”, *Environ. Technol.* 15, 917-929, (1994).
- [14] KOCAER, F. O. and ALKAN, U., “Boyar Madde İçeren Tekstil Atık Sularının Arıtım Alternatifleri”, *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 1, 47-55, (2002).
- [15] Socha, K., “Treatment of Textile Effluents”, *Textile Month*, 12, 52-56, (1991)
- [16] Robinson, T., McMullan, G., Marchant R., Nigam, P., “Remediation of Dyesin Textile Effluent: A Critical Review on Current Treatment Technologies with A Proposed Alternative”, *Bioresource Techn.*, 77, 247-255, (2001).
- [17] Strickland, A. F. and Perkins, W. S. “Decolorization of Continuous Dyeing Wastewater by Ozonation”, *Text. Chem. Color.*, 27(5), 11-15, (1995)
- [18] Slokar, Y. M. and Majcen Le Marechal, A., “Methods of Decoloration of Textile Wastewaters”, *Dyes Pigments* 37, 335-356, (1997).
- [19] KAPDAN, İ.K. and KARGI, F., “Atık Sulardan Tekstil Boyarmaddelerinin Adsorpsiyonlu Biyolojik Arıtım İle Giderimi”, *Turk J. Engin. Environ. Sci.*, 24, 161-169, (2000).
- [20] Hasenekoğlu D., Yesilyurt S., “Mikrobiyoloji”, *Erzurum*, 59, (2001).
- [21] Alain-Boudet, M., “Lignins and lignification”, *Plant Physiol. Biochem.*, 38, 81, (2000).
- [22] Wainwright, M., “An Introduction to Fungal Biotechnology”, *John Wiley & Sons*, New York, 86, (1992).
- [23] Kirk, T. K., Lamar, T., Glaser, J. A., “The potential of white-rot fungi in bioremediation”, *Biotechnol. Environ. Sci.*, 131-138, (1992).
- [24] Yesilada, O., Asma, D., Cing, S., “Decolorization of textile dyes by fungal pellets”, *Process Biochem.*, 38, 933, (2003),
- [25] Leonowicz, A., Matuszewska, A., Luterek, J., Ziegenhagen, D., Wasilewska, M., Cho, N., Hofrichter, M., Rogalski, J., “Biodegradation of Lignin by White Rot Fungi”, *Fungal Genet. Biol.*, 27, 175, (1999).

- [26] Amaral, P. F. F., Fernandes, D. L. A., Tavares, A. P. M., Xavier, A.B.M.R., Cammarota, M. C., Coutinho, J. P. A., Coelho, M. A. Z., “Decolorization of Dyes From Textile Wastewater by *Trametes versicolor*”, *Environ. Technol.*, 25, 1313-1320, (2004).
- [27] Karadag, H., “Soya Fasulyesi Lipoksijenazının Poliakrilamid Jel Üzerine immobilizasyonu”, *Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi*, Adana, (2001)
- [28] Aksoy, C., “Lipaz ve Üreaz Enzimlerinin Çesitli Tasıyıcılara İmmobilizasyonu”, *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi*, İstanbul, (2003).
- [29] Arıca, M. Y., Arpa, Ç., Ergene, A., Bayramoglu G., Genç, Ö., “Ca-alginate as a supporter for Pb(II) and Zn(II) biosorption with immobilized *Phanerochaete chrysosporium*” *Carbohydr. Polym.*, 52, 167-174, (2003).
- [30] Raghukumar, C., Mohandass C., Kamat, S., Shailaja, M. S., “Simultaneous detoxification and decolorization of molasses spent wash by the immobilized white rot fungus *Flavodon flavus* isolated from a marine habitat”, *Enzyme Microb Tech.*, 35, 197-202, (2004).
- [31] Couto, S. R., Sanroman, M. A., Hofer, D., Gubitz, G. M., “Stainless steel sponge: a novel carrier for the immobilisation of the white-rot fungus *Trametes hirsuta* for decolourization of textile dyes”, *Bioresource Technol.*, 95, 67-72, (2004).
- [32] Wu, J. and Yu, H. Q., “Biosorption of 2,4-dichlorophenol by immobilized white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* from aqueous solutions”, *Bioresource Technol.*, 98, 253-259, (2007).
- [33] Pazarlıoğlu, N. K., Sarişik, M., Telefoncu, A., “Laccase: production by *Trametes versicolor* and application to denim washing”. *Process Biochem.*, 40, 1673-1678, (2005).
- [34] Platin, S. “Beyaz Çürükçül Funguslar İle Tekstil Boyarmaddelerin Renginin Giderimi” *Doktora Tezi, Eskisehir Osmangazi Üniversitesi*, Eskişehir (2004).
- [35] Mohorcic, M., Friendrich, J., Pavko, A., “Decoloration of The Diazo Dye Reactive Black 5 by İmmobilised *Bjerkandera adusta* in a Stirred Tank Bioreactor”. *Acta Chim. Slov.*, 51, 619-628, (2004).
- [36] Swamy, J., “The Biodecoloration of Textile Dyes by White – Rot Fungus *Trametes versicolor*” A Master Thesis Submitted to The Department of Chemical Engineering, 1-100, (1998).

