

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

77915

**ENDÜSTRİYEL VE TARIMSAL ATIKLARIN BİYOTEKNOLOJİK OLARAK
DEĞERLENDİRİLMESİNDE YENİ BİR YAKLAŞIM**

DOĞU AKAD. ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

SİBEL (ŞİK) KAHRAMAN

77915

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MALATYA

1998

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

İş bu çalışma jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Esref Yüksel

Üye

Prof. Dr. Kayahan Fıstık

Üye

Doç. Dr. Ömer Yeşilada

ONAY

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../1998

Prof. Dr. Esref YUKSEL
Enstitü Müdürü



ÖZET

Bu çalışmanın amacı, beyaz-çürükçül funguslar kullanılarak tarımsal ve endüstriyel atıkların biyolojik yıkımının ve değerlendirilmesinin test edilmesidir. Bu araştırmada tarımsal atık olarak pamuk sapı ve endüstriyel atık olarak zeytin yağı fabrikası atıksuyu (ZYFA) ve vinas kullanılmıştır. Pamuk sapı, pamuk hasadından sonra bir yan ürün olarak Türkiye'de yılda ortalama 700.000 ton oluşan bir tarımsal atıktır. Vinas alkol fabrikası atık suyudur. ZYFA, zeytin yetişen Akdeniz Ülkelerinde yılda yaklaşık 3.10^7 m³'ün üzerinde üretilen ve yüksek kirlilik potansiyeline sahip olan bir atıktır.

Bu çalışmada ilk olarak, dört beyaz-çürükçül fungusun (*C. versicolor*, *F. trogii*, *P. sajor-caju*, *P. chrysosporium*) lignin giderim yetenekleri yarı katı fermentasyon esnasında belirlenmiştir. Bu deneyler esnasında sentetik ve doğal kültür ortamları (ZYFA ve vinas) kullanılmıştır. En yüksek lignin giderimi *P. chrysosporium* ile %44 olarak %30'luk ZYFA kültür ortamında elde edilmiştir.

Diğer yandan, bu fungusların hücre dışı enzim üretim aktiviteleri test edilmiş ve ligninaz, Mn-peroksidaz ve NADH-peroksidaz aktiviteleri saptanamamıştır. Fakat, *C. versicolor*, *F. trogii* ve *P. sajor-caju* yüksek lakkaz, selülaz, amilaz ve ksilanaz aktivitesi göstermiştir. *P. chrysosporium* ile ekstraselüler lakkaz aktivitesi belirlenememiştir fakat yüksek selülaz, amilaz ve ksilanaz aktiviteleri saptanmıştır. Aynı zamanda beyaz çürükçül fungusların lakkaz aktivitesi üzerine endüstriyel atıkların indükleyici etkileri olduğu belirlenmiştir.

Bu beyaz çürükçül funguslar ile endüstriyel atıkların biyolojik yıkımı da test edilmiştir. Sonuçlarımız ZYFA ve vinasın beyaz çürükçül funguslarla inkübasyonu

sonucu endüstriyel atıkların KOİ, fenol ve renk içeriğinde giderimler olduğunu ve yüksek bir lakkaz aktivitesinin oluştuğunu göstermektedir.

Vinas kültür ortamındaki en yüksek KOİ giderimi *F. trogii* ile pamuk sapı ve vinas kültür ortamında (%30) % 62 olarak gözlenmiştir. En yüksek renk giderimi *C. versicolor* ile pamuk sapı ve vinas kültür ortamında (%10) %71 olarak saptanmıştır. ZYFA kültür ortamındaki en yüksek KOİ giderimi *F. trogii* ile pamuk sapı ve ZYFA kültür ortamında (%30) %51 olarak gözlenmiştir. En yüksek fenol giderimi *C. versicolor* ile pamuk sapı eklenmemiş ZYFA kültür ortamında (%30) %96 giderim olarak saptanmıştır. En yüksek renk giderimi *P. chrysosporium* ile pamuk sapı ve ZYFA kültür ortamında (%20) %58 olarak saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Lignin Giderimi, Lakkaz, Selülaz, Ksilanaz, KOİ giderimi, Fenol giderimi, Renk Giderimi, Pamuk Sapı, Zeytin Yağı Fabrikası Atıksuyu, Vinas

SUMMARY

The aim of this study was to test the biodegradation and evaluating the agricultural and industrial wastes with white rot fungi. In this research cotton stalk, agricultural and industrial wastes vinasse and olive oil mill wastewaters (OOMW) were used. Cotton stalk is a by-product of cotton cultivation and is available at around 700.000 tons, annually in Türkiye. Vinasse is a waste water of alcohol production plant. OOMW has high pollution potential and annual OOMW production in the mediterranean olive- growing countries is estimated to be over 3.10^7 m³.

First of all in this study the lignin degradation capacity of four white rot fungi (*Coriolus versicolor*, *Funalia trogii*, *Pleurotus sajor-caju*, *Phanerochaete chrysosporium*) was determined during the semi solid-state fermentation. During these experiments, synthetic and natural culture media such as OOMW and vinasse were used. *P. chrysosporium* showed the highest lignin degradation capacity with 44% in OOMW medium (30%).

On the other hand, extracelullar enzyme production activities of these fungi were tested and no ligninase, Mn- peroxidase and NADH-peroxidase activities were determined. But, *C. versicolor*, *F. trogii* and *P. sajor- caju* exhibited high laccase, cellulase, amylase and xylanase activities. *P. chrysosporium* had no extracellular laccase activity. *P. chrysosporium* showed high cellulase, amylase and xylanase activities. Also, inducible effect of these two industrial wastes on laccase activity of white rot fungi were determined.

Biotechnological degradation of industrial wastes with these white rot fungi was also tested. Our result showed that incubation of OOMW and vinasse with white rot

fungi reduced COD, phenol and color contents of industrial wastes and caused high laccase activities.

F. trogii showed the highest 62% COD removal ability in cotton stalk and vinasse culture medium (30%). Highest 71% color removal was obtained *C. versicolor* in cotton stalk and vinasse culture medium (10%). *F. trogii* showed the highest 51% COD removal ability in cotton stalk and OOMW culture medium (30%). Highest 96% phenol removal was obtained with *C. versicolor* in OOMW culture medium (30%) without cotton stalk. Highest 58% color removal was obtained with *P. chrysosporium* in cotton stalk and OOMW culture medium (20%).

Key Words: Lignin Degradation, Laccase, Cellulase, Xylanase, COD Removal, Phenol Removal, Color Removal, Cotton Stalk, Olive Oil Mill Wastewater, Vinasse

TEŞEKKÜR

Tez yöneticim **Doç. Dr. Özfer YEŞİLADA**'ya, tez konusunun belirlenmesi, çalışmaların yürütülmesi ve yazımı esnasında büyük bir hoşgörü ile göstermiş olduğu ilgi, destek ve yardımlarından ötürü en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Bu tez çalışmasının yürütüldüğü Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Laboratuvarındaki çalışmalarım esnasında her türlü kolaylığı sağlayan Biyoloji Bölüm Başkanı **Prof. Dr. Eşref YÜKSEL**'e içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında, yardıma ihtiyaç duyduğum her anında desteğini gördüğüm **Mesut Şam** ve diğer çalışma arkadaşlarıma ilgilerinden dolayı teşekkür ederim

Güç ve sabır isteyen çalışmalarım sırasında her an desteklerini, ilgilerini ve sevgilerini kalbimde hissettiğim **Aileme** ve **Eşim Hüseyin**'e içten teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	<u>SAYFA</u>
1. GİRİŞ	1
1.1 Genel Bilgiler	1
1.2 Biyoteknoloji	3
1.3 Beyaz Çürükçül Fungusların Biyoteknolojide Kullanımı	4
1.4 Çalışmada Kullanılan Endüstriyel ve Tarımsal Atıkların Özellikleri	10
1.4.1 Pamuk Sapı	10
1.4.2 Zeytin Yağı Fabrikası Atıksuyu (ZYFA)	13
1.4.3 Alkol Fabrikası Atığı (Vinas)	17
1.5 Lignolitik Enzim Üretimi	20
1.5.1 Lakkaz (E.C 1.10.3.2)	21
1.5.2 Ligninaz (Lignin Peroksidaz)	22
1.5.3 Mangan Peroksidaz	23
1.5.4 Selülaz	24
1.5.5 Ksilanaz	25
1.5.6 Amilaz	26
2. MATERYAL VE METOD	28
2.1 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar	28
2.2 Çalışmada Kullanılan Kültür Ortamlarının Hazırlanması.....	28
2.3 Çalışmada Kullanılan Lignosellülozik Materyalin Hazırlanması	30
2.4 Kültür Koşulları	31
2.5 Analizler	32
2.5.1 Pamuk Sapı İle İlgili Analizler (Lignin ve Selüloz Tayini	32
2.5.2 Endüstriyel Atıklar (ZYFA ve Vinas)İle İlgili Analizler	33
2.5.2.1 Atıklardaki Kimyasal Oksijen İsteminin (KOI) Ölçümü.....	34
2.5.2.2 Atıklardaki Renk Değişiminin Ölçümü.....	34

2.5.2.3 Atıklardaki Fenol Miktarının Ölçümü.....	34
2.5.2.4 Atıkların İçeriği İle İlgili Analizler	35
2.5.3 Kültür Ortamındaki Ekstraselüler Enzim	
Aktivitesinin Saptanması	35
2.5.3.1 Lakkaz Aktivitesi	36
2.5.3.2 Ligninaz Aktivitesi	36
2.5.3.3 NADH-Peroksidaz Aktivitesi	37
2.5.3.4 Selülaz Aktivitesi	37
2.5.3.5 Amilaz Aktivitesi	38
2.5.3.6 Ksilanaz Aktivitesi	38
2.5.4 Kültür Ortamındaki Biyokütle Miktarının	
Ölçümü	39
3. BULGULAR	40
3.1 Tarımsal Atık Pamuk Sapının Lignin ve Selüloz İçeriği.....	40
3.2 Endüstriyel Atıkların (ZYFA ve Vinas) İçeriği.....	40
3.3 Lignoselülozik Kaynak Olarak Pamuk Sapının	
Kullanıldığı Farklı Kültürlerde Saptana Enzim Aktivite	
Değişimleri	40
3.3.1 <i>C. versicolor</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde	
Edilen Enzim Aktiviteleri	42
3.3.1.1 Lakkaz Aktivitesi	42
3.3.1.2 Amilaz Aktivitesi	45
3.3.1.3 Selülaz Aktivitesi	47
3.3.1.4 Ksilanaz Aktivitesi	50
3.3.2 <i>F. trogii</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde	
Edilen Enzim Aktiviteleri.....	52
3.3.2.1 Lakkaz Aktivitesi	52
3.3.2.2 Amilaz Aktivitesi	54
3.3.2.3 Selülaz Aktivitesi	56
3.3.2.4 Ksilanaz Aktivitesi	59
3.3.3 <i>P. sajor-caju</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde	
Edilen Enzim Aktiviteleri.....	61

3.3.3.1	Lakkaz Aktivitesi	61
3.3.3.2	Amilaz Aktivitesi	63
3.3.3.3	Selülaz Aktivitesi	66
3.3.3.4	Ksilanaz Aktivitesi	68
3.3.4	<i>P. chrysosporium</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde	
	Edilen Enzim Aktiviteleri	71
3.3.4.1	Lakkaz Aktivitesi	71
3.3.4.2	Amilaz Aktivitesi	71
3.3.4.3	Selülaz Aktivitesi	73
3.3.4.4	Ksilanaz Aktivitesi	75
3.4	Sentetik Besiyeri Ortamlarında Pamuk Sapında Meydana	
	Gelen Lignin ve Selüloz Giderimleri (% Giderim)	77
3.5	Lignoselülozik Kaynak Olarak Pamuk Sapının	
	Kullanıldığı Doğal Besiyeri Ortamlarında Meydana	
	Gelen Enzim Aktivite Değişimleri	80
3.5.1	<i>C. versicolor</i> ile Elde Edilen Lakkaz Aktivitesi	80
3.5.2	<i>F. trogii</i> ile Elde Edilen Lakkaz Aktivitesi	85
3.5.3	<i>P. sajor-caju</i> ile Elde Edilen Lakkaz Aktivitesi	89
3.6	Endüstriyel Atık (ZYFA ve Vinas) Ortamlarında Pamuk Sapında	
	Meydana Gelen Lignin ve Selüloz Giderimi (% Giderim)	93
3.7	Pamuk Sapı Eklenmiş ve Eklenmemiş Endüstriyel Atıklarda	
	Çeşitli Fungusların Üretimi Sonucu Meydana Gelen KOİ,	
	Fenol ve Renk Giderimleri	96
3.7.1	<i>C. versicolor</i> ile İşlem Görmüş Atıklarda Oluşan	
	KOİ, Fenol ve renk Giderimi	97
3.7.1.1	KOİ Giderimi	97
3.7.1.2	Fenol Giderimi	99
3.7.1.3	Renk Giderimi	100
3.7.2	<i>F. trogii</i> ile İşlem Görmüş Atıklarda Oluşan	
	KOİ, Fenol ve renk Giderimi	101
3.7.2.1	KOİ Giderimi	101
3.7.2.2	Fenol Giderimi	103

3.7.2.3 Renk Giderimi	104
3.7.3 <i>P. sajor- caju</i> ile İşlem Görmüş Atıklarda Oluşan KOİ, Fenol ve renk Giderimi	106
3.7.3.1 KOİ Giderimi	106
3.7.3.2 Fenol Giderimi	108
3.7.3.3 Renk Giderimi	109
3.7.4 <i>P. chrysosporium</i> ile İşlem Görmüş Atıklarda Oluşan KOİ, Fenol ve renk Giderimi	110
3.7.4.1 KOİ Giderimi	110
3.7.4.2 Fenol Giderimi	112
3.7.4.3 Renk Giderimi	113
4. TARTIŞMA	116
KAYNAKLAR	145
ÖZGEÇMİŞ	160

ŞEKİLLER DİZİNİ

		<u>SAYFA</u>
Şekil 1.1	Lignin Yıkımında Görev Alan Enzimler Arasındaki İlişki	27
Şekil 3.1	<i>C. versicolor</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Lakkaz Aktivitesi	43
Şekil 3.2	<i>C. versicolor</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Lakkaz Aktivitesi	44
Şekil 3.3	<i>C. versicolor</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Amilaz Aktivitesi	46
Şekil 3.4	<i>C. versicolor</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Amilaz Aktivitesi	47
Şekil 3.5	<i>C. versicolor</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Selülaz Aktivitesi	49
Şekil 3.6	<i>C. versicolor</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Selülaz Aktivitesi	49
Şekil 3.7	<i>C. versicolor</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Ksilanaz Aktivitesi	50
Şekil 3.8	<i>C. versicolor</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Ksilanaz Aktivitesi	51
Şekil 3.9	<i>F. trogii</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Lakkaz Aktivitesi	53
Şekil 3.10	<i>F. trogii</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Lakkaz Aktivitesi	53
Şekil 3.11	<i>F. trogii</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Amilaz Aktivitesi	55
Şekil 3.12	<i>F. trogii</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Amilaz Aktivitesi	56
Şekil 3.13	<i>F. trogii</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Selülaz Aktivitesi	57
Şekil 3.14	<i>F. trogii</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Selülaz Aktivitesi	58

Şekil 3.15	<i>F. trogii</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Ksilanaz Aktivitesi	60
Şekil 3.16	<i>F. trogii</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Ksilanaz Aktivitesi	60
Şekil 3.17	<i>P. sajor- caju</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Lakkaz Aktivitesi	62
Şekil 3.18	<i>P. sajor- caju</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Lakkaz Aktivitesi	63
Şekil 3.19	<i>P. sajor- caju</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Amilaz Aktivitesi	64
Şekil 3.20	<i>P. sajor- caju</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Amilaz Aktivitesi	65
Şekil 3.21	<i>P. sajor- caju</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Selülaz Aktivitesi	67
Şekil 3.22	<i>P. sajor- caju</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Selülaz Aktivitesi	68
Şekil 3.23	<i>P. sajor- caju</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Ksilanaz Aktivitesi	70
Şekil 3.24	<i>P. sajor- caju</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Ksilanaz Aktivitesi	70
Şekil 3.25	<i>P. chryso sporium</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Amilaz Aktivitesi	72
Şekil 3.26	<i>P. chryso sporium</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Amilaz Aktivitesi	73
Şekil 3.27	<i>P. chryso sporium</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen SelülazAktivitesi	74
Şekil 3.28	<i>P. chryso sporium</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Selülaz Aktivitesi	75
Şekil 3.29	<i>P. chryso sporium</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Ksilanaz Aktivitesi	76
Şekil 3.30	<i>P. chryso sporium</i> ile Farklı Kültür Ortamlarında Elde Edilen Ksilanaz Aktivitesi	77

Şekil 3.31	Pamuk Sapı Eklenmeyen ZYFA Ortamlarında <i>C. versicolor</i> 'un Üretimi Sonucu Günlere Bağlı Olarak Elde Edilen Lakkaz Aktivite Değişimleri	82
Şekil 3.32	Pamuk Sapı Eklenmiş ZYFA Ortamlarında <i>C. versicolor</i> 'un Üretimi Sonucu Günlere Bağlı Olarak Elde Edilen Lakkaz Aktivite Değişimleri	82
Şekil 3.33	Pamuk Sapı Eklenmeyen Vinas Ortamlarında <i>C. versicolor</i> 'un Üretimi Sonucu Günlere Bağlı Olarak Elde Edilen Lakkaz Aktivite Değişimleri	84
Şekil 3.34	Pamuk Sapı Eklenmiş Vinas Ortamlarında <i>C. versicolor</i> 'un Üretimi Sonucu Günlere Bağlı Olarak Elde Edilen Lakkaz Aktivite Değişimleri	84
Şekil 3.35	Pamuk Sapı Eklenmeyen ZYFA Ortamlarında <i>F. trogii</i> 'nin Üretimi Sonucu Günlere Bağlı Olarak Elde Edilen Lakkaz Aktivite Değişimleri	86
Şekil 3.36	Pamuk Sapı Eklenmiş ZYFA Ortamlarında <i>F. trogii</i> 'nin Üretimi Sonucu Günlere Bağlı Olarak Elde Edilen Lakkaz Aktivite Değişimleri	86
Şekil 3.37	Pamuk Sapı Eklenmeyen Vinas Ortamlarında <i>F. trogii</i> 'nin Üretimi Sonucu Günlere Bağlı Olarak Elde Edilen Lakkaz Aktivite Değişimleri	88
Şekil 3.38	Pamuk Sapı Eklenmiş Vinas Ortamlarında <i>F. trogii</i> 'nin Üretimi Sonucu Günlere Bağlı Olarak Elde Edilen Lakkaz Aktivite Değişimleri	88
Şekil 3.39	Pamuk Sapı Eklenmeyen ZYFA Ortamlarında <i>P. sajor-caju</i> 'nın Üretimi Sonucu Günlere Bağlı Olarak Elde Edilen Lakkaz Aktivite Değişimleri	90
Şekil 3.40	Pamuk Sapı Eklenmiş ZYFA Ortamlarında <i>P. sajor-caju</i> 'nın Üretimi Sonucu Günlere Bağlı Olarak Elde Edilen Lakkaz Aktivite Değişimleri	90
Şekil 3.41	Pamuk Sapı Eklenmeyen Vinas Ortamlarında <i>P. sajor-caju</i> 'nın Üretimi Sonucu Günlere Bağlı Olarak	

	Elde Edilen Lakkaz Aktivite Değişimleri	92
Şekil 3.42	Pamuk Sapı Eklenmiş Vinas Ortamlarında <i>P. sajor- caju</i> 'nın Üretimi Sonucu Günlere Bağlı Olarak Elde Edilen Lakkaz Aktivite Değişimleri	92
Şekil 3.43	<i>C. versicolor</i> ile Vinas ortamında KOİ Giderimi	97
Şekil 3.44	<i>C. versicolor</i> ile ZYFA ortamında KOİ Giderimi	98
Şekil 3.45	<i>C. versicolor</i> ile ZYFA ortamında Fenol Giderimi	99
Şekil 3.46	<i>C. versicolor</i> ile Vinas ortamında Renk Giderimi	100
Şekil 3.47	<i>C. versicolor</i> ile ZYFA ortamında Renk Giderimi	101
Şekil 3.48	<i>F. trogii</i> ile Vinas ortamında KOİ Giderimi	102
Şekil 3.49	<i>F. trogii</i> ile ZYFA ortamında KOİ Giderimi	102
Şekil 3.50	<i>F. trogii</i> ile ZYFA ortamında Fenol Giderimi.....	104
Şekil 3.51	<i>F. trogii</i> ile Vinas ortamında Renk Giderimi	105
Şekil 3.52	<i>F. trogii</i> ile ZYFA ortamında Renk Giderimi.....	105
Şekil 3.53	<i>P. sajor- caju</i> ile Vinas ortamında KOİ Giderimi.....	107
Şekil 3.54	<i>P. sajor- caju</i> ile ZYFA ortamında KOİ Giderimi.....	107
Şekil 3.55	<i>P. sajor- caju</i> ile ZYFA ortamında Fenol Giderimi.....	108
Şekil 3.56	<i>P. sajor- caju</i> ile Vinas ortamında Renk Giderimi.....	109
Şekil 3.57	<i>P. sajor- caju</i> ile ZYFA ortamında Renk Giderimi.....	110
Şekil 3.58	<i>P. chrysosporium</i> ile Vinas ortamında KOİ Giderimi.....	111
Şekil 3.59	<i>P. chrysosporium</i> ile ZYFA ortamında KOİ Giderimi.....	112
Şekil 3.60	<i>P. chrysosporium</i> ile ZYFA ortamında Fenol Giderimi.....	113
Şekil 3.61	<i>P. chrysosporium</i> ile Vinas ortamında Renk Giderimi.....	114
Şekil 3.62	<i>P. chrysosporium</i> ile ZYFA ortamında Renk Giderimi.....	115
Şekil 4.1	Pamuk sapı eklenmiş farklı konsantrasyonlardaki ZYFA kültür ortamlarında, funguslar ile elde edilen maksimum lakkaz aktivite değişimleri	132
Şekil 4.2	Pamuk sapı eklenmiş farklı konsantrasyonlardaki vinas kültür ortamlarında, funguslar ile elde edilen maksimum lakkaz aktivite değişimleri	133

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.1	Türkiye'nin Yıllık İkincil Ürün Potansiyeli ve Selüloz Oranları.....	12
Tablo 1.2	Sürekli ve Kesikli İşlem Sonucu Oluşan Zeytin Yağı Fabrikası Atıksuyunun İçeriği.....	14
Tablo 1.3	ZYFA'da Saptanan Fenolik ve Aromatik Maddeler	15
Tablo 1.4	Vinas'ın İçeriği	18
Tablo 2.1	Stok Temel Ortam (STO)'ın İçeriği	29
Tablo 2.2	Zenginleştirilmiş Besiyerinin İçeriği	29
Tablo 3.1	Pamuk Sapının Lignin ve Selüloz İçeriği	40
Tablo 3.2	ZYFA ve Vinas'ın İçeriği	41
Tablo 3.3	Farklı Kültür Ortamlarında Saptanan Lignin Giderimi(%)	78
Tablo 3.4	Farklı Kültür Ortamlarında Saptanan Selüloz Giderimi(%)	79
Tablo 3.5	Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanmış ZYFA Besiyerlerinde Çeşitli Fungusların Üretimi Sonucu Elde Edilen Lignin Giderimi (%)	93
Tablo 3.6	Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanmış Vinas Besiyerlerinde Çeşitli Fungusların Üretimi Sonucu Elde Edilen Lignin Giderimi (%)	94
Tablo 3.7	Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanmış ZYFA Besiyerlerinde Çeşitli Fungusların Üretimi Sonucu Elde Edilen Selüloz Giderimi (%)	95
Tablo 3.8	Farklı Konsantrasyonlarda Hazırlanmış Vinas Besiyerlerinde Çeşitli Fungusların Üretimi Sonucu Elde Edilen Selüloz Giderimi (%)	95

1. GİRİŞ

1.1 Genel Bilgiler

Son yıllarda tüm dünyada karşılaşılan çevre kirliliği problemi, doğada normal olarak süregelen dengeleri bozar duruma gelmiş ve insanlığın geleceği ile birlikte dünyanın geleceğini de tehdit eder düzeylere ulaşmıştır. Özellikle 19. yüzyılda başlayan ve hızla gelişen endüstrileşme çevre kirliliğinin temel nedenlerinden birisidir. Endüstrileşmenin planlı olmaması ve çevre faktörünün gözardı edilmesi doğal kaynakların kirlenmesi ile sonuçlanmaktadır. Ayrıca artan dünya nüfusu aynı zamanda artan oranda atığın ekosistemde birikmesine neden olmakta ve bu atıkların pek çoğu ciddi çevre problemlerini birlikte getirmektedir.

Günümüzde sanayileşmenin ulaştığı aşama, çevre kirliliğine karşı bilinçli bir şekilde savaşmayı gerektirmektedir. İçinde yaşadığımız yüzyıl, sanayileşmenin hızlanmasına, ilerlemesine, dünya nüfusunun artmasına ve beslenme sorununun ortaya çıkmasına tanık olmuştur. Kısaca, 20. yüzyılda hızla artan üretim, doğanın çok daha hızlı biçimde kirlenmesine yol açmıştır (Çevre Sorunları, 1991).

Çevre değerlerine önem veren sanayileşen ülkeler, bir yandan sanayinin neden olduğu kirliliği ortadan kaldırmak için büyük paralar harcarken, bir yandan da azalan doğal kaynaklar için çareler aramaktadırlar. Buna karşın sanayileşmemiş fakir ülkeler ise, nüfusla birlikte artan ihtiyaçlarını karşılayabilmek için, toprağı, ormanı ve diğer doğal kaynakları aşırı bir şekilde kullanmaktadırlar. Bu noktada kalkınmanın gereği olan sanayileşme ve çevre değerlendirmelerinin birbirine karşıt değil, tamamlayan iki

unsur oldukları anlaşılmaktadır. Bu nedenle günümüzde artık, kalkınma mı yoksa çevre mi önemlidir tartışmaları yerine, " Çevre değerlerini koruyarak nasıl sanayileşebiliriz? Kalkınmanın devamlılığını sağlamak için azalan doğal kaynakları nasıl koruyabiliriz? Kısaca daha az kullanarak daha fazla nasıl üretebiliriz" sorularına cevap aranmaktadır (Sanayi ve Çevre, 1993).

Endüstrinin oluşturduğu kirlilikleri kısaca; fiziksel, kimyasal ve biyolojik kirlilik olarak sıralayabiliriz. Mikroorganizmalar atıkları karbon ve enerji kaynağı olarak yıkarlar. Fakat doğaya (alıcı ortama) atılan atıklar mikroorganizmaların özümleyebileceği kapasitenin üzerine çıkarsa ekosistemdeki dengenin bozulduğu gözlenir. Bunun sonucu, kirlenme ve en kötüsü doğanın bozunmasıdır. Yine mikroorganizmaların doğaya verilen bütün atıkları yıkmaları mümkün değildir. Özellikle ksenobiyotikler mikrobiyal yıkıma dirençli olduklarından doğada geri dönüşümsüz bozunmalar oluştururlar. Günümüzde gelişmiş ülkelerde atıkların oluşturacağı problemler görüldüğünden ve belirli bir bilinçlenme aşamasına geldiğinden atıkları ön depolama ve arıtma sistemleri geliştirilmiştir. Fakat yine de tüm atıklar için bu söylenemez. Bu sistemlerin geliştirilmesi sağlıklı ve uzun ömürlü bir toplum için birinci koşuldur.

Endüstriyel atıklar alıcı ortam olarak suya, toprağa ve atmosfere verilmelerine bağlı olarak farklı kirlilik kriterlerine neden olmaktadır (Türkiye çevre sorunları vakfı, 1989). Endüstriyel atıklar, özellikle suya ulaştığı zaman atığın içeriği ile doğru orantılı olarak ciddi problemler ortaya çıkabilir. Bir göle endüstri atığının verilmesi ötrofikasyona yol açabilir.

Günümüzde çevre kirliliğine yol açan atıkların arıtılması ve/veya değerlendirilmesi için yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Özellikle biyoteknolojinin ve endüstriyel mikrobiyolojinin attığı dev adımlar bu yöndeki çalışmalara temel teşkil etmektedir.

1.2 Biyoteknoloji

Biyoteknoloji; mikroorganizmaların, hücre ve doku kültürlerinin ve bunların çeşitli kısımlarının teknik uygulama potansiyelinden yararlanmak amacı ile biyokimya, mikrobiyoloji ve mühendisliğin entegre bir uygulamasıdır. Biyoteknolojinin çalışma alanları, dünya üzerinde yaygın problemler ile sıkı ilişkilidir. Örneğin; protein üretimi ve insan beslenmesinin garantiye alınması; hammadde ve enerji stoklarının daha verimli değerlendirilmesi, insan ve hayvan sağlığını koruyucu bileşiklerin üretilmesi, bitkilerin biyolojik korunması, bulaşıcı ve salgın hastalıklar ile savaş, atık su arıtılması, çevre korunması ve atıkların yeniden değerlendirilmesi gibi (Telefoncu, 1995).

Biyoteknolojik uygulamalarda çoğu kez çevreye zarar vermeyen teknikler kullanılır. Bu uygulamaların enerji ihtiyacı azdır, yüksek basınç gerektirmez ve oda sıcaklığı veya daha düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilir. Çevreyi kirleten atıkların değerlendirilmesi ve mikroorganizmalar yardımı ile parçalanması da biyoteknolojik yöntemlerle mümkündür (Telefoncu, 1995).

Biyoteknolojiyi çeşitli alt dallara ayırabiliriz.

Bunlar; 1- Fermentasyon Biyoteknolojisi

2- Enzim Biyoteknolojisi

3- Atık Biyoteknolojisi

4- Çevre Biyoteknolojisi

5- Yenilenebilir kaynak Biyoteknolojisi

6- Genetik Mühendislik

Biyoteknolojinin alt dalları aslında birbiri ile içiçedir. Örneğin; çoğu zaman atık, çevre ve fermentasyon teknolojisinin içiçe olduğunu gözleriz.

Biyoteknolojik üretim yöntemlerinde bakteriler, mayalar, mantarlar ve alglerden yararlanılmaktadır. Biyoteknoloji alanındaki son gelişmeler endüstriyel fungusların önemini ve gerekliliğini kanıtlamaktadır. Yaklaşık 120.000 fungus türü bilinmekte ve bunların pek çoğu endüstriyel olarak önemli bulunmaktadır. Biyoteknolojik çalışmalarda beyaz çürükçül funguslar üzerindeki ilgi, çok çeşitli atık ve ksenobiyotikleri yıkabilme ve de çeşitli enzimleri sentezleyebilme yeteneklerinden dolayı, gün geçtikçe artmaktadır (Yeşilada, 1992).

1.3 Beyaz Çürükçül Fungusların Biyoteknolojide Kullanımı

Beyaz çürükçül funguslar *Basidiomycetes* sınıfına dahil olan ve son 10 yıl içinde hızla gelişen oranda biyoteknolojinin hemen hemen her konusunda uygulama alanı bulabilen funguslardır. Bu funguslar esas olarak odunda çürümeye neden olan funguslardır.

Genel olarak lignoselülozik maddelerde çürümeye neden olan üç tip fungus vardır. Bunlar ; 1) Kahverengi çürükçül funguslar ; odunsu örneklerde lignini kısmen parçalarken, selülozu ve hemiselülozu tamamen parçalamaktadır ve odunda

kahverengi çürümeye neden olmaktadır. 2) Yumuşak çürükçül funguslar ; Lignin yıkımına göre polisakkarit yıkımını daha ileriye götüren bir çürümeye neden olmaktadır. 3) Beyaz çürükçül funguslar ise lignin yıkım yetenekleri yüksek olan funguslardır ve odunda beyaz çürümeye neden olurlar (Rodriguez , 1988).

Beyaz çürükçül funguslar lignin yıkım yeteneklerinden dolayı lignolitik funguslar olarakta adlandırılırlar ve yüksek enzim sentez kapasitesine sahiptirler. Lakkaz, peroksidaz, ligninaz, glukoz oksidaz, NADH- peroksidaz (NADH oksidaz), Mn-perosidaz gibi enzimleri hücre dışı ve hücre içi olarak sentezleyebilmeleri çevre biyoteknolojisi açısından önemlerini artırmaktadır.

Beyaz çürükçül funguslar lignini yıkabilmelerini yanısıra, aromatik hidrokarbonların halkasal yapısını yüksek oranda kırabilen tek ökaryotik canlı grubudur (Yeşilada, 1992).

Beyaz çürükçül funguslar kullanılarak yapılan biyoteknolojik çalışmalar arasında ; - Odun ve samandan lignin uzaklaştırılması,

- Kağıt fabrikası atıklarından lignin giderimi,
- Kağıt hamurundan lignin giderimi,
- Protein üretimi,
- Çeşitli endüstriyel atıkların yıkımı ve renginin giderimi,
- Pestisitlerin yıkımı,
- Kömürün sıvılaştırılması,
- Biosorption (metal uzaklaştırımı) sayılabilir.

1950'lerin ortalarında başlayan protein yetersizliği mikroorganizmaların insan ve hayvan besini olarak kullanılmalarına olan ilgiyi arttırmıştır. Günümüzde tek hücre

proteini terimi funguslar içinde kullanılmaktadır. Mikroorganizmaların üretiminde katı ve sıvı substratlar kullanılmaktadır. Özellikle atıklar kullanılarak yapılan tek hücre proteini üretimi çalışmalarında, esas amaç atıkların değerlendirilmesi, proteince zengin bir yem üretimi ve sonuç olarak çevre kirliliğinin önlenmesidir (Yeşilada, 1992). Selüloz ve hemiselülozun substrat olarak kullanıldığı bir çalışmada ise, *Chaetomium cellulolyticum* ve *Phanerochaete chrysosporium* suşunun tarım atıklarını substrat olarak kullanabildikleri, elde edilen ürünün amino asit düzeyinin tatmin edici olduğu bildirilmiştir. *Coriolus hirsitus*, *Coriolus versicolor* ve *Irpex lactus*, tek hücre proteini kaynağı olarak kullanılan diğer fungusları oluşturmaktadır. Özellikle *C. pubercesus* türünün protein oranı %27'dir ve tek hücre proteini olarak pekçok çalışmada konu olmaktadır (Çetin, 1983).

Son yıllarda kömürün sıvılaştırılması olayında beyaz çürükçül funguslar kullanılmaya başlanmıştır. Kömürün sıvılaştırılması iki mekanizma ile meydana gelir. Birincisi, enzim ile karbon bağlarının kırılması ; ikincisi ise alkali maddelerin meydana gelmesi ile kömürün sıvılaştırılmasıdır. Beyaz çürükçül funguslar özellikle yapıları odundaki lignine benzeyen düşük kaliteli kömürleri yıkmada aktiftirler. Bu funguslar tarafından sentezlenen lakkaz ve ligninaz enzimleri aromatik çekirdeğe bağlı alifatik zincirlerin karbon-karbon bağlarını hidrojen peroksit yada oksijen kullanarak kırar. Optimum şartlar altında kömürün sıvılaştırılması bir haftada gerçekleşir ve açık renkten siyaha kadar değişebilen renkte bir sıvı oluşur. Meydana gelen bu ürün çeşitli çeşitli kimyasal işlemler için besin kaynağı olarak kullanılabilir yada mikroorganizmalarla gaz yakıtı çevrilebilir. Bu üründen kimyasal işlemlerle elde edilene göre daha fazla biyogaz üretildiği bildirilmektedir.

Günümüzde beyaz çürükçül fungusların kullanıldığı bir başka alan, metal uzaklaştırımı (biosorption) ile ilgili çalışmalardır. Metal uzaklaştırımında kullanılan biyolojik sistemler genelde mikrobiyal sistemlerdir. Kullanılan mikroorganizmalara bakteri, alg, küf ve mayalar dahildir. Bu amaç için çok çeşitli çalışmalar yürütülmekte ve yapılan çalışmalarda mikroorganizmalarla bakır, çinko, magnezyum, kadmiyum, uranyum, kobalt ve kurşun gibi metallerin uzaklaştırımına çalışılmaktadır. Bu amaçla yapılan çalışmalarda canlı hücreler kullanılabileceği gibi ölü hücreler de kullanılabilir.

Beyaz çürükçül funguslar, saf kültürlerde lignini CO₂ ve H₂O'a yıkabilme yeteneği en fazla olan organizmalar olarak bilinir (Gold ve Alic, 1993). Beyaz çürükçül fungusların mikrobiyal delignifikasyonla lignin degradasyonunu ; fizyolojik, biyokimyasal ve kimyasal olarak inceleyen Eriksson (1984), lignin degradasyonunda fizyolojik gereksinimleri belirlemiştir. Buna göre bu kültürler lignin degradasyonu için bir enerji gereksinimi gösterirler ve bu gereksinimi bitkisel örneklerdeki polisakkarit ve düşük molekül ağırlıklı şekerlerle karşılarlar. Lignin yıkımı genellikle bu organizmaların sekonder (idiofazik) metabolizmaları esnasında başlar ve bu faz süresince gelişme ortamındaki azot, karbon, sülfat ve fosfat gibi temel besi elementlerinin kullanılması ve bunların minimumuma ulaşması sonucu lignin degradasyonu devam eder. Ayrıca ortamın oksijen konsantrasyonu ve ortamda glikoz gibi daha kolay metabolize edilen bir kosubstratın varlığı da lignin yıkımını önemli ölçüde etkiler (Gold ve Alic, 1993).

Lignin polimerinin parçalanmasında belli başlı tepkimeler, oksidasyon tepkimeleridir. Bunlar, propil yan zincirlerinde ayrılmalar, metil gruplarında demetilasyon ve aromatik halka açılması reaksiyonları olarak kabul edilmektedir.

Metoksil gruplarının guasil-siyringil birimleri arasında demetilasyon oluşur ve bunu alifatik karboksilik asitlerin üretilmesi ile aromatik halka açılması takip eder. Oksidatif yan zincir kısılması da, aromatik karboksiller ve α -karbonil grupları üretilirken ortaya çıkar (Pilon vd. 1982; Tien ve Kirk, 1984).

Ligninin biyolojik parçalanma mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Yapılan çalışmalar, parçalanmanın farklı iki mekanizma ile yürütüldüğü fikrini vermektedir. Bunlar enzimatik ve enzimatik olmayan çeşitli kimyasal oksidantlar ile yürütülen parçalanma mekanizmalarıdır (Kirk, 1984). Ligninin parçalanmasının enzimatik olduğu fikrini savunanlar, dört oksidatif enzimin bu süreçte görev aldığı ileri sürmüşlerdir (Palmer ve Evans, 1983).

Bunlar ; 1- Fenoloksidazlar olarak bilinen lakkaz ve 2- Peroksidaz (Ander ve Eriksson, 1976)., 3- Alkoloksidazlar (Palmer ve Evans, 1983), 4- Sellobiyoz:kinonoksidoredüktaz (COR) (Westmark ve Eriksson, 1974).

Yapılan bir çalışmada ligninin beyaz çürükçül funguslarla parçalanmasının çok kompleks reaksiyonlarla oluştuğu bildirilmiştir. Bunların başında peroksidatif ve oksijenatif enzimlerin pH 3.0'de maksimum aktivite göstermek koşulu ile lignini okside ettiği ve C_{α} ve C_{β} zincirlerinin açılarak son grupların oluşması ile ligninin kısmi depolimerizasyonunun şekillendiği rapor edilmiştir. Ayrıca olayda dehidrojenatif enzimlerin rol oynadığı ifade edilmiştir (Crawford ve Crawford, 1984).

Hem non spesifik, hem oksidatif ve hemde lignin yıkıcı özelliği en iyi çalışılan beyaz çürükçül fungus *Phanerochaete chrysosporium*'dur. Lignin model bileşenlerinin ve ligninin beyaz çürükçül artıklarının kimyasal analizi yapıldığı zaman yan zincir kırılması ve aromatik halka açılması reaksiyonlarının aynı anda oluştuğu gözlenmiştir

(Gold ve Alic, 1993). *P. chrysosporium*'un lignolitik sistemi bu organizmanın sekonder metabolik fazının bir bileşenidir. Lignin yıkıcı sistemin, sadece primer büyüme fazından sonra aktive olduğu bildirilmiştir (Crawford ve Crawford, 1984).

Beyaz çürükçül funguslarla 1970'lerden sonra yapılan araştırmalarda lignin yıkımını etkileyen en önemli faktörler sırası ile şu şekilde belirlenmiştir ; (1) Yüksek oksijen basıncı, (2) Misellerin hızlı bir şekilde çoğalabildiği batık kültür tekniği, (3) Uygun tampon sistemleri, (4) Uygun seviyede mineral ve eser elementlerin bulunması, (5) karbon-azot oranının düzenlenmesi, (6) Üremeyi sınırlayıcı besinsel azotun ayarlanması.

Odunun kimyasal yapısı, özellikle lignin oranı kağıt hamuru üretimi esnasında hamurun verimine ve ağartılabilme niteliğine etki eden önemli bir faktör olarak göze çarpmaktadır. Yüksek selüloz ve düşük lignin oranı, hamurun verimini olumlu yönde, ekstraktif madde oranının yüksekliği ise olumsuz yönde etkiler.

İster endüstriyel isterse laboratuvar koşullarında olsun, kağıt hamuru başlıca 3 ana yöntem ile elde edilir. Bunlar; 1) Kimyasal yöntemler, 2) Mekanik yöntemler ve 3) Yarı kimyasal yöntemlerdir.

Kağıt hamuru üretiminde kullanılan hammaddelerin başında yer alan odun ve diğer bitkiler oldukça kompleks bir yapıya sahip olduğu için bu yapıyı oluşturan kimyasal bileşiklerin hamur elde edilmesinde kullanılan kimyasal maddelerle ne şekilde bir reaksiyona girdiği bütün açıklığı ile anlaşılammıştır. Özellikle lifsel yapıdaki hücrelerin çerperini oluşturan selüloz ve lignin, kullanılan kimyasal ve mekanik işlemlere karşı farklı özellikler göstermektedir. Bu nedenle, bu uygulamalarda daha çok enerji tüketiminin yanısıra, elde edilen küçük odun parçalarının kimyasal pişirme

çözeltilerine, özellikle asidik yapıdaki pişirme çözeltilerine karşı çok duyarlı olduğu bilinmelidir. Pişirme çözeltilisinin, selülozu daha şiddetle degradasyona uğratacağı bu durum, elde edilen hamurun fiziksel niteliklerinin zayıf olmasına ve verimin düşmesine neden olur.

Kağıt hamuru üretiminden önce, odun kıymıkları, suyu alınmış şeker kamışı veya samanın funguslar ile biyoteknolojik anlamda ön işleme tabi tutulması sıklıkla "Bio-pulping" yada "biyolojik kağıt hamuru üretimi" olarak ifade edilir. Mekanik ve kimyasal kağıt eldesi süreçlerinde bu tip bir biyolojik ön işlem uygulandığı zaman özellikle lignin gideriminin sağlanmasından dolayı %30-40 oranında enerji tasarrufu sağlanmaktadır (Eriksson ve Valender, 1980).

Daha önce yapılan bir çalışmada beyaz çürükçül funguslar ile pamuk sapında 20 günlük inkübasyon sonucu % 22-25 lignin giderimi sağlanabilmektedir (Şık, 1994). Bu şekilde biyolojik yolla lignin giderimi sağlanmış odunsu materyalden elde edilecek kağıt hamurunun ağartılabilme kapasitesi yükselecek ve süreç esnasında lignin giderimine yönelik kimyasal süreç kısaltılmış olacaktır.

1.4 Çalışmada kullanılan Tarımsal Ve Endüstriyel Atıkların Özellikleri

1.4.1 Pamuk sapı

Ülkemizde, kağıt üretim endüstrisinde temel hammadde kaynağı olarak kullanılan ormanlarımızın hızla tükenmesi ve yerine yenilerinin çok zor yetiştirilmesi bizleri, yeni hammadde kaynakları bulmaya zorlamaktadır.

Özellikle ormanca fakir yada mevcut ormanlarından kağıt endüstrisine yeterli hammaddeyi verecek güçte olmayan ülkeler için, lifsel yapıdaki tek yıllık bitkilerin veya bu bitkilerin artıklarının kağıt endüstrisinde hammadde olarak kullanılmalrı büyük önem taşımakta olup, bu tip ülkelerin kağıt endüstrileri hammaddelerinin çoğunu yıllık bitkilerden temine doğru süratli bir yönelim içerisinde dirler (Bostancı, 1987).

Ülkemizde, lifsel yapıdaki yıllık bitkiler ile bu bitkilerin artıklarından faydalanma henüz başlangıç kademesindedir. Türkiye'nin yıllık bitki potansiyeli Tablo 1.1'de gösterildiği gibi tahmin edilmektedir (Bostancı, 1987)

Tablo 1.1'de de görüldüğü gibi pamuk sapı ülkemizde önemli miktarlarda oluşan bir tarımsal atıktır. Kullanım alanı oldukça kısıtlı olan bu tarımsal atık, pamuk hasat edildikten sonra genellikle tarlada kalmakta ve çoğunlukla yakacak olarak kullanılmaktadır. Pamuk sapsarı tarlada kaldığı zaman, toprak yüzeyinden sabanla toprağa karıştırılmaktadır. Bu uygulama, toprakta yavaş dekompozisyonundan dolayı, üretimde zorluklara, zararlılarda ve pamuk hastalıklarında artışa yol açmaktadır (Kerem vd., 1992).

Pamuk üretilen ülkeler arasında Türkiye 8. sırada yer almaktadır. Ülkemiz gibi pamuk üretiminde önde gelen ülkelerden birisi olan Hindistan'da son 10 yılda pamuk sapı ile ilgili olarak pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar, özellikle pamuk sapsarının kağıt üretimi için hammadde olarak kullanılabilirliği üzerine yoğunlaşmıştır. Yapılan bu çalışmalar sonucunda, pamuk sapsarının kağıt üretimine uygunluğu ile ilgili pek çok sonuç elde edilmiştir (Pandey ve Shaikh, 1986 ; Balasubramanya, 1989 ; Shaikh, 1990).

Tablo 1.1 Türkiye'nin yıllık ikincil ürün potansiyeli ve selüloz oranları

<u>Bitkinin Adı</u>	<u>Yıllık Miktarı</u>
Buğday samanı	25.000.000 Ton
Ayçiçeği sapı	2.250.000 Ton
Pamuk sapı	700.000 Ton
Üzüm sapı	600.000 Ton
Pirinç sapı	300.000 Ton
Tütün sapı	250.000 Ton
Göl kamışı	200.000 Ton
Mısır sapı	150.000 Ton
Haşhaş sapı	25.000 Ton

Ülkemizde, zirai atıkların selüloz-kağıt sanayiinde kullanılabilmesi üzerine çalışmalar, SEKA/İzmit müesseselerinde yapılmakta olup, pamuk saplarının kağıt üretimi için uygunluğu ile ilgili pekçok veri elde edilmiştir. Bu çalışmalarda, pamuk saplarının kağıt üretiminde kullanılabilirliğini zorlaştırabilecek tek problem elde edilen selülozun ağartılabilme kapasitesinin düşük olmasıdır. Fakat, kağıt hamuru üretiminde halen kullanılan buğday samanı ile kıyaslandığı zaman elde edilen selülozun özellikleri pamuk sapının bu amaçla kullanılabileceğini göstermektedir (SEKA-ARGE raporu).

Pamuk sapı, fibrilli sert odun yapısında olan ve selüloz içeriği yüksek olan bir tarımsal atık olmasından dolayı kağıt üretim endüstrisinde hammadde kaynağı olarak kullanılabilir bir atıktır. Bu atığın kullanılması hem endüstriyel açıdan bir yarar sağlayacaktır ve hemde tarımsal bir atığın kullanım alanının genişlemesi nedeniyle çevre kirliliğinin önlenmesi bakımından avantajlar sağlayacaktır.

Pamuk sapının selüloz içeriği, pamuğun türüne, iklim koşullarına ve yetiştirilme ortamlarına bağlı olarak küçük değişiklikler göstermektedir. Yaptığımız çalışmalarda, pamuk sapının selüloz içeriği yaklaşık 50 ± 2 olarak tespit edilmiştir. Pamuk sapının selüloz içeriği, çeşitli odun örneklerinin (kağıt üretiminde kullanılan) selüloz içeriği ile karşılaştırıldığı zaman, kara çamda %47.50, kayında %42.50, kavakta %30, arpa samanında %35.30'dur (Ünyayar, 1988 ; Gök, 1985; Şık, 1994).

Yukarıda bahsedilen odunsu örnekler ile karşılaştırıldığı zaman, pamuk sapının selüloz içeriği açısından kağıt üretimine uygun bir hammadde olduğu söylenebilir.

1.4.2 Zeytin yağı fabrikası atıksuyu (ZYFA)

Zeytinden yağ üretimi iki yolla yapılmaktadır. Bunlardan birincisi ve daha eski olan yöntem press (kesikli) sistemi, diğeri ise sürekli sistem olarak tanımlanan bir yöntemdir. Hangi üretim sistemi ile üretiliyor olursa olsun, zeytin yağı üretimi sırasında yüksek kirlilik kriterlerine sahip sıvı bir atık üretilmektedir. Tablo 1. 2'de sürekli ve kesikli sistem ile zeytin yağı üretimi sonucunda oluşan iki atığın karşılaştırılması yapılmıştır.

Zeytin yağı fabrikası atıksuyu farklı ülkelerde farklı şekilde tanımlanmaktadır. Türkiye'de de bu atık için "Kara su" terimi kullanılmaktadır. Zeytin yağı üretimi sırasında bir yağ fazı (%20), bir katı kalıntı (%30) ve birde sıvı faz (%50) oluşmaktadır (Yeşilada vd.1995). Bu sıvı faz kara su olarak adlandırılan sıvı atıktır.

Tablo 1.2 Sürekli ve kesikli işlem sonucu oluşan zeytin yağı fabrikası atıksuyunun içeriği (Hamdi, 1993)*

Parametreler	Kesikli işlem	Sürekli işlem
pH	4.5-5	4.7-5.2
KOİ	120-130	45-60
BOİ	90-100	35-48
Askıda katı	1	9
Toplam katı	15	5
İnorganik katı	105	55
Uçucu katı	0.5-1	3-10

* Değerler g/l olarak verilmiştir.

Zeytin fabrikası atığının organik kısmı şeker, tannin, polifenol, polialkol, pektin ve lipid içermektedir. Selüloz ve pektinin yanısıra rafinoz, mannoz, sakkaroz, glukoz, arabinoz ve ksiloz gibi basit şekerleri de içermektedir. Yine organik asitlerden de fumarik asit, gliserik asit, laktik asit, malik asit ve malonik asiti içermektedir. Tüm amino asitlerinde bu atıkta bulunduğu bildirilmiştir. En bol bulunan aminoasitler aspartik asit, glutamik asit, prolin ve glisin gibi aminoasitlerdir. Yine pekçok fenol bu atık içerisinde bulunmaktadır. Bu atık içerisinde bütün minerallere rastlanılmıştır. En bol bulunan mineraller sodyum, potasyum, kalsiyum ve fosfordur (Hamdi, 1993).

Atığın toprak, bitki ve sucul yaşam üzerinde olumsuz etkilerinin bulunduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Gonzales vd. 1990 ; Perez vd. 1988). Atık içerisinde pekçok fenolik madde saptanmıştır (Tablo 1.3).

Tablo 1.3 Zeytin yağı fabrikası atıksuyunda saptanan fenolik ve aromatik Maddeler (Sanjust vd. 1991 ; Hamdi vd. 1991).

Fenolik ve Aromatik Maddeler	
Protokateşuat	Oleuropein
p-hidroksibenzoik asit	Tannin
p-hidroksibenzaldehit	Polifenoller
Vanillik asit	Şiringat
Şiringaldehit	Kaffeik asit
p-kumarik asit	Ferulik asit
Gallik asit	Şinapik asit
p-hidroksifenilasetat	Tirozol
Şinnamat	Hidroksitirozol

Gonzales vd. (1990), atığın antibakteriyel etkisinden düşük molekül ağırlıklı bileşiklerin, koyu renginden ise yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerin sorumlu olduğunu bildirmişlerdir. Atığın rengi fabrikaya, işlenme tipine ve kullanılan hammaddeye bağlı olarak değişmektedir. Bu atığın kirlilik problemi ile karşı karşıya olan ülkeler ya bu atığı elimine etmeye veya değerlendirmeye çalışmaktadır.

Yağ fabrikası atıkları nehre direkt olarak verildikleri dönemde koyu bir renk oluşturmaktadır. Bu atığın nehirlere direkt olarak verilmesi sonucunda nehrin çözünmüş oksijen içeriği azalmakta, bunun yanı sıra organik yükü gösteren potasyum permanganat tüketim kapasitesi ve K, Fe, Mn ve toplam inorganik katı miktarı artmaktadır. Yine atık girdisine bağlı olarak her yıl balık populasyonlarında ölümler olduğu bildirilmektedir (Cabrera vd. 1994).

Zeytin yağı fabrikası atıksuyunun değerlendirilmesi için yapılan çalışmaları aşağıdaki başlıklar ile sıralayabiliriz :

- 1- Atığın bitkilere gübre olarak kullanılması
- 2- Atığın hayvanlara besin olarak kullanılması
- 3- Atığın besiyeri olarak kullanılması sürecinde protein üretilmesi
- 4- Atığın besiyeri olarak kullanılması sürecinde enzim üretimi
- 5- Atıktan antioksidant eldesi
- 6- Biyogaz üretimi
- 7- Biosüpfaktan üretimi

Ayrıca bu atığın arıtımı için yürütülen çalışmalar esnasında aerobik arıtım, anaerobik arıtım, aerobik-anaerobik arıtım ve direkt olarak buharlaştırma ile arıtım yöntemleri kullanılmaktadır.

Yukarıda bahsedilen yöntemler kullanılarak gerçekleştirilen atık arıtımı işlemleri sonucunda kimyasal oksijen istemi (KOİ) ve fenol giderimi sağlanırken renk giderimi ya hiç olmamakta veya çok az olmaktadır (Hamdi vd. 1992 ; Hamdi ve Garcia, 1993).

Bu nedenle son yıllarda ZYFA'nun koyu rengini gidermek için beyaz çürükçül funguslar kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda beyaz çürükçül funguslar ile işlem görmüş ZYFA'da yüksek KOİ, fenol ve renk gideriminin sağlanabileceği rapor edilmiştir (Yeşilada vd., 1998 ; Sayadi ve Ellouz, 1992 ; Vinciguerra, 1995).

Yukarıda, atığın değerlendirilmesi için yapılan çalışmalardan bahsederken, atığın önemli kullanım alanlarından birisinin besiyeri olarak kullanma sürecinde enzim üretimi olduğunu görmekteyiz. Çalışmamızda bu amaçla atığın farklı

konsantrasyonlarının enzim üretimi üzerine olan etkisine bakılmış ve bu üretimi artırıcı etkisi olabileceği düşünülen lignosellülozik kaynak olarak kültür ortamlarına pamuk sapları ilave edilmiştir. Bu süreç sonunda, hem atığın KOİ, fenol ve renk gideriminin artırılması ve hem de pamuk sapından lignin giderimi esnasında ZYFA'nun besiyeri olarak değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Atığın yüksek kirlilik değerlerine ulaşabilmesi, bitki, sucul yaşam, toprak mikroorganizmaları üzerindeki olumsuz etkisi ve anaerobik artırımının zorluğundan dolayı bu atığın arıtımı ve değerlendirilmesi için alternatif yöntemlere ihtiyaç vardır.

1.4.2 Alkol fabrikası atığı (Şlempe= Vinas)

Fermentasyon endüstrisi olması nedeni ile alkol fabrikalarının atık suyu parçalanabilir maddeler açısından zengindir. Atık suda bulunan maddelerin büyük bir kısmı alkol üretiminde substrat olarak kullanılan melastan ileri gelmektedir. Pekçok fermentasyon atığında olduğu gibi organik ve inorganik maddelerce çok zengindir. Alkol üretimi sırasında 1 litre alkole karşılık 11-13 litre vinas oluşmaktadır. Vinas yüksek oranda azot ve fosfor içermektedir. Çeşitli vitaminler ve aminoasitler de vinasda bulunmaktadır . Tablo 1.4'te vinas'ın içeriği verilmiştir (Koutinas vd., 1991 ; Yazıcıoğlu vd., 1980).

Zengin organik ve inorganik yapısı nedeni ile, vinasın fabrikadan çıktığı formda araziye atılması hem ekonomik kayıplar oluşturmakta ve hemde çevre kirliliğine neden olmaktadır.

Tablo 1.4 Vinas'ın içeriği

pH		4.89
Renk		Koyu
KOİ	(g/l)	70
BOİ	(g/l)	60
Toplam katı	(g/l)	98.4
Askıda katı	(g/l)	6.4
Toplam azot	(g/l)	3.9
Sülfat	(g/l)	2.9
Etanol	(g/l)	5.0
Gliserol	(g/l)	5.2
Asetik asit	(g/l)	2.8
Propiyonik asit	(g/l)	0.0
Bütirik asit	(g/l)	0.0
Laktik asit	(g/l)	10.0
Süksinik asit	(g/l)	0.5

Bu çeşit atıklar toprağın özelliğini ve bitki büyümesini kötü yönde etkilemektedir (Algur ve Kadioğlu 1989 ; Oruç ve Gök 1990 ; Srivastave ve Sahai 1987).

Araştırmacılar vinasın çok koyu bir rengi olduğunu ve vinasın renginin normal mikrobiyolojik arıtım prosesleri ile giderilmediğini bildirilmektedir. Bu rengin büyük bir kirlilik problemi oluşturuğu ve mutlak suretle giderilmesi gerektiği rapor edilmiştir (Ohmoma vd., 1988 ; Sirianuntapiboon vd., 1988).

Alkol ve maya üreten pekçok ülkede, bu atık madde kirlilik problemi yaratmaktadır. Atık suyun kirlilik derecesi öncelikle fermentasyona uğramamış maddelerin miktarına bağlıdır. Melas kuru maddesinin üçte biri mayalar tarafından

asimile edilemeyen organik ve inorganik maddelerden oluşmaktadır. Vinasın çok düşük pH'ya sahip olması alıcı ortam açısından dezavantajlar yaratabilir. Alıcı ortam olarak sulara verildiğinde, oksijen dengesini bozmaktadır. Kanalizasyona verildiği durumlarda, çok yüksek oranlarda seyreltilip verilse ve atıksu arıtılsa dahi suyun rengini etkilemektedir (Algur ve Kadioğlu, 1989 ; Kida vd. 1991 ; Pena vd. 1986 ; Taygun 1984 ; Totti ve Nicoli 1987).

Özellikle Malatya, Eskişehir ve Erzurum fabrikalarında büyük bir potansiyel atık olan vinas değerlendirilmemektedir. Dünyadaki bazı işletmelerde ise vinas, metan üretiminde kullanılmakta ve değerlendirilmesi yönüne gidilmektedir (Yeşilada 1992).

Vinasın biyogaz üretiminde substrat olarak kullanıldığı ve biyogaz verimini artırdığı rapor edilmiştir (Kida vd. 1991 ; Koutinas vd. 1991). Vinasın değerlendirilmesi açısından kurulan diğer bir çalışmada, hayvan besini olarak kullanılabilirliği denenmiş ve bu çalışma sonucunda vinasın düşük protein ve enerji içeriğinden ötürü hayvan yemi olarak kullanılamayacağı bildirilmiştir (Weigand ve Kirchgessner 1989).

Yapılan bazı çalışmalarda, vinasın besiyeri olarak kullanılmasıyla, çeşitli bitki büyüme hormonlarının üretileceği ve bu atığın değerlendirilebileceği bildirilmektedir (Aksöz vd. 1991 ; Yeşilada vd. 1990). Vinasın zengin organik ve inorganik içeriğinin olması, bu atığın besiyeri olarak yüksek enzim kapasiteli funguslarca kullanılabilmesi fikrini vermektedir. Günümüzde vinasın değerlendirilmesi ve arıtılması çalışmaları sürdürülmektedir. Yeşilada ve Fışkın (1996) vinasın renginin gideriminde beyaz çürükçül fungusların kullanılabilmesini rapor etmiştir.

Çalışmamızın önemli bir kısmı yukarıda sözü edilen tarımsal atık (pamuk sapı) ve endüstriyel atıkların (zeytin yağı fabrikası atığı ve alkol fabrikası atığı) değerlendirilmesi ve arıtılması ile ilgili olarak planlanmıştır. Bu amaçla, yüksek hücre dışı enzim sentez kapasitesine sahip olan beyaz çürükçül funguslar ile atıklar işleme tabi tutulmuştur. Bu süreçte pamuk saplarından lignin giderimi, endüstriyel atıklardan ise renk, fenol ve KOİ giderimi araştırılmış ve beyaz çürükçül fungusların bu amaç için kullanılabilirliği test edilmiştir.

Çalışmanın diğer bir aşamasında, endüstriyel atıkların besiyeri olarak kullanılmaları sırasında sentezlenen hücre dışı enzimlerin aktivitelerinin araştırılması ve enzimlerin çeşitli koşullarda aktivite değişimlerinin saptanması amaçlanmıştır. Bu çalışmaların sonuçları suni besiyeri olarak kullanılan stok temel ortam (STO) ve zenginleştirilmiş suni besi ortamlarında yapılan çalışmalar ile karşılaştırılmıştır. Aynı zamanda distile su ortamına sadece karbon ve azot kaynağı farklı konsantrasyonlarda eklenerek etkileri test edilmiştir.

1.5 Lignolitik Enzim Üretimi

Lignin yıkma yeteneklerinden dolayı lignolitik funguslar olarakta isimlendirilen beyaz çürükçül funguslar da lignin yıkımından sorumlu olduğuna inanılan pekçok enzim keşfedilmiştir. Bu enzimler; fenoloksidazlar (lakkaz ve peroksidaz), ligninaz (lignin peroksidaz), Mn- peroksidaz, NADH- oksidaz, Glukoz oksidaz, alkoloksidazlar ve sellobioz:kinonoksidoredüktaz (COR) olarak sıralanabilir.

1.5.1 Lakkaz (E.C 1.10.3.2)

Lakkaz, fungal lignolitik sistem içerisinde önemli rolü olan enzimlerden birisidir. Lakkaz, bir fenoloksidaz enzimidir ve serbest radikal şekillenmesi ile bir hidroksil grubundan bir elektron ve bir proton uzaklaştırılması sonucunda, orto ve para difenoller ve aromatik aminlerin tek elektron oksidasyonunu katalizler. Fenolik lignin dimerlerinin alkil-fenil ve C_α- C_β parçalanmalarını katalizleyerek bazı lignin model bileşenlerinin demetoksilasyonuna yol açar. Bundan dolayı lakkaz, beyaz çürükçül funguslar tarafından lignin yıkımında önemli bir role sahiptir. Oksidasyon aktivitesi, moleküler oksijenin su ile redüksiyonu ile birlikte gerçekleşir (Ardon vd., 1996).

Fungal kültürlerdeki lakkaz aktivitesi, ortama farklı aromatik bileşenlerin eklenmesi ile artabilir. Platt vd. (1984) fungal kültürlere farklı fenolik substratların ilave edilmesinden sonra *Pleurotus ostreatus*'un lakkaz üretiminin arttığını rapor etmiştir.

Fungus kültür ortamına, toluidin, vanillik asit, p-hidroksi benzoik asit ve anillin gibi aromatik bileşenlerin ilave edilmesi sonucunda, lakkaz üreten farklı funguslarda, gelişmenin arttığı Fahraeus (1962) tarafından rapor edilmiştir. Fakat lakkaz üretim miktarı ile misel şekillenmesi miktarı arasında bir korelasyon yoktur.

Daha önce yapılan çalışmalar göstermiştir ki, mediatörler olarak adlandırılan düşük molekül ağırlıklı bileşenlerin varlığında, lakkaz, aromatik lignin bileşenlerini okside edebilmektedir. Hidroksi benzoik asit fenolik bileşeni üzerine lakkazın etkisininin ABTS [2,2'- azino-bis-(3-etilbenzotiazolin -6- sulfonik asit)] varlığında

ortaya çıktığı gösterilmiştir (Johannes vd., 1996). Lakkaz tarafından metoksile benzil alkollerin oksidasyonunun syringaldehit varlığında olduğu Kawai vd. (1989) tarafından rapor edilmiştir. Lakkaz tarafından şekillendirilen syringaldehit fenoksi radikalleri bu reaksiyonda mediatör olarak rol oynadığı için gereklidir. Bourbonnais ve Paice (1990), lakkaz tarafından nonfenolik lignin model bileşenlerinin (veratril alkol ve dimer bileşenler) oksidasyonu için ABTS'in mediatör rolü oynadığını göstermiştir. Bu şartlar altında lignin model dimerlerinde C_{α} - C_{β} bağlarında kırılmalar oluşur ve veratril alkol aldehite okside olur. Lakkaz olmadığı zaman, ABTS radikal katyonu bu bileşenler ile reaksiyon vermez. Bununla beraber, oksidasyon mekanizması açık değildir ve lignin peroksidaz tarafından veratril alkolün oksidasyonu ile oluşan katyon-radikal intermediyatör belirlenememiştir.

1.5.2 Ligninaz (Lignin Peroksidaz)

Ligninaz ilk kez 1983 yılında *Phanerochaete chrysosporium*'da saptanmıştır. Ligninaz hücrenin ekstraselüler membranından hücre dışına sentezlenen ve ekstraselüler ortamda izoenzimler şeklinde gözlenebilen bir enzimdir. Lignin model bileşenlerinin fenolik olmayan propil yan zincirlerinin C-C bağlarını oksidatif olarak parçalar ve tek elektron oksidasyonu ile substratını okside eder (Cui ve Dolphin, 1991). Bu enzimin diğer bir özelliği bir peroksidaz için oldukça düşük sayılabilecek bir pH'da (pH 2.5) çalışabilmesi ve pH'nın katalitik döngüdeki redüksiyon basamakları ile kontrol edilebilmesidir. Ligninaz H_2O_2 bağımlı bir enzimdir.

Lignin peroksidazların üretimi için, *P. chrysosporium* kültürlerinde çalkalama oranının düşük devirde ve oksijen basıncının yüksek düzeyde sürekliliğini sağlamak gereklidir. Hernekadar, misel gelişimi havalandırmalı kültürlerde daha hızlı olsa da, lignin peroksidaz üretimi büyük oranda %100 oksijen seviyeleri ile stimüle edilmektedir. Kültürlerdeki düşük lignin peroksidaz verimi, şartlar optimize edilerek maximum düzeye ulaştırılabilir (Evans, 1991).

c-AMP inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda, lignin peroksidaz ve Mn-peroksidaz üretimlerinde, intraselüler c-AMP seviyesinde meydana gelen azalışa bağlı olarak bir azalma olduğu yada üretimin tamamen inhibe olduğu görülmüştür (Gold ve Alic, 1993).

1.5.3 Mangan peroksidaz

Mn-peroksidaz, ilk kez *P. chrysosporium*'da saptanan ve Mn^{+2} 'yi Mn^{+3} 'e oksitleyen bir enzimdir. Ligninaz ve lakkaz ile birlikte, bu enzim de lignin biyodegradasyonundan sorumludur (Camarero vd., 1996).

Mn-peroksidazın hücre dışı kültür filtratlarında 6 izoenzimi bulunmuştur. Ligninin ve diğer fenollerin Mn-peroksidaz tarafından oksidasyonu serbest mangan iyonuna bağlıdır (Kuwahara vd. 1984 ; Leisola vd. 1987). Mn (II), Mn-peroksidaz yada lignin peroksidaz için gerekli bir bileşen değildir, ancak bu enzimlerin üretiminin düzenlenmesinde önemli bir etkisi vardır. Örneğin, gelişme ortamında Mn (II)'nin düşük düzeyde bulunması hem lignin peroksidaz'ın ve hemde Mn-peroksidaz'ın üretimine izin verirken, Mn (II)'nin yüksek konsantrasyonları Mn-peroksidaz üretimini

arttırırken, şiddetle lignin peroksidaz üretimini baskılar. Ayrıca, gelişme ortamından Mn (II)'nin çıkarılması Mn-peroksidaz üretimini baskımlarken, lignin peroksidaz üretimini transkripsiyonel seviyede düzenlediği rapor edilmiştir (Van der Woude vd., 1993).

1.5.4 Selüloz

Selüloz, β -D-Glukopiranoz birimlerinin β -1,4 Glikozidik bağları ile bağlanması sonucu meydana gelmiş lineer bir polimerdir. Glikozidik bağların β düzeninde olması ve hidrojen bağlarının molekül içi ve moleküller arası olması selüloz molekülünü dayanıklı ve doğrusal olmaya yönlendirmiştir.

Selüloz molekülü, güçlü mineral asitleri içinde hızla depolimerize olduğu için asidik şartlarda hidroliz edilebilir. β -D-Glukopiranoz bağları basit glikozitler olduğundan hidrolize hassastır. Bununla beraber, selüloz zincirleri, β -eliminasyon mekanizması ile uzunluğuna bir yıkım oluşmasıyla azar azar kısalabilir. Eğer selüloz sadece karbonil yada karbonil fonksiyonu gösteren noktalardan okside olursa, alkalın yıkımı zincir kırılması ile ilerler (Whister ve Teng, 1970).

Selüloz aynı zamanda mikroorganizmalar tarafından da yıkılabilen bir polimer moleküldür. Mikroorganizmalar özellikle salgıladıkları ekstraselüler enzimler ile selüloz molekülünün yapısında bulunan glikozidik bağları kırma özelliği gösterirler. Funguslar selülozu parçalayan enzimleri ekstraselüler olarak salgılayan mikroorganizmalardır. Örneğin, *Trichoderma reesei* fungusu selülozu hidroliz etmek için üç tip ekstraselüler enzim salgılar;

1) Sellobiyohidrolaz (CBH) (EC. 3.2.1.91)

İndirgen olmayan yani non-redükte uçtan disakkaritler, sellobiyoz olarak bu enzim sayesinde ayrılmaktadır.

2) β -Glukosidaz (BG) (EC. 3.2 1.21)

Sellobiyozu hidroliz eder ve kısa zincirli selooligosakkaritleri glukoza hidroliz eder.

3) 1,4- β -Glukonglukanohidrolaz (EG=Endoglukonaz) (EC. 3.2.1.4)

β -1,4 glikozidik bağları koparır (Taj-Alden, 1993; Ramos, 1993).

Bu enzimler selüloz substratından endüstriyel alkol üretiminde kullanılmaktadır. Selülaz enzim aktiviteleri ortamda selüloz bulunması ile indüklenirken, glukoz varlığında repress edilir (Paterson, 1988).

1.5.5 Ksilanaz

Bitki polisakkaritlerinden hemiselülözün önemli bir bileşeni olan ksilan, hem kompozisyonu ve hemde fiziksel özellikleri bakımından heterojen bir yapıdadır (He vd.,1993). Ksilan, selülozdan sonra doğada en bol bulunan yenilenebilir polisakkarittir ve angiosperm odununun kuru ağırlığının %15-25'ini ve gymnosperm odununun kuru ağırlığının %4-9'unu oluşturur (Copa-patino vd. 1993; Lee vd.1993).

Hemiselülazlar arasında en sık çalışılan Endoksilanazlardır ve endoksilanazlar özellikle besini üretimi ve odundan pulp yapımı esnasında polisakkaritleri hidroliz eden önemli enzimlerdir. β -1,4 bağlı D-ksiloz ünitelerinin oluşturduğu karakteristik iskeletin hidrolizi β -ksilanaz (1,4- β -D.ksilanksilanohidrolaz EC.3.2.1.8) ve β -D-

ksilozidaz (1,4- β -ksilan ksilohidrolaz EC.3.2.1.37) endoksilanazları ile sağlanır (Abdel-Naby, 1993).

Ksilanazların, sert ve yumuşak odun kraft hamurundan lignin uzaklaştırılmasında uygun ağartıcı kimyasalların etkisini arttırmak için yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Hernekadar, ksilanazlarla kağıt hamuru ağartılmasındaki mekanizma tam olarak açıklanmamışsa da, sonra gelen klorinasyon ve alkali ekstraksiyonu safhalarında lignin uzaklaştırılmasını, kısmi ksilan hidrolizi ile kolaylaştırdığı açıktır. Ksilan, klorin ve sodyum hidroksitin lignine ulaşmasını engelleyici fiziksel bir bariyer oluşturur. Ayrıca, ksilan ve ligninin kimyasal olarak bağlandığı ile ilgili olarak da kanıtlar vardır. Ksilanazlar, muhtemelen bu bağları kırmakta ve bununla beraber lignin giderimini artırmaktadır (Bajpai vd., 1994).

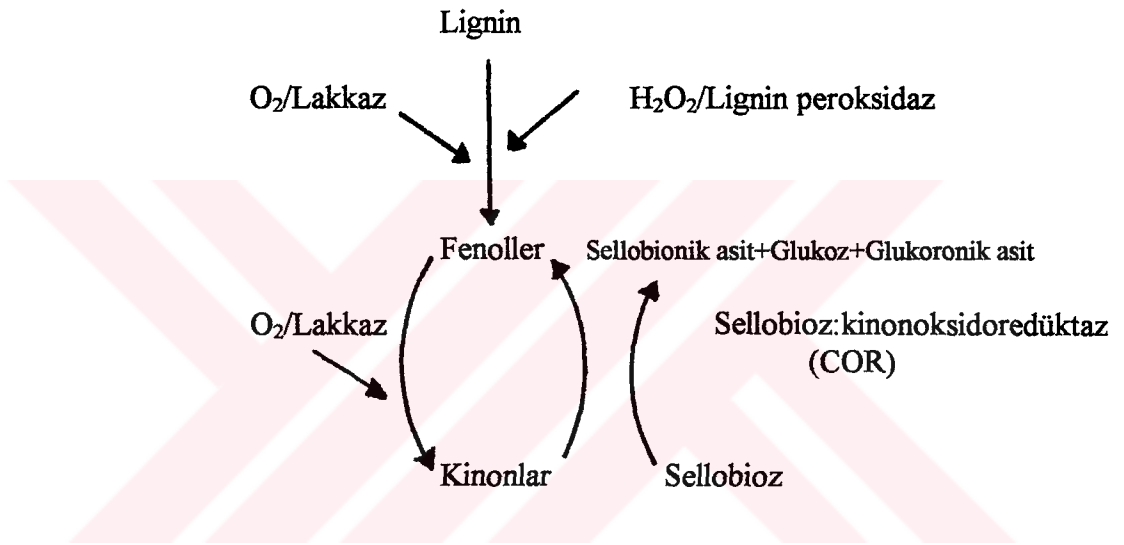
1.5.6 Amilaz

Karbohidratları parçalayan enzimlerden birisi olan α -amilaz (EC. 3.2.1.1) insan, pekçok hayvan, bitki ve mikroorganizmalar tarafından salgılanmaktadır. Bu enzim nişastanın iki şekli olan amiloz ve amilopektinin düz zincir kısmındaki $\alpha(1-4)$ glikozidik bağlarını kırmaktadır. Dallanma noktasındaki $\alpha(1-6)$ bağına ise etkisizdir. Maltda bulunan, β -amilaz enzimi ise α -amilazdan biraz farklı davranır ve amiloz ve amilopektinden çok az miktarda glukoz ünitelerini koparırken, çoğunlukla bir disakkarit olan maltoz ünitelerini meydana getirmektedir.

Lignin yıkımında görevli bir başka grup enzim, hücre dışı karakterde olan alkoloksidazlardır. Bunlar ligninde birincil alkol gruplarının okside edilmesinden

sorumlu olup hidrojen peroksiti üretmektedirler (Palmer ve Evans, 1983). Lignin yıkımında görevli bir başka grup enzim ise Sellobioz:kinonoksidoredüktaz (COR)'dır. Bu enzim fenoloksidazların etkisi ile üretilen kinonların indirgenmesinde görev almakta ve polimerik ligninin yeniden sentezini önlemektedir (Westermarck ve Eriksson, 1974).

Tüm bu enzimler arasındaki ilişkiyi Şekil 1.1'de olduğu gibi gösterebiliriz.



Şekil 1.1 Lignin yıkımında görev alan enzimler arasındaki ilişki (Evans, 1978)

Lignin yıkımında rol oynayan diğer bir enzim, ekstraselüler peroksidazlar için H_2O_2 meydana gelmesinde rol oynayan Glioksal oksidaz enzimidir (Cancel vd., 1993).

2. MATERYAL VE METOD

2.1 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmada Basidiomycetes sınıfına dahil olan Beyaz çürükçül funguslardan *Coriolus versicolor* (*Trametes versicolor*) ATCC 200801, *Funalia trogii* ATCC 200800, *Pleurotus sajor-caju* ve *Phanerochaete chrysosporium* ME 446 kullanılmıştır. Bu funguslardan *C. versicolor* ve *F. trogii* doğadan toplanmış, Mustafa İşiloğlu (Doç. Dr., Muğla Üniversitesi) tarafından teşhis edilmiş ve laboratuvarlarımızda kültüre alınmıştır. *P. sajor-caju* ve *P. chrysosporium* türleri ise Nazif Kolankaya (Prof. Dr., Hacettepe Üniversitesi) tarafından sağlanmış ve laboratuvarımızda kültüre alınmıştır.

Bu fungusların devamlılığını sağlamak için Sabouraud Dextrose Agar plaklarında 30 °C'da, 4-6 gün inkübe edilerek üretimleri yapılmış ve her 2-3 haftada bir taze besiyerine aktarılmıştır. Fungus kültürleri +4 °C'da buzdolabında saklanmıştır.

2.2 Çalışmada Kullanılan Kültür Ortamlarının Hazırlanması

Çalışmada fungusların üretimi amacıyla birbirinden farklı özellikler gösteren besiyerleri kullanılmıştır. Bu besiyerleri içerisinde Zeytin yağı fabrikası atık suyu ve Alkol fabrikası atığı (vinas) gibi doğal besiyerlerinin yanısıra, içeriğine müdahale edilerek hazırladığımız sentetik besiyerleri de bulunmaktadır. Sentetik besiyerleri içerisinde stok temel ortam (STO) olarak adlandırılan besiyeri, zenginleştirilmiş

besiyeri olarak adlandırdığımız Katagiri vd. (1995) tarafından kullanılan besiyerinin modifiye şekilleri ve distile su ortamına farklı oranlarda karbon ve azot kaynakları eklenerek hazırlanmış besiyerleri bulunmaktadır. STO ve zenginleştirilmiş besiyerinin içerikleri Tablo 2. 1 ve Tablo 2. 2 'de sırası ile verilmiştir.

Tablo 2.1 Stok temel ortam (STO)'ın içeriği

Kullanılan Bileşen	Miktar
CaCl ₂ (g/l)	0.01
MgSO ₄ . 7H ₂ O (g/l)	0.05
(NH ₄)H ₂ PO ₄ (g/l)	1
Yeast extract (g/l)	0.025
Glukoz(g/l)	10
Distile su	1000 ml

Tablo 2.2 Zenginleştirilmiş besiyerinin içeriği (Katagiri vd. 1995)

Kullanılan Bileşen	DAYK	DADK	YAYK	YADK
(NH ₄)H ₂ PO ₄ (mM)	2.4	2.4	24	24
Glukoz (g/l)	20	2	20	2
KH ₂ PO ₄ (g/l)	1	1	1	1
NaH ₂ PO ₄ (g/l)	0.2	0.2	0.2	0.2
MgSO ₄ . 7H ₂ O (g/l)	0.5	0.5	0.5	0.5
Tiamin hidroklorid (µg/l)	100	100	100	100
CaCl ₂ (µg/l)	100	100	100	100
FeSO ₄ . 7H ₂ O (µg/l)	100	100	100	100
ZnSO ₄ . 7H ₂ O (µg/l)	10	10	10	10
CuSO ₄ . 5H ₂ O (µg/l)	20	20	20	20
MnSO ₄ . 4H ₂ O (µg/l)	10	10	10	10

DAYK: Düşük azot-yüksek karbon

DADK: Düşük azot-düşük karbon

YAYK: Yüksek azot-yüksek karbon

YADK: Yüksek azot-düşük karbon

Diğer bir çalışmada sentetik besiyeri olarak distile su ortamına farklı oranlarda karbon ve azot kaynağı eklemek suretiyle hazırlanan besiyerleri kullanılmıştır. Bu amaçla, düşük azot (2.4 mM $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$), düşük karbon (5.6 mM glukoz), yüksek azot (24 mM $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$) ve yüksek karbon (56 mM glukoz) içerecek oranlarda besiyerleri hazırlanmış ve funguslar kültüre alınmıştır.

Doğal besiyerleri olarak kullanılan zeytinyağı fabrikası atıksuyu (ZYFA) ve vinas ise farklı oranlarda seyreltilmek suretiyle hazırlanmış ve kültür ortamı olarak kullanılmıştır.

ZYFA, Gaziantep yöresinden temin edilmiş ve fabrikadan getirildikten sonra kaba bir süzme işlemine tabi tutulmuş ve daha sonra 120 °C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. ZYFA'nun funguslarla işlem gördükten sonra KOİ (kimyasal oksijen istemi) , fenol ve renk gideriminin araştırılması ve lignin yıkımına etkisinin test edilmesi amacı ile %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30 yoğunluğa sahip atıklar hazırlanmış ve funguslar ile inkübasyona bırakılmıştır.

Alkol fabrikası atığı vinas ise Malatya Şeker Fabrikasından alınmıştır ve laboratuvarımıza getirildikten sonra 120 °C'de , 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Vinas ile hazırlanan kültür ortamları da %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk yoğunlukta olacak şekilde sulandırılmış ve funguslar ile inkübasyona tabi tutulmuştur.

2.3 Çalışmada Kullanılan Lignosellülozik Materyalin Hazırlanması

Çalışmada lignosellülozik kaynak olarak pamuk sapsarı kullanılmıştır. Bu pamuk sapsarı Urfa/Harran Ovasından temin edilmiştir. Pamuk sapsarı yaklaşık olarak

0.5-2 cm büyüklüğünde doğranarak kültür ortamlarına amaca göre değişik miktarlarda eklenmiştir. Pamuk sapları kültür ortamlarına otoklav sonrası, steril şartlarda ilave edilmiştir.

2.4 Kültür Koşulları

C. versicolor, *F. troglia*, *P. sajor-caju* ve *P. chrysosporium*' un kültür ortamlarına inokülasyonu ve bu ortamlara adaptasyonlarının sağlanması amacı ile Sabouraud dextrose agar eğik besiyeri tüplerinde üretilmiş olan fungus ortamlarına 10 ml serum fizyolojik eklenmiş ve misel süspansiyonları hazırlanmıştır.

Misel süspansiyonları steril şartlarda, 100 ml Sabouraud dextrose broth içeren 250 ml'lik erlenlere aktarılmıştır. ZYFA ve şempe ile yapılacak olan çalışmalarda sabouraud dextrose broth besiyerleri %2 oranında ilgili atığı içerecek şekilde hazırlanmıştır. Bu işlemin yapılmasının amacı , fungusların atıklara ön adaptasyonlarının sağlanmasıdır. Hazırlanan fungus kültürleri 30°C'de 150 rpm'de çalkalamalı inkübatörde (New Brunswick Scientific; G24 Environmental) 4 gün süreyle üretilmiş ve bu kültürler çalışmada kullanılacak besiyerlerine ekim için temel fungus kültürleri olarak kullanılmıştır.

Hazırlanan kültürler steril koşullar altında homojenizatör (Janke & Kunkel; Ultra-Turrax T25) yardımı ile çok düşük devirde homojenize edilmiştir. Çalışmanın amacına göre değişik şekillerde hazırlanmış 250 ml'lik erlenlerdeki besiyerlerine 2 ml olacak şekilde ekim yapılmıştır. Kültürler statik olarak 30°C'de inkübatörde (Sanyo) inkübe edilmiştir.

2.5 Analizler

2.5.1 Pamuk sapı ile ilgili analizler (lignin ve selüloz tayini)

Çalışmalarda kullanılan pamuk sapları ile ilgili olarak toplam şeker ve lignin tayinleri yapılmıştır. Toplam şeker ve lignin miktarı Rosenberg (1980)'in önerdiği yöntemle ölçülmüştür. Bunun için, 200 mg kurutulmuş toz halindeki (Yaklaşık 0.180 mm) lignosellülozik materyal 5 ml, %72'lik H₂SO₄ ile 3 saat hidroliz edilmiş, hidroliz sonrasında distile su ile son hacim 50 ml'ye tamamlanmıştır. Bu örnekler bir gece bekletildikten sonra, darası alınmış filtre kağıtlarından (Toyo Advantec, 125mm çap) süzölmüştür.

Süzüntü uygun oranlarda seyreltildikten sonra 1 ml'sine 4 ml antron ayracı eklenerek vortekste (Nüve) hızla karıştırılmıştır. Bu karışımı içeren tüplerin ağzına cam bilya yerleştirilip, bunlar 10 dakika kaynar su banyosunda bırakılmış ve oluşan renk 620 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede (Philips- PU8620, UV/Visible) distile su ile aynı işlemler yapılarak hazırlanmış kontrole karşı okunmuştur. 620 nm'de saptanan absorbans değerleri aynı koşullarda çizilmiş olan standart toplam şeker grafiği ile karşılaştırılarak toplam şeker miktarları hesaplanmıştır. Toplam şeker miktarı selüloz cinsinden aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ selüloz} = \frac{A \times 25 \times 100}{1000}$$

Formüldeki A, standart grafikteki absorbans değerine karşılık gelen şeker miktarıdır.

Şeker tayininde kullanılan antron ayırıcının hazırlanması için 200 mg antron, 100 ml, % 96'lık H₂SO₄ içinde çözülmüş ve kullanılmadan önce 1 saat +4°C'de bırakılmıştır. Çalışmada kullanılan antron çözeltisi günlük taze olarak hazırlanmıştır.

Lignin ölçümü için, lignin ve çözünmeyen inorganik materyali içermesi nedeni ile filtre kağıdı üzerindeki kalıntı kullanılmıştır. Bu kalıntı filtrat pH'ı 5.0 oluncaya kadar distile su ile yıkanmış ve 50°C'lik etüvde bir gece kurutulduktan sonra ağırlıkları tespit edilmiştir. Filtre kağıdı ve üzerindeki kalıntı darası alınmış krozelere aktarılmış ve bir gece 550 °C'de kül fırınında (Nüve 800) yakılmıştır. Bu işlem sırasında organik fraksiyon olan lignin buharlaşmıştır. Fırından çıkan örneklerin kül miktarları ve filtre kağıdının verdiği kül hesaplanarak lignin miktarı % olarak tayin edilmiştir.

2.5.2 Endüstriyel atıklar (ZYFA ve vinas) ile ilgili analizler

Funguslar ile işlem görmüş ve görmemiş atıklarda kirlilik giderimi ile ilgili olarak önemli olduğu düşünülen 3 parametreye bu çalışma esnasında bakılmıştır. Bunlar atıklardaki kimyasal oksijen isteminin (KOİ), renk değişiminin ve fenol değişiminin ölçülmesidir.

2.5.2.1 Atıklardaki kimyasal oksijen isteminin (KOİ) ölçümü

Kültür ortamı olarak kullanılan atıklardaki KOİ değişimleri bikromat yöntemi ile ölçülmüştür. Örnek içerisindeki organik maddeler potasyum bikromat ve sülfirik asit karışımı ile reaksiyona sokulmuş, ortamda kalan bikromat, demir amonyum sülfat ile titre edilerek hesaplanmıştır. Kullanılan potasyum bikromat miktarı oksitlenebilecek organik madde miktarı ile orantılıdır (Standart methods, 1979).

2.5.2.2 Atıklardaki renk değişiminin ölçümü

Kültür ortamı olarak kullanılan atıklardaki renk miktarı ve değişimi absorbans değişimi olarak tayin edilmiştir. Fungusun aktivitesi sonucu gözlenen renk değişimi günlere bağlı olarak 395 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede (Philips-PU8620, UV/Visible) absorbans okunarak ölçülmüştür. Renk değişimi kontrole karşı % renk değişimi olarak ifade edilmiştir (Sirianuntapiboon vd. 1988).

2.5.2.3 Atıklardaki fenol miktarının ölçümü

Kültür ortamı olarak kullanılan atıklardaki fenol miktarı Folin-Denis yöntemi kullanılarak kolorimetrik olarak belirlenmiştir (Yeşilada vd.,1998).

2.5.2.4 Atıkların içeriği ile ilgili analizler

Atıkların içeriğindeki toplam katı, askıda katı, uçucu katı ve kül miktarlarının belirlenmesi için standart metod kullanılmıştır (Standarts methods, 1979).

Toplam katı miktarını belirlemek için darası alınmış krozelere iyice karıştırılmış atık koyulmuş ve 105°C'de bir gece buharlaştırılmıştır. Daha sonra kroze +örnek ağırlığı bir saat desikatörde tutulduktan sonra belirlenmiş ve aradaki fark toplam katı miktarı olarak g/l cinsinden belirlenmiştir. Toplam katı miktarı belirlenen Kroze+örnek, 550°C kül fırınında 1 saat yakılmış ve dışarıda soğutulduktan sonra ağırlığı belirlenmiş ve toplam katı miktarı ile arasındaki fark alınarak g/l cinsinden uçucu katı miktarı olarak ifade edilmiştir. Uçucu katı miktarının tespit edilmesinde kullanılan kül fırını sonrası, kalan madde miktarı kül miktarı olarak ifade edilmiştir.

Askıda katı miktarının belirlenmesi için, örnekler filtre kağıdından (Toyo Advantec, 125 mm çap) süzildükten sonra darası alınmış krozelere koyulmuş ve 105°C'de bir gece kurutulmuştur. Desikaörde bir saat bekletildikten sonra, kroze+örneklerin ağırlığı belirlenmiş ve aynı işlemlere tabi tutulan boş filtre kağıtları ile arasındaki fark askıda katı miktarı olarak g/l cinsinden ifade edilmiştir.

2.5.3 Kültür ortamındaki ekstraselüler enzim aktivitelerinin saptanması

Kültür ortamlarındaki çeşitli ekstraselüler enzim aktiviteleri günlere bağlı olarak ölçülmüştür. Tüm enzim aktiviteleri, kültür ortamı filtre kağıdından (Toyo Advantec, 125 mm çap) süzildükten sonra belirlenmiştir.

2.5.3.1 Lakkaz aktivitesi

Lakkaz aktivitesi, substrat olarak syringaldazine kullanılarak test edilmiştir (Leonowich ve Grzywnowicz, 1981). Enzim aktivitesinin belirlenebilmesi için, kültürler filtre kağıdından süzildükten sonra ekstraselüler sıvılar alınmıştır. Reaksiyon karışımı; 10 µl ekstraselüler sıvı (enzim kaynağı), 440µl, 0.1 M sitrat fosfat tamponu (pH 5.0) ve 50 µl, 0.1 mM syringaldazine (etanol içinde hazırlanmış) içerecek şekilde hazırlanmıştır. Enzim aktivitesi, 525 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede 1 dakikada oluşan absorbans değişimi olarak belirlenmiş ve $\Delta A_{525}/\text{dakika}$ olarak ifade edilmiştir.

2.5.3.2 Ligninaz aktivitesi

Ligninaz aktivitesi Tien ve Kirk (1984)'ün önerdiği yönteme göre, fakat bazı modifikasyonlar yapılarak ölçülmüştür. Enzim aktivitesi 310 nm dalga boyuna ayarlanmış spektrofotometrede (Philips- PU8620, UV/Visible) veratril alkolden H_2O_2 -bağımlı veratril aldehit şekillenmesiyle saptanmıştır. Reaksiyon karışımı ; 0.8 ml ekstraselüler sıvı, 0.2 ml sodyum tartarat tamponu (0.1 M, pH 3.0), 100 µl veratril alkol (200 mM) ve 50 µl ,0.4 mM H_2O_2 içermektedir. Reaksiyon H_2O_2 ilave edilmesiyle derhal başlar ve 310 nm dalga boyunda absorbans lineer olarak artar (Kirk vd., 1986 ; Faison vd., 1985 ; Kirk vd., 1986). Ligninaz aktivitesi µmol/l olarak tanımlanmıştır.

2.5.3.3 NADH-peroksidaz aktivitesi

NADH-peroksidaz aktivitesi (NADH oksidasyon aktivitesi) ölçümünde NADH substrat olarak kullanılmıştır (Asada vd. 1986). Reaksiyon karışımı 0.3 mM NADH, 0.2 mM $MnSO_4$, 0.02 M pH 4.5 süksinat tamponu ve ekstraselüler sıvı içerecek şekilde hazırlanmıştır. NADH oksidasyon aktivitesi 340 nm'de absorbans değişiminin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile saptanmış ve Ünite/ml olarak ifade edilmiştir.