[37] Beg, Q. K., Bhushan, B., Kapoor, M., Hoondal, G.S., "Effect of amino acids on production of xylanase and pectinase from *Streptomyces sp.* QG-11-3". *W.J. Microbiol. Biotechnol.*, 16, 211–213, (2000).

[38] Dhawan, S., Kuhad, R.C., "Effect of amino acids and vitamins on laccase production by the bird's nest fungus *Cyathus bulleri*". *Bioresource Technol.*, 84, 35-38, (2002).

[39] Wong, P., Fan, X., Cui, L., Wong, Q., Zhan, A., "Decolorization of reactive dyes by laccase immobilized in alginat/gelatin blent with PEG". *J. Environ. Sci.*, 20, 1519-1522, (2008).

[40] Daâssi, D., Mechichi, T., Nasri, M., Rodriguez-Couto, S., "Decolorization of the metal textile dye Lanaset Grey G by immobilized white-rot fungi". *J. Environ. Management*, 129, 324-332, (2013).

[41] Chakraborty, S., Basak, B., Dutta, S., Bhunia, B., Dey, A., "Decolorization and biodegradation of congo red dye by a novel white rot fungus *Alternaria alternata* CMERI F6". *Bioresource Technol.*, 147, 662–666, (2013).

6. ÖZGEÇMİŞ

Merve CANPOLAT TOPUZ

Doğum tarihi ve yeri : 18.05.1988 Fatih-İSTANBUL
E-mail : mervecanpolat@hotmail.com
Medeni hali : Evli
Dili : İngilizce
İletişim Adresi: Adalet Mah. Orhangazi Cad. No:28 Saygı Apt.
Bereketli/DENİZLİ

EĞİTİM / ÖĞRETİM

Kimya Lisans: Pamukkale Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
Denizli

Kimya Yüksek Lisans: Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli

ESERLER

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

A1. Hatice ARDAG AKDOGAN, **Merve CANPOLAT**, “Removal of Reactive Orange 16 by Immobilized *Coprinus plicatilis* in the Batch Shaking Bioreactor” *Fibers and Polymers*, 14(1) 76-81, (2013).

A2. Nazime MERCAN DOGAN, Nur BOZBEYOGLU, Dicle ARAR, Hatice ARDAG AKDOGAN, **Merve CANPOLAT TOPUZ**, Yavuz BEYATLI “Investigation of Reactive Dye Turquoise Blue Hfg Removal with *Lysinibacillus Fusiformis* B26 and Detection of Metabolites” *Fresenius Environmental Bulletin*, 22 9 (2013).

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında (Proceedings) basılan bildiriler :

B1. Comparision of Remazol Brilliant Blue Removal by Two Different Immobilized Organisms, **MERVE CANPOLAT**, Hatice ARDAG AKDOGAN Spectroscopy-Detective in Science 2011 Rostock/Germany

B2. Immobilized *Coprinus Plicatilis* Removal of Reactive Orange 16 In The Batch Shaking Bioreactor, H. A. AKDOGAN and **M. CANPOLAT** 37th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry, Antwerp/BELÇİKA, 2012

B3. Decolorization of Textile Dye Everzol Red by Immobilized *Coprinus plicatilis* onto Various Carrier Matrices, Hatice ARDAG AKDOGAN, **Merve CANPOLAT TOPUZ**, Sinem AKBULUT 2nd International Symposium on Green Chemistry Renewable carbon and Eco-Efficient Processes, La Rochelle/FRANCE, 2013

B4. Identification of Atrazine metabolites by White Rot Fungi *Coprinus plicatilis*, Abdullah AKDOGAN, **Merve CANPOLAT**, Hatice ARDAG AKDOGAN, Ümit DIVRIKLI, Latif ELCI 2nd International Symposium on Green Chemistry Renewable carbon and Eco-Efficient Processes, La Rochelle/FRANCE, 2013

C. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

C1. Bazı Disazo Boyarmaddelerinin *Pleurotus ostreatus* ile Biyolojik Giderimi ve Biyosorpsiyon Özelliklerinin Karşılaştırılması; **Merve CANPOLAT**, Hatice ARDAĞ AKDOĞAN, Aykut DEMİRÇALI, Fikret KARCI; I. Eser Analiz Çalıştay, Denizli/Türkiye, 2010

C2. İki Farklı Organizma Tarafından Remazol Brilliant Mavisinin Giderimlerinin Karşılaştırılması; GC-MS Ve FT-IR ile Metabolitlerin Araştırılması; Hatice ARDAĞ AKDOĞAN, **Merve CANPOLAT**; 22. Ulusal Biyokimya Sempozyumu, Eskişehir/Türkiye, 2010

C3. Serbest ve İmmobilize *Pleurotus ostreatus* ile İki Farklı Disazo Boyarmaddenin Biyolojik Yıkımı; **Merve CANPOLAT**, Hatice ARDAĞ AKDOĞAN, Aykut

DEMİRCALİ, Fikret KARCI; 22. Ulusal Biyokimya Sempozyumu, Eskişehir/Türkiye, 2010