2.5.3.4 Selülaz aktivitesi

Phanerochaete chrysosporium ve *Pleurotus* cinsine giren fungusların yarı katı üretimleri sırasında sellüloolitik aktiviteleri C_1 ve C_x (C_1 = Sellobiyohidrolaz, C_x = Endoglukonaz) aktivitelerini ortaklaşa göstermeleri nedeni ile Mandels vd. (1971)'nin kullandıkları yöntemle göre, substrat olarak filtre kağıdının kullanıldığı Cfp az aktivitesi olarak ölçülmüştür. Bu yöntemde, 50 mg Whatman No:1 filtre kağıdı (1x6 cm) üzerine, 0.05 M , pH 5.0 asetat tamponundan 1 ml eklenmiş ve buna ilaveten karışıma 1 ml ekstraselüler sıvı eklenmiştir. Bu reaksiyon karışımı 50°C'de su banyosunda 1 saat inkübe edilmiştir. Karışımın 1 ml'sinde bir saatte oluşan indirgen şeker miktarı dinitrosalisilik asit (DNS) yöntemi ile saptanmıştır (Miller, 1959). Birim Cfp az aktivitesi, indirgen şeker oluşturan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır. DNS yönteminde, 1 ml örnek üzerine 3 ml DNS reaktifi (g/100 ml olarak; 1 gr DNS, 2 N 20 ml NaOH içinde çözülmüş ve bu karışıma 5 gr sodyum potasyum tartarat eklenmiş

ve son hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır) eklenerek 10 dakika kaynar su banyosunda bekletilmiş ve 5-10 dakika soğutulan örneklerde oluşan renk 550 nm'de tampon ile hazırlanmış köre karşılık spektrofotometrede optik yoğunluk olarak ölçülmüştür. Bir ünite enzim $\mu\text{mol/saat}$ olarak tanımlanmıştır.

2.5.3.5 Amilaz aktivitesi

α -amilaz aktivitesi, Worthington (1978) yöntemine göre saptanmıştır. Reaksiyon karışımı; % 0.5 nişasta solusyonu (0.02 M, pH 6.9 fosfat tamponu içinde hazırlanmış) ve ekstraselüler sıvı içermektedir. Reaksiyon karışımı 30°C'de su banyosunda 10 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra bu karışımın 1 ml'sindeki indirgen şeker miktarı DNS yöntemi ile belirlenmiştir (Miller 1959). 550 nm'deki absorbans tampon ile hazırlanmış köre karşılık okunmuştur. Bir ünite enzim $\mu\text{mol/10 dakika}$ olarak tanımlanmıştır.

2.5.3.6 Ksilanaz aktivitesi

Ksilanaz aktivitesinin saptanması için, substrat olarak ksilan kullanılmıştır (Lee vd. 1993). Reaksiyon karışımı; 0.8 ml, 0.5 gr ksilan/100 ml 0.05 M, pH 4.8 sodyum asetat tamponu ve 0.2 ml ekstraselüler sıvı içermektedir. Bu karışım 40 °C'de su banyosunda 30 dakika inkübe edildikten sonra, 1 ml'sinde oluşan indirgen şeker miktarı DNS yöntemi ile belirlenmiştir. Bir ünite enzim $\mu\text{mol/30 dakika}$ olarak ifade edilmiştir.

2.5.4 Kültür ortamındaki biyokütle miktarının lm

Kültür ortamlarındaki biyokütle miktarlarını saptamak için kültürler, daha önce 50°C'de 24 saat kurutulup, 1 saat desikatörde bekletildikten sonra hassas terazide darası alınmış Whatman No:1 filtre kağıtlarından (Toyo Advantec, 125 mm çap) szlmş ve filtre kağıdı+ örnek 24 saat 50°C'de kurutulmuştur. Kurutma işlemi sonrası bunlar 1 saat desikatörde bırakılmış ve hassas terazide tartılmıştır. Biyokütle miktarı g/l olarak ifade edilmiştir.



3. BULGULAR

3.1 Tarımsal Atık Pamuk Sapının Lignin ve Selüloz İçeriği

Çalışmalarda lignosellülozik kaynak olarak kullanılan tarımsal atık pamuk sapının lignin ve selüloz içeriği saptanmış ve bu değerler Tablo 3.1'de verilmiştir. Lignin ve selüloz değerleri % olarak ifade edilmiştir.

Tablo 3.1 Pamuk sapının lignin ve selüloz içeriği

Atık	Lignin (%)	Selüloz (%)
Pamuk sapı	25±2	50±2

3.2 Endüstriyel Atıkların (ZYFA ve Vinas) İçeriği

Çalışmalarda kullanılan endüstriyel atık zeytinyağı fabrikası atıksuyu ve alkol fabrikası atığı vinasın içerikleri tespit edilmiş ve bu atıkların içerikleri Tablo 3.2'de verilmiştir.

3.3 Lignosellülozik Kaynak Olarak Pamuk Sapının Kullanıldığı Farklı Kültürlerde Saptanan Enzim Aktivite Değişimleri

Çalışmanın bu kısmında, lignosellülozik kaynak olarak pamuk sapı içeren ve içermeyen farklı kültürlerde enzim aktiviteleri araştırılmıştır. Lignin yıkımından sorumlu olduğuna inanılan lakkaz, ligninaz ve Mn-peroksidaz enzimlerinin yanısıra lignosellülozik kaynaklar ile muamele esnasında hücre dışına salgılanan amilaz, ksilanaz ve selülaz

Tablo 3.2 Zeytinyağı fabrikası atık suyu ve vinasın içeriği

	ZYFA	Vinas
pH	4.97	6.51
Renk_(A395)	50.7	17.4
KOİ (g/l)	90	72
Fenol (g/l)	6.11	-
Toplam şeker (g/l)	41.4	37.8
Redükte şeker (g/l)	28.9	27.8
Toplam katı (g/l)	64.56	88.78
Askıda katı (g/l)	7.24	8.82
Uçuşu katı (g/l)	48.69	59.26
Kül (mg/l)	15.87	29.52
Fe (mg/l)	100	20
Mn (mg/l)	320	70
Zn (mg/l)	60	30
NO₃⁻ (mg/l)	1330	1720
NH₄⁺ (mg/l)	6	9
Cl (mol/m ³)	88	71
PO₄⁻³ (mg/l)	1430	86

enzimlerinin de aktiviteleri test edilmiştir. Bahsedilen enzimlerin aktivitelerini arttırıcı etkisi olduğu düşünülen pamuk sapları sentetik besiyeri ortamlarına eklenerek gözlenen aktivite değişimleri kaydedilmiştir. Bu enzimlerin aktivitelerinin belirlenmesi ile birlikte, pamuk sapında meydana gelen lignin ve selüloz giderimi de inkübasyon periyodu sonucu saptanmıştır.

Bu amaçla, karbon ve azot oranı ayarlanmış sentetik besiyerleri hazırlanmış ve bu ortamlara pamuk sapı eklenerek enzim aktivitelerinin arttırılması hedeflenmiştir. Çalışmalar, statik koşullarda, 30°C'de *C. versicolor*, *F. trogii*, *P. sajor-caju* ve *P.*

chryso sporium fungusları ile 20 günlük inkübasyon süresince günlere bağlı olarak enzim aktivitelerinin ölçülmesi ve 20. gün sonunda meydana gelen lignin-selüloz yıkımının belirlenmesi şeklinde yürütülmüştür.

Karbon- azot oranı ayarlanmış 8 farklı sentetik besiyeri hazırlanmış ve funguslar ekildikten sonra bu kültürler distile su ortamında aynı şartlarda hazırlanan ve yürütülen çalışma ile karşılaştırılmıştır. Kullanılan farklı sentetik besiyerleri; YKYA (yüksek karbon yüksek azot), YKYA+pamuk sapı, DKDA (düşük karbon düşük azot), DKDA+pamuk sapı, YKDA (yüksek karbon düşük azot), YKDA+pamuk sapı, DKYA (düşük karbon yüksek azot), DKYA+pamuk sapı ortamlarıdır. Bu ortamlardaki yüksek azot, karbon ve düşük azot , karbon oranları lignolitik sistemle ilgili olarak seçilmiştir. Bu ortamlar da ve distile su ortamında yürütülen çalışmalarda 4-8-12-16 ve 20. günlerde enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Ligninaz ve Mn-peroksidaz aktiviteleri hiçbir kültürde gözlenmemiştir.

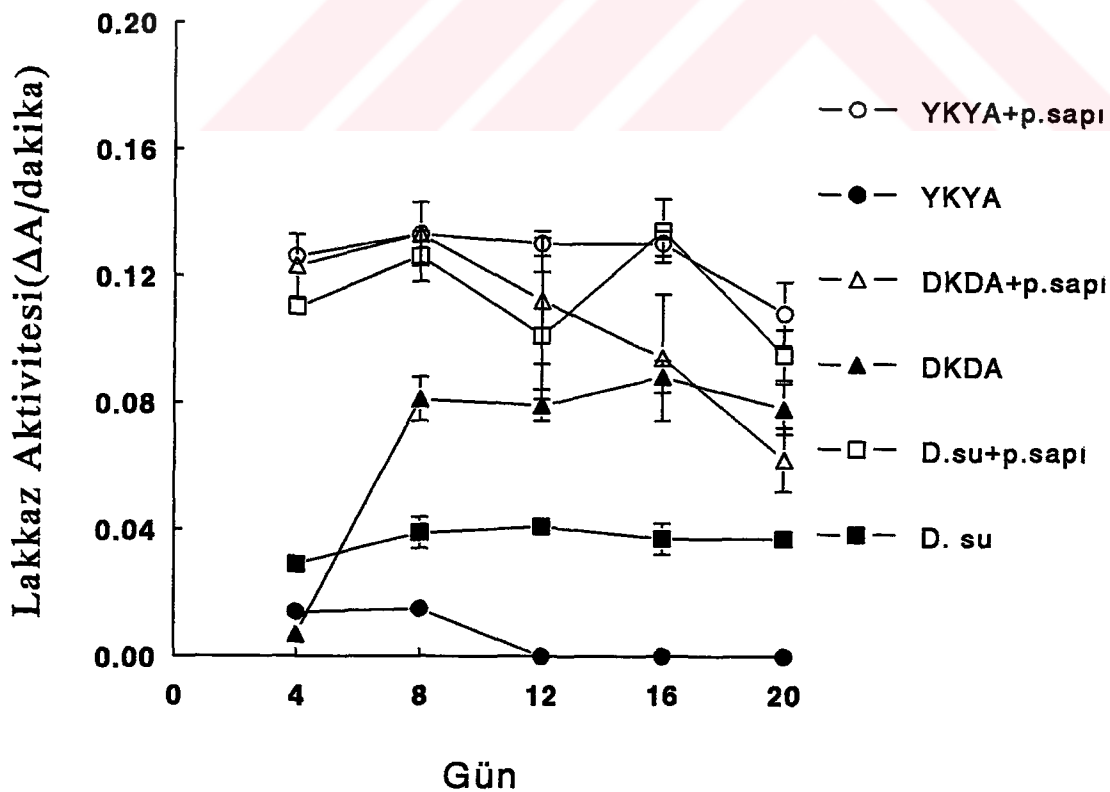
3.3.1 *C. versicolor* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen enzim aktiviteleri

3.3.1.1 Lakkaz aktivitesi

C. versicolor ile lakkaz aktivitesine YKYA, YKYA+pamuk sapı, DKDA, DKDA+pamuk sapı içeren ortamlarda bakılmış ve bu değerler Şekil 3.1'de distile su ile hazırlanmış kültürler ile karşılaştırılarak verilmiştir.

Şekil 3.1'de, pamuk sapı ilave edilen kültür ortamlarında lakkaz aktivitesinin belirgin bir şekilde indüklendiği gözlenmektedir. Aynı zamanda YKYA+pamuk sapı ve DKDA+pamuk sapı kültürleri karşılaştırıldığı zaman lakkaz aktivitesinin biraz daha yüksek olarak açığa çıktığı gözlenmektedir. Sadece distile su+pamuk sapı içeren

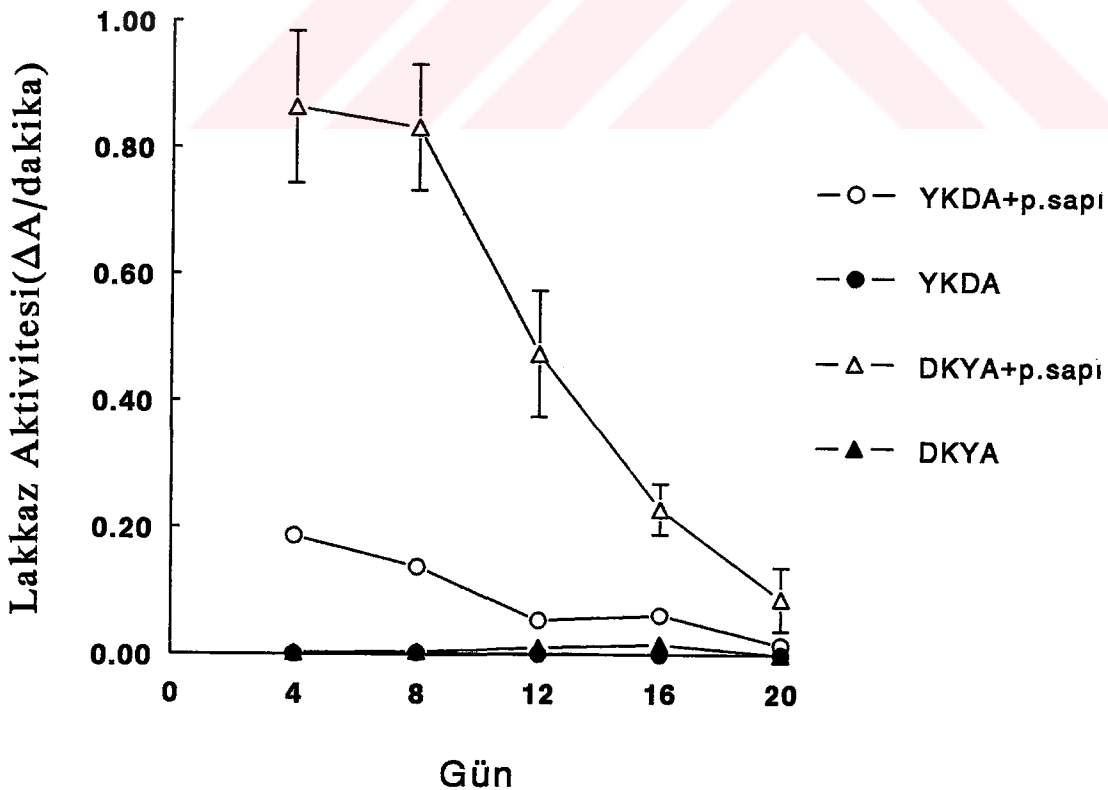
kültürlerde bile oldukça yüksek lakkaz aktivitesinin elde edilmesi pamuk sapı eklenmesinin, lakkaz aktivitesini belirgin bir şekilde arttırdığının bir işaretidir. Aynı şekilde, pamuk sapı eklenmeyen YKYA ve DKDA kültürlerinde lakkaz aktivitesi pamuk sapı içeren kültürlere göre düşük olarak ortaya çıkmıştır. Pamuk sapı içermeyen kültürlerin lakkaz aktiviteleri karşılaştırıldığı zaman, DKDA kültürlerinde elde edilen lakkaz aktivitesinin YKYA kültürüne göre daha fazla indüklediği görülmüştür (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 *C. versicolor* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen lakkaz aktivitesi

Şekil 3.2'de ise *C. versicolor* ile YKDA, YKDA+pamuk sapı, DKYA, DKYA+pamuk sapı kültürlerinde saptanan lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak gösterilmiştir.

Şekil 3.2'ye bakıldığı zaman, pamuk sapı eklenen kültürlerinde lakkaz aktivitesinin çok belirgin bir şekilde indüklendiği görülmektedir. Aynı zamanda DKYA+pamuk sapı ortamı da, *C. versicolor*'da oldukça yüksek lakkaz aktivitesi oluşmasına yol açmıştır. Günlere bağlı olarak enzim aktiviteleri incelendiği zaman, YKDA+pamuk sapı ve DKYA+pamuk sapı kültürlerinde enzim aktivitesinin 4. günde maksimuma ulaştığı ve sonraki günlerde azalışa geçtiği görülmektedir. Pamuk sapı içermeyen kültürler ile, pamuk sapı içeren kültürleri karşılaştırdığımız zaman oldukça yüksek lakkaz aktivitelerinin oluşması, pamuk saplarının lakkaz aktivitesini belirgin bir şekilde indüklediğini göstermektedir.



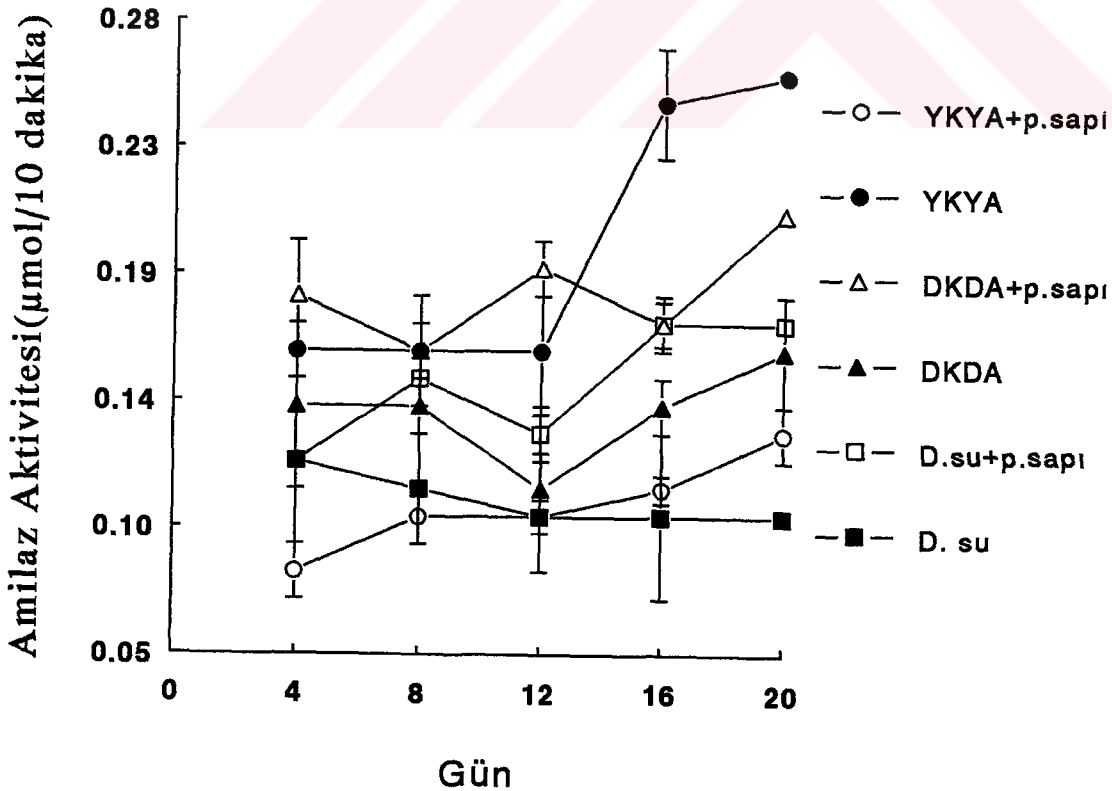
Şekil 3.2 *C. versicolor* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen lakkaz aktivitesi

3.3.1.2 Amilaz aktivitesi

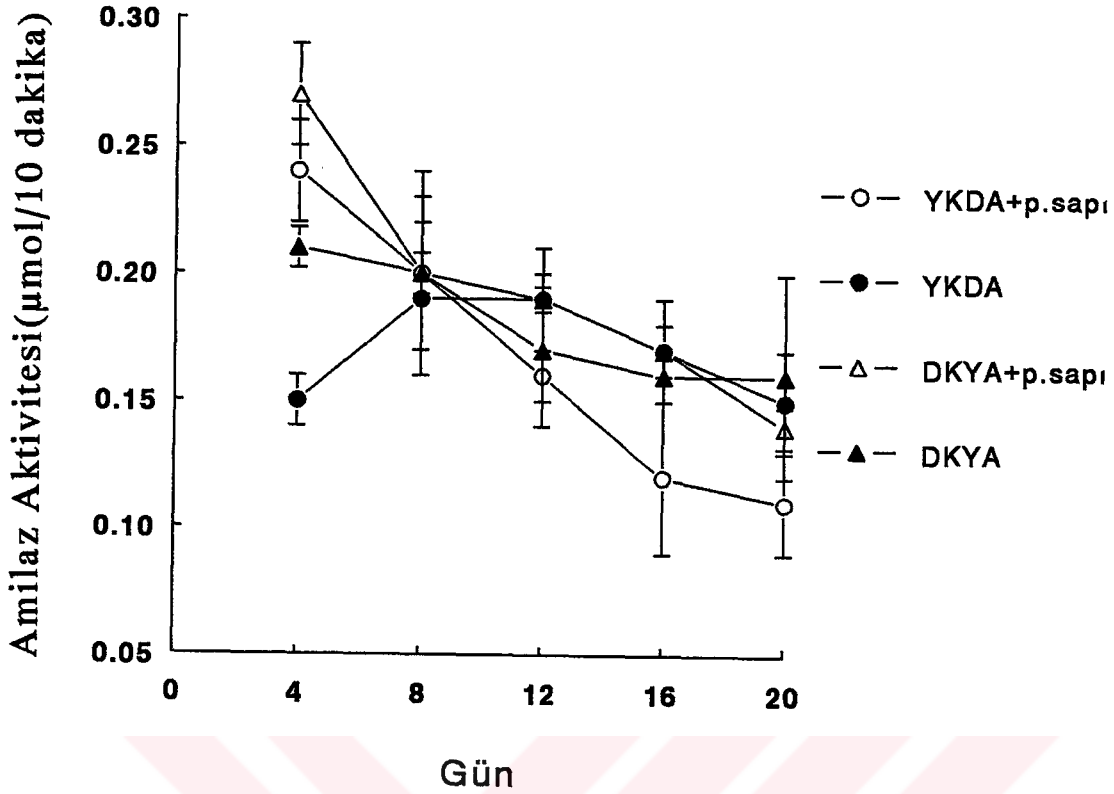
Şekil 3.3'te *C. versicolor* ile YKYA+Pamuk sapı, YKYA, DKDA+pamuk sapı, DKDA ve distile su kültürlerinde saptanan amilaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. YKYA+pamuk sapı ve YKYA ortamları amilaz aktiviteleri bakımından karşılaştırıldığı zaman, pamuk sapı içermeyen YKYA ortamlarında pamuk sapı içeren ortamlara göre oldukça yüksek amilaz aktivitesi gözlenmektedir. Amilaz aktivitesi, inkübasyon periyodunun sonuna kadar artışa devam etmiş ve 20. günde 0.26 $\mu\text{mol}/10$ dakika ile maksimuma ulaşmıştır. Pamuk sapı içeren YKYA ortamında da benzer bir artış izlenirken, maksimum aktivite yine 20. günde 0.13 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak elde edilmiştir. DKDA+pamuk sapı ve DKDA kültür ortamları karşılaştırıldığı zaman ise pamuk sapı eklenmesinin DKDA ortamında amilaz aktivitesini indüklediği görülmektedir. Bu iki ortamda da amilaz aktivitesi inkübasyon periyodunun 20. gününde maksimuma ulaşmıştır. DKDA ortamları distile su ortamları ile karşılaştırıldığı zaman ise, DKDA+pamuk sapı ve DKDA ortamlarında daha yüksek amilaz aktivitesi olduğu gözlenmektedir.

Şekil 3.4'te ise *C. versicolor* ile YKDA+pamuk sapı ve YKDA ile DKYA+pamuk sapı ve DKYA kültürlerinde oluşan amilaz aktivitesi günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.4'e bakıldığı zaman; YKDA ortamları DKYA ortamları karşılaştırıldığı zaman, DKYA+pamuk sapı ve YKDA+pamuk sapı kültürlerinde amilaz aktivitesi inkübasyonun ilk günlerinde yüksek olarak açığa çıkmış ve inkübasyonun sonlarına doğru azalışa geçmiştir. YKDA+pamuk sapı ortamında amilaz aktivitesi 4. günde 0.24 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak maksimum değere ulaşmış ve sonraki günlerde aktivitede azalış meydana gelmiştir. YKDA ortamında ise amilaz enzimi 12. günde 0.19 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak maksimuma

ulaşırken, YKDA+pamuk sapı ortamına göre daha düşük düzeyde enzim aktivitesi elde edilmiştir. Ancak pamuk sapı eklenmemiş YKDA ortamlarında elde edilen amilaz aktiviteleri 12., 16. ve 20. günlerde pamuk sapı eklenmiş ortamlara göre daha yüksek düzeyde elde edilmiştir. DKYA+pamuk sapı ortamlarında amilaz aktivitesi 4. günde 0.27 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak en yüksek değere ulaşırken, aynı ortama pamuk sapı eklenmediği zaman amilaz aktivitesi yine 4. günde ancak bu defa 0.21 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak en yüksek değere ulaşmıştır. DKYA ortamlarında pamuk sapı eklenmesinin amilaz enzimi üretimini indüklediği şekil 3.4 incelendiği zaman görülmektedir. Distile su ortamında oluşan enzim aktivitesi ise, YKDA ve DKYA ortamları ile karşılaştırıldığı zaman daha düşük olarak açığa çıkmıştır (Şekil 3.3 ve 3.4).



Şekil 3.3 *C. versicolor* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen amilaz aktivitesi



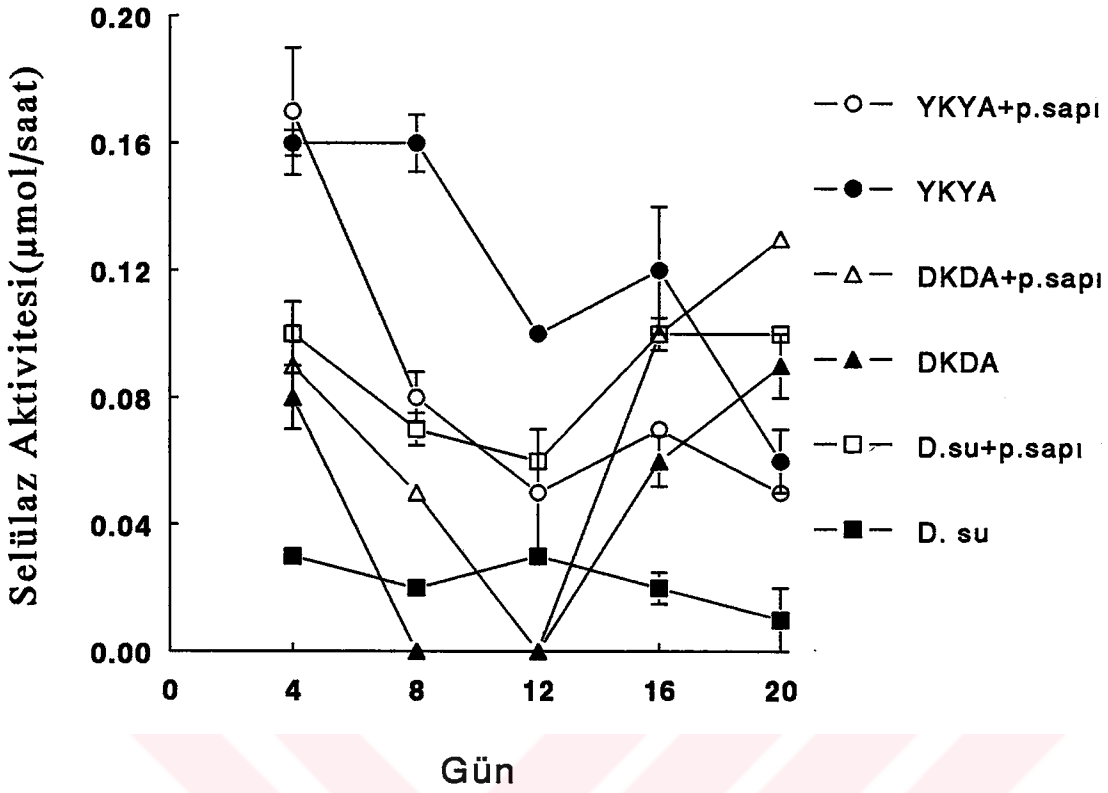
Şekil 3.4 *C. versicolor* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen amilaz aktivitesi

3.3.1.3 Selüloz aktivitesi

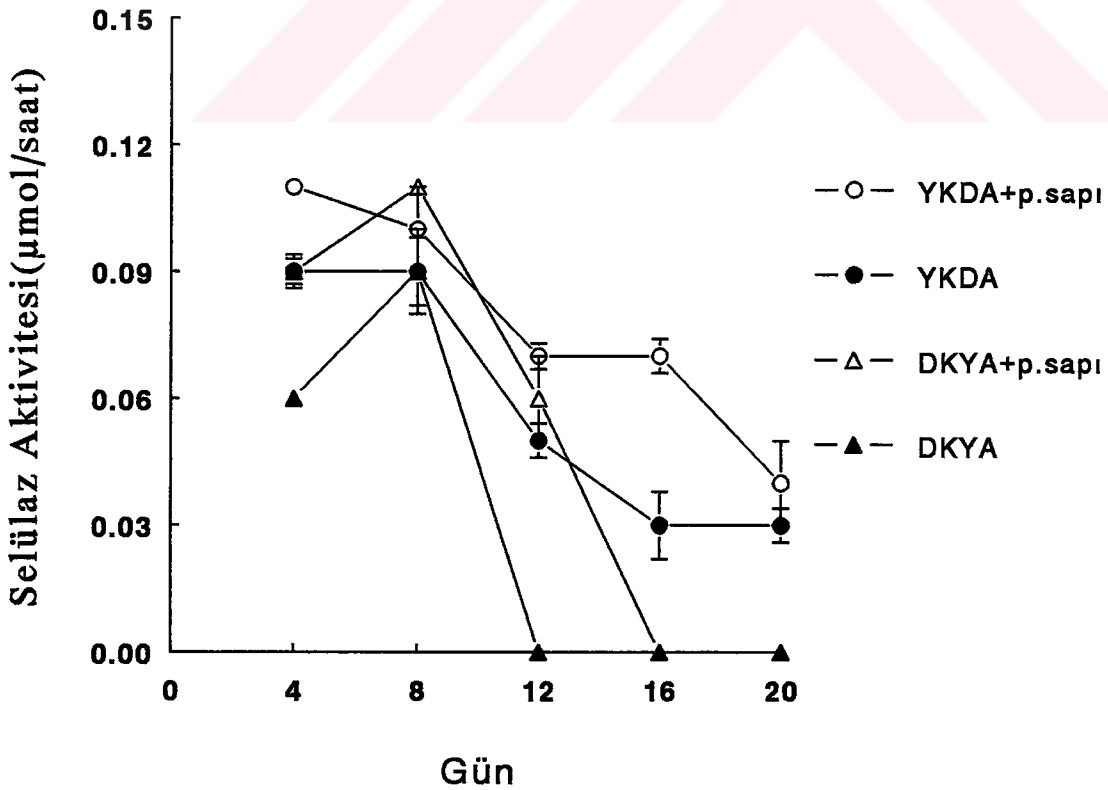
Şekil 3.5'te *C. versicolor* ile YKYA+Pamuk sapı, YKYA, DKDA+pamuk sapı, DKDA ve distile su kültürlerinde meydana gelen selüloz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.5'e bakıldığı zaman; selüloz aktivitesinin DKDA+pamuk sapı ve DKDA kültürleri ile YKYA+pamuk sapı ve YKYA kültürleri karşılaştırıldığında YKYA içeren ortamlarda daha yüksek olarak açığa çıktığı görülmektedir. YKYA+pamuk sapı ve YKYA ortamlarında selüloz enzim aktivitesi 4. günde maksimuma ulaşmış ve inkübasyon periyodunun sonraki günlerinde azalarak devam etmiştir. YKYA+pamuk sapı kültüründe maksimum aktivite 0.17 $\mu\text{mol/saat}$ olarak 4. günde meydana gelirken, YKYA kültüründe yine 4. günde selüloz aktivitesi 0.16 $\mu\text{mol/saat}$ olarak yüksek bir şekilde açığa çıkmıştır.

Diğer günlerde oluşan selüloz aktiviteleri de karşılaştırıldığı zaman, pamuk sapı eklenmesinin YKYA ortamlarında selüloz aktivitesini indüklediği, aksine bsskıldığı görülmektedir. Çünkü, pamuk sapı içermeyen ortamlarda daha yüksek selüloz aktivitesi elde edilmiştir. Fakat DKDA kültürleri incelendiği zaman, durumun tam tersi olduğunu yani pamuk sapı eklenmesi ile selüloz aktivitesinin indüklendiğini görmekteyiz. DKDA+pamuk sapı ve DKDA ortamlarında selüloz aktivitesi sırası ile 0.13 ve 0.09 $\mu\text{mol/saat}$ olarak 20. günde maksimuma ulaşmıştır. Distile su ortamlarında ise, YKYA ortamları ile karşılaştırıldığı zaman daha düşük, DKDA ortamları ile karşılaştırıldığı zaman ise hemen hemen aynı düzeylerde selüloz enzimi üretildiği görülmektedir. Distile su+pamuk sapı ortamlarında da enzim aktivitesi inkübasyonun sonlarına doğru, 16. günde 0.1 $\mu\text{mol/saat}$ olarak maksimuma ulaşmıştır.

Şekil 3.6'da ise *C. versicolor* ile YKDA+pamuk sapı ve YKDA ile DKYA+pamuk sapı ve DKYA kültürlerinde oluşan selüloz aktivitesi günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.6 incelendiği zaman; YKDA+pamuk sapı ortamının selüloz üretimini en fazla indüklediği görülmektedir. Burada en yüksek selüloz aktivitesi, 4.günde 0.11 $\mu\text{mol/saat}$ olarak elde edilmiştir. YKDA kültürüne pamuk sapı ilave edilmediği zaman ise en yüksek selüloz aktivitesi yine 4. günde 0.09 $\mu\text{mol/saat}$ olarak elde edilmiştir. DKYA kültürlerini karşılaştırdığımız zaman, pamuk sapı eklenmesi ile selüloz aktivitesinin nispeten indüklendiği görülmektedir.. DKYA+pamuk sapı ortamındaki en yüksek selüloz aktivitesi, 8. günde 0.11 $\mu\text{mol/saat}$ olarak elde edilirken, pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda aktivite yine 8. günde 0.09 $\mu\text{mol/saat}$ olarak en yüksek değere ulaşmıştır.Şekil incelendiği zaman, kültür ortamlarına pamuk sapı eklenmesinin selüloz aktivitesini indüklediği görülmektedir.



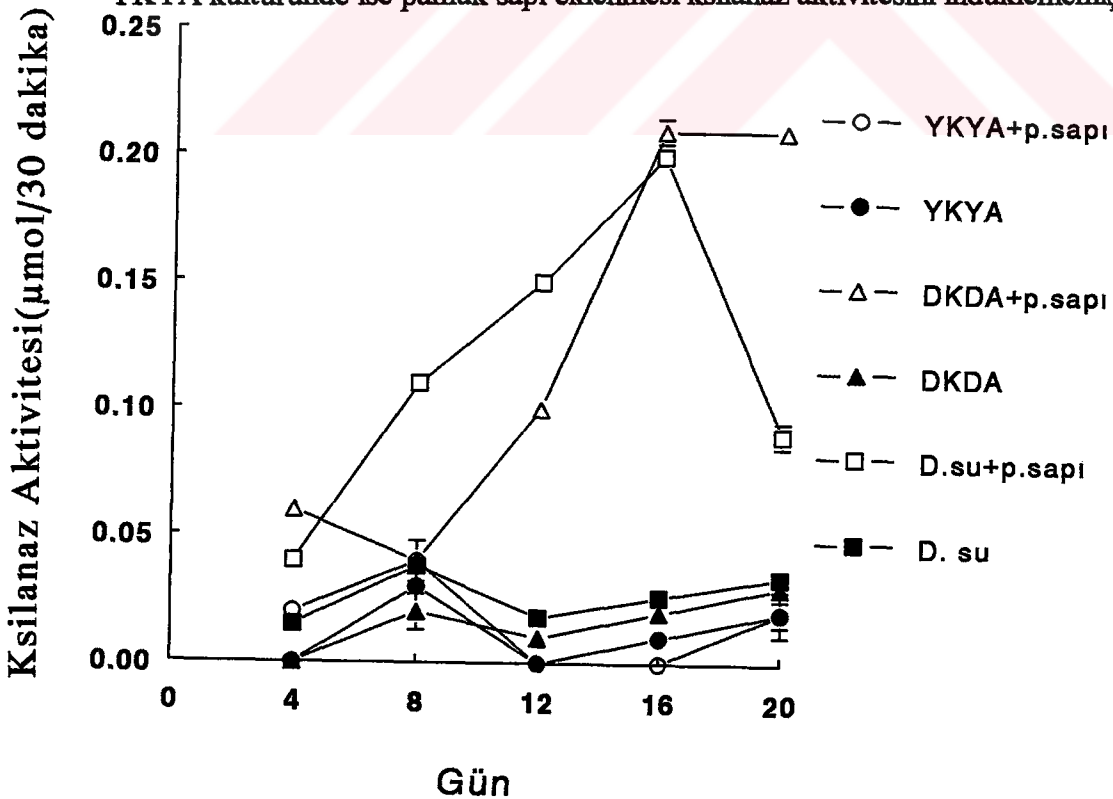
Şekil 3.5 *C. versicolor* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen selüloz aktivitesi



Şekil 3.6 *C. versicolor* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen selüloz aktivitesi

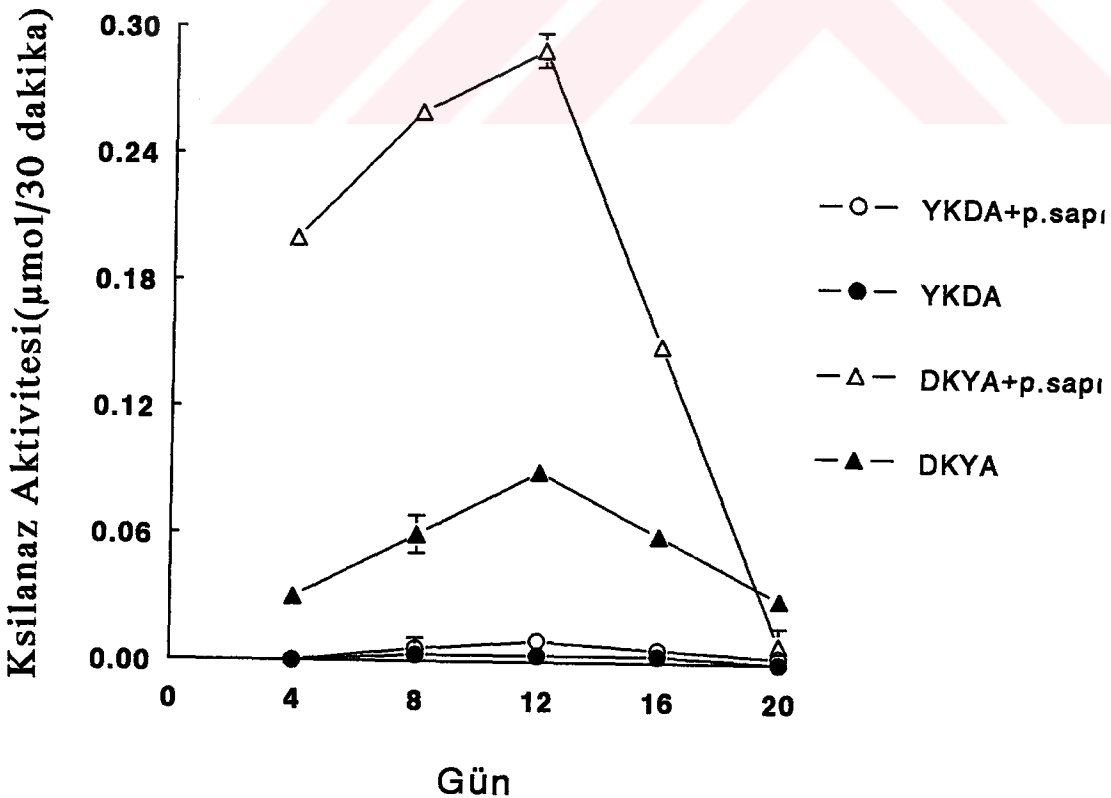
3.3.1.4 Ksilanaz aktivitesi

Şekil 3.7'de *C. versicolor* ile YKYA+Pamuk sapı, YKYA, DKDA+pamuk sapı, DKDA ve distile su kültürlerinde meydana gelen ksilanaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.7 incelendiği zaman, en yüksek ksilanaz aktivitesinin DKDA+pamuk sapı ve distile su+pamuk sapı kültürlerinde meydana geldiği gözlenmektedir. DKDA+pamuk sapı kültüründe en yüksek ksilanaz aktivitesi 16. günde $0.21 \mu\text{mol}/30$ dakika olarak açığa çıkarken, distile su+pamuk sapı kültüründe yine 16. günde $0.21 \mu\text{mol}/30$ dakika olarak açığa çıkmıştır. Her iki ortamda da kültürlerle pamuk saplarının eklenmesi ksilanaz aktivitesini belirgin bir biçimde indüklemiştir. YKYA+pamuk sapı kültüründe ise ksilanaz aktivitesi maksimuma 8. günde $0.04 \mu\text{mol}/30$ dakika olarak ulaşmış ve sonraki günlerde azalarak aktivite düşük düzeyde korunmuştur. YKYA kültüründe ise pamuk sapı eklenmesi ksilanaz aktivitesini indüklememiştir.



Şekil 3.7 *C. versicolor* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen ksilanaz aktivitesi

Şekil 3.8'de ise *C. versicolor* ile YKDA+pamuk sapı ve YKDA ile DKYA+pamuk sapı ve DKYA ortamlarında oluşan ksilanaz aktivitesi günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.8 incelendiği zaman; ksilanaz aktivitesinin pamuk sapı eklensin veya eklenmesin DKYA ortamlarında daha yüksek olarak açığa çıktığı görülmektedir. YKDA+pamuk sapı ortamında ksilanaz enzimi 12. günde 0.06 $\mu\text{mol}/30$ dakika olarak maksimuma ulaşırken YKDA kültürüne pamuk sapı eklenmediği zaman, yine 12. günde fakat 0.03 $\mu\text{mol}/30$ dakika olarak maksimuma ulaşmıştır. DKYA+pamuk sapı kültüründe ise enzim aktivitesi 0.29 $\mu\text{mol}/30$ dakika olarak 12. günde en yüksek değere ulaşırken, pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda yine 12. günde 0.09 $\mu\text{mol}/30$ dakika olarak en yüksek aktivite elde edilmiştir. Şekil 3.8'e bakıldığı zaman *C. versicolor*'da ksilanaz enzim aktivitesinin DKYA ortamında indüklendiği belirgin bir şekilde görülmektedir.