C4. *Trametes versicolor* ile Direct Blue 15 Giderimi Üzerine Glisinin Etkisi; Cemile CETİN, **Merve CANPOLAT**, Hatice ARDAĞ AKDOĞAN; 22. Ulusal Biyokimya Sempozyumu, Eskişehir/Türkiye, 2010

C5. *Coprinus plicatilis* Tarafından Turquoise Blue HFG Gideriminin Araştırılması; Hulya TURK, **Merve CANPOLAT TOPUZ**, Hatice ARDAG AKDOGAN; 2. Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, Antalya/TÜRKİYE, 2012

C6. *Pleurotus ostreatus* Tarafından Altı Farklı Disazo boyarmadenin Biyolojik Giderimi; **Merve CANPOLAT TOPUZ**, Hatice ARDAG AKDOGAN, Aykut DEMİRCALİ, Fikret KARCI; 2. Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, Antalya/TÜRKİYE, 2012

C7. İki Farklı İmmobilize Beyaz Çürükçül Fungus ile Turquoise Blue HFG' nin Giderimlerinin Karşılaştırılması; **Merve CANPOLAT**, Hulya TURK, Asiye A. URHAN, Hatice ARDAG AKDOGAN; 2. Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, Antalya/TÜRKİYE, 2012

C8. Termotolerant *Bacillus licheniformis* B22 ile Turkuaz Mavisini HFG Reaktif Boyar Maddenin Dekolorizasyonu ve Biyodegradasyonu; Dicle ARAR, Nur BOZBEYOĞLU, Nazime DOĞAN, Hatice AKDOĞAN, **Merve CANPOLAT**, Gülümser DOĞANLI; 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, İzmir/TÜRKİYE, 2012

C9. Termofilik *Lysinibacillus fusiformis* B26 ile Boyar Madde Turkuaz Mavisini HFG'nin Dekolorizasyonu ve Biyodegradasyonu; Nur BOZBEYOĞLU, Dicle ARAR, Nazime DOĞAN, Hatice AKDOĞAN, **Merve CANPOLAT**, Tuğba ŞENSOY; 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, İzmir/TÜRKİYE, 2012

C10. Tekstil (Denizli) Atık Suyundan İzole Edilen *Bacillus Sp.*Dt12 İle Reaktif Red 123'ün Biyotransformasyonu Üzerine Bir Çalışma; Tuğba ŞENSOY, Dicle ARAR, Sedat MENGEŞ, Ozan Hakkı DEMİR, Ceren ERDEM, Nur BOZBEYOĞLU, Merve YILDIZ, Nazime MERCAN DOĞAN, Hatice Ardağ Akdoğan, **Merve Canpolat**; XIII. Ulusal Spektroskopi Kongresi, Burdur/TÜRKİYE, 2013

C11. Reaktif Red 123'ün Bakteriyal Biyotransformasyonu; Dicle ARAR, Tuğba ŞENSOY, Nazime MERCAN DOĞAN, Gülümser ACAR DOĞANLI, Hatice AKDOĞAN, **Merve CANPOLAT**; XIII. Ulusal Spektroskopi Kongresi, Burdur/TÜRKİYE, 2013

C12. Everzol Red' in Tutuklanmış *Morchella esculenta* Tarafından Renk Giderimi; Asiye A. Urhan, Gülsüm Sert, **Merve Canpolat Topuz**, Hatice Ardağ Akdoğan; Kromatografi 2013 Kongresi Bursa/TÜRKİYE, 2013

C13. Serbest Ve İmmobilize *Morchella esculenta* İle Boyarmaddenin Renk Gideriminin Karşılaştırılması; Begüm Tütüncü, Gülsüm Sert, **Merve Canpolat Topuz**, Hatice Ardağ Akdoğan; Kromatografi 2013 Kongresi Bursa/TÜRKİYE, 2013

C14. Farklı Beyaz Çürükçül Funguslarla Tekstil Boyarmaddesinin Renk Giderimlerinin Karşılaştırılması; Gülsüm Sert, Hatice A. Akdoğan, **Merve C. Topuz**; Kromatografi 2013 Kongresi Bursa/TÜRKİYE, 2013

C15. *Coprinus plicatilis* İle Boyarmadde Giderimine Aminoasitlerin Etkisi; Hatice Ardağ Akdoğan, Sinem Ergün, **Merve Canpolat Topuz**; Kromatografi 2013 Kongresi Bursa/TÜRKİYE, 2013

C16. Bazı Tekstil Boyarmaddelerinin *Coprinus plicatilis* Tarafından Biyolojik Giderimlerinin Araştırılması; **Merve Canpolat Topuz**, Hatice A. Akdoğan, Nazime M. Doğan, Abdullah Akdoğan; Kromatografi 2013 Kongresi Bursa/TÜRKİYE, 2013

C17. Everzol Red 3BS Tekstil Boyarmaddesinin İmmobilize *Coprinus plicatilis* Tarafından Renk Giderimi; Sinem Akbulut, **Merve Canpolat Topuz**, Hatice Ardağ Akdoğan; Kromatografi 2013 Kongresi Bursa/TÜRKİYE, 2013