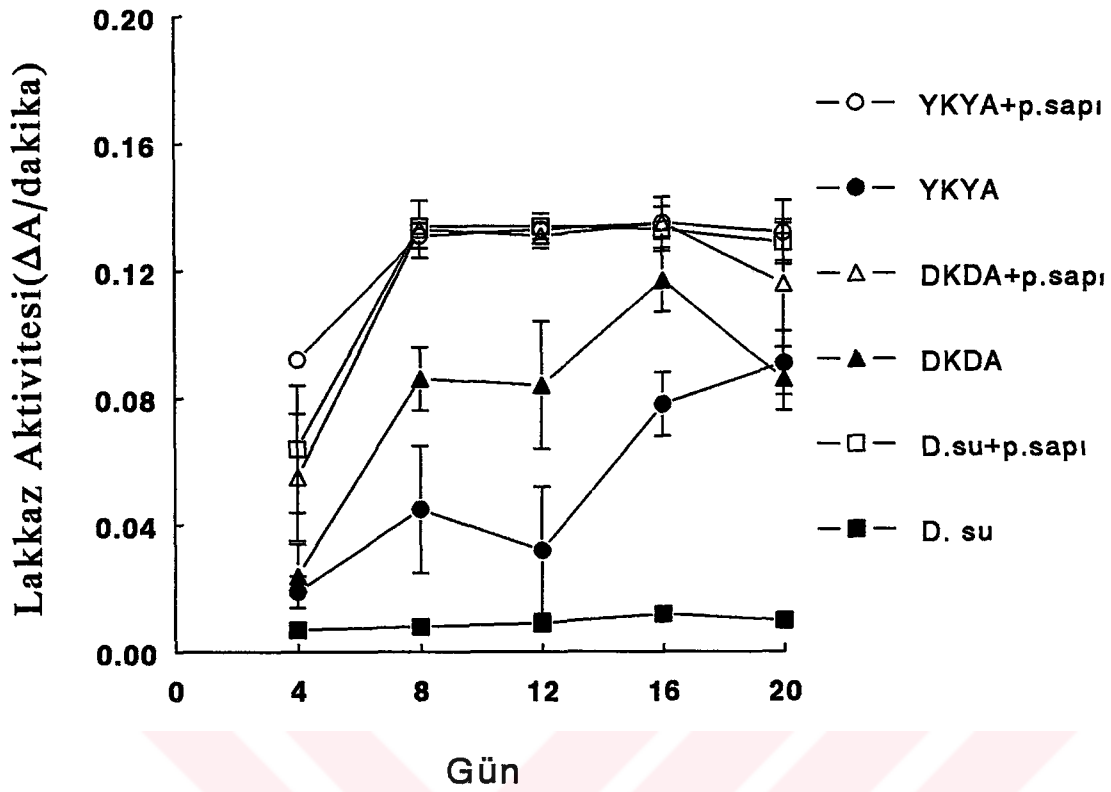
Şekil 3.8 *C. versicolor* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen ksilanaz aktivitesi

3.3.2 *F. trogii* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen enzim aktiviteleri

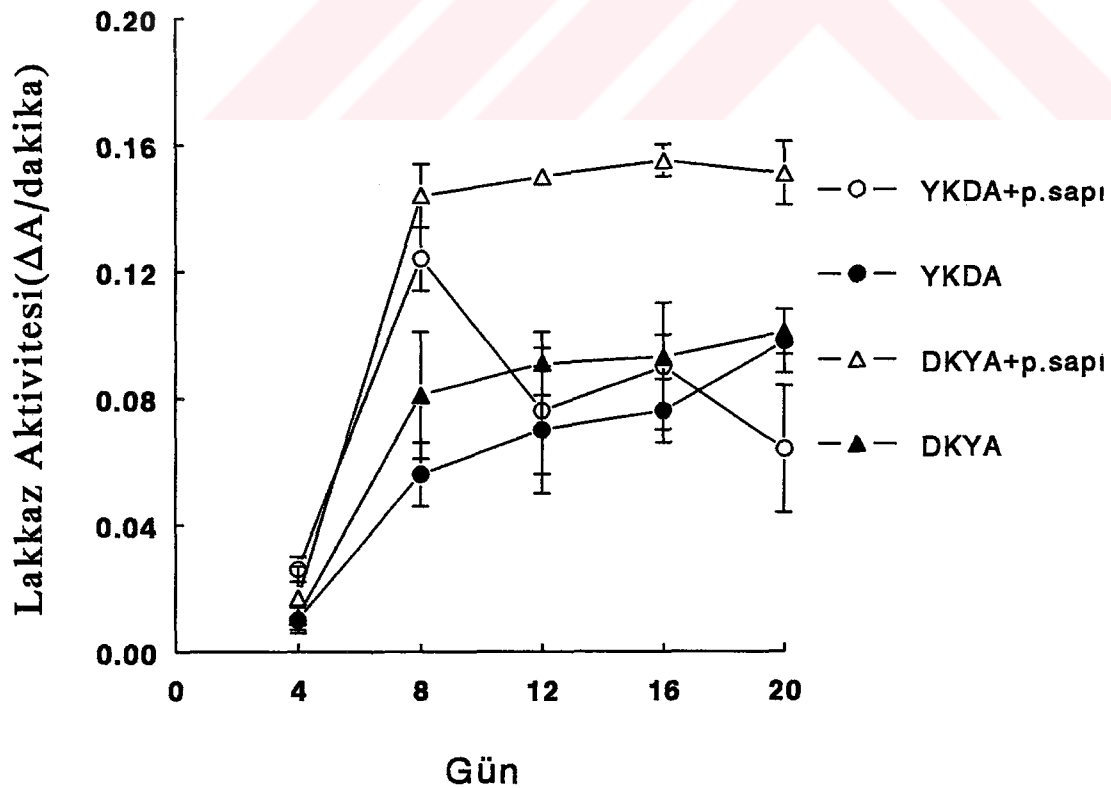
3.3.2.1 Lakkaz aktivitesi

F. trogii ile lakkaz aktivitesine YKYA, YKYA+pamuk sapı, DKDA, DKDA+pamuk sapı içeren ortamlarda bakılmış ve bu değerler Şekil 3.9'da distile su ile hazırlanmış kültür ortamları ile karşılaştırılarak verilmiştir. Şekil 3.9 incelendiği zaman, bütün ortamlarda pamuk sapı eklenmesi ile lakkaz enzim aktivitesinin belirgin bir şekilde indüklendiği görülmektedir. YKYA, DKDA ve distile su ortamlarına pamuk sapı eklendiği zaman oluşan lakkaz aktiviteleri karşılaştırıldığı zaman ise bu üç ortam arasında çok önemli bir fark olmadığı ve hemen hemen benzer maksimum aktivite değerleri elde edildiği şekilden anlaşılmaktadır. Bu ortamlarda enzim aktiviteleri 8. günde maksimuma ulaşmakta ve inkübasyonun sonraki günlerinde aktivite korunarak devam etmektedir.

Şekil 3.10'da ise *F. trogii* ile YKDA, YKDA+pamuk sapı, DKYA, DKYA+pamuk sapı kültür ortamlarında meydana gelen lakkaz aktiviteleri günlere bağlı olarak grafiklenmiştir. Hem YKDA ve hemde DKYA ortamlarında pamuk sapı eklenmesi ile lakkaz enzim aktivitesinin indüklendiği görülmektedir. Aynı zamanda, DKYA+pamuk sapı ortamı, YKDA+pamuk sapı ortamına göre lakkaz enzim aktivitesini daha fazla indüklemektedir. YKDA+pamuk sapı ortamında enzim aktivitesi 8. günde maksimum değere ulaşırken, DKYA+pamuk sapı ortamında 16. günde maksimum değere ulaşmıştır. Pamuk sapı içermeyen YKDA ve DKYA ortamları lakkaz aktivitesi bakımından karşılaştırıldığı zaman ise, yine aynı şekilde DKYA ortamında daha yüksek enzim aktivitesi elde edilmiştir. DKYA ortamları distile su ortamları ile karşılaştırıldığı zaman da yüksek enzim aktivitesinin olduğu görülmektedir (Şekil 3.9 ve 3.10)



Şekil 3.9 *F. troglia* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen lakkaz aktivitesi



Şekil 3.10 *F. troglia* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen lakkaz aktivitesi

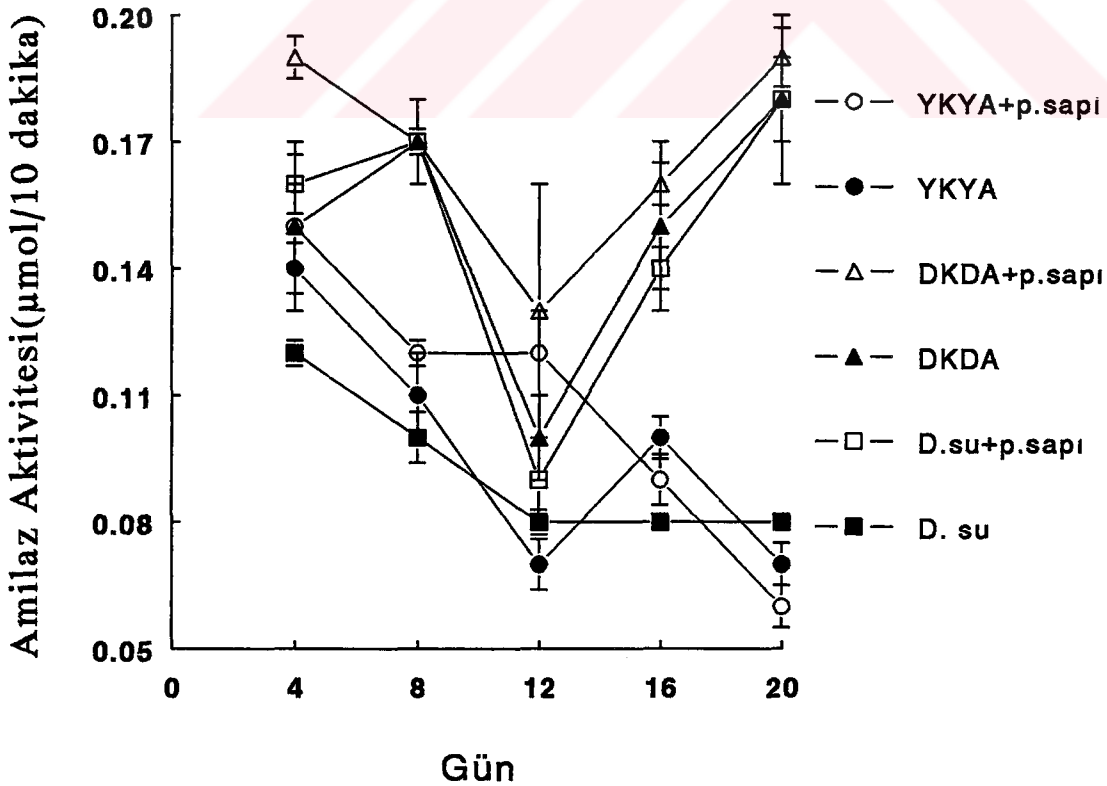
3.3.2.2 Amilaz aktivitesi

Şekil 3.11'de *F. trogii* ile YKYA+Pamuk sapı, YKYA, DKDA+pamuk sapı, DKDA ve distile su kültürlerinde meydana gelen amilaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir.

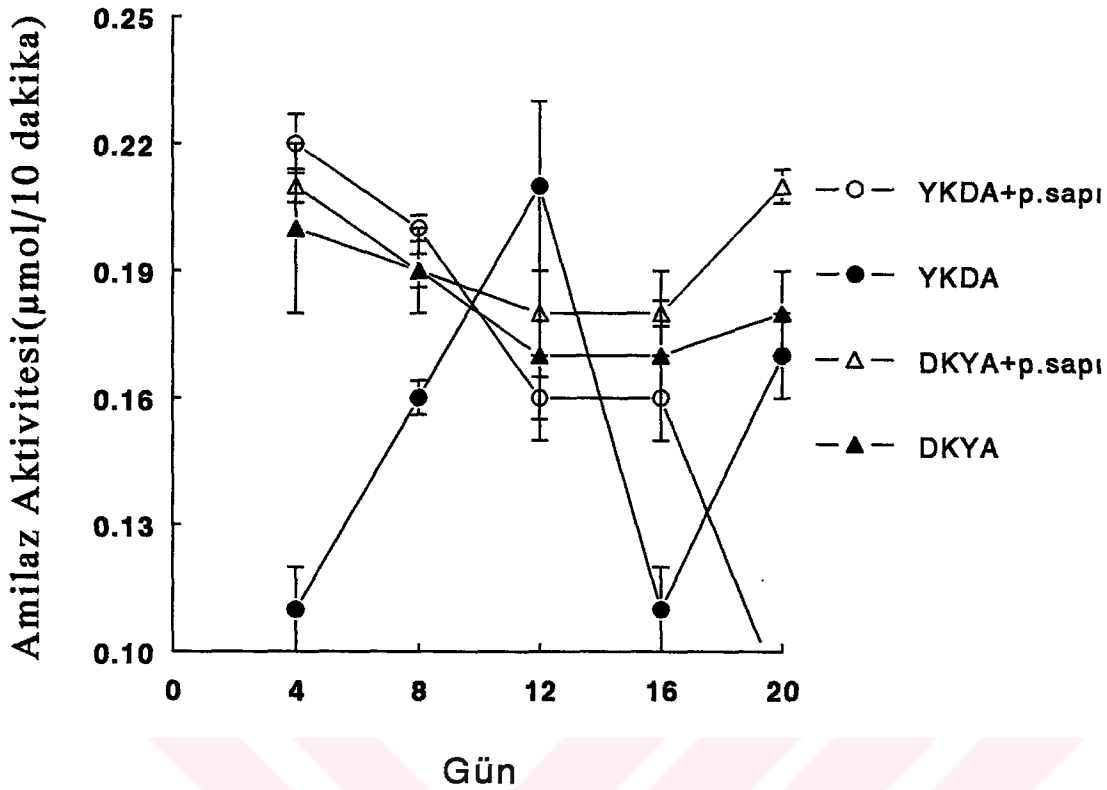
Şekil 3.11 incelendiği zaman; pamuk sapı içeren kültürlerde amilaz enzim aktivitesinin inkübasyon periyodunun ilk günlerinde indüklendiği görülmektedir. YKYA+pamuk sapı ortamında amilaz aktivitesi 0.15 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak 4. günde maksimum değere ulaşmış ve sonraki günlerde aktivitede azalma meydana gelmiştir. DKDA+pamuk sapı ortamında da aynı şekilde enzim aktivitesi 4. günde 0.19 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak maksimuma ulaşırken, aktivite sonraki günlerde azalarak devam etmiş fakat 20. günde tekrar bir artış meydana gelmiştir. Distile su+pamuk sapı ortamında da aktivite aynı şekilde 20. günde 0.18 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak en yüksek değere ulaşmıştır. Pamuk sapı içermeyen kültürler, pamuk sapı içeren kültürler ile karşılaştırıldığı zaman amilaz aktivitesinin pamuk sapı eklenmesi ile nispeten indüklendiği görülmektedir. DKDA+ pamuk sapı ortamının amilaz aktivitesini en fazla indüklediği gözlenmiştir.

Şekil 3.12'de ise, *F. trogii* ile YKDA+pamuk sapı, YKDA, DKYA+pamuk sapı ve DKDA kültürlerinde meydana gelen amilaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Bu şekil incelendiği zaman, YKDA+pamuk sapı ortamının amilaz aktivitesini inkübasyonun ilk günlerinde arttırdığı gözlenmektedir. Pamuk sapı içermeyen YKDA ve DKYA kültür ortamları karşılaştırıldığı zaman, amilaz aktivitesinin YKDA ortamında 12. günde belirgin bir şekilde indüklendiği, DKYA kültürlerinde ise 4. ve 8. günlerde yüksek sonraki günlerde ise daha düşük olarak açığa çıktığı görülmektedir. Amilaz enzim aktivitesi YKDA+pamuk sapı ortamında 0.22 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak 4. günde ve

DKYA+pamuk sapı ortamında da $0.21\mu\text{mol}/10$ dakika olarak yine 4. günde maksimuma ulaşmıştır. Ancak DKYA+pamuk sapı ortamında aktivite 20. günde tekrar bir yükselme gösterirken, YKDA+pamuk sapı ortamında aktivite 20. güne kadar azalarak devam etmiştir.



Şekil 3.11 *F. troglia* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen amilaz aktivitesi

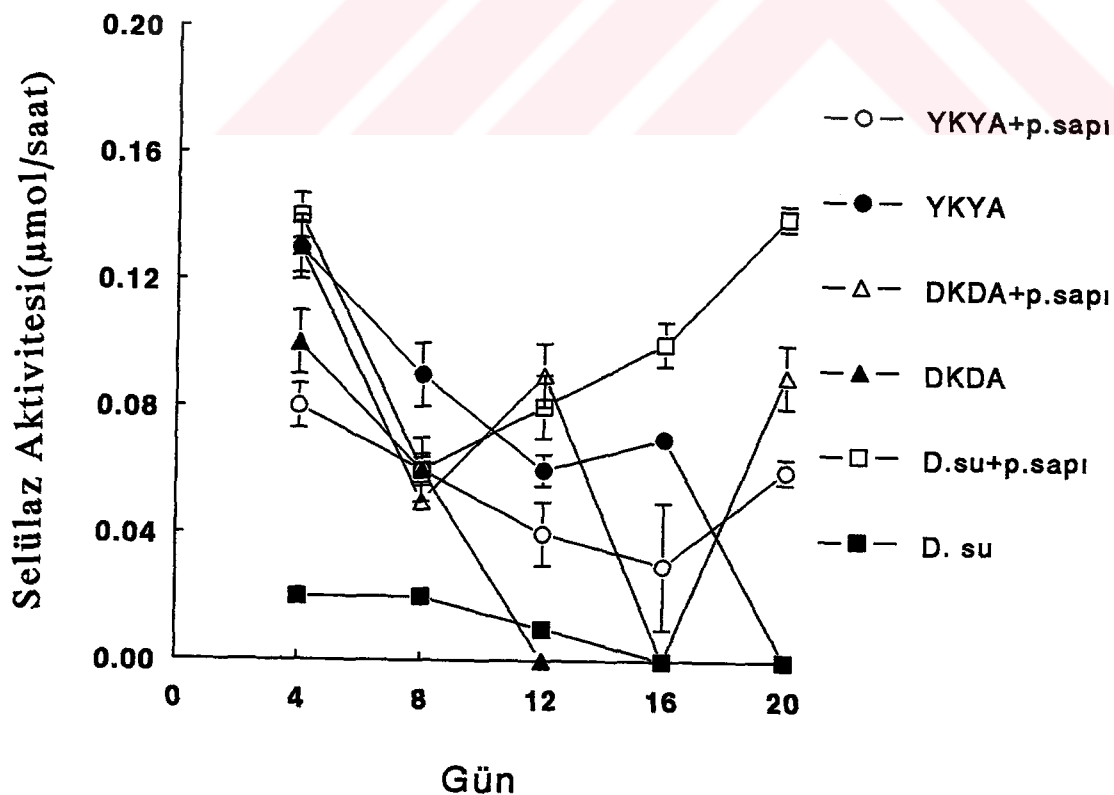


Şekil 3.12 *F. troglia* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen amilaz aktivitesi

3.3.2.3 Selülaz aktivitesi

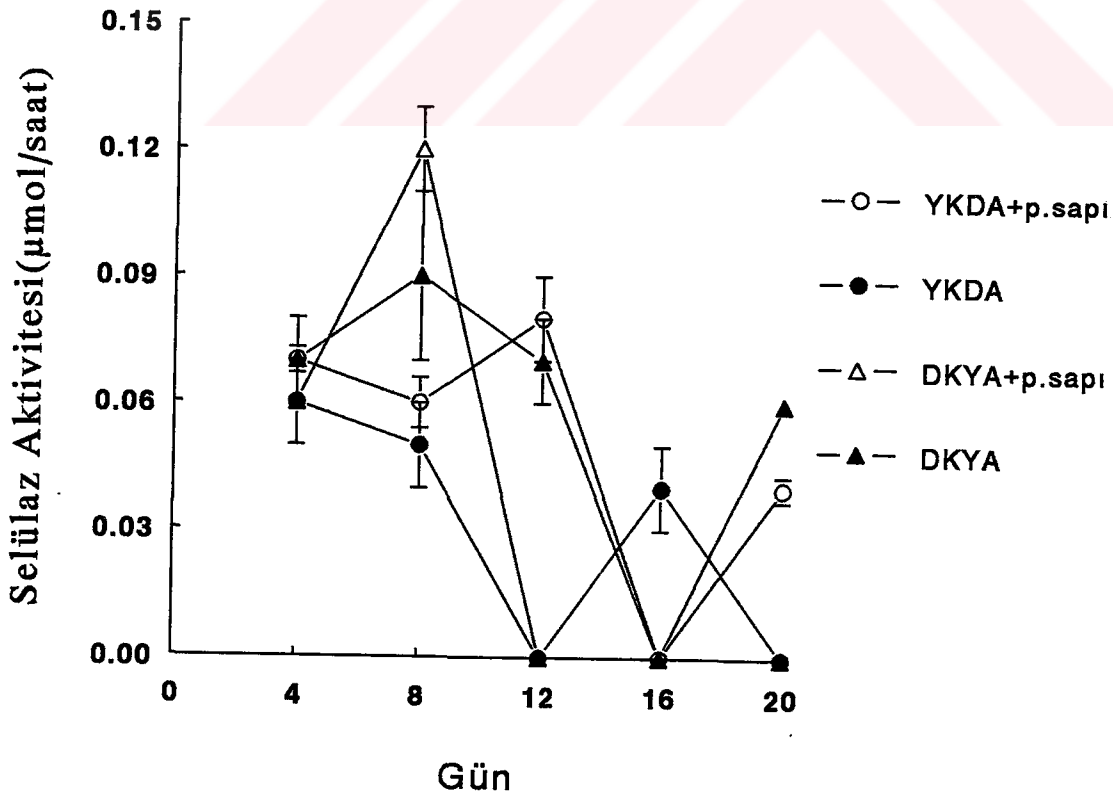
Şekil 3.13'de *F. troglia* ile YKYA+Pamuk sapı, YKYA, DKDA+pamuk sapı, DKDA ve distile su kültürlerinde meydana gelen selülaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.13 incelendiği zaman; YKYA+pamuk sapı ortamında oluşan selülaz aktivitesinin pamuk sapı içermeyen aynı ortama göre daha düşük seviyede kaldığı dikkati çekmektedir. Her iki ortamda da aktivite 4. günde maksimuma ulaşırken, pamuk sapı içermeyen ortamda $0.13 \mu\text{mol/saat}$, pamuk sapı içeren ortamda ise $0.08 \mu\text{mol/saat}$ olarak açığa çıkmıştır. DKDA+pamuk sapı ve DKDA kültürleri karşılaştırıldığı zaman ise pamuk sapı eklenmesinin selülaz aktivitesini indüklediğini görmekteyiz. Selülaz enzim aktivitesi pamuk sapı içeren DKDA ortamında $0.13 \mu\text{mol/saat}$ olarak 4. günde

maksimuma ulaşırken, pamuk sapı içermeyen DKDA ortamında yine 4. günde 0.1 $\mu\text{mol/saat}$ olarak maksimuma ulaşmıştır. Distile su+ pamuk sapı ortamında da aktivite 4. günde 0.14 $\mu\text{mol/saat}$ olarak maksimuma ulaşmıştır. Distile su+ pamuk sapı ortamında da aktivite 4. günde 0.14 $\mu\text{mol/saat}$ olarak maksimum değere ulaşırken, 20. günde selüloz enzim aktivitesinde tekrar bir artışın meydana gelmesi ilgi çekicidir. Pamuk sapı eklenen YKYA, DKDA ve distile su kültür ortamları selüloz aktivitesi bakımından karşılaştırılırsa, en yüksek aktivitenin distile su+pamuk sapı ortamında açığa çıktığı görülmektedir.



Şekil 3.13 *F. troglia* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen selüloz aktivitesi

Şekil 3.14'te ise, *F. trogii* ile YKDA+pamuk sapı, YKDA, DKYA+pamuk sapı ve DKDA kültür ortamlarında meydana gelen selüloz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.14 incelendiği zaman; DKYA kültürüne pamuk sapı eklenmesi ile selüloz aktivitesinin indüklendiği görülmektedir. YKDA+pamuk sapı kültür ortamında da selüloz aktivitesinin pamuk sapı eklenmesi ile indüklendiği görülmektedir. Bu ortamda en yüksek selüloz aktivitesi, 12. günde 0.08 $\mu\text{mol/saat}$ olarak elde edilmiştir. Pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda ise en yüksek selüloz aktivitesi, 4. günde 0.06 $\mu\text{mol/saat}$ olarak elde edilmiştir. DKYA kültür ortamının *F. trogii*'de selüloz aktivitesini en fazla indükleyen ortam olduğu görülmektedir. DKYA+pamuk sapı ortamındaki en yüksek selüloz aktivitesi, 8. günde 0.12 $\mu\text{mol/saat}$ olarak elde edilmiştir. Pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamdaki en yüksek selüloz aktivitesi ise 8. günde 0.09 $\mu\text{mol/saat}$ olarak elde edilmiştir.

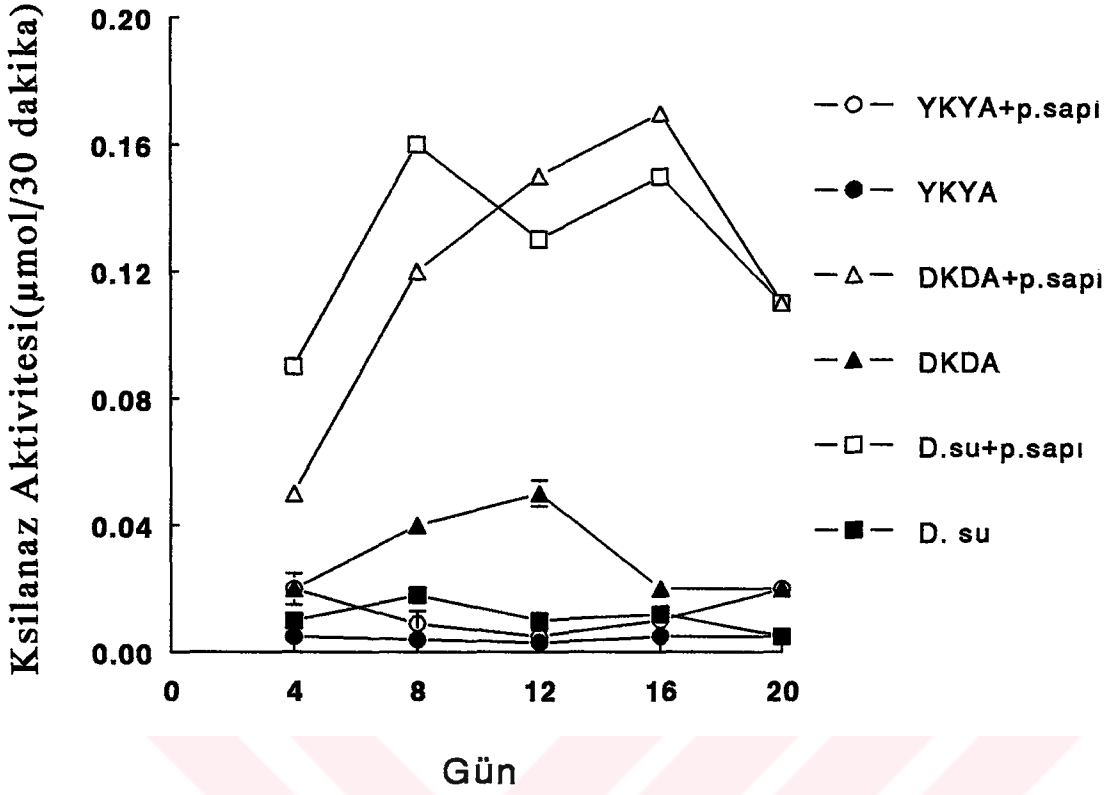


Şekil 3.14 *F. trogii* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen selüloz aktivitesi

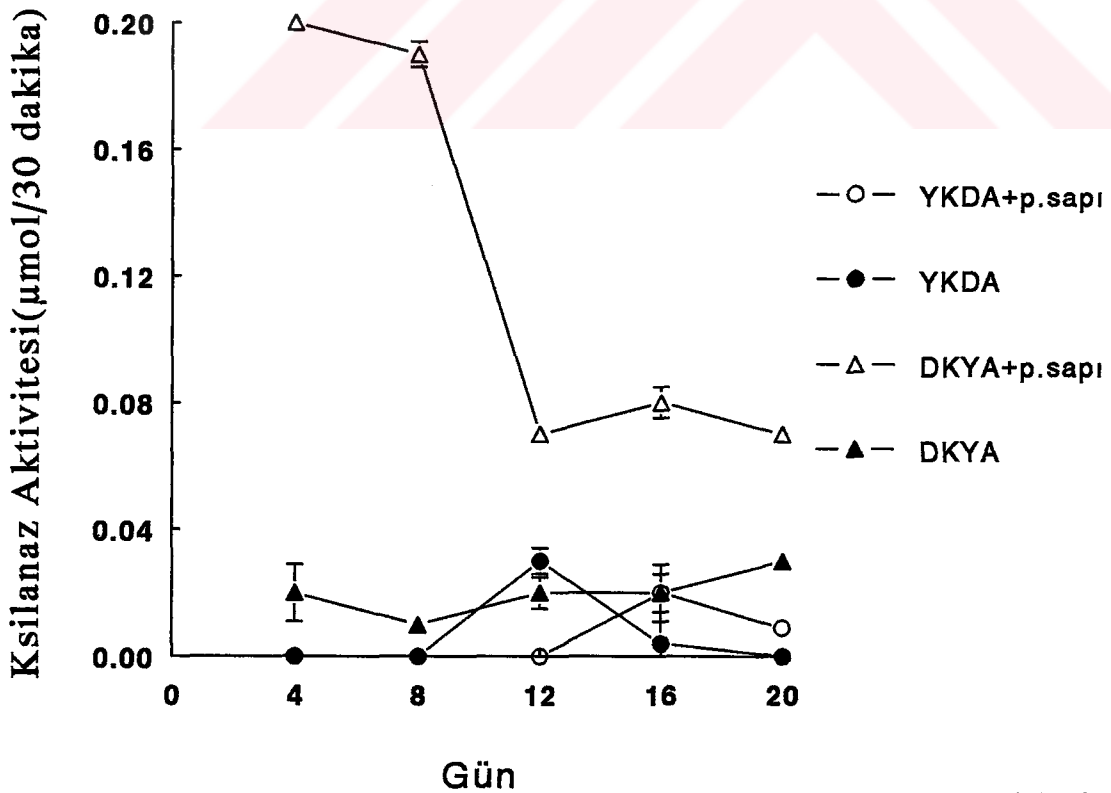
3.3.2.4 Ksilanaz aktivitesi

Şekil 3.15'te *F. trogii* ile YKYA+pamuk sapı, YKYA, DKDA+pamuk sapı, DKDA ve distile su kültür ortamlarında meydana gelen ksilanaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Pamuk sapı eklenen tüm kültürlerde pamuk sapı eklenmeyen kültürlerle göre ksilanaz aktivitesinin daha yüksek olarak açığa çıktığı görülmektedir. DKDA+pamuk sapı ve distile su+pamuk sapı kültürleri ise pamuk sapı eklenmiş YKYA kültürü ile karşılaştırıldığı zaman ksilanaz aktivitesini en fazla indükleyen ortam olarak görülmektedir. YKYA+pamuk sapı ve YKYA ortamlarında ksilanaz aktivitesi sırası ile 0.02 $\mu\text{mol}/30$ dakika ve 0.05 $\mu\text{mol}/30$ dakika olarak 20. günde en yüksek aktiviteye ulaşırken, DKDA+pamuk sapı ortamında 0.17 $\mu\text{mol}/30$ dakika olarak 16. günde ve DKDA ortamında 0.05 $\mu\text{mol}/30$ dakika olarak 12. günde en yüksek aktiviteye ulaşmıştır. Distile su+pamuk sapı ortamında ise, ksilanaz aktivitesinin 0.16 $\mu\text{mol}/30$ dakika olarak 8. günde en yüksek değere ulaştığı gözlenmektedir.

Şekil 3.16'da ise, *F. trogii* ile YKDA+pamuk sapı, YKDA, DKYA+pamuk sapı ve DKDA kültür ortamlarında meydana gelen ksilanaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. DKYA ortamlarının, pamuk sapı eklensin veya eklenmesin ksilanaz aktivitesini indüklediği açıkça görülmektedir. YKDA+pamuk sapı ortamında ksilanaz aktivitesi 0.02 $\mu\text{mol}/30$ dakika ile 16. günde maksimuma ulaşırken, pamuk sapı eklenmeyen YKDA ortamında aktivite 12. günde en yüksek değere ulaşmıştır. DKYA+pamuk sapı ortamında ise, enzim aktivitesi 8. günde 0.19 $\mu\text{mol}/30$ dakika ile en yüksek değere ulaşırken, pamuk sapı eklenmeyen aynı ortamda en yüksek aktivite 0.03 $\mu\text{mol}/30$ dakika ile 20. günde elde edilmiştir.



Şekil 3.15 *F. trogii* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen ksilanaz aktivitesi



Şekil 3.16 *F. trogii* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen ksilanaz aktivitesi

3.3.3 *P. sajor- caju* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen enzim aktiviteleri

3.3.3.1 Lakkaz aktivitesi

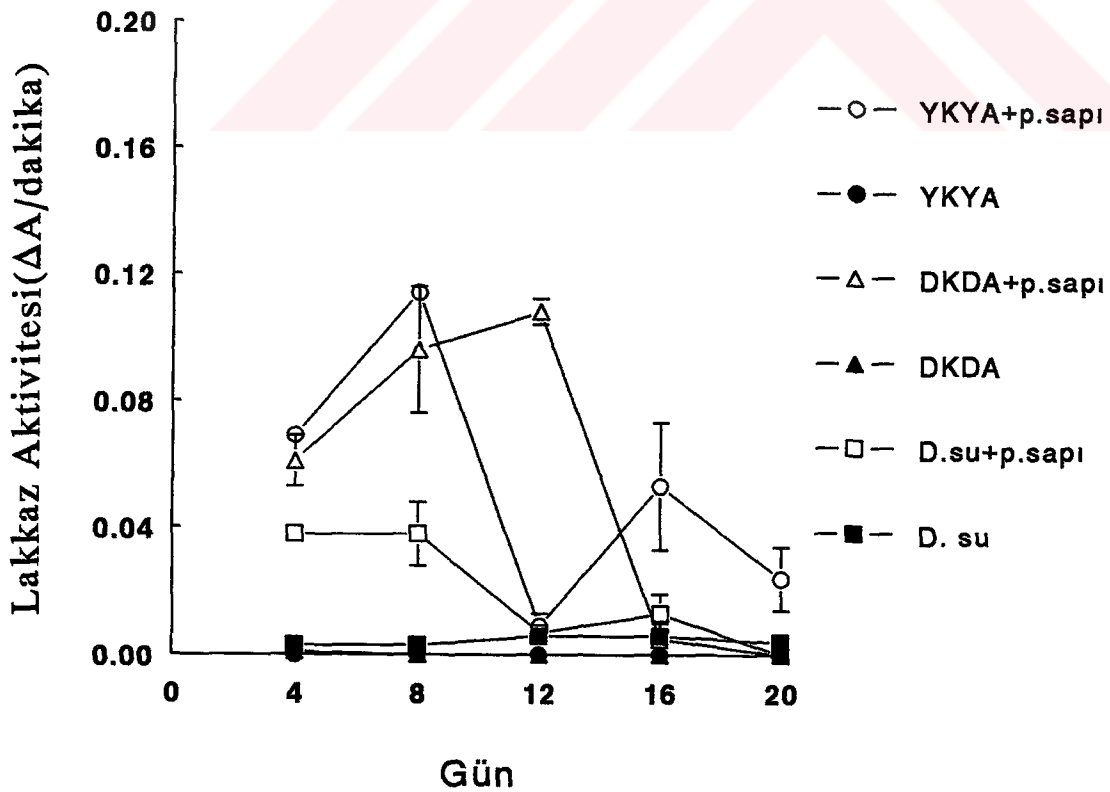
P. sajor- caju ile lakkaz aktivitesine YKYA, YKYA+pamuk sapı, DKDA, DKDA+pamuk sapı içeren ortamlarda bakılmış ve bu değerler Şekil 3.17'de distile su ile hazırlanmış kültür ortamları ile karşılaştırılarak grafiklenmiştir.

Şekil 3.17 incelendiği zaman; bütün ortamlarda pamuk sapı eklenmesi ile lakkaz enzim aktivitesinin belirgin bir şekilde indüklendiği görülmektedir. YKYA, DKDA ve distile su ortamlarına pamuk sapı eklendiği zaman oluşan lakkaz aktiviteleri karşılaştırıldığı zaman ise; YKYA ortamının lakkaz aktivitesini en fazla indükleyen ortam olduğu açıkça görülmektedir. *P. sajor- caju* ile pamuk sapı eklenmeyen YKYA+pamuk sapı ve DKDA+pamuk sapı ortamlarında lakkaz aktivitesinin açığa çıkmaması ise ilginçtir. Distile su+ pamuk sapı ortamı ise diğer pamuk sapı eklenen ortamlar ile karşılaştırıldığı zaman daha düşük lakkaz aktivitesi elde edilmiştir. Lakkaz aktivitesi YKYA+pamuk sapı ortamında 8. günde, DKDA+ pamuk sapı ortamında 12. günde, distile su ortamında ise yine 8. günde en yüksek değere ulaşmıştır.

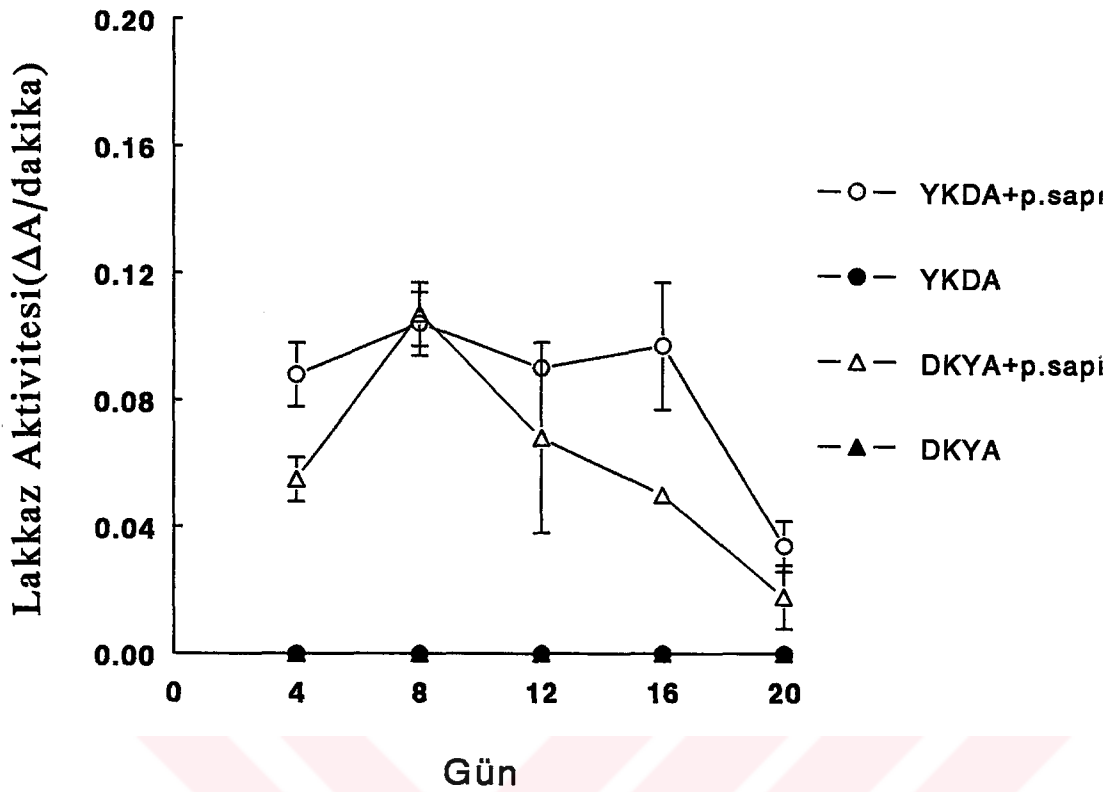
Şekil 3.18'de ise *P. sajor- caju* ile YKDA, YKDA+pamuk sapı, DKYA, DKYA+pamuk sapı kültür ortamlarında meydana gelen lakkaz aktiviteleri günlere bağlı olarak gösterilmiştir.

Şekil 3.18 incelendiği zaman, pamuk sapı eklenmesinin YKDA ve DKYA ortamlarında lakkaz aktivitesini belirgin bir şekilde indüklediği görülmektedir. Bu iki ortama pamuk sapı eklenmediği zaman herhangi bir lakkaz aktivitesi elde edilmemiştir. YKDA+pamuk sapı ortamında lakkaz aktivitesi, 0.104 ΔA /dakika ile 8. günde en yüksek

değere ulaşırken, DKYA+pamuk sapı ortamında yine 8. günde 0.108 $\Delta A/dakika$ ile en yüksek değere ulaşmıştır.



Şekil 3.17 *P. sajor-caju* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen lakkaz aktivitesi

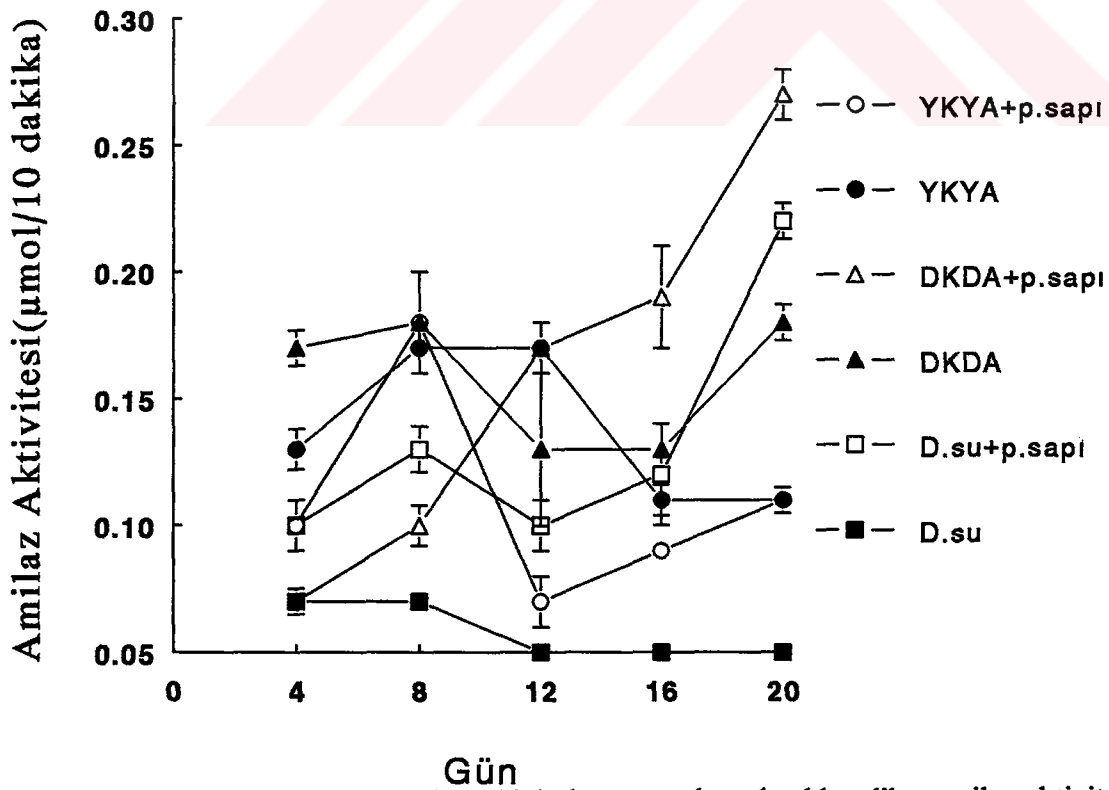


Şekil 3.18 *P. sajor-caju* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen lakkaz aktivitesi

3.3.3.2 Amilaz aktivitesi

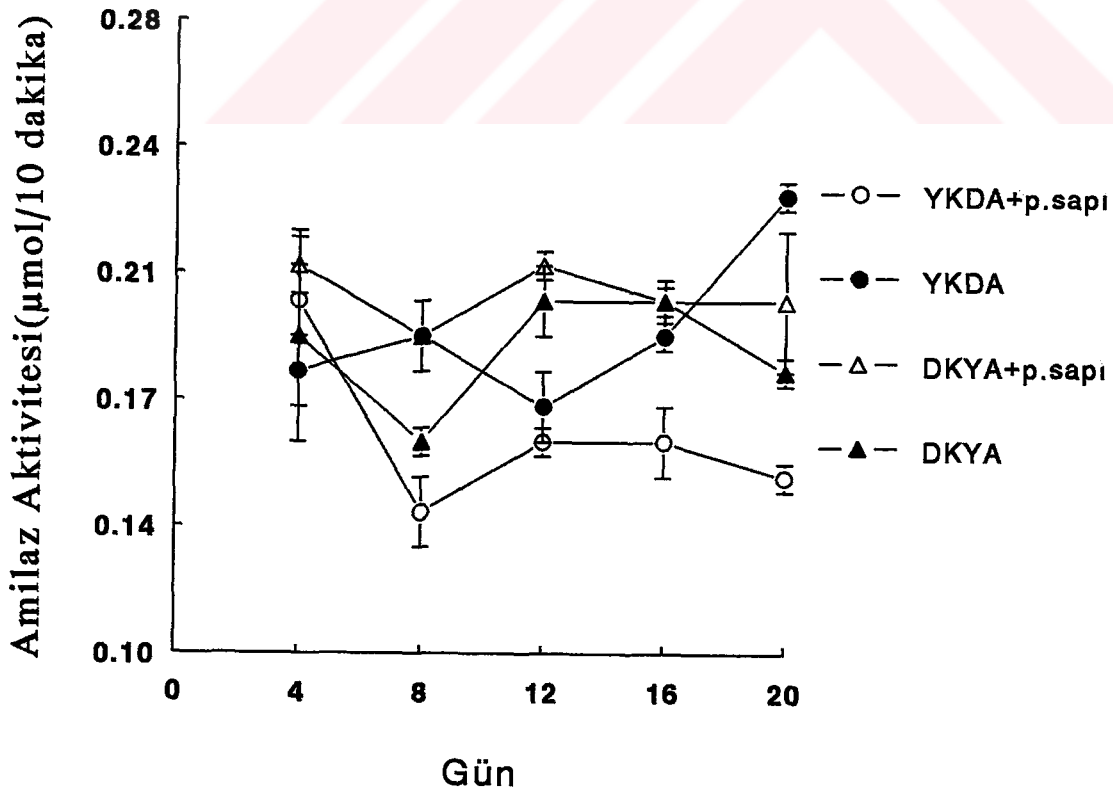
Şekil 3.19'da *P. sajor-caju* ile YKYA+Pamuk sapı, YKYA, DKDA+pamuk sapı, DKDA ve distile su kültür ortamlarında meydana gelen amilaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.19 incelendiği zaman en yüksek amilaz aktivitesinin, DKDA+pamuk sapı ortamında 20. günde 0.27 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak elde edildiği görülmektedir. Pamuk sapı eklenen ve eklenmeyen YKYA ortamları ile, pamuk sapı eklenen ve eklenmeyen DKDA ve distile su ortamları karşılaştırıldığı zaman yine DKDA ortamının amilaz aktivitesini daha fazla indüklediği gözlenmektedir. DKDA kültürlerinde amilaz aktivitesinin açığa çıkması üzerine, pamuk sapının indükleyici etkisinin olduğu şekil incelendiği zaman açıkça görülmektedir. Pamuk sapı eklenmiş

distile su kültürlerinde amilaz aktivitesi 20. günde en yüksek değere ulaşmış ve DKDA+pamuk sapı kültür ortamından sonra en yüksek amilaz aktivitesinin elde edildiği kültür olmuştur.



Şekil 3.19 *P. sajor-caju* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen amilaz aktivitesi

Şekil 3.20'de ise *P. sajor-caju* ile YKDA, YKDA+pamuk sapı, DKYA, DKYA+pamuk sapı kültür ortamlarında meydana gelen amilaz aktiviteleri günlere bağlı olarak gösterilmiştir. Şekil 3.20 incelendiği zaman, DKYA ortamlarında pamuk sapı eklenmesinin amilaz aktivitesini pamuk sapı eklenmeyen ortamlara göre daha fazla indüklediği görülmektedir. Fakat, YKDA ortamlarında pamuk sapı eklenmesi amilaz aktivitesini nispeten inhibe etmiş ve pamuk sapı eklenmemiş YKDA ortamında daha yüksek amilaz aktivitesi elde edilmiştir. YKDA+pamuk sapı ortamında amilaz aktivitesi, 0.20 $\mu\text{mol}/10$ dakika ile 4. günde en yüksek değere ulaşırken, pamuk sapı eklenmeyen aynı ortamda aktivite 20. günde 0.23 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak en yüksek değere ulaşmıştır. DKYA+pamuk sapı ortamında amilaz aktivitesi 12. günde 0.21 $\mu\text{mol}/10$ dakika ile en yüksek değere ulaşırken pamuk sapı eklenmeyen aynı ortamda aktivite 0.20 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak 16. günde en yüksek değeri vermiştir.



Şekil 3.20 *P. sajor-caju* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen amilaz aktivitesi

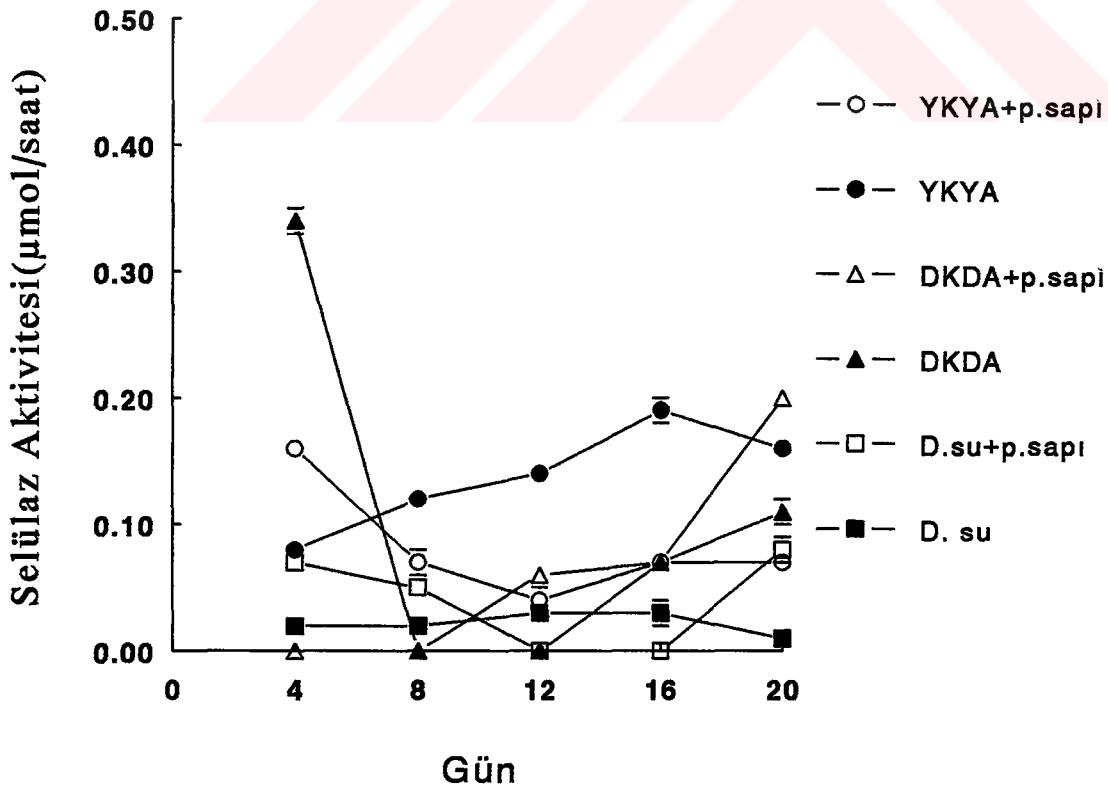
3.3.3.3 Selülaz aktivitesi

Şekil 3.21'de *P. sajor- caju* ile YKYA+Pamuk sapı, YKYA, DKDA+pamuk sapı, DKDA ve distile su kültür ortamlarında meydana gelen selülaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir.

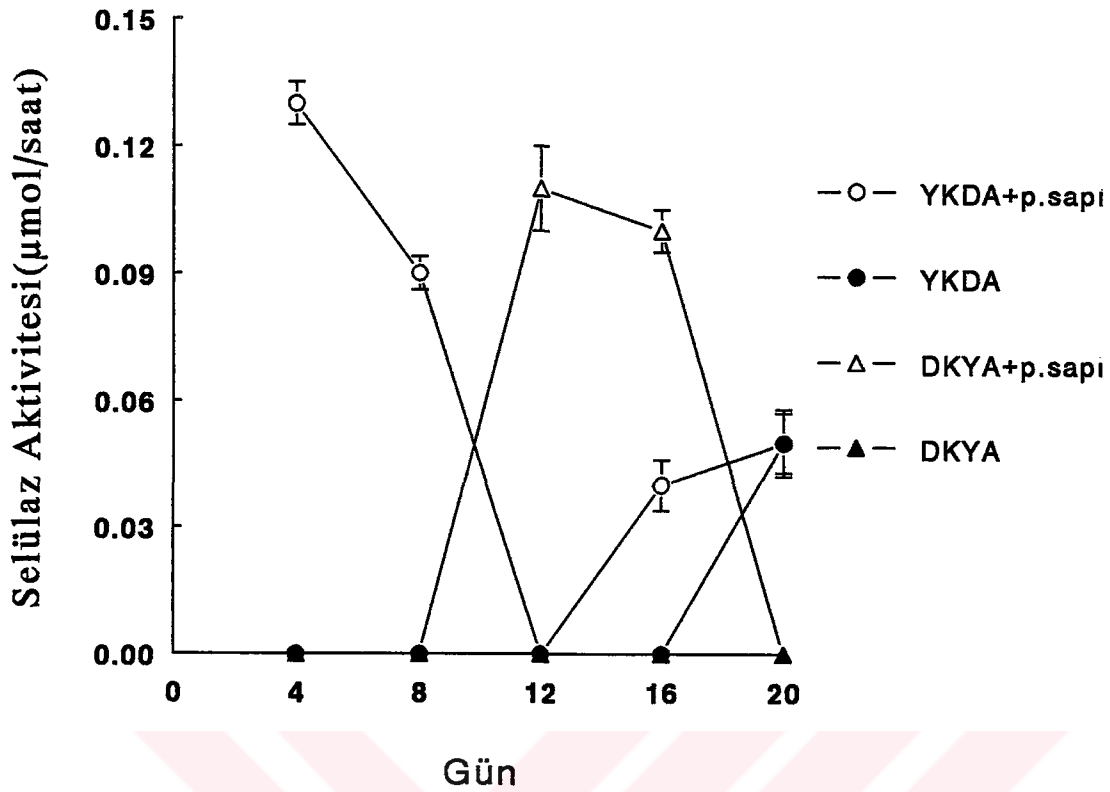
Şekil 3.21'e bakıldığı zaman; en yüksek selülaz aktivitesinin DKDA ortamında elde edildiği görülmektedir. Şekil incelendiği zaman, selülaz aktivitesinin pamuk sapı eklenmemiş ortamlarda daha yüksek olarak açığa çıkması ise oldukça ilgi çekicidir. YKYA+pamuk sapı ortamında en yüksek selülaz aktivitesi 4. günde 0.16 $\mu\text{mol/saat}$ olarak elde edilirken, pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda en yüksek aktivite 0.19 $\mu\text{mol/saat}$ olarak 16. günde elde edilmiştir. DKDA+ pamuk sapı ortamında elde edilen en yüksek selülaz aktivitesi 20. günde 0.20 $\mu\text{mol/saat}$ olurken, pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda aktivite 4. günde 0.34 $\mu\text{mol/saat}$ olarak maksimuma ulaşmıştır. Distile su ortamlarında ise diğer ortamlar ile karşılaştırdığımız zaman daha düşük selülaz aktivitesi elde edilmiştir.

Şekil 3.22'de ise *P. sajor- caju* ile YKDA, YKDA+pamuk sapı, DKYA, DKYA+pamuk sapı kültür ortamlarında saptanan selülaz aktiviteleri günlere bağlı olarak verilmiştir. YKDA+pamuk sapı ve DKYA+pamuk sapı kültür ortamlarının, diğer ortamlar ile karşılaştırıldığı zaman *P. sajor- caju*'da selülaz aktivitesini belirgin bir şekilde indüklediği açıkça görülmektedir. Aynı zamanda, pamuk sapı eklenmesinin de selülaz aktivitesini indükleyici bir etkisinin olduğu şekil incelendiği zaman görülmektedir. YKDA+pamuk sapı ortamında en yüksek selülaz aktivitesi 4. günde 0.13 $\mu\text{mol/saat}$ ile elde edilirken, pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda en yüksek aktivite 0.05 $\mu\text{mol/saat}$

olarak 20. günde elde edilmiştir. DKYA+pamuk sapı ortamında ise en yüksek selüloz aktivitesi 12. günde 0.11 $\mu\text{mol/saat}$ olarak elde edilirken, pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda selüloz aktivitesi belirlenememiştir.



Şekil 3.21 *P. sajor-caju* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen selüloz aktivitesi



Şekil 3.22 *P. sajor-caju* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen selüloz aktivitesi

3.3.3.4 Ksilanaz aktivitesi

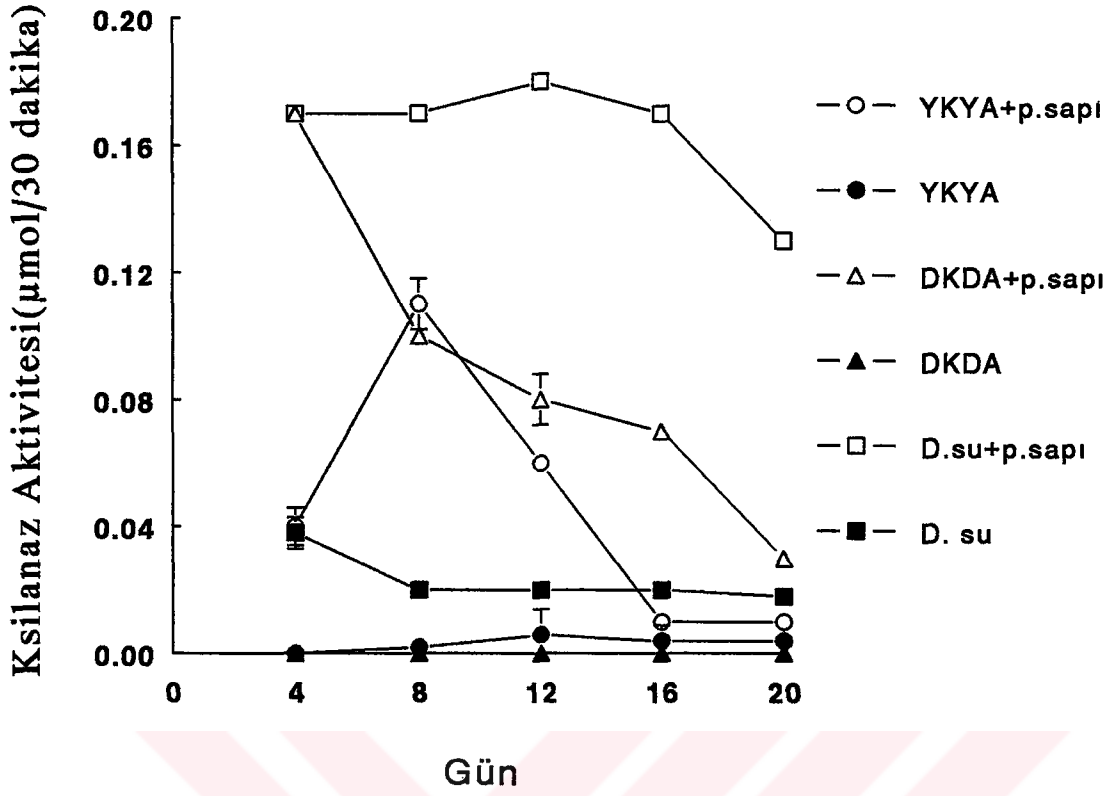
Şekil 3.23'de *P. sajor-caju* ile YKYA+Pamuk sapı, YKYA, DKDA+pamuk sapı, DKDA ve distile su kültür ortamlarında meydana gelen ksilanaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir.

Şekil 3.23 incelendiği zaman; ksilanaz aktivitesinin tüm kültür ortamlarında, pamuk sapı eklenmesi ile indüklendiği gözlenmektedir. YKYA+pamuk sapı ortamında en yüksek ksilanaz aktivitesi 0.11 µmol/30 dakika ile 8. günde elde edilirken, pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda en yüksek aktivite 12. günde 0.06 µmol/30 dakika olarak elde edilmiştir. DKDA+pamuk sapı ortamındaki en yüksek ksilanaz aktivitesi ise 4. günde 0.17 µmol/30 dakika ile elde edilirken pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda ksilanaz

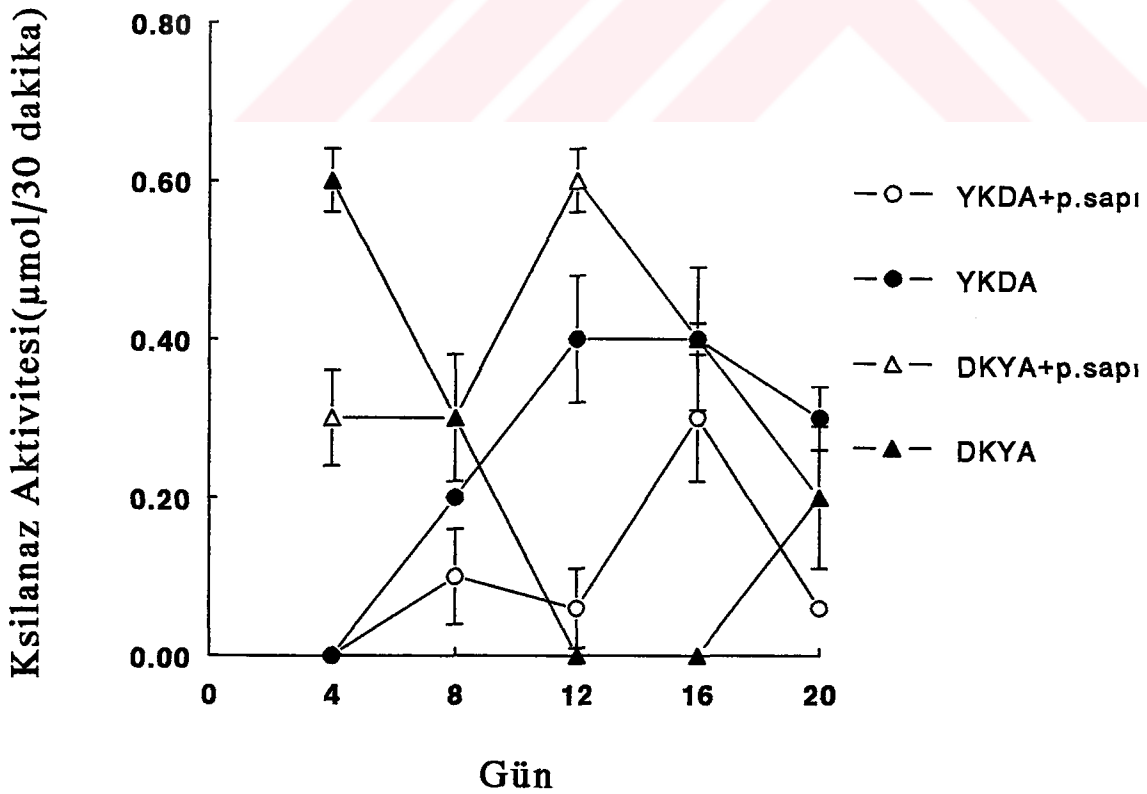
aktivitesi belirlenememiştir. Distile su+pamuk sapı ortamında ki en yüksek ksilanaz aktivitesi ise 0.18 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak 12. günde elde edilmiştir.

Şekil 3.24'te ise *P. sajor- caju* ile YKDA, YKDA+pamuk sapı, DKYA, DKYA+pamuk sapı kültür ortamlarında meydana gelen ksilanaz aktiviteleri günlere bağlı olarak gösterilmiştir.

Şekil 3.24'e bakıldığı zaman; DKYA kültür ortamının YKDA kültür ortamına göre ksilanaz aktivitesini daha fazla indüklediği görülmektedir. Ancak YKDA ortamında ksilanaz aktivitesi pamuk sapı eklenmesi ile baskılanmış ve pamuk sapı eklenmemiş ortamda daha yüksek olarak açığa çıkmıştır. DKYA ortamlarında ise pamuk sapı eklenmesi ksilanaz aktivitesini indüklemiştir (inkübasyonun 4. günü hariç). YKDA+pamuk sapı ortamında en yüksek ksilanaz aktivitesi, 16. günde 0.03 $\mu\text{mol}/30$ dakika olarak elde edilirken, pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda en yüksek aktivite, 16. günde 0.04 $\mu\text{mol}/30$ dakika olarak elde edilmiştir. DKYA+pamuk sapı ortamında ise en yüksek ksilanaz aktivitesi, 16. günde 0.06 $\mu\text{mol}/30$ dakika olarak elde edilirken, pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda aktivite, 0.06 $\mu\text{mol}/30$ dakika olarak en yüksek değere 4. günde ulaşmıştır.



Şekil 3.23 *P. sajor-caju* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen ksılanaz aktivitesi



Şekil 3.24 *P. sajor-caju* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen ksılanaz aktivitesi

3.3.4 *P. chrysosporium* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen enzim aktiviteleri

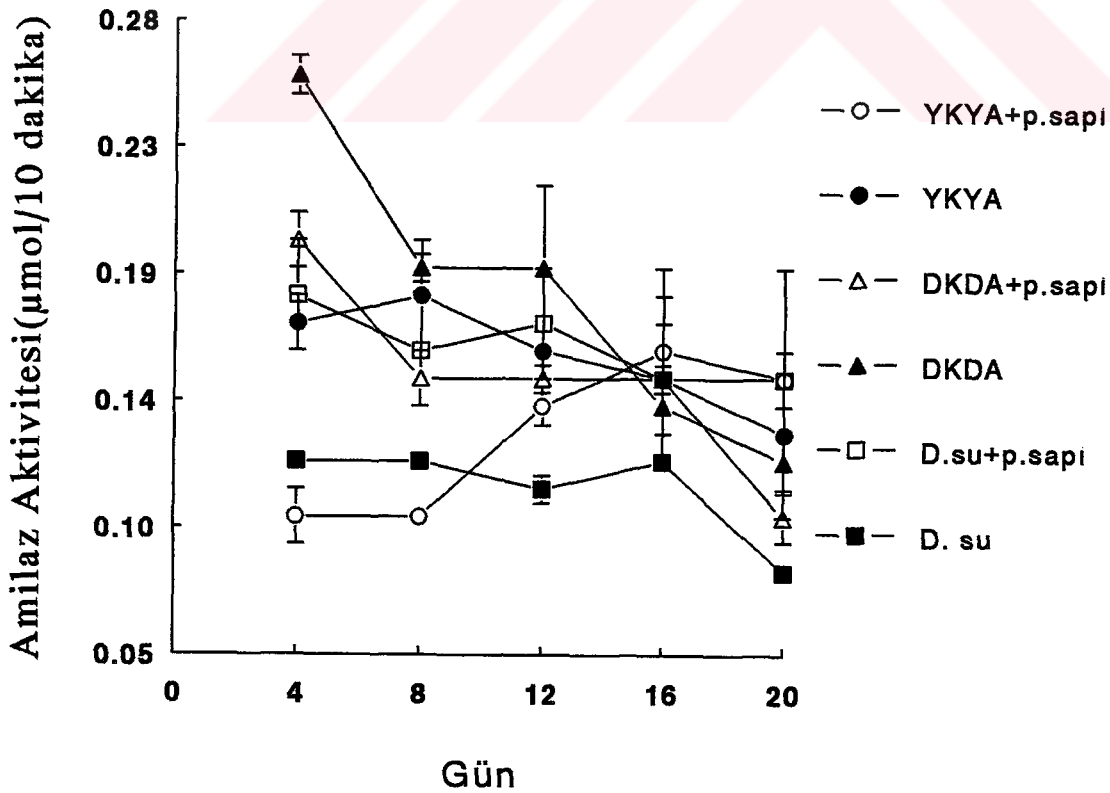
3.3.4.1 Lakkaz aktivitesi

P. chrysosporium ile farklı kültür ortamlarında yapılan çalışmalarda lakkaz enzim aktivitesi belirlenememiştir. Enzim aktivitesine 20 günlük inkübasyon periyodu süresince günlere bağlı olarak bakılmış ve aktivite tespit edilememiştir. Pamuk sapı eklenmiş ortamlarda da lakkaz enzim aktivitesi saptanamamıştır.

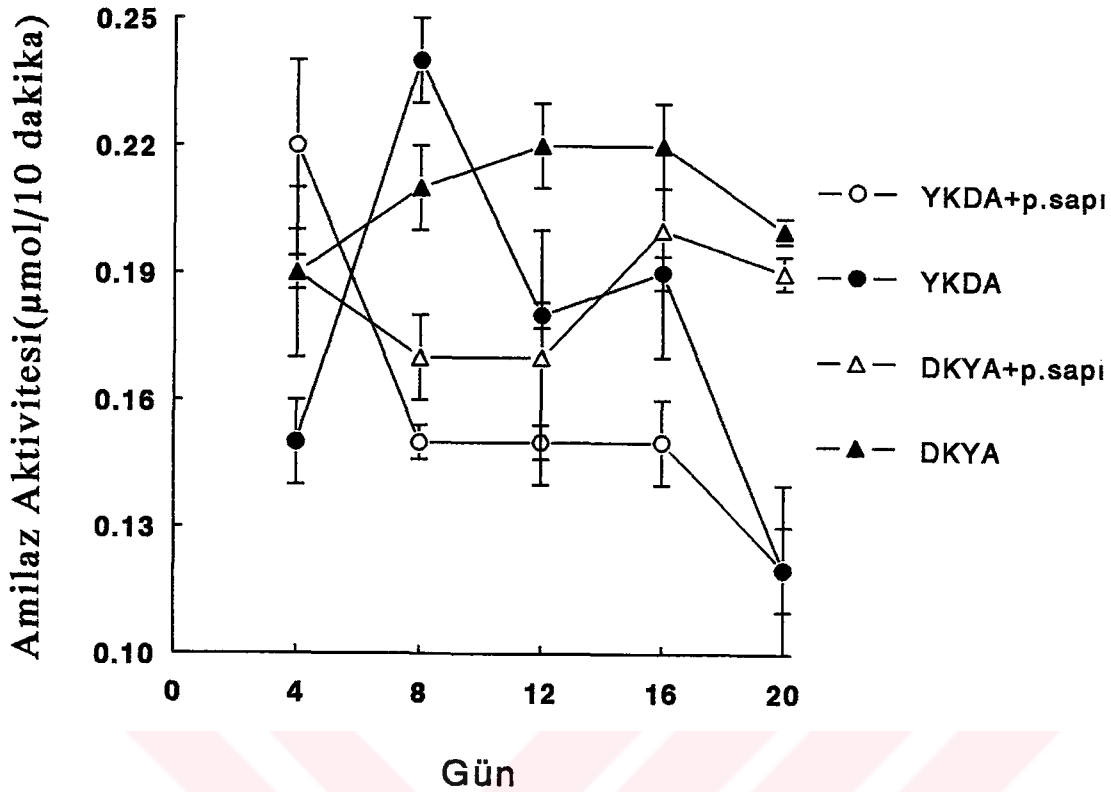
3.3.4.2 Amilaz aktivitesi

Şekil 3.25'de *P. chrysosporium* ile YKYA+Pamuk sapı, YKYA, DKDA+pamuk sapı, DKDA ve distile su kültür ortamlarında meydana gelen amilaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.25 incelendiği zaman; amilaz aktivitesinin pamuk sapı eklenmesi ile indüklenmediği gözlenmektedir. En yüksek amilaz aktivitesi, pamuk sapı eklenmemiş DKDA kültür ortamında 4. günde 0.26 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak elde edilmiştir. DKDA ortamı amilaz aktivitesini, YKYA ve distile su ortamlarına göre daha fazla indüklemiştir. YKYA+pamuk sapı ortamında ki en yüksek amilaz aktivitesi 16. günde 0.16 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak elde edilirken, DKDA+pamuk sapı ve distile su+pamuk sapı ortamlarında ki en yüksek enzim aktiviteleri sırası ile 0.15 $\mu\text{mol}/10$ dakika ve 0.18 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak 4. günde elde edilmiştir. Amilaz aktivitesinin pamuk sapı ilave edilmeyen kültür ortamlarında da oldukça yüksek değerlere ulaşması ilgi çekicidir.

Şekil 3.26'da ise *P. chrysosporium* ile YKDA, YKDA+pamuk sapı, DKYA, DKYA+pamuk sapı kültür ortamlarında meydana gelen amilaz aktiviteleri günlere bağlı olarak gösterilmiştir. Şekil 3.26 incelendiği zaman; amilaz aktivitesinin pamuk sapı eklenmesi ile indüklenmediği ve en yüksek amilaz aktivitesinin, 0.24 $\mu\text{mol}/10$ olarak pamuk sapı eklenmemiş YKDA ortamında 8. günde elde edildiği görülmektedir. Pamuk sapı eklenmiş aynı ortamdaki en yüksek amilaz aktivitesi ise, 4. günde 0.22 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak elde edilmiştir. YKDA ortamlarının, DKYA ortamlarına göre amilaz aktivitesini daha fazla indüklediği şekil 3.26 incelendiği zaman görülmektedir. DKYA+pamuk sapı ortamındaki en yüksek amilaz aktivitesi 16. günde 0.20 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak elde edilirken, pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda en yüksek amilaz aktivitesi 0.22 $\mu\text{mol}/10$ dakika olarak 12. günde elde edilmiştir.



Şekil 3.25 *P. chrysosporium* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen amilaz aktivitesi



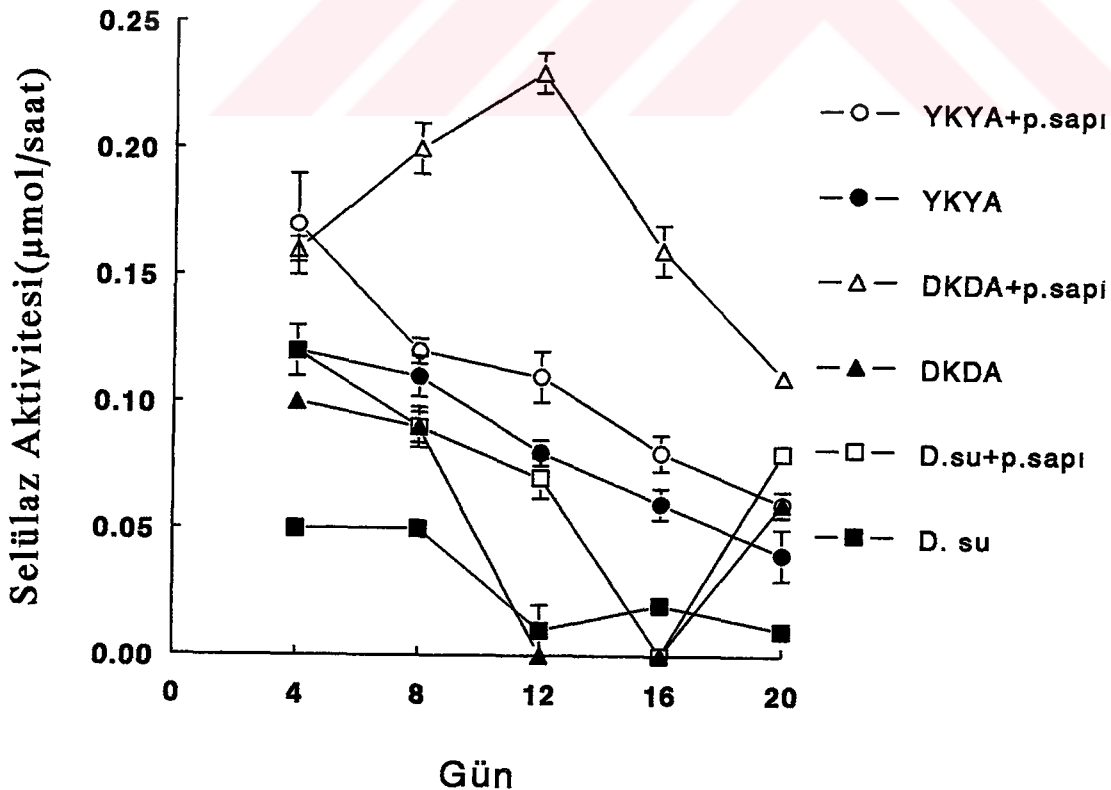
Şekil 3.26 *P. chrysosporium* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen amilaz aktivitesi

3.3.4.3 Selülaz aktivitesi

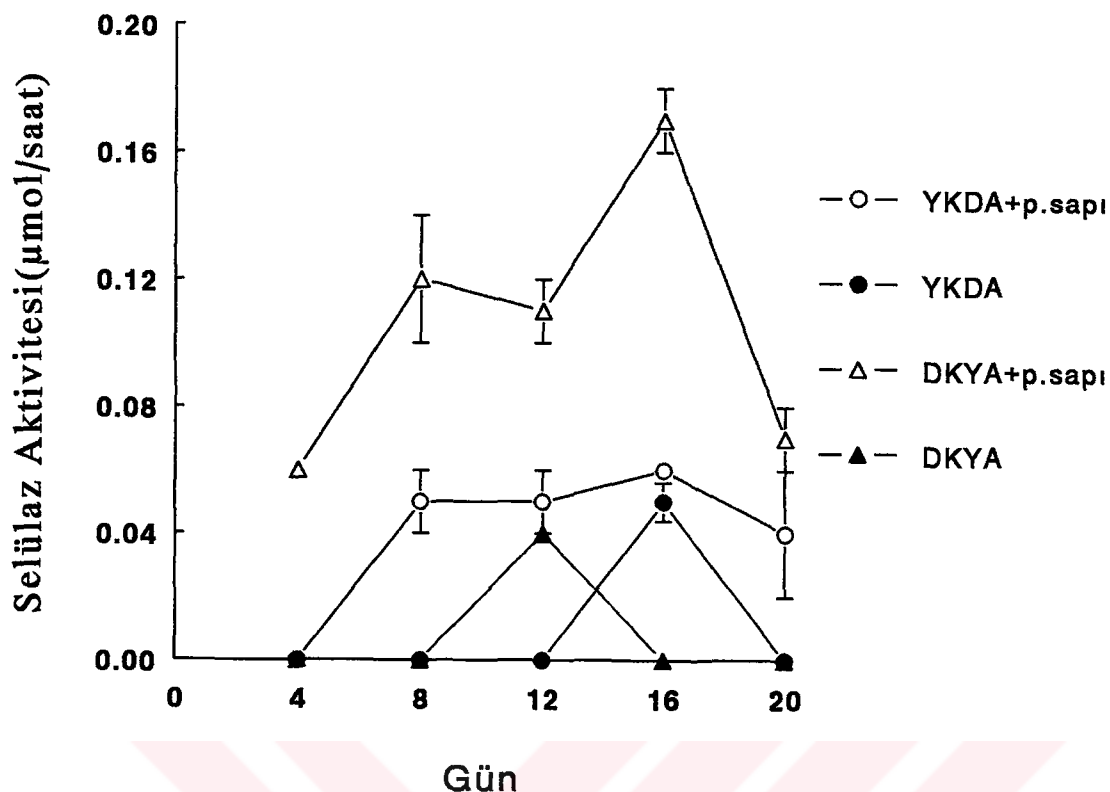
Şekil 3.27'de *P. chrysosporium* ile YKYA+Pamuk sapı, YKYA, DKDA+pamuk sapı, DKDA ve distile su kültür ortamlarında meydana gelen selülaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Tüm kültür ortamlarında pamuk sapı eklenmesi ile selülaz aktivitesinin indüklendiği açıkça görülmektedir. Aynı zamanda, DKDA+pamuk sapı kültür ortamı da selülaz aktivitesini diğer ortamlar ile karşılaştırıldığı zaman daha da fazla indüklenmiştir. En yüksek selülaz aktivitesi DKDA+pamuk sapı ortamında 0.23 $\mu\text{mol}/\text{saat}$ olarak 12. günde elde edilmiştir. Pamuk sapı eklenmemiş aynı ortamda ise en yüksek selülaz aktivitesi, 4. günde 0.1 $\mu\text{mol}/\text{saat}$ olarak elde edilmiştir. YKYA+pamuk

sapı ortamı ve distile su+pamuk sapı ortamları karşılaştırıldığı zaman ise, selülaaz aktivitesinin YKYA ortamında daha yüksek olarak açığa çıktığı görülmektedir.

Şekil 3.28'de ise *P. chrysosporium* ile YKDA, YKDA+pamuk sapı, DKYA, DKYA+pamuk sapı kültür ortamlarında meydana gelen selülaaz aktiviteleri günlere bağlı olarak gösterilmiştir. Kültür ortamlarına pamuk sapı eklenmesi ile selülaaz aktivitesinin indüklendiği görülmektedir. Aynı zamanda, DKYA+pamuk sapı ortamı da YKDA+pamuk sapı ortamına göre selülaaz aktivitesini daha fazla indüklemiştir. En yüksek selülaaz aktivitesi, DKYA+pamuk sapı ortamında 0.17 $\mu\text{mol/saat}$ olarak 16. günde elde edilmiştir. YKDA+pamuk sapı ortamındaki en yüksek selülaaz aktivitesi ise yine 16. günde 0.06 $\mu\text{mol/saat}$ olarak elde edilmiştir. Pamuk sapı eklenmemiş DKYA ortamında hiç selülaaz aktivitesi elde edilmezken, YKDA ortamında pamuk sapı eklenmediği zaman sadece 16. günde 0.05 $\mu\text{mol/saat}$ enzim aktivitesi elde edilmiştir.



Şekil 3.27 *P. chrysosporium* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen selülaaz aktivitesi



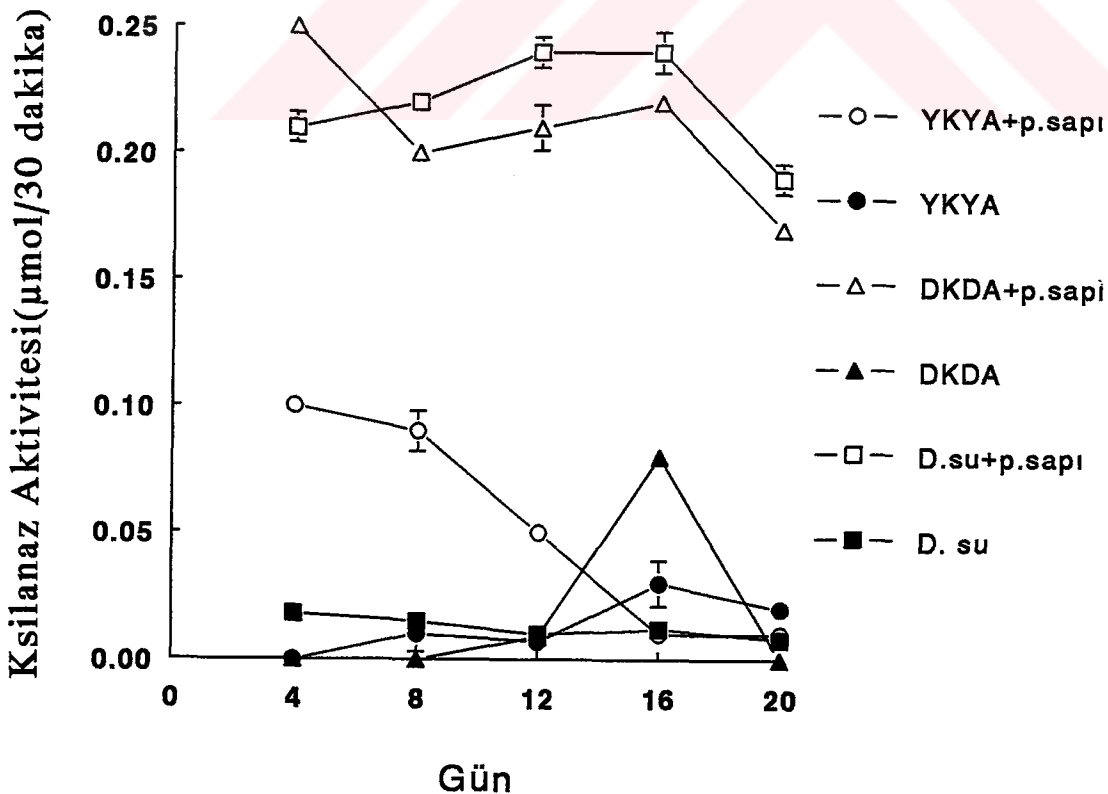
Şekil 3.28 *P. chrysosporium* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen selülaz aktivitesi

3.3.4.4 Ksilanaz aktivitesi

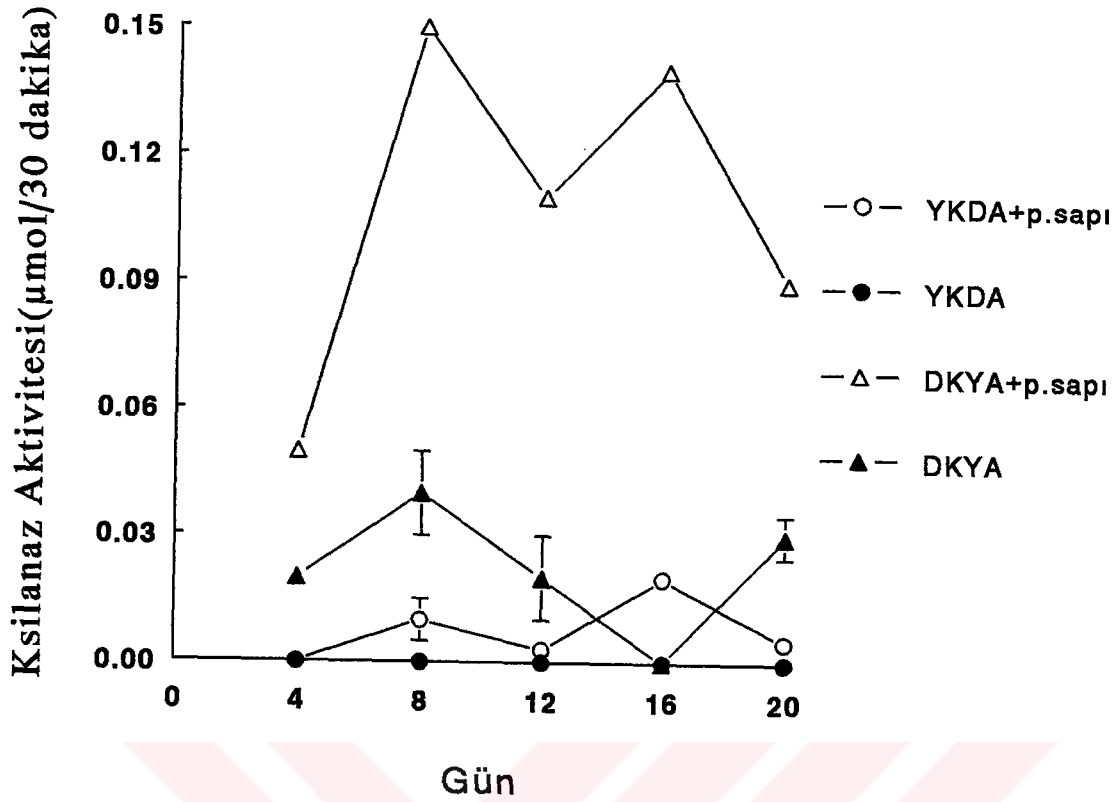
Şekil 3.29'da *P. chrysosporium* ile YKYA+Pamuk sapı, YKYA, DKDA+pamuk sapı, DKDA ve distile su kültür ortamlarında meydana gelen ksilanaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.27 incelendiği zaman; pamuk sapı eklenmesinin bütün kültür ortamlarında ksilanaz aktivitesini indüklediği görülmektedir. Aynı şekilde, DKDA+pamuk sapı kültür ortamı da diğer kültür ortamları ile karşılaştırıldığı zaman ksilanaz aktivitesini daha fazla indüklemektedir. En yüksek ksilanaz aktivitesi, DKDA+pamuk sapı ortamında 4. günde 0.25 µmol/30 dakika olarak elde edilmiştir. YKYA+pamuk sapı ortamındaki en yüksek ksilanaz aktivitesi yine 4. günde 0.1 µmol/30

dakika olarak elde edilirken, distile su+pamuk sapı ortamındaki en yüksek aktivite 12. günde $0.24 \mu\text{mol}/30$ dakika olarak elde edilmiştir.

Şekil 3.30'da ise *P. chrysosporium* ile YKDA, YKDA+pamuk sapı, DKYA, DKYA+pamuk sapı kültür ortamlarında meydana gelen ksilanaz aktiviteleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.30 incelendiği zaman; pamuk sapı ilave edilmiş tüm kültür ortamlarında ksilanaz aktivitesinin belirgin bir şekilde indüklendiği görülmektedir. Aynı zamanda DKYA+pamuk sapı ortamı ksilanaz aktivitesini en fazla indükleyen ortam olarak tespit edilmiştir. En yüksek ksilanaz aktivitesi bu ortamda, 8. günde $0.15 \mu\text{mol}/30$ dakika olarak elde edilmiştir. Pamuk sapı eklenmemiş YKDA ortamında ise hiç ksilanaz aktivitesi belirlenememiştir. YKDA+pamuk sapı ortamındaki en yüksek ksilanaz aktivitesi ise, 16. günde $0.02 \mu\text{mol}/30$ dakika olarak elde edilmiştir.



Şekil 3.29 *P. chrysosporium* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen ksilanaz aktivitesi



Şekil 3.30 *P. chrysosporium* ile farklı kültür ortamlarında elde edilen ksilanaz aktivitesi

3.4 Sentetik Besiyeri Ortamlarında Pamuk Sapında Meydana Gelen Lignin ve Selüloz Giderimleri (% Giderim)

Çalışmanın bu kısmında, yukarıda aktiviteleri belirlenen enzimlerin etkisi sonucunda pamuk sapında meydana gelen lignin ve selüloz yıkımlarını belirlemek amaçlanmıştır ve bu yıkım üzerine en etkili kültür ortamının belirlenmesi hedeflenmiştir. Sentetik besiyeri ortamlarına 1 gr pamuk sapı eklenerek yapılan çalışmalarda dört farklı beyaz çürükçül fungusun 20 günlük inkübasyon periyodu sonrasında pamuk sapında neden olduğu lignin ve selüloz kayıpları % giderim olarak verilmiştir. Bu çalışmalarda sentetik besiyerleri olarak karbon-azot oranı ayarlanmış besiyerleri kullanılmıştır.

Bu amaçla dört farklı kültür ortamı hazırlanmış ve bu ortamlar da meydana gelen lignin yıkımı hiçbir şey ilave edilmemiş distile su ortamı ile ve STO(stok temel ortam) ile karşılaştırılmıştır. Hazırlanan dört farklı kültür ortamı ; YKYA (yüksek karbon -yüksek azot), DKDA (düşük karbon-düşük azot), YKDA (yüksek karbon-düşük azot), DKYA (düşük karbon-yüksek azot) ortamları olarak kullanılmıştır.

Tablo 3.4'te dört farklı beyaz çürükçül fungusun yukarıda belirttiğimiz ortamlarda 20 günlük inkübasyon sonucu meydana gelen lignin giderim değerleri (%) verilmiştir.

Tablo 3.3 Farklı kültür ortamlarında saptanan lignin giderimi (%)

FUNGUS	ORTAM					
	Distile su	STO ¹	YKYA ²	DKDA ³	YKDA ⁴	DKYA ⁵
<i>C. versicolor</i>	31	30	25	27	30	26
<i>F. trogii</i>	31	28	26	28	30	27
<i>P.sajor-caju</i>	26	25	22	29	26	23
<i>P.chrysosporium</i>	32	31	28	31	31	30

1: Stok temel ortam

2: Yüksek karbon- yüksek azot

3: Düşük karbon-düşük azot

4: Yüksek karbon-düşük azot

5: Düşük karbon-yüksek azot

Tablo 3.3 incelendiği zaman en yüksek lignin gideriminin (%32) *P.chrysosporium* ile distile su ortamında meydana geldiği görülmektedir. *P.sajor-caju* lignin yıkım yeteneği en düşük fungus olarak saptanmıştır.

Stok temel ortam ve karbon-azot oranı ayarlanmış ortamlarda meydana gelen selüloz giderimi distile su ortamında meydana gelen giderim ile karşılaştırılarak Tablo 3.4'te % giderim olarak verilmiştir. Değerler, 20 günlük inkübasyon sonucu elde edilen değerlerdir.

Tablo 3.4 Farklı kültür ortamlarında saptanan selüloz giderimi (%)

FUNGUS	ORTAM					
	Distile su	STO ¹	YKYA ²	DKDA ³	YKDA ⁴	DKYA ⁵
<i>C. versicolor</i>	28	40	32	25	32	26
<i>F. trogii</i>	26	35	32	20	35	25
<i>P.sajor-caju</i>	21	32	30	20	26	23
<i>P.chrysosporium</i>	25	38	40	23	36	30

1: Stok temel ortam

2: Yüksek karbon- yüksek azot

3: Düşük karbon-düşük azot

4: Yüksek karbon-düşük azot

5: Düşük karbon-yüksek azot

Tablo 3.4'te görüldüğü gibi en yüksek selüloz giderimi %40 olarak meydana gelmiştir. Bu değer *C.versicolor* ile STO'da elde edilirken, *P.chrysosporium* ile YKYA ortamında elde edilmiştir. Tablo 3.5 incelendiği zaman, *P.sajor-caju* fungusunun selüloz giderim kapasitesinin diğer funguslar ile karşılaştırıldığı zaman daha düşük olduğu gözlenmektedir. Özellikle distile su ve DKDA ortamlarında çok düşük bir selüloz giderimine yol açmıştır (%21-%20).

3.5 Lignoselülozik Kaynak Olarak Pamuk Sapının Kullanıldığı Doğal Besiyeri Ortamlarında Meydana Gelen Enzim Aktivite Değişimleri

Çalışmanın bu kısmında, Bölüm 3.3'de sentetik besiyerlerinde üretim sonucu saptanan enzim aktivitelerinin, doğal besiyeri olarak kullanılan zeytin yağı fabrikası atık suyu (ZYFA) ve vinas ortamlarındaki aktivitelerini belirlemek amaçlanmıştır. Özellikle, endüstriyel anlamda önemli bir enzim olan lakkaz enziminin aktivitesini artırıcı etkisi olduğu düşünülen bu iki atık besiyeri ortamına, pamuk sapları da eklenerek enzim aktivitesi indüklenmeye çalışılmıştır. Lakkaz enziminin aktivitesinin artırılması hedeflenirken, aynı zamanda bu endüstriyel atıkların da funguslar için besiyeri ortamı olarak kullanılabilirlikleri test edilmiştir. Bu funguslar ile atıkların işlem görmesi sonucu, atıklarda oluşacak KOİ, fenol ve renk giderimleri de belirlenerek atıkların çevre kirleticisi rolünün azaltılması da amaçlanmıştır.

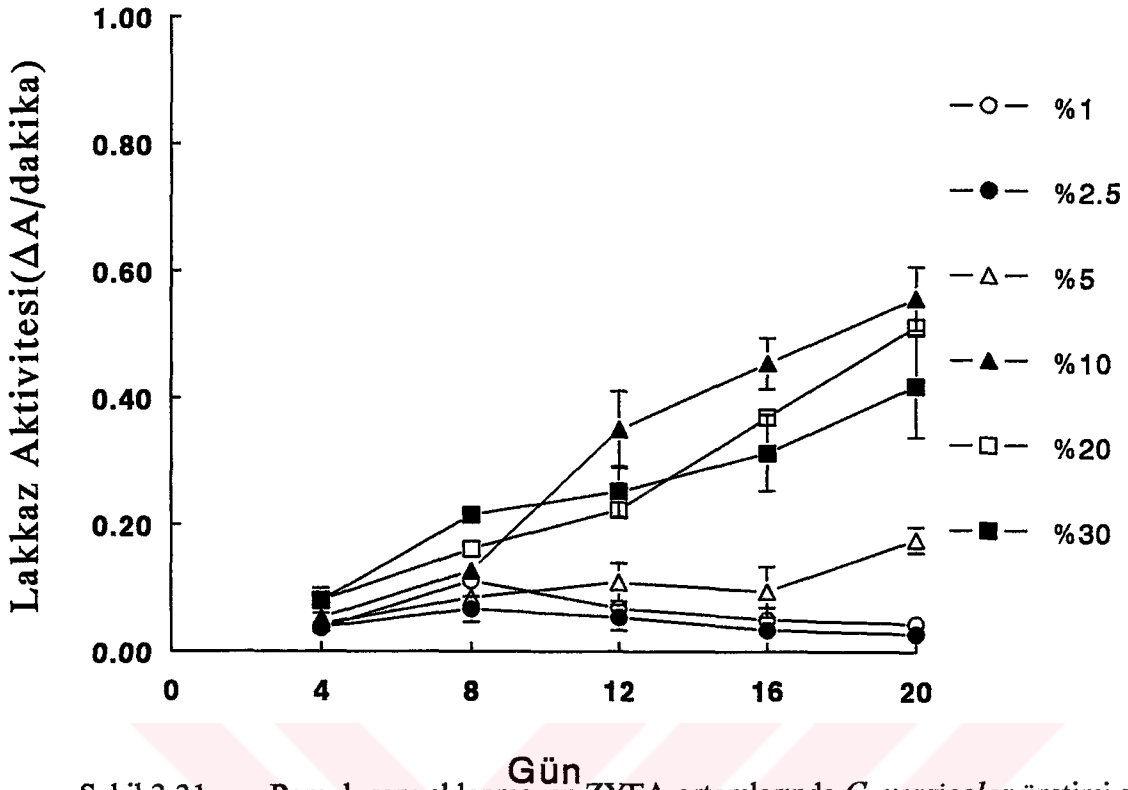
Bu amaçla, ZYFA ve vinas , %1, %2.5, %5, %10, %20, %30'luk konsantrasyonlarda hazırlanmış ve bu ortamlara 1 gr pamuk sapı eklenerek ve eklenmeyerek, 20 günlük inkübasyon periyodu süresince oluşan lakkaz aktivite değişimleri belirlenmiştir. *C. versicolor*, *F. trogii* ve *P. sajor-caju* ile her iki atık ortamında da lakkaz aktiviteleri belirlenirken, *P. chrysosporium* ile bu ortamlarda lakkaz aktivitesi belirlenememiştir.

3.5.1 *C. versicolor* ile elde edilen lakkaz aktivitesi

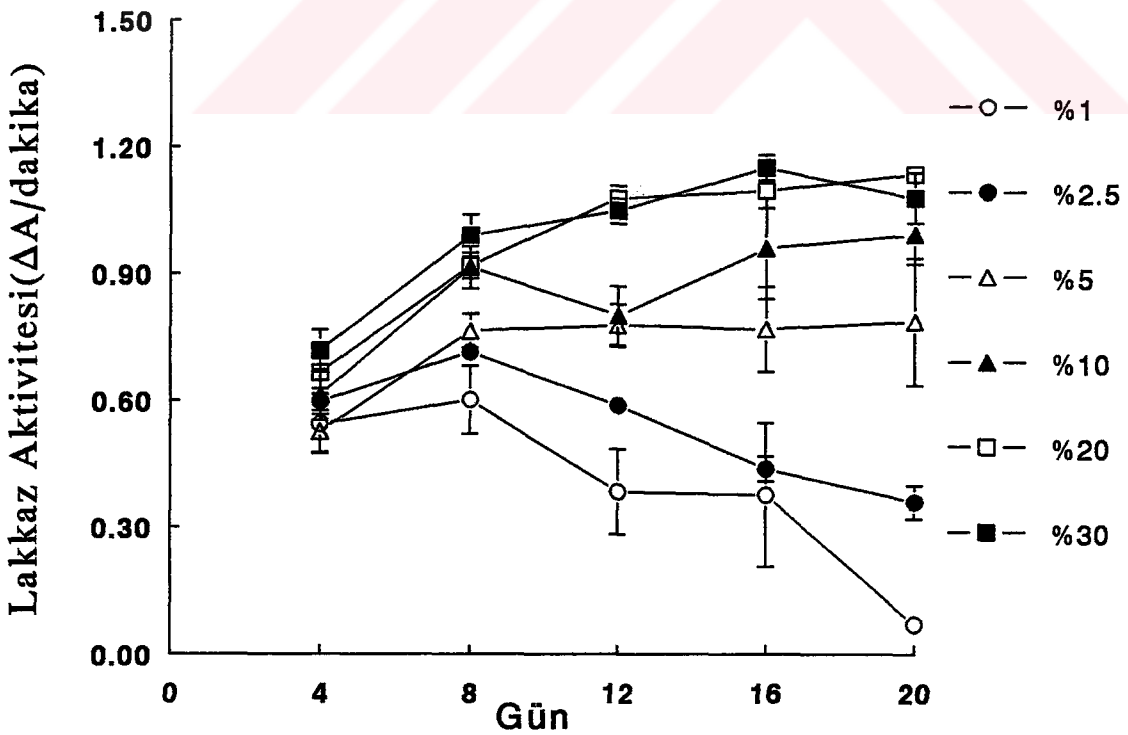
Şekil 3.31'de *C. versicolor* ile %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk pamuk sapı eklenmemiş ZYFA ortamlarında *C. versicolor* üretimi sonucu elde edilen lakkaz aktivite

değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir.. Şekil 3.31 incelendiği zaman; en yüksek lakkaz aktivitesinin %10'luk ZYFA konsantrasyonunda ve inkübasyonun 20. gününde 0.558 ΔA /dakika olarak meydana geldiği görülmektedir. % 20 ve %30'luk atık konsantrasyonlarında da oldukça yüksek lakkaz üretimi söz konusudur. Ancak %1, %2.5 ve %5'lik konsantrasyonlarda nispeten daha düşük enzim üretildiği şekil incelendiği zaman açıkça görülmektedir. Lakkaz enzimi aktivitesi bütün atık konsantrasyonlarında inkübasyonun son günü olan 20. günde en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Şekil 3.32'de ise %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk pamuk sapı eklenmiş ZYFA ortamlarında *C. versicolor* üretimi sonucu elde edilen lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak gösterilmiştir. Şekil 3.32 incelendiği zaman; atık konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinde de bir artış olduğu gözlenmektedir. En yüksek lakkaz aktivitesi, %30'luk ZYFA konsantrasyonunda 16. günde 1.150 ΔA /dakika olarak elde edilmiştir. Bütün atık konsantrasyonlarında enzim aktivitesi inkübasyonun 12. gününde maksimuma ulaştıktan sonra 16. günde yine aktivitesini korumuş ve 20. günde aktivitede bir azalma meydana gelmiştir.

Şekil 3.31 ve 3.32 karşılaştırıldığı zaman pamuk sapı ilave edilen ZYFA ortamlarında pamuk sapı eklenmemiş ZYFA ortamlarına göre daha yüksek enzim aktivitesinin olduğu açıkça görülmektedir. Pamuk sapı eklenmesi sonucunda lakkaz aktivitesinin indüklendiği her iki şekil karşılaştırıldığı zaman gözlenmektedir.



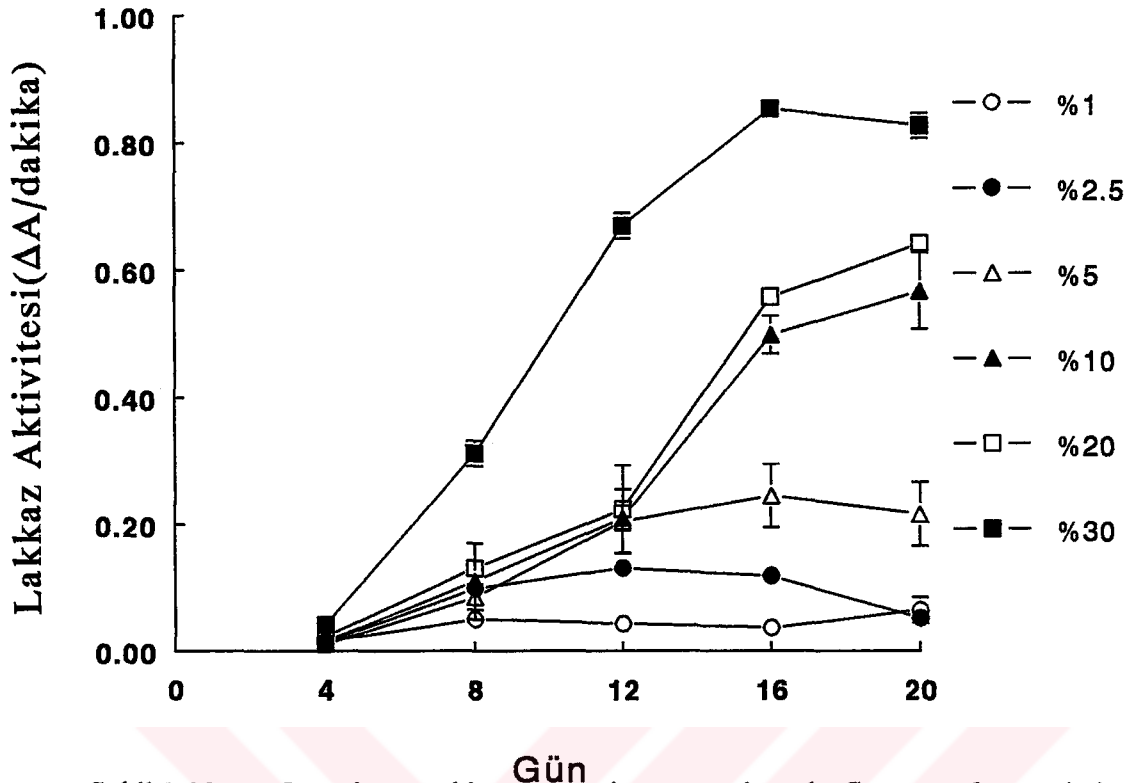
Şekil 3.31 Pamuk sapı eklenmeyen ZYFA ortamlarında *C. versicolor* üretimi sonucu günlere bağlı olarak elde edilen lakkaz aktivite değişimi



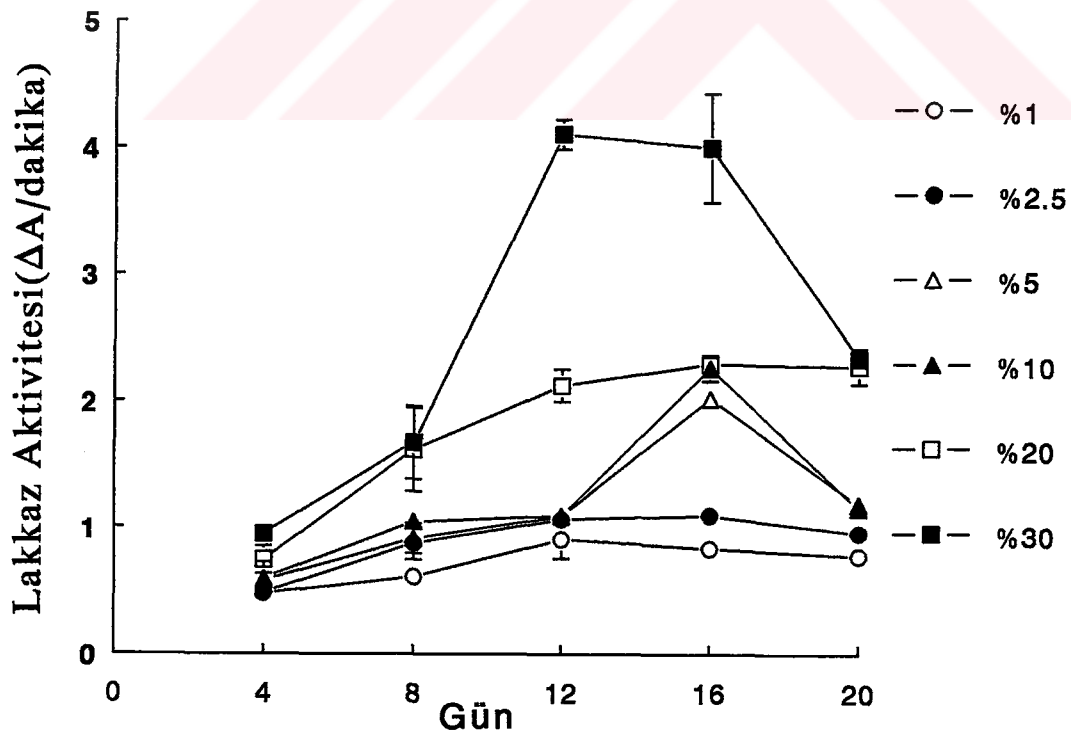
Şekil 3.32 Pamuk sapı eklenmiş ZYFA ortamlarında *C. versicolor* üretimi sonucu günlere bağlı olarak elde edilen lakkaz aktivite değişimi

Şekil 3.33'de %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk pamuk sapı eklenmemiş vinas ortamlarında *C. versicolor* üretimi sonucu elde edilen lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.33 incelendiği zaman; atık konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesinde meydana gelen belirgin artış göze çarpmaktadır. En yüksek lakkaz aktivitesi, %30'luk vinas konsantrasyonunda 16. günde 0.854 ΔA /dakika olarak açığa çıkmıştır. Bütün atık konsantrasyonlarında enzim aktivitesi inkübasyon periyodunun son günlerinde yani 16. ve 20. günlerde en yüksek değerlere ulaşmaktadır. Şekil 3.34'de %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk pamuk sapı eklenmiş vinas ortamlarında *C. versicolor* üretimi sonucu saptanan lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.34 incelendiği zaman; atık konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak enzim aktivitesinde meydana gelen belirgin artış dikkat çekicidir. En yüksek lakkaz aktivitesi, % 30'luk vinas konsantrasyonunda inkübasyonun 16. gününde ve 4.002 ΔA /dakika olarak açığa çıkmıştır. Bütün atık konsantrasyonlarında enzim aktivitesi inkübasyonun 16. gününde maksimuma ulaşırken 20. günlerde aktivitede azalma olmuştur.

Şekil 3.33 ve 3.34 incelendiği zaman ise kültür ortamlarına pamuk sapı eklenmesi ile lakkaz enziminin aktivitesinin belirgin bir şekilde indüklendiği görülmektedir.



Şekil 3.33 Pamuk sapı eklenmeyen vinas ortamlarında *C. versicolor* üretimi sonucu günlere bağlı olarak elde edilen lakkaz aktivite değişimi

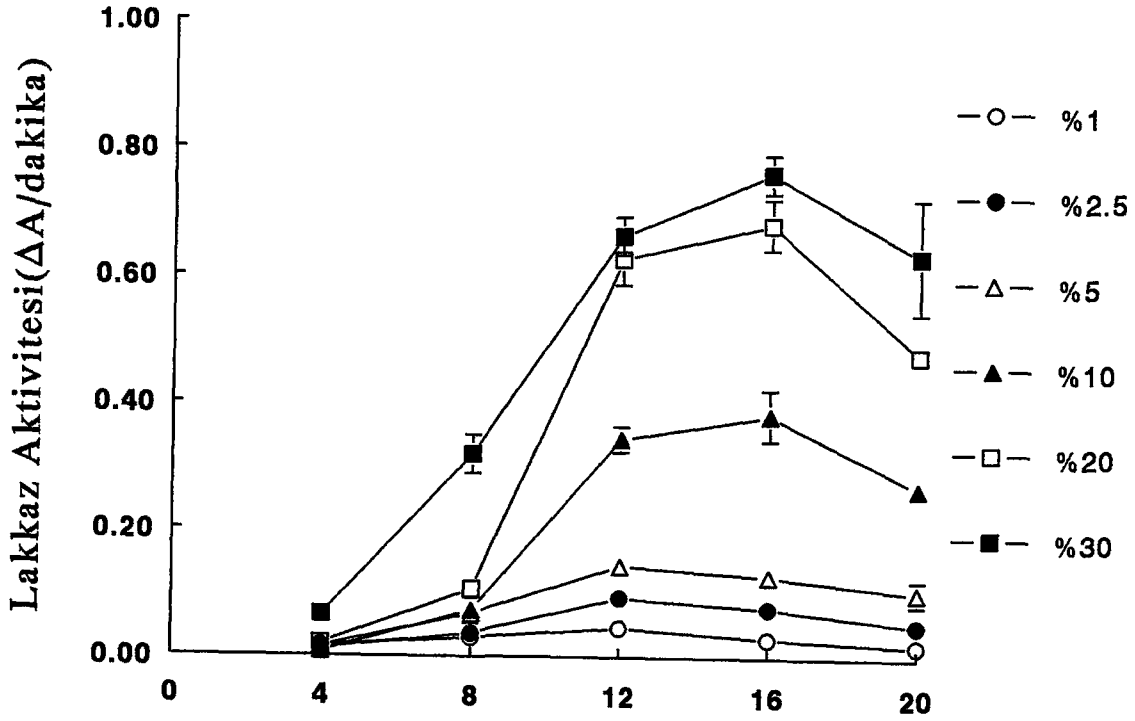


Şekil 3.34 Pamuk sapı eklenmiş vinas ortamlarında *C. versicolor* üretimi sonucu günlere bağlı olarak elde edilen lakkaz aktivite değişimi

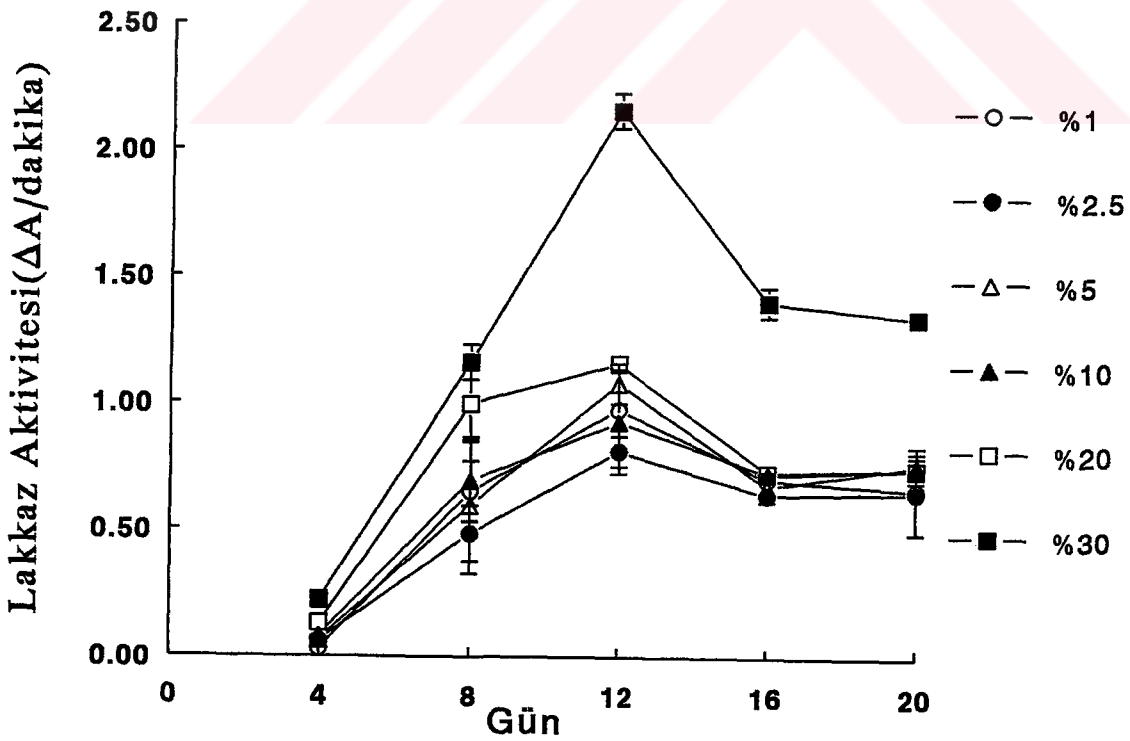
3.5.2 *F. trogii* ile elde edilen lakkaz aktivitesi

Şekil 3.35'de %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk pamuk sapı eklenmemiş ZYFA ortamlarında *F. trogii* üretimi sonucu elde edilen lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.35 incelendiği zaman; atık konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak enzim aktivitesinde meydana gelen artış göze çarpmaktadır. En yüksek lakkaz aktivitesi, % 30'luk ZYFA konsantrasyonunda 0.763 ΔA /dakika olarak inkübasyonun 16. gününde oluşmuştur. Bütün konsantrasyonlarda enzim aktivitesi 16.günde en yüksek değerlere ulaşmış ve 20. günde azalışa geçmiştir. İnkübasyonun 4. gününde atık konsantrasyonuna bağlı olarak enzim aktivitesinde bir farklılık oluşmazken sonraki günlerde konsantrasyon arttıkça aktivitedeki artış oldukça belirgin bir hale gelmiştir. Şekil 3.36'da %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk pamuk sapı eklenmiş ZYFA ortamlarında *F. trogii* üretimi sonucu elde edilen lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.36 incelendiği zaman; lakkaz enzim aktivitesinin atık konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Atık konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesi de belirgin bir şekilde artış göstermektedir. En yüksek lakkaz aktivitesi, % 30'luk ZYFA konsantrasyonunda 12. günde 2.158 ΔA /dakika olarak açığa çıkmıştır. Bütün atık konsantrasyonlarında enzim aktivitesi inkübasyonun 12. gününde maksimuma ulaşmış ve sonraki günlerde azalarak devam etmiştir.

Şekil 3.35 ve 3.36 karşılaştırıldığı zaman, kültür ortamlarına pamuk sapı ilave edilmesi ile lakkaz enzim aktivitesinin belirgin bir şekilde indüklendiği görülmektedir.



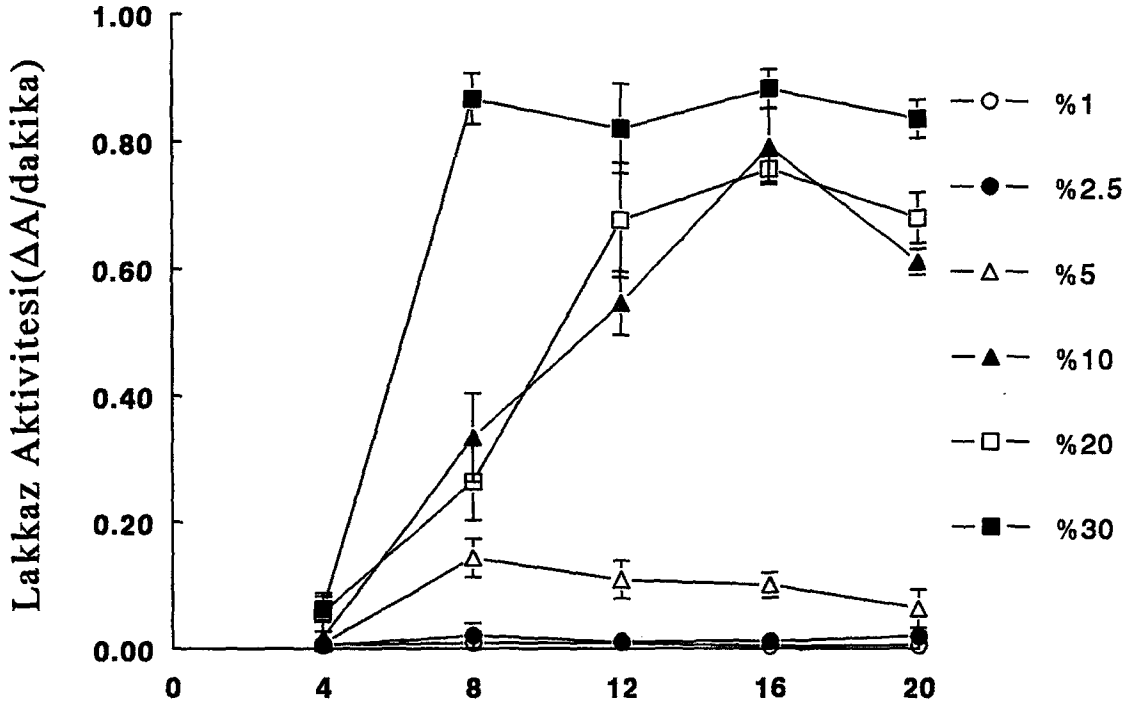
Şekil 3.35 Pamuk sapı eklenmeyen ZYFA ortamlarında *F. trogii* üretimi sonucu günlere bağlı olarak elde edilen lakkaz aktivite değişimi



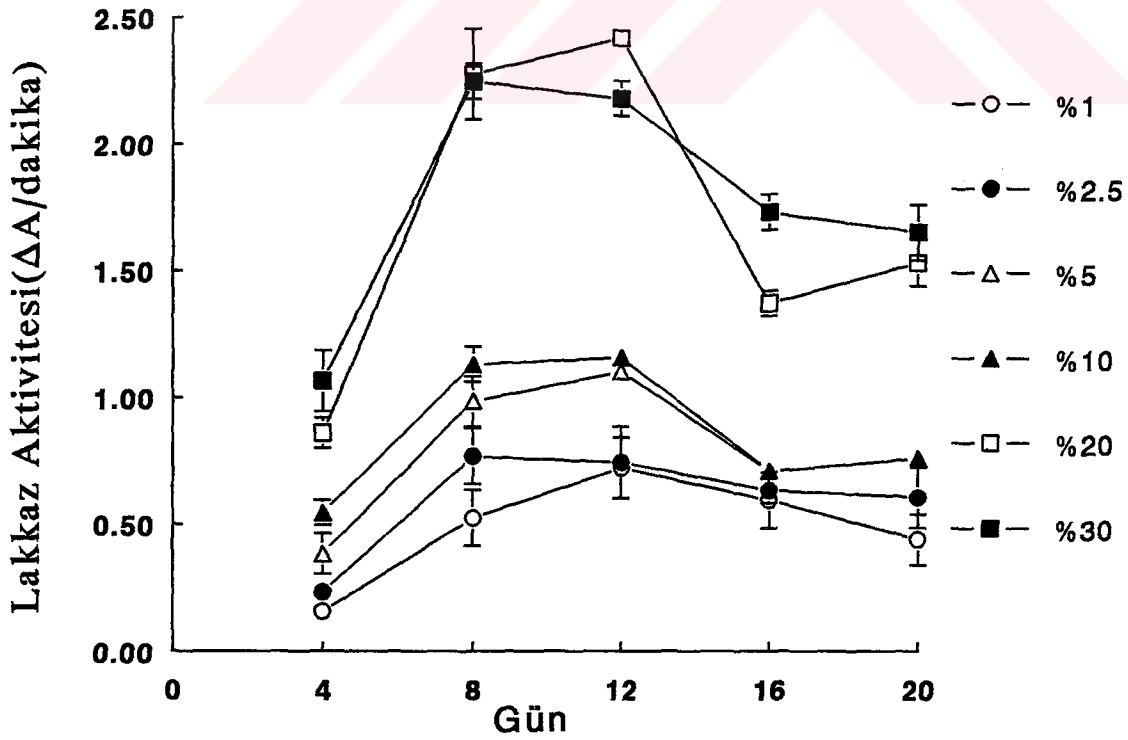
Şekil 3.36 Pamuk sapı eklenmiş ZYFA ortamlarında *F. trogii* üretimi sonucu günlere bağlı olarak elde edilen lakkaz aktivite değişimi

Şekil 3.37'de %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk pamuk sapı eklenmemiş vinas ortamlarında *F. trogii* üretimi sonucu elde edilen lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.37 incelendiği zaman; atık konsantrasyonundaki artış ile birlikte lakkaz enzim aktivitesinde meydana gelen artış göze çarpmaktadır. En yüksek lakkaz aktivitesi % 30'luk vinas konsantrasyonunda, inkübasyonun 16. gününde 0.883 $\Delta A/dakika$ olarak elde edilmiştir. Bütün atık konsantrasyonlarında lakkaz enzim aktivitesi inkübasyonun 16. gününde maksimuma ulaşmış ve 20. günde azalışa geçmiştir. Şekil 3.38'de %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk pamuk sapı eklenmiş vinas ortamlarında *F. trogii* üretimi sonucu elde edilen lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.38 incelendiği zaman; atık konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak enzim aktivitesinde meydana gelen artış dikkat çekicidir. En yüksek lakkaz enzimi aktivitesi inkübasyonun 12. gününde % 20'lik atık kültür ortamında 2.418 $\Delta A/dakika$ olarak elde edilmiştir. %30'luk atık ortamına göre % 20'lik ortamda daha yüksek maksimum aktivite elde edilmesi ilgi çekicidir. Bütün kültür ortamlarında enzim aktiviteleri inkübasyonun 12. gününde maksimum değerlere ulaşmıştır.

Şekil 3.37 ve 3.38 karşılaştırıldığı zaman, kültür ortamlarına pamuk sapı ilave edilmesi ile lakkaz enzim aktivitesinin belirgin bir şekilde indüklendiği görülmektedir. Aynı zamanda pamuk sapı eklenmiş kültür ortamlarında elde edilen enzim aktivitesi pamuk sapı eklenmeyen ortamlara göre inkübasyonun daha erken günlerinde maksimuma ulaşmaktadır.



Şekil 3.37 Pamuk sapı eklenmeyen vinas ortamlarında *F. trogii* üretimi sonucu günlere bağlı olarak elde edilen lakkaz aktivite değişimi

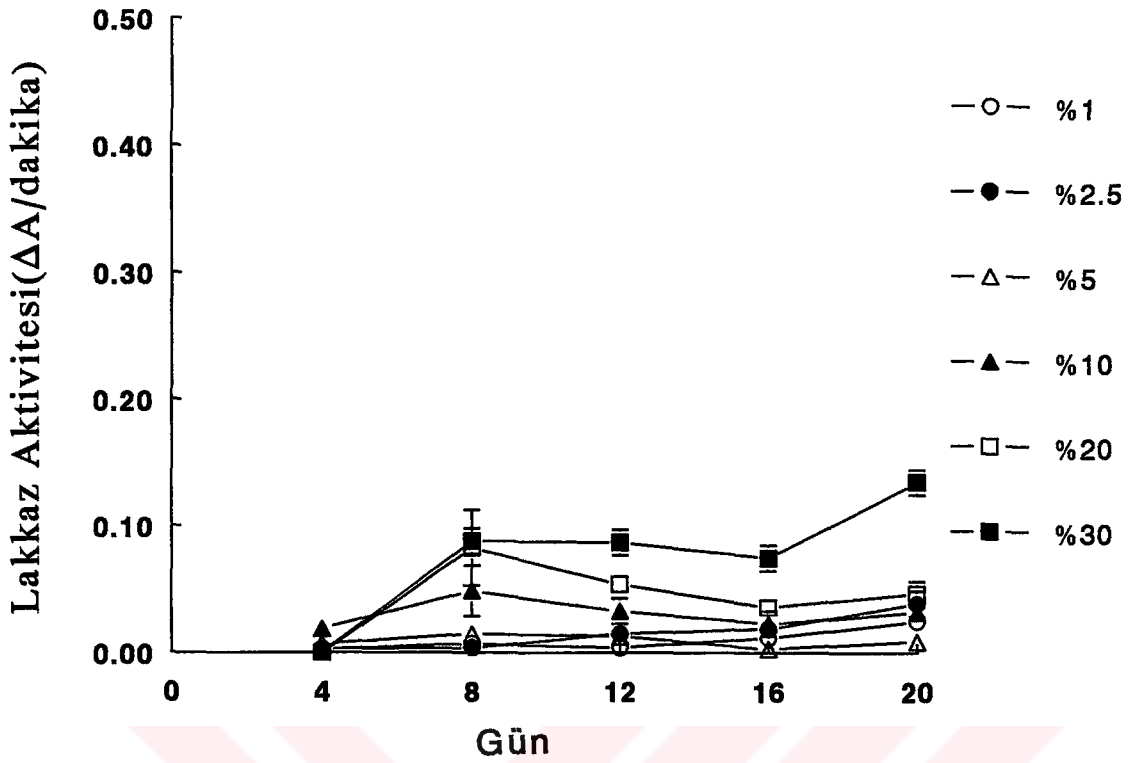


Şekil 3.38 Pamuk sapı eklenmiş vinas ortamlarında *F. trogii* üretimi sonucu günlere bağlı olarak elde edilen lakkaz aktivite değişimi

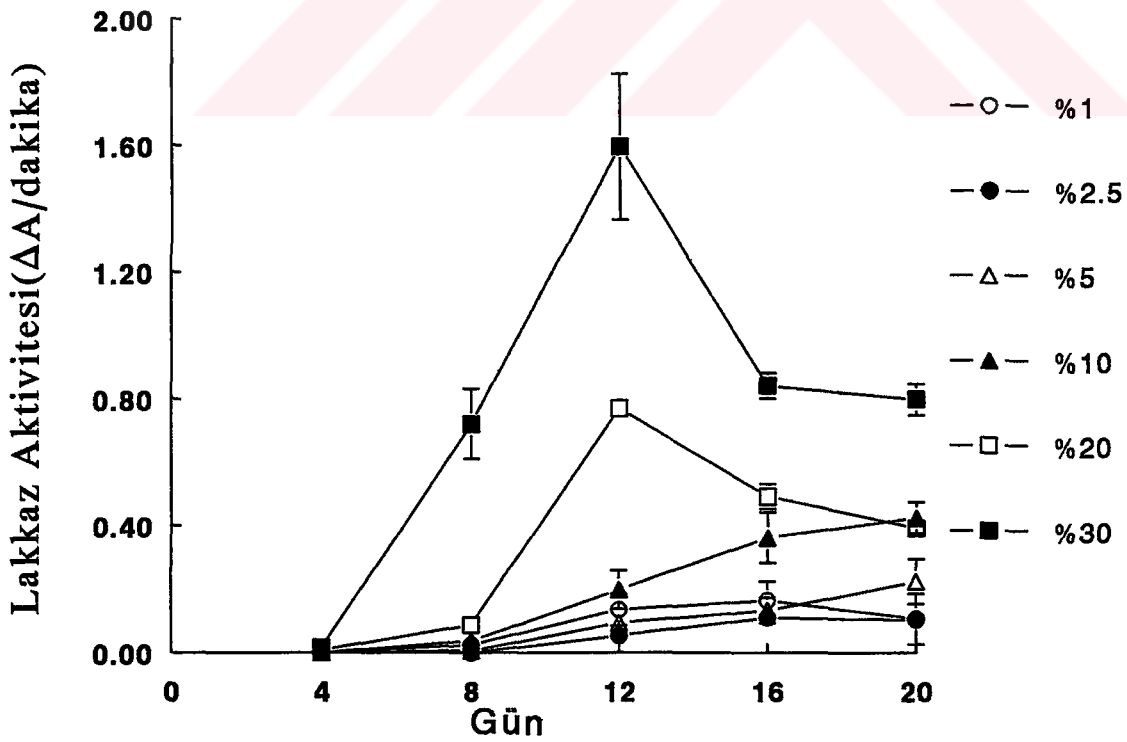
3.5.3 *P. sajor- caju* ile elde edilen lakkaz aktivitesi

Şekil 3.39'da %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk pamuk sapı eklenmemiş ZYFA ortamlarında *P. sajor- caju* üretimi elde edilen lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.39 incelendiği zaman; atık konsantrasyonu arttıkça lakkaz enzim aktivitesinde de bir artış meydana geldiği gözlenmektedir. Aynı zamanda bütün atık konsantrasyonları için, inkübasyonun 4. gününde hemen hemen hiç lakkaz aktivitesi belirlenememiş ve enzim aktivitesi 8. günden sonra açığa çıkmaya başlamıştır. En yüksek lakkaz aktivitesi, % 30'luk ZYFA konsantrasyonunda, 20. günde 0.135 ΔA /dakika olarak elde edilmiştir. Bütün konsantrasyonlarda lakkaz enzim aktivitesi inkübasyonun 20. gününde maksimuma ulaşmıştır. Şekil 3.40'da %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk pamuk sapı eklenmiş ZYFA ortamlarında *P. sajor- caju* üretimi sonucu elde edilen lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.40 incelendiği zaman; atık konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak enzim aktivitesinde meydana gelen artış dikkat çekicidir. En yüksek lakkaz enzimi aktivitesi; % 30'luk ZYFA konsantrasyonunda 1.596 ΔA /dakika olarak inkübasyonun 12. gününde elde edilmiştir. Inkübasyonun 4. gününde hemen hemen hiç lakkaz enziminin üretilmediği de şekil incelendiği zaman görülmektedir. % 20 ve %30'luk ZYFA konsantrasyonlarında lakkaz enzimi aktivitesi inkübasyonun 12. gününde maksimuma ulaşırken, % 1, % 2.5 ve % 5'lik konsantrasyonlarda 20. günde maksimum aktiviteler elde edilmiştir.

Şekil 3.39 ve 3.40 karşılaştırıldığı zaman ise; ZYFA kültür ortamlarına pamuk sapı eklendiği zaman atığın konsantrasyonu ne olursa olsun lakkaz enzim aktivitesinin indüklendiği görülmektedir.



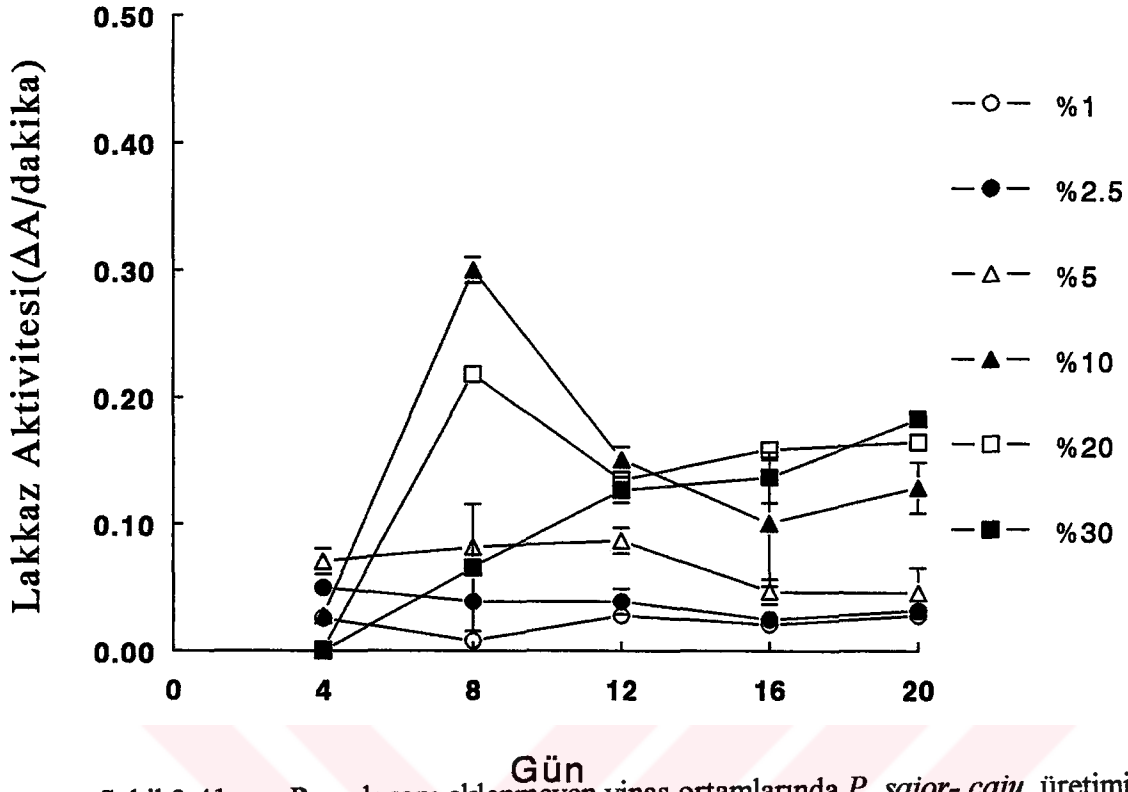
Şekil 3.39 Pamuk sapı eklenmeyen ZYFA ortamlarında *P. sajor-caju* üretimi sonucu günlere bağlı olarak elde edilen lakkaz aktivite değişimi



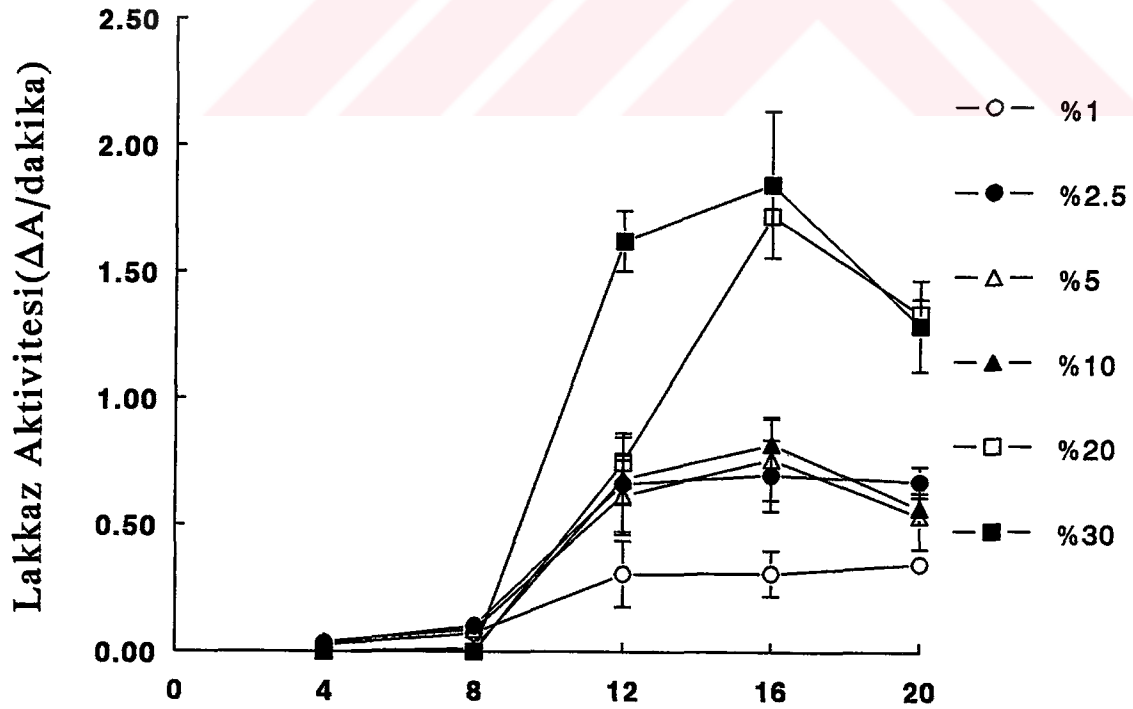
Şekil 3.40 Pamuk sapı eklenmiş ZYFA ortamlarında *P. sajor-caju* üretimi sonucu günlere bağlı olarak elde edilen lakkaz aktivite değişimi

Şekil 3.41'de %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk pamuk sapı eklenmemiş vinas ortamlarında *P. sajor- caju* üretimi sonucu elde edilen lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak verilmiştir. Şekil 3.41 incelendiği zaman; lakkaz enzim aktivitesinin atık konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak artış göstermediği ve en yüksek enzim aktivitesinin % 10'luk vinas konsantrasyonunda 8. günde 0.300 ΔA /dakika olarak açığa çıktığı görülmektedir. Enzim üretiminin ise inkübasyon periyodu esnasında kararlı bir artış izlemediği gözlenmektedir. Şöyle ki; enzim aktivitesi %10 ve %20'lik konsantrasyonlarda 8. günde en yüksek değere ulaşmış, 12. ve 16. günde azalışa geçmesine rağmen 20. günde tekrar bir artış göstermiştir. % 30'luk konsantrasyonda ise enzim aktivitesi inkübasyonun 20. gününde en yüksek değere ulaşmıştır. % 1, % 2.5 ve % % 5'lik konsantrasyonlarda da yine kararsız bir artış eğilimi gözlenmektedir. Şekil 3.42'de %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk pamuk sapı eklenmiş vinas ortamlarında *P. sajor- caju* üretimi sonucu elde edilen lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak gösterilmiştir. Şekil 3.42 incelendiği zaman; atık konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak enzim aktivitesinde meydana gelen artış ilgi çekicidir. Aynı zamanda, %20 ve %30'luk vinas konsantrasyonlarında, 4. ve 8. günde hiç lakkaz üretiminin gerçekleşmediği de şekil incelendiği zaman görülmektedir. En yüksek lakkaz aktivitesi, % 30'luk vinas konsantrasyonunda 1.847 ΔA /dakika olarak inkübasyonun 16. gününde elde edilmiştir. % 1'lik konsantrasyon hariç diğer vinas konsantrasyonlarında, lakkaz aktivitesi 16. günde maksimuma ulaşmış ve 20. günde azalışa geçmiştir. % 1'lik vinas konsantrasyonunda ise, lakkaz aktivitesi 20. günde en yüksek değere ulaşmıştır.

Şekil 3.41 ve 3.42 karşılaştırıldığı zaman ise; vinas kültür ortamına pamuk sapı eklendiği zaman lakkaz aktivitesinin belirgin bir şekilde indüklendiği gözlenmektedir.



Şekil 3.41 Pamuk sapı eklenmeyen vinas ortamlarında *P. sajor-caju* üretimi sonucu günlere bağlı olarak elde edilen lakkaz aktivite değişimi



Şekil 3.42 Pamuk sapı eklenmiş vinas ortamlarında *P. sajor-caju* üretimi sonucu günlere bağlı olarak elde edilen lakkaz aktivite değişimi

3.6 Endüstriyel Atık (ZYFA ve Vinas) Ortamlarında Pamuk Sapında Meydana Gelen Lignin ve Selüloz Giderimi (% Giderim)

Çalışmanın bu kısmında besiyeri olarak farklı konsantrasyonlarda ZYFA ve Vinas kullanılmıştır. Bu amaçla %1, %2.5, %5, %10, %20, %30'luk ZYFA ve vinas besiyerleri hazırlanmış ve bu ortamlara 1 gr pamuk sapı eklenerek, 20 günlük inkübasyona tabi tutulduktan sonra meydana gelen lignin giderimi saptanmıştır. Tablo 3.5'de ZYFA ortamında ve Tablo 3.6'da vinas ortamında dört farklı fungus ile farklı atık konsantrasyonlarında elde edilen lignin giderimleri verilmiştir. Lignin giderimi % giderim olarak ifade edilmiştir.

Tablo 3.5 Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış ZYFA besiyerlerinde çeşitli fungusların üretimi sonucu elde edilen lignin giderimi (%)

FUNGUS	ORTAM (ZYFA)					
	%1	%2.5	%5	%10	%20	%30
<i>C. versicolor</i>	16	10	20	25	30	23
<i>F. troglia</i>	21	26	27	25	29	20
<i>P.sajor-caju</i>	23	28	31	37	35	34
<i>P.chrysosporium</i>	27	28	43	45	43	44

Tablo 3.5'de de görülebileceği gibi en yüksek lignin giderimi *P.chrysosporium* ile elde edilmiştir (%45 giderim). Atık konsantrasyonuna bağlı olarak lignin giderim veriminin değiştiği de tablo incelendiği zaman açıkça ortaya çıkmaktadır. Şöyle ki; atığın konsantrasyonu arttıkça lignin giderimi indüklenmektedir. Özellikle %10 ve %20'lik

atıklarda, daha düşük konsantrasyonlar ile karşılaştırıldığı zaman lignin giderimi daha yüksek olarak meydana gelmiştir.

Tablo 3.6 Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış vinas besiyerlerinde çeşitli fungusların üretimi sonucu elde edilen lignin giderimi (%)

FUNGUS	ORTAM (Vinas)					
	%1	%2.5	%5	%10	%20	%30
<i>C. versicolor</i>	11	6.5	19	16	29	22
<i>F. trogii</i>	13	14	15	18	31	21
<i>P.sajor-caju</i>	27	28	34	37	33	35
<i>P.chryso sporium</i>	20	12	21	41	30	37

Tablo 3.6'ya bakıldığı zaman vinas ortamında da, ZYFA ortamında olduğu gibi en yüksek lignin gideriminin *P.chryso sporium* ile elde edildiği görülmektedir (%41 giderim). Yine %10 ve %20 ve %30'luk atık konsantrasyonlarında yüksek lignin giderim değerlerine ulaşılmıştır. Düşük konsantrasyonda ki atık ortamlarında (%1- %2.5-%5) lignin yıkımının indüklenmediği tablo incelendiği zaman gözlenmektedir. Fakat *P.sajor-caju* ile bütün atık konsantrasyonlarında yüksek lignin giderimine ulaşılması ilginçtir.

%1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk konsantrasyonlarda hazırlanan endüstriyel atık ortamlarında 20 günlük inkübasyon periyodu sonucu pamuk sapından selüloz giderimine de bakılmış ve Tablo 3.7 ve 3.8'de sırası ile ZYFA ve vinas kültür ortamlarında meydana gelen selüloz giderimleri verilmiştir. Selüloz giderimi % giderim olarak ifade edilmiştir.

Tablo 3.7 Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış ZYFA besiyerlerinde çeşitli fungusların üretimi sonucu elde edilen selüloz giderimi (%)

FUNGUS	ORTAM (ZYFA)					
	%1	%2.5	%5	%10	%20	%30
<i>C. versicolor</i>	14	33	48	57	32	48
<i>F. trogii</i>	5	6	11	54	55	61
<i>P.sajor-caju</i>	18	36	32	32	38	42
<i>P.chrysosporium</i>	18	24	29	33	32	49

Tablo 3.7'de görüldüğü gibi en yüksek selüloz giderimi %57 ile %10'luk ZYFA ortamında *C.versicolor* ile elde edilmiştir. Selüloz giderim verimi de lignin yıkımında olduğu gibi atık konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Atık konsantrasyonu arttıkça selüloz giderimi belirgin bir şekilde indüklenmektedir.

Tablo 3.8 Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış vinas besiyerlerinde çeşitli fungusların üretimi sonucu elde edilen selüloz giderimi (%)

FUNGUS	ORTAM (Vinas)					
	%1	%2.5	%5	%10	%20	%30
<i>C. versicolor</i>	9	18	40	28	11	22
<i>F. trogii</i>	9	10	34	29	30	51
<i>P.sajor-caju</i>	33	37	39	35	28	46
<i>P.chrysosporium</i>	-	-	6	27	43	39

Tablo 3.8 incelendiği zaman en yüksek selüloz gideriminin, %51 ile %30'luk vinas ortamında *F. trogii* ile elde edildiği görülmektedir. *P.chrysosporium* ile %1 ve %2.5'luk atık konsantrasyonlarında hiç selüloz gideriminin oluşmaması, fakat %10 , %20 ve %30'luk konsantrasyonlarda yüksek giderim değerlerine ulaşılması da ilgi çekicidir.

3.7 Pamuk Sapı Eklenmiş ve Eklenmemiş Endüstriyel Atıklarda Çeşitli Fungusların Üretilmesi Sonucu Meydana Gelen KOİ, Fenol ve Renk Giderimleri

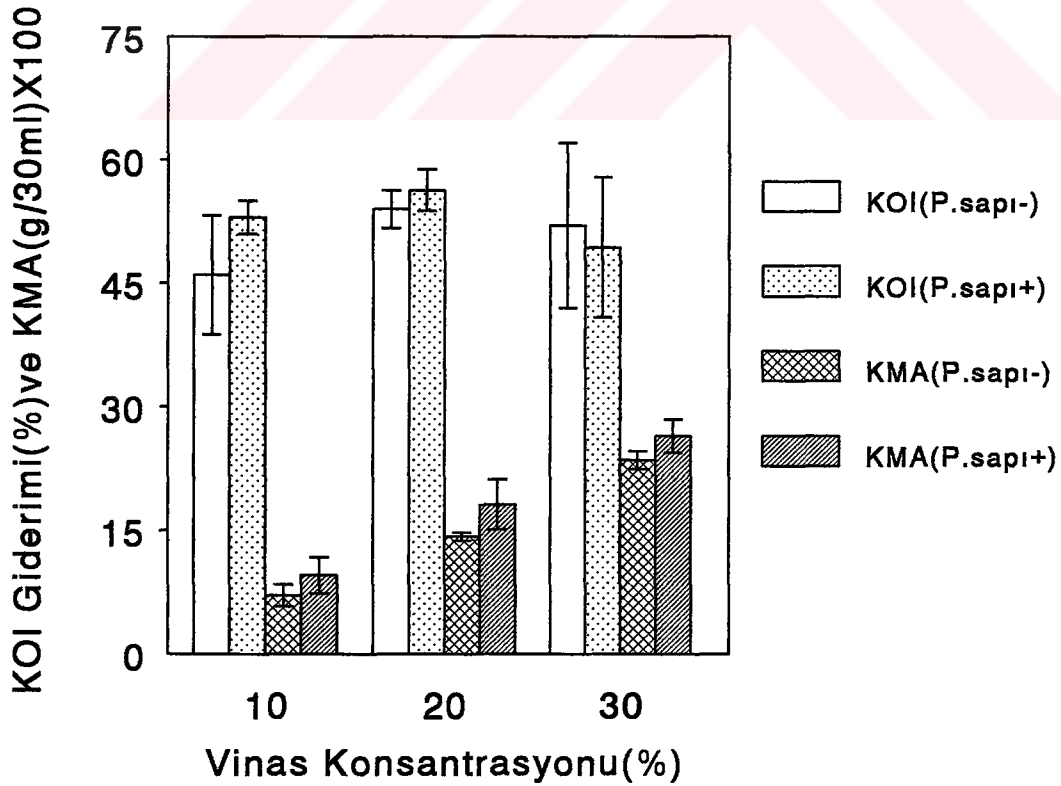
Çalışmamızın bu kısmı planlanırken, esas olarak endüstriyel atıklardaki KOİ, fenol ve renk gideriminin artırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, değişik konsantrasyonlarda hazırlanan vinas ve ZYFA kültür ortamlarına 1 gr pamuk sapı otoklav sonrası eklenerek, fenolik maddeleri yıkım aktivitesi yüksek olan enzim aktivitelerinin indüklenmesi ile birlikte, yukarıda bahsedilen giderimlerin artırılması hedeflenmiştir. Bu esnada pamuk sapında oluşacak lignin giderimine, atıkların besiyeri olarak kullanılmasının pozitif etkisi olabileceği de çalışma planlanırken gözönünde bulundurulmuştur. Bu çalışma *C. versicolor*, *F. trogii*, *P. sajor-caju* ve *P. chrysosporium* ile iki farklı endüstriyel atığın (ZYFA ve Vinas) farklı konsantrasyonlarında yürütülmüştür.

Pamuk sapı eklenmiş ve eklenmemiş ZYFA ve vinas; %10, %20 ve %30'luk konsantrasyonlarda olacak şekilde hazırlanmış ve bu atıklarda meydana gelen KOİ, fenol ve renk giderimlerine 8 gün süresince bakılmıştır.

3.7.1 *C. versicolor* ile işlem görmüş atıklarda oluşan KOİ, fenol ve renk giderimi

3.7.1.1 KOİ giderimi

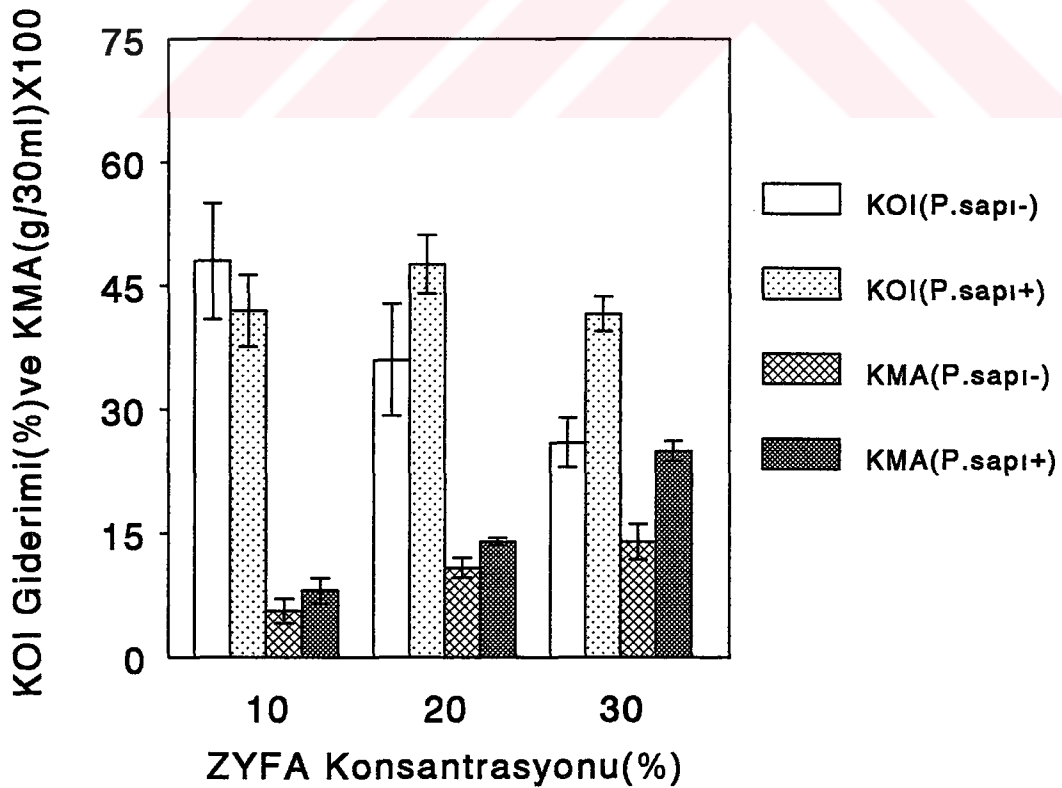
Şekil 3.43'de *C. versicolor* ile 8 günlük inkübasyon sonucu, pamuk sapı eklenmiş ve eklenmemiş vinas besiyeri ortamlarında (%10, %20, %30) meydana gelen KOİ giderimi kuru misel ağırlığı (KMA) değişimi ile birlikte verilmiştir. KOİ giderimi % giderim olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.43 *C. versicolor* ile vinas ortamında KOİ giderimi

Şekil 3.43'den de görülebileceği gibi; pamuk sapı eklenmiş ortamlarda KOİ giderim aktivitesinin, pamuk sapı eklenmemiş ortama göre çok fazla değişmediği saptanmıştır (%10'luk pamuk sapı içeren ortamda %53 ve içermeyen ortamda %56.3). KMA değişimlerine bakıldığı zaman pamuk sapı içeren ortamlarda üremenin hafifçe indüklendiği gözlenmektedir.

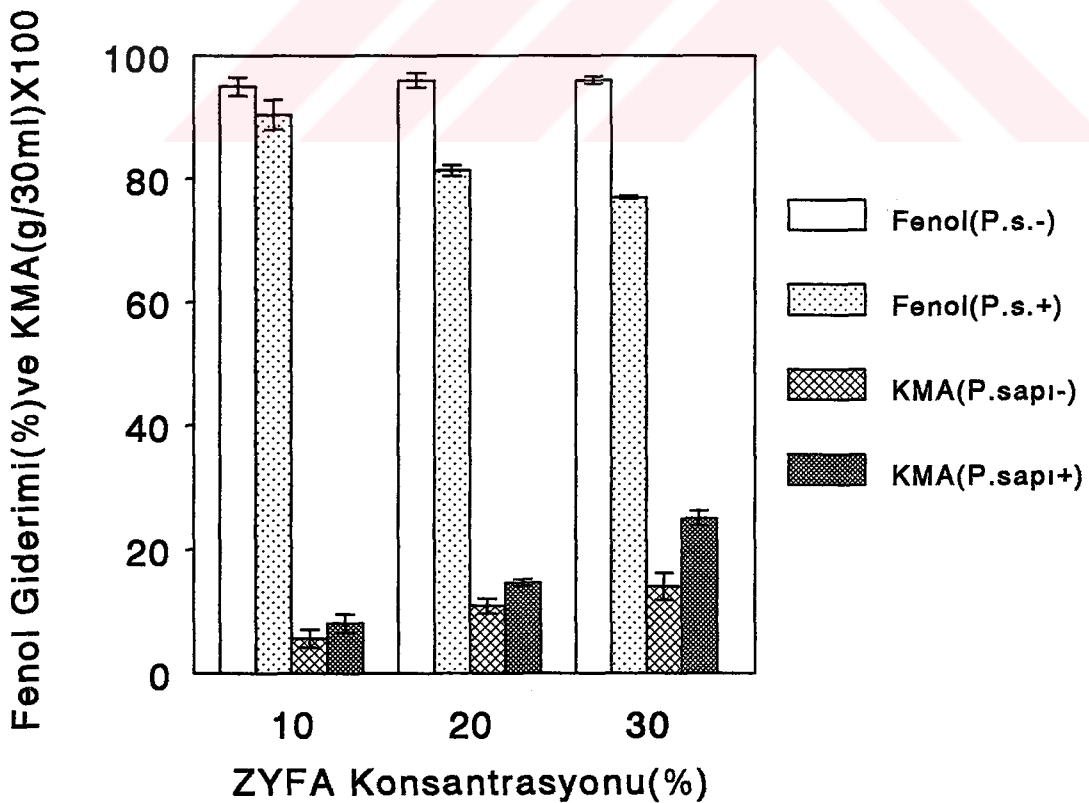
Şekil 3.44'de ise *C. versicolor* ile ZYFA'da meydana gelen KOİ giderimi verilmiştir. Şekil 3.44 incelendiği zaman %20'lik ve %30'luk ZYFA ortamlarına pamuk sapı eklenmesinin KOİ giderimi aktivitesini arttırdığını görmekteyiz (% 47.6 ve % 41.6). KMA değişimleri incelendiği zaman, %20 ve %30'luk pamuk sapı içeren ortamlarda üreme miktarının artması ile birlikte KOİ giderimi de artmıştır.



Şekil 3.44 *C. versicolor* ile ZYFA ortamında KOİ giderimi

3.7.1.2 Fenol giderimi

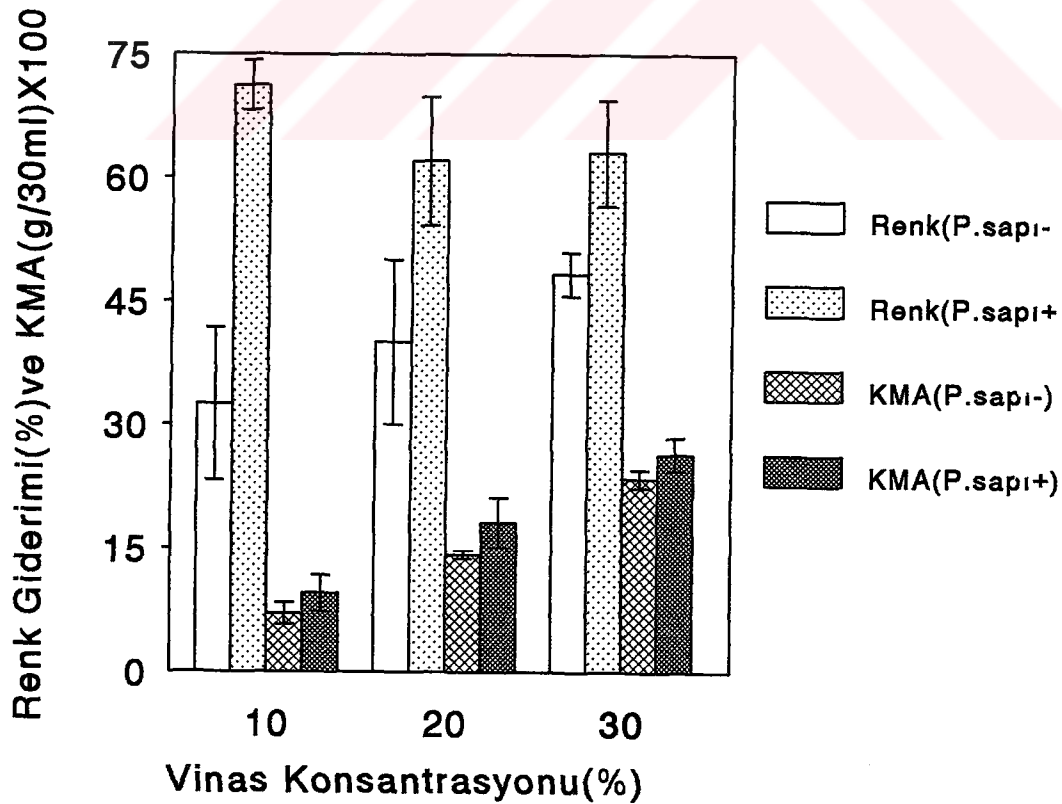
Şekil 3.45'te *C. versicolor* ile 8 gün inkübe edilmiş %10-%20 ve %30'luk konsantrasyonlardaki ZYFA ortamlarında meydana gelen fenol giderimleri % giderim olarak verilmiştir. Fenol giderim aktivitesi KMA değişimi ile karşılaştırılarak aralarındaki bağlantı gözlenmeye çalışılmıştır. ZYFA ortamlarında fenol giderim aktivitesinin pamuk sapı içermeyen ortamlarda daha yüksek olduğu Şekil 3.45te görülmektedir. KMA ve fenol giderimi arasında bir korelasyon olmadığı da şekilden anlaşılmaktadır.



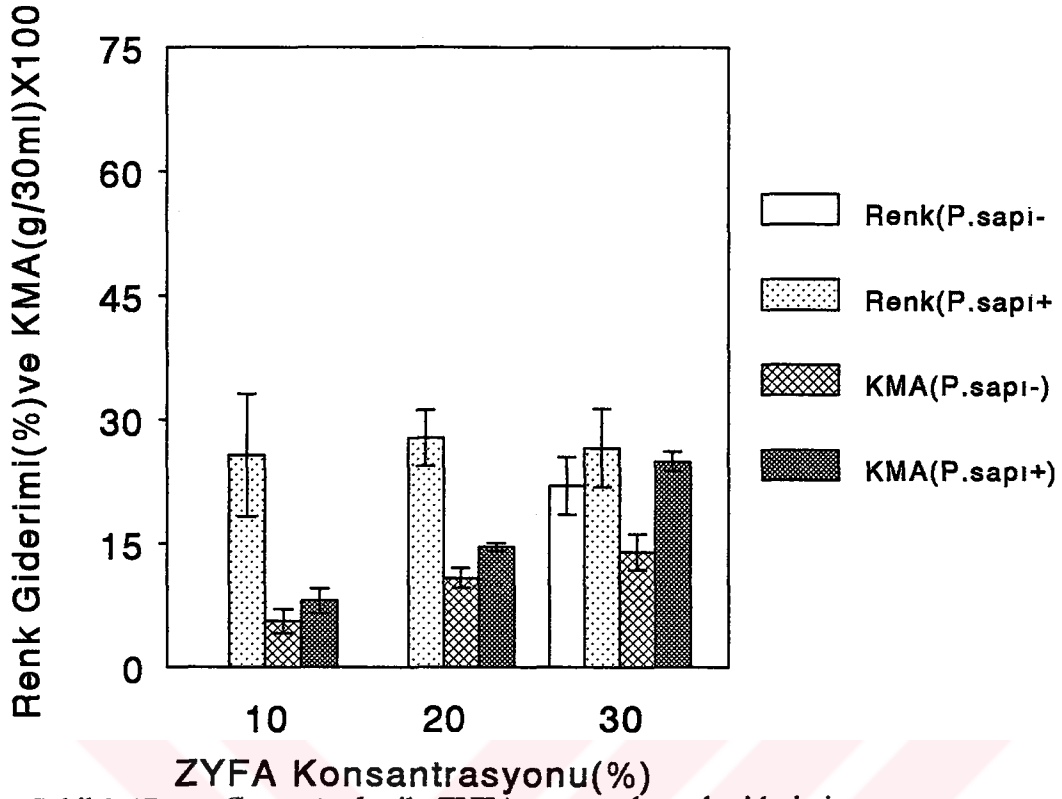
Şekil 3.45 *C. versicolor* ile ZYFA ortamında fenol giderimi

3.7.1.3 Renk giderimi

Şekil 3.46 ve 3.47'de *C. versicolor* ile işlem görmüş vinas ve ZYFA ortamlarında meydana gelen renk giderim aktiviteleri, % renk giderimi olarak KMA değişimi ile birlikte verilmiştir. Bu şekiller incelendiği zaman, atıklara pamuk sapı eklenmesinin renk giderimini arttırdığı gözlenmektedir. Özellikle ZYFA ortamında pamuk sapının eklenmesi renk giderimini daha fazla indüklemiştir. Çünkü, %10 ve %20'lik ZYFA konsantrasyonlarında pamuk sapı eklenmediği zaman hiç renk giderimi olmazken, aynı ortamlara pamuk sapı eklenmesi ile renk gideriminin olduğu gözlenmektedir.



Şekil 3.46 *C. versicolor* ile vinas ortamında renk giderimi

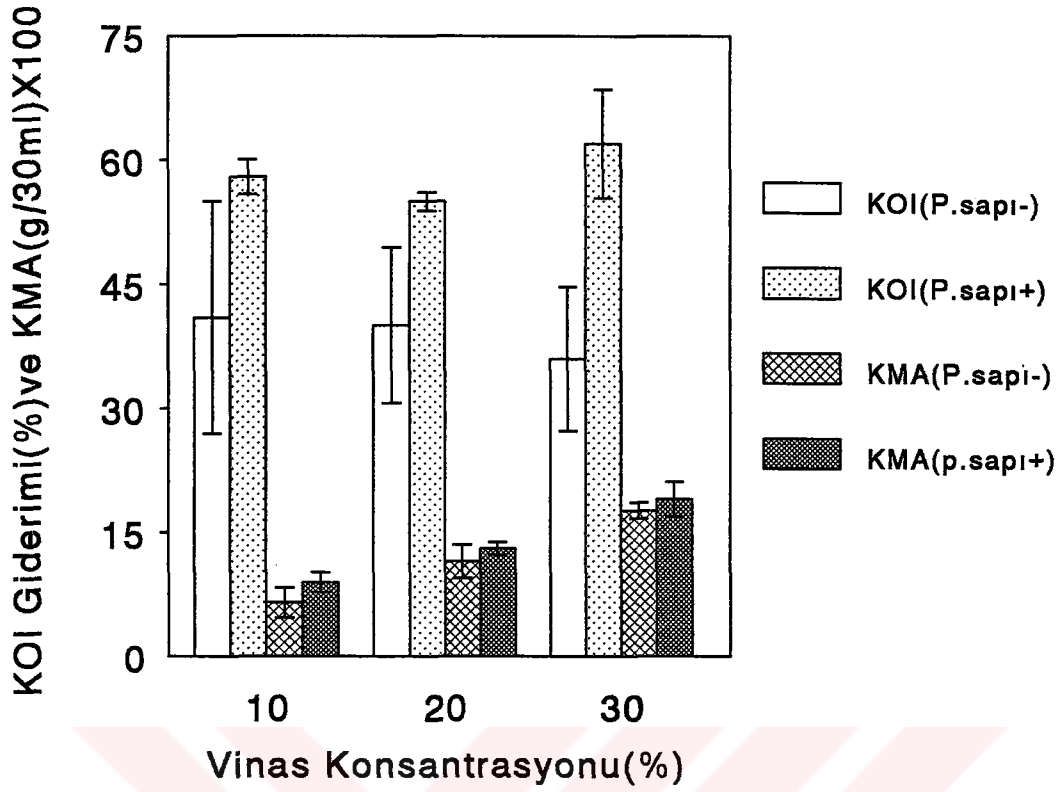


Şekil 3.47 *C. versicolor* ile ZYFA ortamında renk giderimi

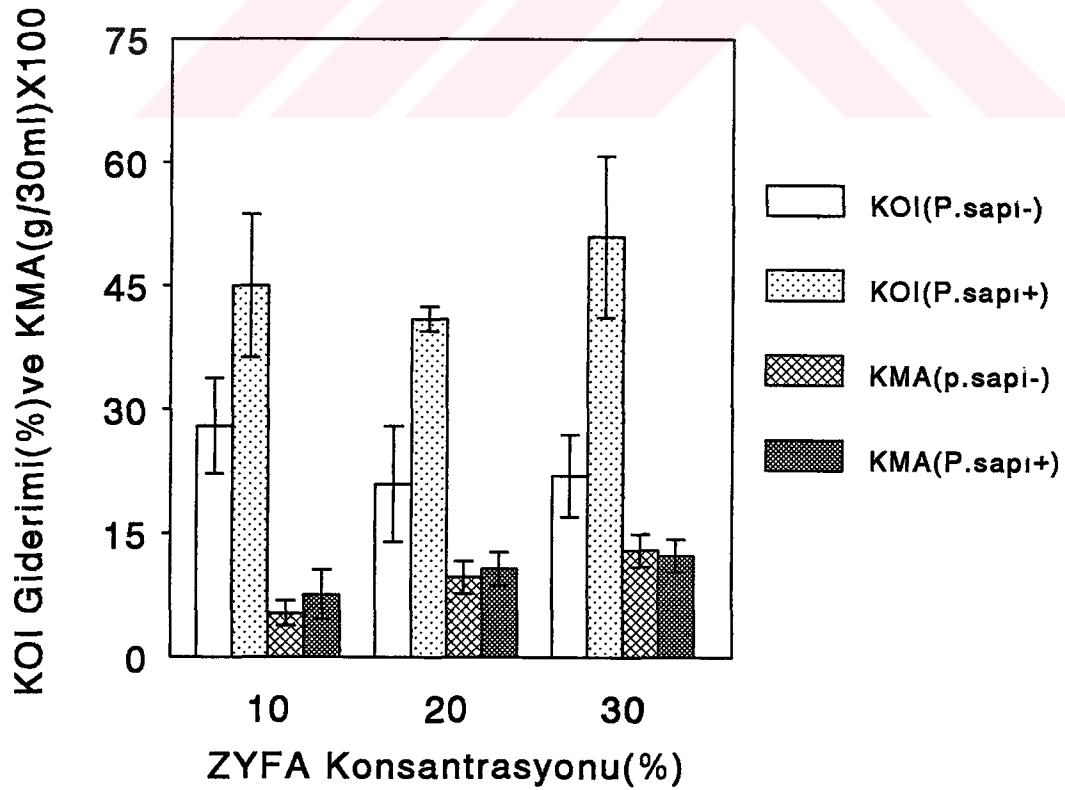
3.7.2 *F.trogii* ile işlem görmüş atıklarda oluşan KOİ, fenol ve renk giderimi

3.7.2.1 KOİ giderimi

Şekil 3.48'de *F.trogii* ile 8 günlük inkübasyon sonucu 1 gr pamuk sapı eklenmiş ve eklenmemiş vinas ortamında meydana gelen KOİ giderimi ve KMA değişimleri verilmiştir. Şekil 3.48'de de görüldüğü gibi, vinas ortamlarına pamuk saplarının eklenmesi %10, %20 ve %30'luk konsantrasyonların tümünde de KOİ giderimini pamuk sapı içermeyen ortamlara göre arttırmıştır. Aynı şekilde KMA değişimleri incelendiği zaman pamuk sapı içeren ortamlarda üremenin hafifçe indüklendiği görülmektedir. Şekil 3.49'da ise ZYFA ortamlarında meydana gelen KOİ giderimleri KMA değişimleri ile birlikte verilmiştir. ZYFA besiyerlerinde de, vinas besiyerlerinde olduğu gibi pamuk saplarının eklenmesi ile KOİ giderimi indüklenmektedir.



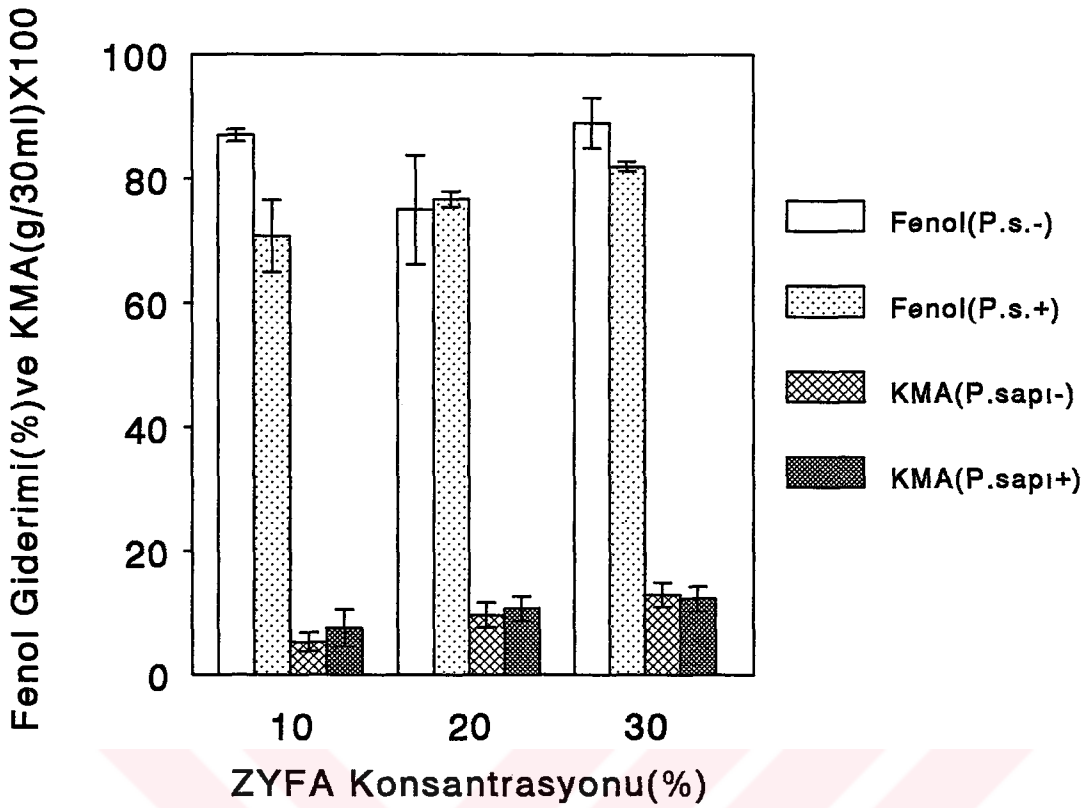
Şekil 3.48 *F. trogii* ile vinas ortamında KOİ giderimi



Şekil 3.49 *F. trogii* ile ZYFA ortamında KOİ giderimi

3.7.2.2 Fenol giderimi

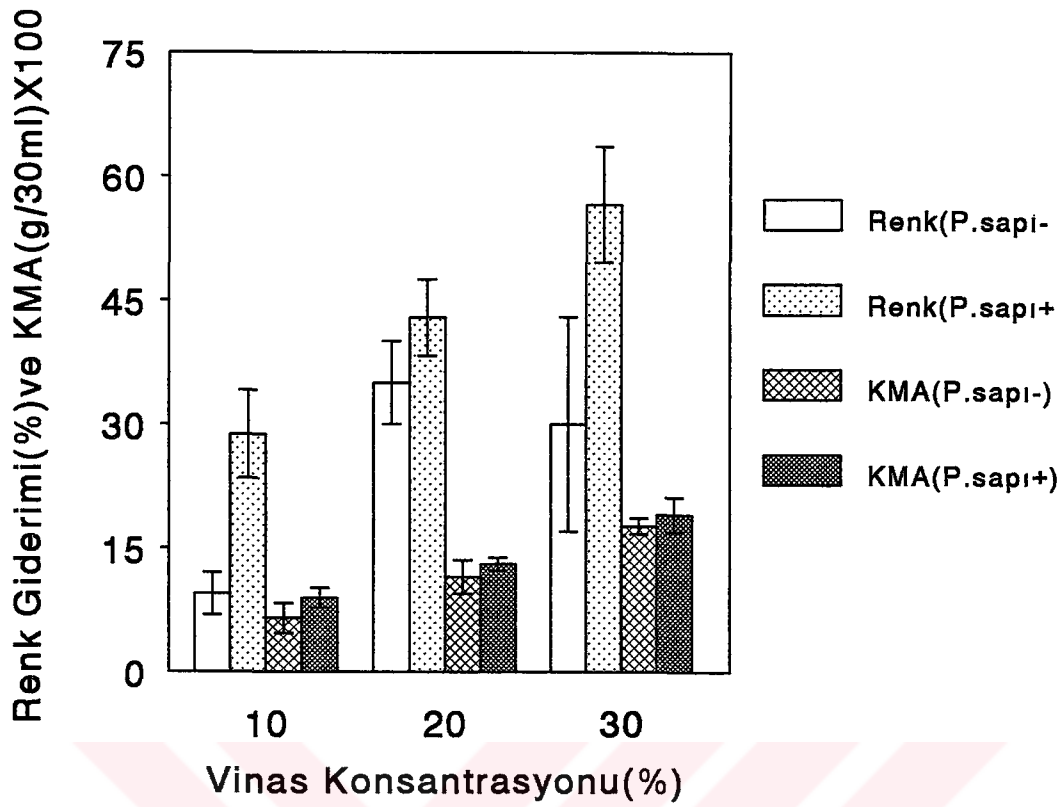
Şekil 3.50'de *F.trogii* ile 8 günlük inkübasyon sonucu %10, %20 ve %30'luk ZYFA ortamlarında meydana gelen fenol giderimleri ve KMA değişimleri verilmiştir. *F.trogii*'de fenol giderim aktivitesinin pamuk sapı eklenmesi ile azaldığı gözlenmektedir. Pamuk sapı eklenmemiş ZYFA ortamlarında, pamuk sapı eklenen ortamlara göre daha yüksek fenol giderim değerleri elde edilmiştir. Sadece %20'lik ZYFA ortamında pamuk sapı eklenmesi fenol giderimini pamuk sapı eklenmemiş ortam ile karşılaştırıldığı zaman az bir miktarda indüklemiştir (Pamuk sapı içeren %20'lik ZYFA'da % 76.7, pamuk sapı içermeyen %20'lik ZYFA'da % 75). KMA değişimleri pamuk sapı içeren ve içermeyen ortamlarda birbirine yakın değerlerde olduğu görülmektedir. Pamuk sapı içermeyen ortamlarda daha yüksek fenol giderimi elde edilirken, üreme pamuk sapı eklenmesi ile indüklenmiştir. Şekil incelendiği zaman, pamuk sapı eklenmesi ve fenol giderimi arasında pozitif bir korelasyon olmadığı görülmektedir.



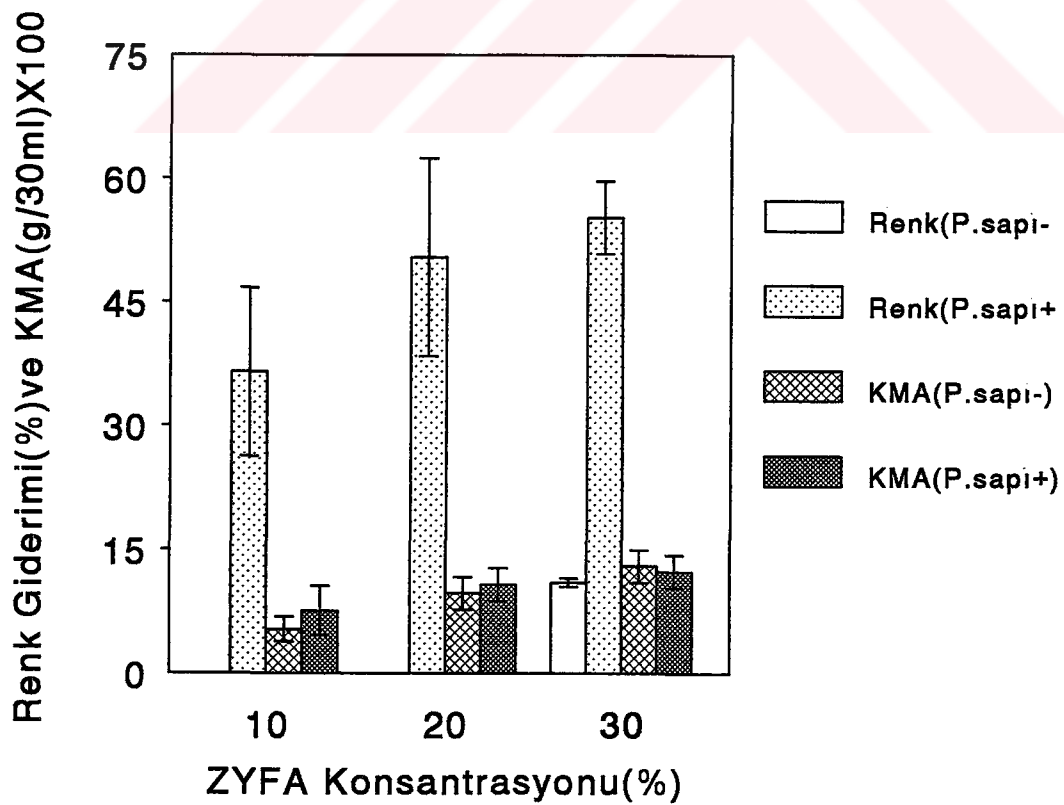
Şekil 3.50 *F. trogii* ile ZYFA ortamında fenol giderimi

3.7.2.3 Renk giderimi

Şekil 3.51 ve 3.52'de *F. trogii* ile vinas ve ZYFA ortamlarında 8 günlük inkübasyon sonucu oluşan renk giderimi ve KMA değişimi verilmiştir. Bu şekiller incelendiği zaman, hem vinas ve hemde ZYFA ortamlarında pamuk saplarının eklenmesi sonucu renk gideriminin belirgin bir şekilde arttığı gözlenmektedir. Özellikle ZYFA ortamında pamuk sapı eklenmemiş %10 ve %20'lik ortamlarda hiç renk giderimi oluşmazken aynı ortamlara pamuk sapı eklenmesi ile % 36.5 ve % 50.4'lük renk giderimi elde edilmiştir.



Şekil 3.51 *F. troglia* ile vinas ortamında renk giderimi

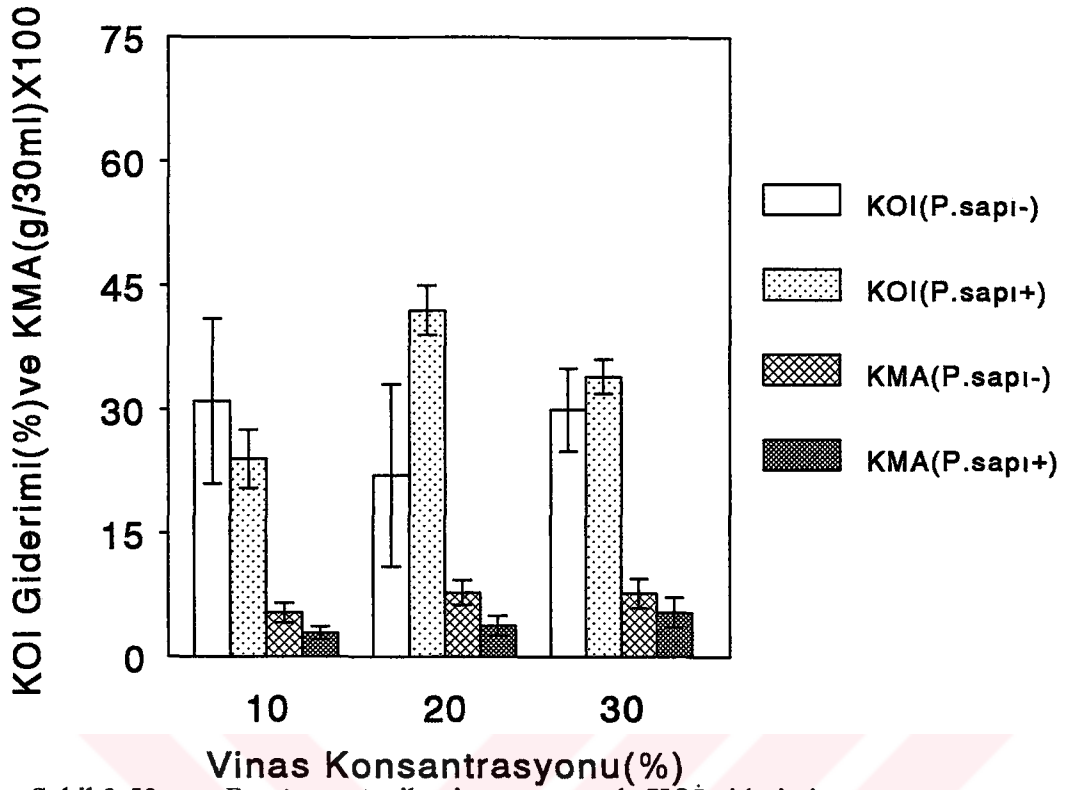


Şekil 3.52 *F. troglia* ile ZYFA ortamında renk giderimi

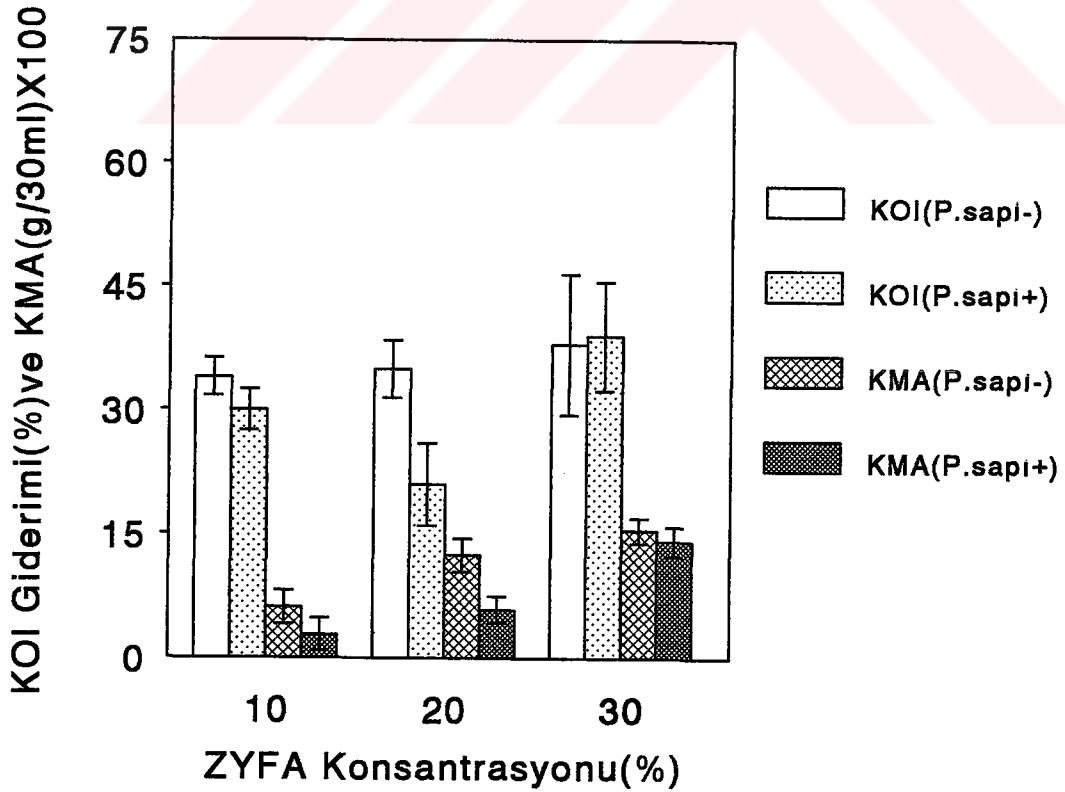
3.7.3 *P.sajor-caju* ile işlem görmüş atıklarda oluşan KOİ, fenol ve renk giderimi

3.7.3.1 KOİ giderimi

Şekil 3.53'de vinas ve Şekil 3.54'de ZYFA ortamlarında *P.sajor-caju* ile 8 günlük inkübasyon sonucu meydana gelen KOİ giderimi (% giderim) ve KMA değişimi verilmiştir. Şekil 3.53'e bakıldığı zaman %20 ve %30'luk vinas konsantrasyonlarında ortama eklenen 1 gr pamuk sapının KOİ giderimini arttırdığı gözlenirken, %10'luk ortamda pamuk sapının eklenmesi, KOİ giderimini pamuk eklenmemiş ortam ile karşılaştırıldığı zaman azaltmıştır. %20 ve %30'luk vinas konsantrasyonlarında pamuk sapı eklenmemiş ortamlarda sırası ile % 22 ve % 30'luk KOİ giderimi oluşurken, aynı ortamlara pamuk sapının eklenmesi ile % 42 ve % 34'lük KOİ giderimi meydana gelmiştir. %10'luk vinas ortamında ise pamuk sapı eklendiği zaman %24 KOİ giderimi oluşurken, pamuk sapı eklenmemiş ortamda % 31'lik KOİ giderimi oluşmuştur. Şekil 3.53'deki KMA değişimleri incelendiği zaman pamuk sapı eklenmemiş ortamlarda, pamuk sapı eklenmiş ortamlara göre üremenin hafifçe indüklenmesi ilgi çekici bir sonuçtur. Şekil 3.54'de ZYFA ortamlarındaki KOİ giderimi incelendiği zaman sadece %30'luk atık konsantrasyonunda pamuk sapı eklenmesi ile KOİ giderim aktivitesinin % 38'den %39'a çıkarıldığı görülmektedir. ZYFA ortamında da pamuk sapı eklenmesi ile üreme arasında pozitif bir korelasyon olmadığı ve pamuk sapı içermeyen ortamlarda daha yüksek üreme gerçekleştiği görülmektedir.



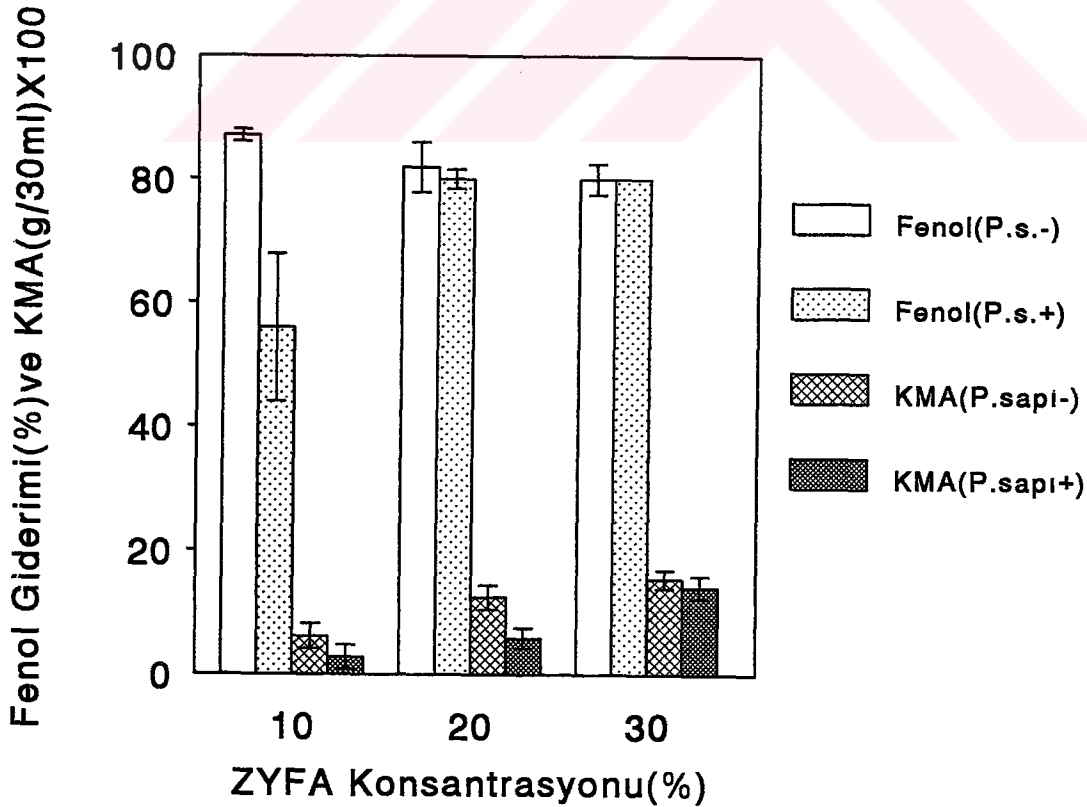
Şekil 3.53 *P.sajor-caju* ile vinas ortamında KOİ giderimi



Şekil 3.54 *P.sajor-caju* ile ZYFA ortamında KOİ giderimi

3.7.3.2 Fenol giderimi

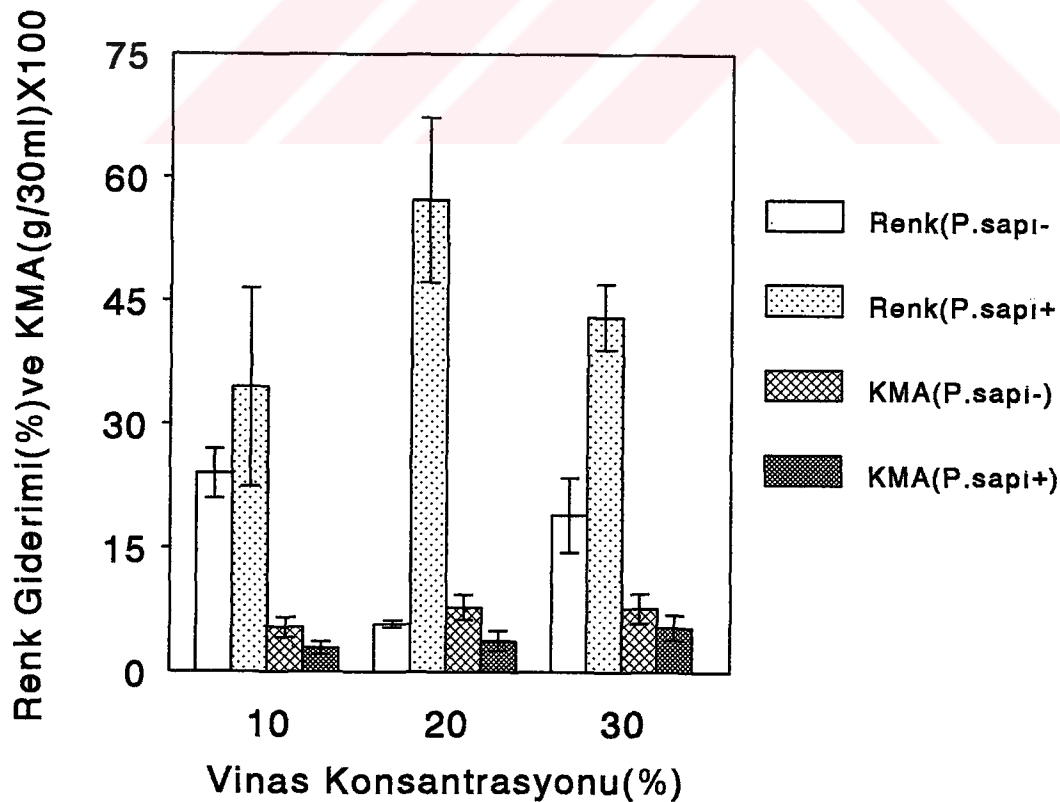
Şekil 3.55'de *P.sajor-caju* ile vinas ortamında meydana gelen fenol giderimi ve KMA değişimleri verilmiştir. Pamuk sapı eklenmesinin fenol gideriminde, aktiviteyi artırıcı bir etki göstermediği gözlenmektedir. Pamuk sapı eklenmemiş ZYFA ortamlarında, pamuk sapı eklenmiş ortam ile karşılaştırıldığı zaman daha yüksek fenol giderimi oluşmuştur. %10'luk ZYFA ortamında % 87, %20'lik ZYFA ortamında % 82 ve %30'luk ZYFA ortamında % 80'lik fenol giderimleri elde edilmiştir. KMA değişimleri incelendiği zaman pamuk sapı içermeyen % 20'lik ortamda üremenin pamuk sapı içeren ortama göre daha yüksek olduğu açıkça görülmektedir.



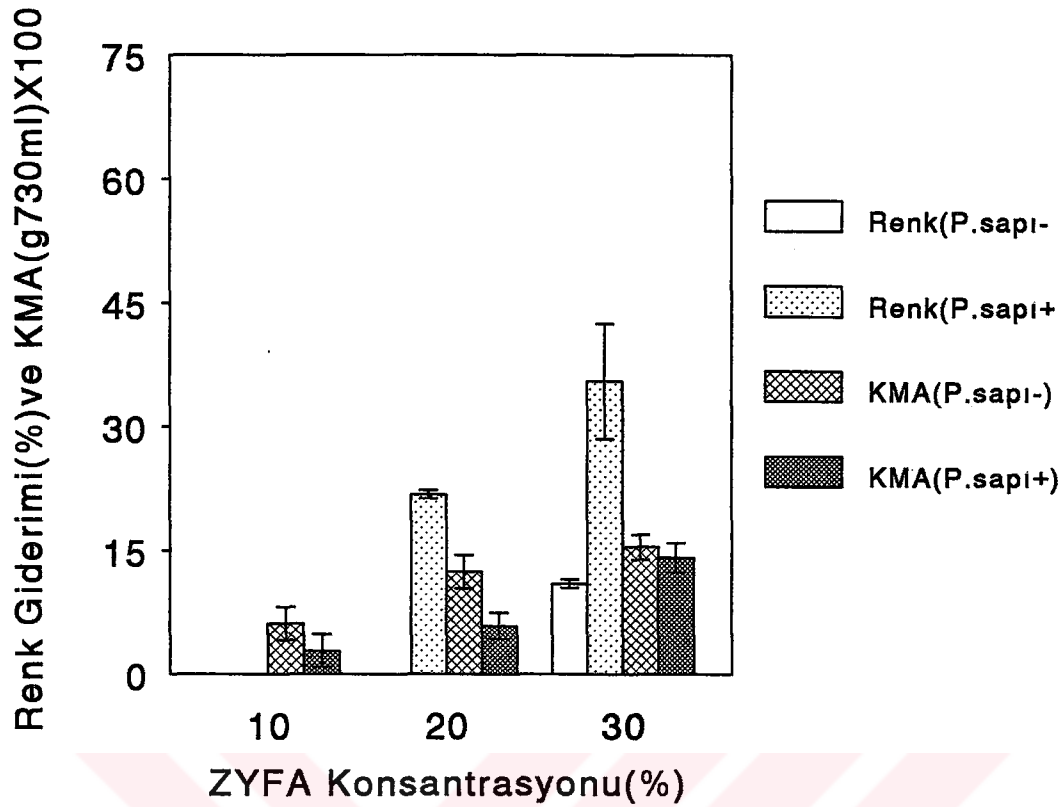
Şekil 3.55 *P.sajor-caju* ile ZYFA ortamında fenol giderimi

3.7.3.3 Renk giderimi

Şekil 3.56 ve 3.57'de *P.sajor-caju* ile vinas ve ZYFA ortamlarında meydana gelen renk giderimleri ve KMA değişimleri verilmiştir. Renk gideriminin pamuk sapı eklenmesi ile belirgin bir biçimde indüklendiği her iki şekil incelendiği zaman görülmektedir. Özellikle ZYFA ortamında, %10 ve %20'lik pamuk sapı içermeyen ortamlarda renk giderimi oluşmazken, aynı ortamlara pamuk sapı eklenmesi ile % 21.8 ve %35.5'luk renk giderimi meydana gelmiştir. KMA değişimlerine bakıldığı zaman ise, pamuk sapı içermeyen ortamlarda üremenin daha yüksek olduğu açıkça görülmektedir.



Şekil 3.56 *P.sajor-caju* ile vinas ortamında renk giderimi



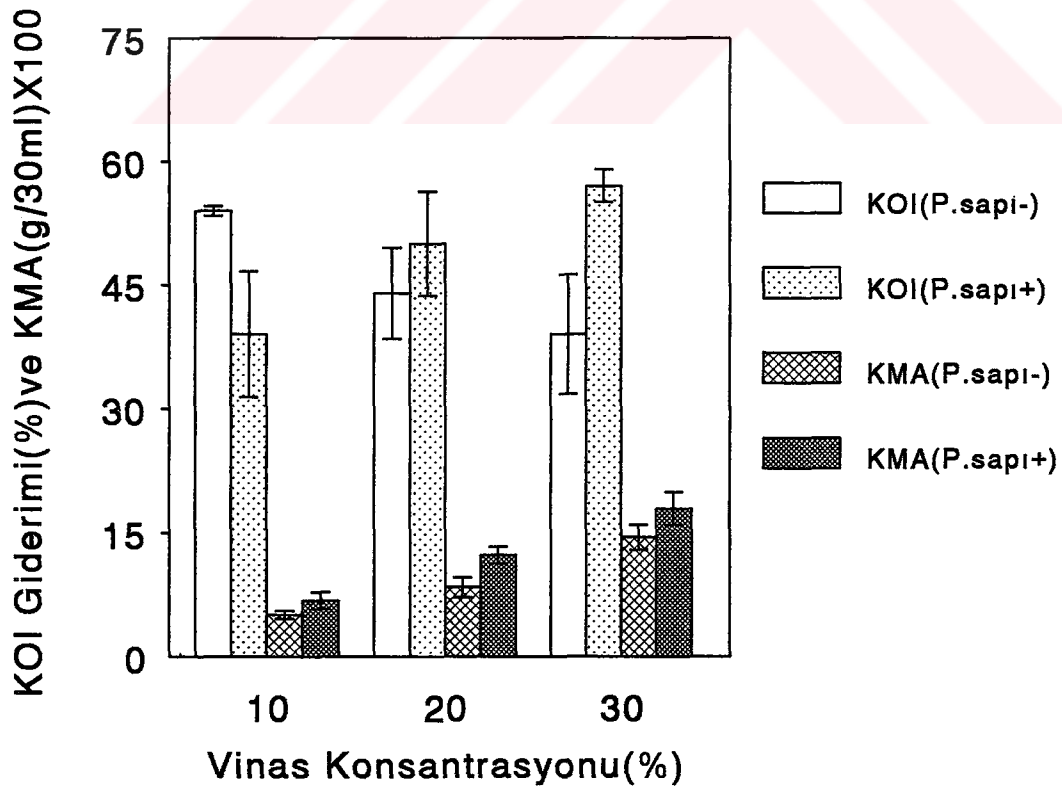
Şekil 3.57 *P.sajor-caju* ile ZYFA ortamında renk giderimi

3.7.4 *P.chrysosporium* ile işlem görmüş atıklarda oluşan KOİ, fenol ve renk giderimi

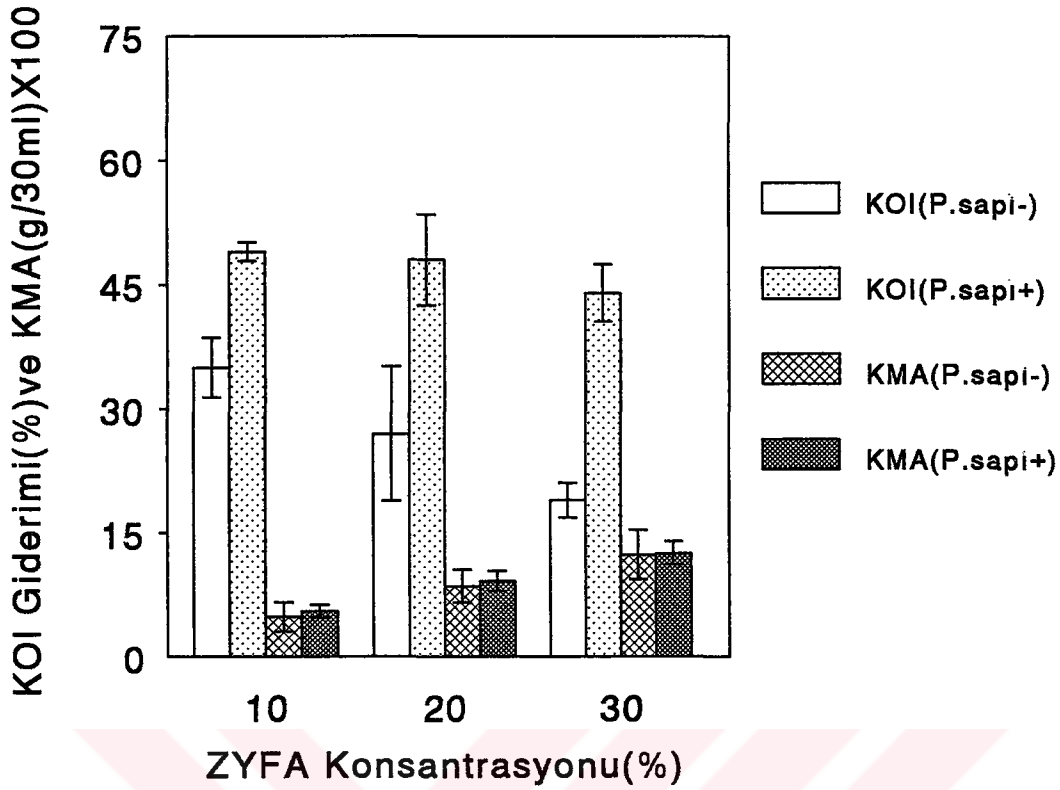
3.7.4.1 KOİ giderimi

Şekil 3.58'de *P.chrysosporium* ile 8 günlük inkübasyon sonucu pamuk sapı eklenmiş ve eklenmemiş vinas ortamlarında meydana gelen KOİ giderimleri ve KMA değişimleri verilmiştir. Şekil 3.58 incelendiği zaman %20 ve %30'luk vinas ortamlarında pamuk sapı eklendiği zaman pamuk sapı eklenmeyen ortama göre, sırası ile % 50 ve % 57 KOİ giderimi elde edilmiştir. %10'luk konsantrasyondaki vinas ortamında ise pamuk sapı eklenmesi KOİ giderimi aktivitesini azaltmıştır (% 39). Pamuk sapı eklenmeyen aynı

ortamda % 54'lük KOİ giderimine ulaşılmıştır. Şekil 3.59'da ise ZYFA ortamlarında, *P.chryso sporium* ile elde edilen KOİ giderimleri , KMA değişimleri ile birlikte verilmiştir. %10, %20 ve %30'luk ZYFA ortamlarında pamuk sapı eklenmesi ile KOİ gideriminin arttığı gözlenmektedir. Pamuk sapı içermeyen %20 ve %30'luk konsantrasyonlarda sırası ile % 27 ve % 19'luk KOİ giderimi elde edilirken, aynı ortamlara pamuk sapı eklenmesi ile bu giderimin % 48 ve % 44'e ulaşması belirgin bir artış olduğunu göstermektedir.



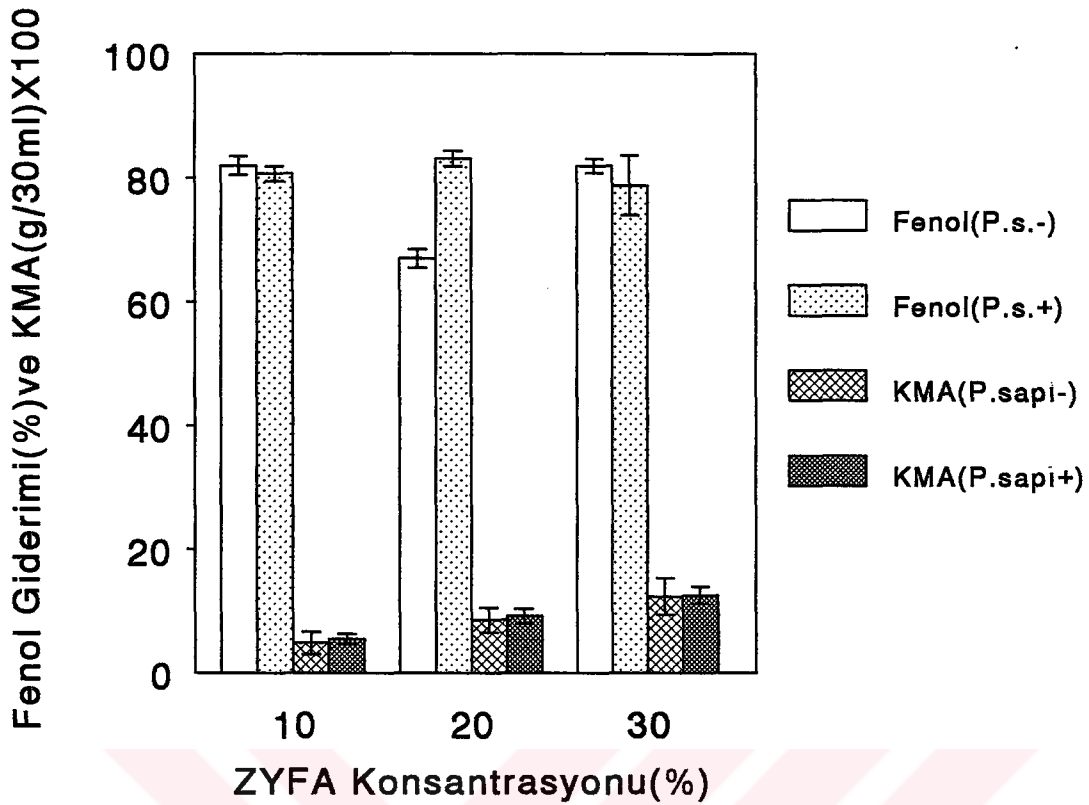
Şekil 3.58 *P.chryso sporium* ile vinas ortamında KOİ giderimi



Şekil 3.59 *P. chrysosporium* ile ZYFA ortamında KOİ giderimi

3.7.4.2 Fenol giderimi

Şekil 3.60'da *P. chrysosporium* ile 8 günlük inkübasyon sonucu pamuk sapı eklenmiş ve eklenmemiş ZYFA ortamlarında meydana gelen fenol giderimleri ve KMA değişimleri verilmiştir. ZYFA ortamlarındaki fenol giderimine baktığımız zaman, sadece %20'lik konsantrasyonda pamuk sapı eklenmesi ile fenol giderimi indüklenirken (pamuk sapı eklenmemiş ortamda % 67 iken pamuk sapı eklenmiş ortamda % 83.1), diğer iki konsantrasyonda pamuk sapı eklenmesi sonucunda fenol giderim aktivitesi pek etkilenmemiştir.

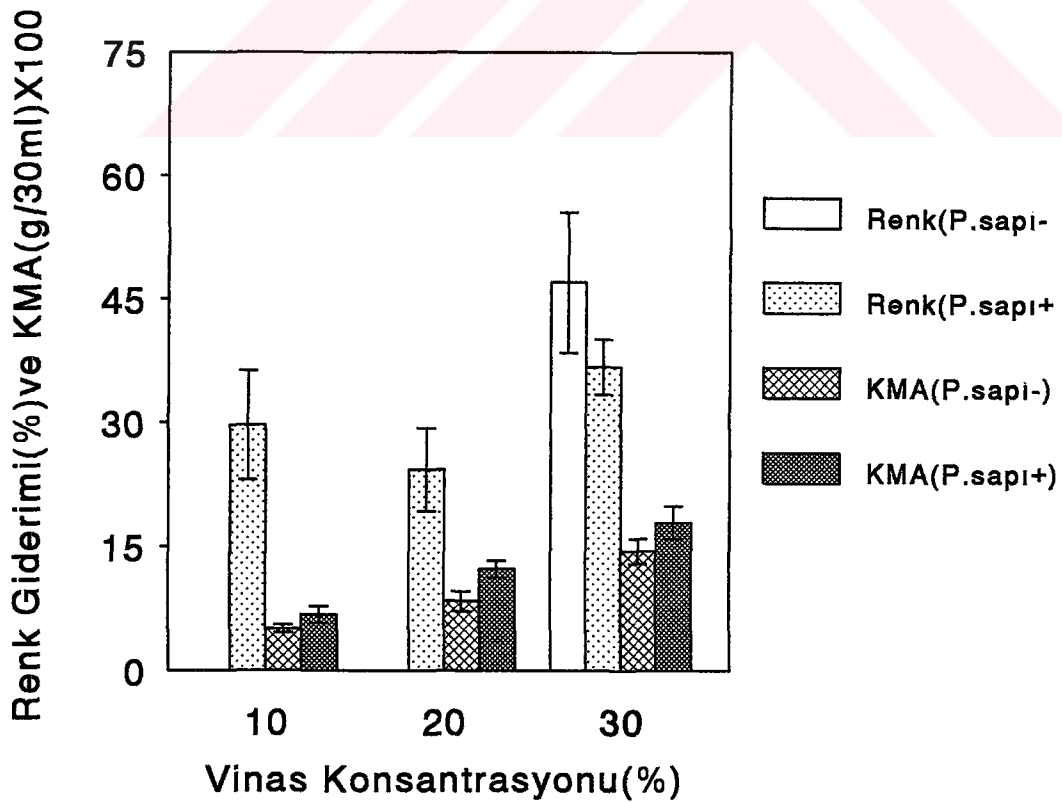


Şekil 3.60 *P.chrysosporim* ile ZYFA ortamında fenol giderimi

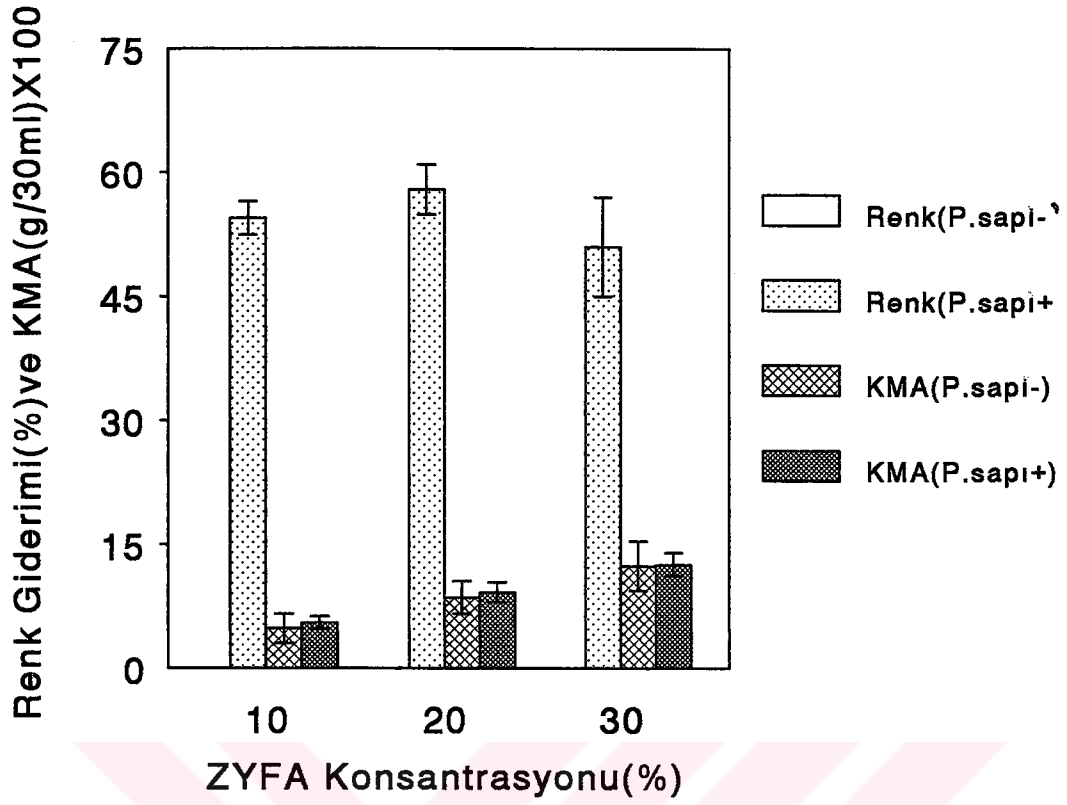
3.7.4.3 Renk giderimi

Şekil 3.61 ve Şekil 3.62'de *P.chrysosporium* ile vinas ve ZYFA ortamlarında 8 günlük inkübasyon sonucu oluşan renk giderimleri ve KMA verilmiştir. Şekil 2.61 incelendiği zaman %10 ve %20'lik pamuk sapı eklenmemiş vinas ortamlarında hiç renk giderimi oluşmazken aynı ortamlara pamuk sapı eklenmesi sonrasında sırası ile % 29.7 ve % 24.3'lük renk giderimleri elde edilmiştir. Vinas ortamlarındaki KMA değişimleri incelendiği zaman ise pamuk sapı eklenmesi sonucu üremenin hafifçe indüklendiği görülmektedir. Şekil 3.62 incelendiği zaman ise ZYFA ortamlarına pamuk sapı eklenmesi ile renk gideriminin belirgin bir şekilde arttığı görülmektedir. Çünkü pamuk sapı içermeyen ZYFA ortamlarında hiç renk giderimi oluşmazken, pamuk sapı eklenen

%10'lük ortamda % 54.5, %20'lik ortamda % 57.9 ve %30'lük ortamda % 51 renk giderimlerine ulaşılmıştır. ZYFA ortamlarındaki KMA değişimleri incelendiği zaman ise pamuk sapı eklenmiş ve eklenmemiş ortamlarda üreme miktarları arasında belirgin bir fark oluşmamıştır.



Şekil 3.61 *P. chrysosporim* ile vinas ortamında renk giderimi



Şekil 3.62 *P. chryso sporim* ile ZYFA ortamında renk giderimi

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada esas olarak tarımsal ve endüstriyel atıkların arıtımı ve değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Pamuk dünya üzerinde yetişen önemli bir tarımsal üründür, fakat pamuk sapları, pamuk toplandıktan sonra tarlada kalmaktadır. Bu saplar, zararlı ot ve hastalık oluşumuna neden oldukları için çiftçilere zarar vermektedir. Ülkemiz pamuk üretiminde dünyada 8. sırada gelmektedir. Yılda ortalama 700.000 ton pamuk sapı tarımsal bir atık olarak oluşmakta ve yakacak olarak kullanılabilme olanağının dışında değerlendirme alanı bulunmamaktadır.

Çalışmanın ilk kısmında, pamuk sapının lignin ve selüloz içeriği saptanmıştır. Pamuk sapının selüloz içeriği Tablo 3.1'de verildiği gibi % 50 bulunmuştur. Bu değer, çeşitli odunsu örnekler ile karşılaştırıldığı zaman, karaçamda %47.50, kayında % 42.50, kavakta %30, arpa samanında % 35.30'dur (Ünyayar, 1988; Gök, 1985).

Pamuk saplarının selüloz içeriğinin yüksek olması, kağıt üretimine uygun bir hammadde kaynağı olabileceği fikrini vermektedir. Kaliteli kağıt üretiminde en önemli nokta, lignin giderim verimidir. Kaliteli ve dayanıklı bir kağıt üretimi için odunda bulunan ligninin uzaklaştırılması zorunludur. Günümüzde odundan lignin giderimi kimyasal ve mekanik yöntemlerle yapılmaktadır. Lignin gideriminin kimyasal yöntemlerle sağlanması hem enerji ve madde kaybı ve hemde süreç sonunda lignin içeriği yüksek atık su oluşumu ile sonuçlanmaktadır. *Sporotrichum pulverulentum* ile yapılan bir çalışmada, mekanik kağıt hamuru üretimi sürecinde ihtiyaç duyulan enerji miktarında, 10 günlük biyolojik işlem sonucunda % 30'luk enerji kazancı sağlanmıştır

(Wainwright, 1992). Buda, biyolojik lignin giderimi sürecinin daha ekonomik olduğunu ve çevre kirlenici etkisi olmadığını göstermektedir.

Bu çalışmada, tarımsal bir atık olan ve ülkemizde de oldukça önemli miktarlarda oluşan pamuk saplarının, kağıt üretim endüstrisinde hammadde kaynağı olarak kullanılabilirliği üzerine araştırmalar yapılmıştır. Bu amaçla, öncelikle pamuk sapı gibi tüm odunsu yapılarda selüloza ulaşabilmek için bir engel oluşturan lignin polimerinin biyolojik yıkımının sağlanması amacıyla beyaz-çürükçül funguslar kullanılmıştır. Beyaz-çürükçül funguslar, ekstrasetüler ortama salgıladıkları lignolitik enzimler sayesinde lignin giderim yetenekleri oldukça yüksek olan funguslardır. Çalışmalarımız süresince lignin giderim kapasitesi yüksek olan ve lignin giderimi ile ilgili endüstriyel amaçlı çalışmalarda en fazla kullanılan *Phanerochaete chrysosporium* ve *Coriolus versicolor*'un yanı sıra *Funalia trogii* ve *Pleurotus sajor-caju* türleri de kullanılmıştır.

Çalışmamızda pamuk sapından lignin giderimini artırabilmek amacıyla sentetik besiyerleri hazırlanmış ve bu besiyerlerinin karbon- azot içeriği değiştirilerek, etkileri test edilmiştir. Aynı zamanda, vinas ve zeytinyağı fabrikası atık suyu (ZYFA) gibi endüstriyel atıklar besiyeri olarak kullanılmak suretiyle hem atıkların değerlendirilmesi ve hemde lignin gideriminin artırılması hedeflenmiştir.

Son yıllarda yapılan biyoteknolojik çalışmaların en önemli odak noktalarından birisi, funguslar ve onların spesifik enzimleri ile lignin giderimidir. En etkili lignin yıkan funguslar beyaz-çürükçül funguslardır.

Dört ayrı beyaz-çürükçül fungus (*P. chrysosporium*, *C. versicolor*, *F. trogii*, *P. sajor-caju*) ile çeşitli sentetik kültür ortamlarında yapılan çalışmalar sonucunda

pamuk sapının lignin içeriğinde azalmalar saptanmıştır. Karbon-azot oranı ayarlanmış 4 farklı kültür ortamı, stok temel ortam (STO) ve distile su ortamında 20 günlük inkübasyon sonucu elde edilen lignin yıkım değerleri Tablo 3.4'te verilmiştir.

Bu tablo incelendiği zaman, en yüksek lignin gideriminin %32 ile distile su ortamında *P. chrysosporium* fungusu ile elde edildiği görülmektedir. *P. sajor- caju* fungusunun ise lignin giderim yeteneği en düşük olan fungus olduğu tablo incelendiği zaman anlaşılmaktadır. Distile su ortamında en yüksek lignin gideriminin oluşması ve bu ortamdan sonra en yüksek lignin gideriminin olduğu ortamın YKDA ortamında olması ve YKYA ve DKYA ortamlarında da lignin gideriminin nispeten daha düşük olması, ortamın karbon -azot miktarının direkt olarak lignin giderimini etkilediği fikrini vermektedir.

Katagiri vd. (1995), ağartılmamış kraft hamuru ile *P. chrysosporium* 'un YKDA kültür ortamında muamele edilmesi sonrasında en yüksek ağartılabilme ve parlaklık değerinin oluştuğunu rapor etmiştir. Bu araştırmacılar, lignolitik aktivitenin direkt olarak azot oranı sınırlandırılmış kültür koşullarında arttığını gözlemiştir. Bizim yaptığımız çalışmada da, distile su ortamında lignin gideriminin yüksek çıkması ve daha sonra YKDA ortamında en yüksek lignin gideriminin oluşması bu sonuçları desteklemektedir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda, fungal üremeyi arttırmak, lignin giderimini stimüle etmek ve polisakkaridazları baskılamak için, kültür ortamlarına kolaylıkla sindirilebilir karbohidratlar ilave edilerek etkileri test edilmiştir. Glukoz ilave edilmesi, fungus türüne veya mutant türlerin kullanılmasına bağlı olarak bazen delignifikasyonu artırırken bazen azaltmıştır (Reid, 1989).

Lignoselülozik materyaller (genellikle odun) düşük oranda azot içermesinden dolayı, bu substratların üzerinde gelişen kültürler için esas sınırlayıcı kültür koşulu ortamın azot oranıdır. Bununla beraber, odun yıkıcı funguslar en iyi düşük azot ortamında gelişmeye adapte olmuşlardır. Pekçok beyaz-çürükçül fungus için lignin giderimi azot ile baskılanır. *P. chrysosporium*, *Phlebia tremellosa*, *Irpex lacteus*, *Lentinus edodes*, *Pleurotus eryngii*, *P. salmoneo-stramineus* ve *P. ostreatus* kültürlerine azot ilavesi lignin giderimini inhibe etmektedir. Azot ilave edilmesi, karbohidrat tüketimini ve yıkımını hızlandırırken, lignin giderimi üzerine negatif etki göstermektedir (Reid, 1989).

Vyas vd. (1994), *P. chrysosporium* 'un azotça sınırlandırılmış kültür ortamlarında lignin peroksidaz ve mangan peroksidaz aktivitesini belirlerken, buğday samanı ilave edilmiş kültür ortamlarında aynı enzimlerin aktivitesini belirleyememiştir. Buradan yola çıkarak, lignolitik enzim üretiminin azot oranı sınırlandırılmış kültür ortamlarında arttığını ve buna bağlı olarak lignin gideriminin stimüle olduğunu söyleyebiliriz.

Yaptığımız çalışmalarda, özellikle distile su ortamında en yüksek lignin gideriminin elde edilmesi ilgi çekicidir. Kültür ortamına, pamuk sapı dışında başka karbon ve enerji kaynağının eklenmemiş olması üremeyi baskılamasına rağmen, gelişen fungal kütlelerin direkt olarak pamuk sapsularına yönelmesine neden olmaktadır. Enerji kaynağı olarak selüloza ulaşmak isteyen fungusların, lignin giderimini sağlarken hangi enerji kaynağını kullandığı ise pek açık değildir. Bunun yanı sıra, pamuk sapsularında, sıvı bir ortamda bulunması sebebiyle meydana gelebilecek kısmi bir depolimerizasyon bu olayı açıklayabilir.

P. chrysosporium fungusu ile işlem görmüş pamuk sapında meydana gelen % 32 lignin giderimi, kağıt üretim endüstrisi için hammadde olabilecek bu odunsu kaynakta oldukça önemli avantajlar sağlayacaktır. Öncelikle, ligninin giderimi için uygulanacak kimyasal süreçte bir kısalma olacak ve süreç sonunda oluşacak atık lignin oranı azaltılacaktır. Bu atık lignin, ticari olarak kullanılan klorine kimyasallar ile ağartma işlemi esnasında uzaklaştırılır. Bu ağartma işlemleri esnasında oluşan klorine ürünlerin mutajenik olduğu da çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Keza, bu atıklar toksisite ve koyu renk dolayısıyla bir atık olarak problem teşkil ederler. Bundan dolayı, çevreci şirketler, bunların eliminasyonu için yada en azından ağartma işleminde klorine kimyasalların kullanımını azaltmak için alternatif yollar aramaktadır (Katagiri, 1995).

Odunun kimyasal yapısı, özellikle lignin oranı kağıt hamuru üretimi sırasında hamurun verimine ve ağartılabilir niteliğine etki eden en önemli faktör olduğu için, sağlanan % 32'lik lignin yıkımının endüstriyel üretim sürecinde oldukça önemli avantajlar sağlayacağı kanısındayız.

Çalışmanın diğer bir kısmında, kültür ortamı olarak farklı konsantrasyonlarda endüstriyel atıklar kullanılmış ve bu ortamlarda 20 günlük inkübasyon periyodu sonucunda meydana gelen lignin giderim oranı % giderim olarak ifade edilmiştir. ZYFA %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30 'luk konsantrasyonlarda hazırlanmış ve bu ortamlarda *P. chrysosporium*, *C. versicolor*, *F. troglia* ve *P. sajor-caju*'nun pamuk sapında oluşturdukları lignin giderimi Tablo 3.6'da verilmiştir. Kullanılan funguslarda atık konsantrasyonuna bağlı olarak lignin gideriminin değiştiği tablo incelendiği zaman açıkça görülmektedir. Lignin giderim kapasitesi en yüksek fungus olarak *P.*

chryso sporium görülmektedir. Özellikle %30'luk atık konsantrasyonunda *P. chryso sporium* ile elde edilen %44'lük lignin giderimi oldukça yüksek bir lignin giderim değeridir. *P. chryso sporium*'dan sonra en fazla lignin giderimine yol açan fungusun *P. sajor-caju* olması da ilgi çekicidir. Çünkü bu iki fungusun KMA'ları *C. versicolor* ve *F. trogii* ile karşılaştırıldığı zaman, daha düşük olmasına rağmen, lignin giderim verimleri daha yüksek olarak saptanmıştır. Bunun nedeni, üremenin az gerçekleştiği funguslarda, bu fungusların sekonder metabolizmaya erken girmiş olmaları ve daha fazla lignin giderimine yönelmeleri olabilir. *C. versicolor* ve *F. trogii* ise ortamdaki serbest şekerleri kullanarak gerçekleştirdikleri hızlı üreme sebebi ile lignine fazla yönelmeyerek daha düşük bir lignin giderimine yol açmaktadırlar. *P. chryso sporium* ile %1'lik ZYFA konsantrasyonunda dahi %27'lik lignin gideriminin oluşması, bu atık tarafından lignin gideriminin belirgin bir şekilde indüklendiğini göstermektedir. Bütün funguslar için, atık konsantrasyonundaki artışa paralel olarak lignin gideriminde de bir artış meydana gelmesi bu atıklara yönelik çalışmalara ihtiyaç olduğu fikrini vermektedir.

Benzer bir çalışma pamuk saplarının farklı konsantrasyonlardaki vinas kültür ortamlarına eklenmesiyle yürütülmüştür. Vinas kültür ortamında da, ZYFA'da olduğu gibi atık konsantrasyonundaki artışa paralel olarak lignin gideriminde meydana gelen artış göze çarpmaktadır. Vinas kültür ortamlarında da lignin giderim kapasitesi en yüksek fungus *P. chryso sporium* olmuştur. En yüksek lignin yıkımı %10'luk vinas konsantrasyonunda %41'lik lignin giderimi ile *P. chryso sporium* ile işlem görmüş pamuk sapında elde edilmiştir. *P. sajor-caju* ise *P. chryso sporium*'dan sonra lignin giderim kapasitesi en yüksek fungus olmuştur. *C. versicolor* ve *F. trogii* ile özellikle

%1, %2.5 ve %5 'lik vinas konsantrasyonlarında oldukça düşük lignin giderim değerleri elde edilirken, %10, %20 ve %30'luk konsantrasyonlarda nispeten yüksek lignin giderim değerlerine ulaşılmıştır.

Doğal besiyeri ortamlarında meydana gelen yüksek lignin giderim aktivitesi, bu atıkların besiyeri amaçlı kullanılarak değerlendirilmeleri çalışmaları için olumlu bir neticedir. Çünkü, bu atıklar sentetik besiyerlerine göre daha ekonomik ve daha kolay elde edilebilir besiyerleridir. Ayrıca atığın endüstriyel alanda kullanımı sağlanarak, çevre kirletici etkisinin azaltılmasında sağlanabilecektir.

Çalışmamız süresince, pamuk sapında meydana gelen lignin gideriminin tespit edilmesi ve bu giderim üzerine etkili kültür parametrelerinin saptanmasının yanısıra, yine lignin giderimi ile ilişkili olduğu bilinen enzim aktivite değişimleri de incelenmiştir. Bu amaçla kültür ortamlarına ekstraselüler olarak salgılanan lakkaz, ligninaz, Mn-peroksidaz, NADH-peroksidaz, selülaz, amilaz ve ksilanaz enzim aktivite değişimleri araştırılmıştır. Lakkaz, ligninaz, Mn-peroksidaz ve NADH-peroksidaz enzim aktivitelerine hem sentetik kültür ortamlarında ve hemde doğal besiyeri ortamlarında (ZYFA ve vinas) bakılırken diğer enzim aktivitelerine sadece sentetik kültür ortamlarında bakılmıştır.

Bu ortamlarda yüksek lakkaz, selülaz, amilaz ve ksilanaz aktiviteleri gözlenirken, ligninaz, Mn-peroksidaz ve NADH-peroksidaz aktivitesi saptanamamıştır.

Çalışmamızda kültür ortamlarında bu enzimlerin araştırılmasının nedenleri;

1- Lakkaz ve ligninazın oksidasyon enzimleri olmaları ve özellikle peroksidaz enzimlerinin pekçok kimyasal bileşiği oksitleyebilmeleri (Blondeau, 1989; Khaziyev, vd., 1990).

2- NADH oksidasyon aktivitesi ve diğer oksidasyon enzimlerinin H_2O_2 oluşumundan ve peroksidazların çalışmasından sorumlu olmaları (Asada, vd., 1987; Kelley ve Reddy 1986).

3- Hidrojen peroksitin ve hidrojen peroksitten oluşabilecek radikallerin yüksek oksidasyon yeteneğine sahip olmalarıdır.

Çalışmamızda, *C. versicolor*, *F. trogii* ve *P. sajor-caju* ile sentetik besiyeri ortamları ve doğal besiyeri ortamlarında (ZYFA ve vinas) lakkaz aktivitesi belirlenirken, *P. chrysosporium* fungusu ile bu kültür ortamlarında lakkaz aktivitesi saptanamamıştır. Bunun nedeni, Eriksson (1978) ve Ander (1981) tarafından, fungus fizyolojisi içerisinde sentez edilen sellobioz kinon oksidoreduktaz (COR) tarafından fenoloksidaz aktivitesinin maskelenmesiyle açıklanmıştır. Yapılan başka bir çalışmada ise, *P. chrysosporium*'un da düşük oranda lakkaz sentezlediği fakat bunun saptanabilmesi için özel besiyerine ihtiyaç duyduğu belirtilmektedir (Srinivasan vd., 1995).

Fungal kültür ortamlarındaki lakkaz aktivitesi, ortama farklı aromatik bileşenlerin eklenmesi ile artabilir. Platt vd. 1984, fungal kültürlerle farklı fenolik substratların ilave edilmesinden sonra, *P. ostreatus*'un lakkaz üretiminin arttığını rapor etmiştir. Enzim fenolik substratları yada aromatik aminleri çeşitli yollar kullanarak tek elektron oksidasyonu ile farklı ürünlere dönüştürür. Lakkaz aktivitesi çoğunlukla

substratın türüne bağılı olarak sınırlanır ve non-fenolik bileşenler ile aktive edilemez (Johannes vd. 1996).

Bu çalışmada, lakkaz aktivitesini arttırıcı etkisi olduğunu düşündüğümüz fenolik bileşen olarak ortama pamuk sapları eklenmiştir. Distile su ortamı, karbon azot oranı ayarlanmış sentetik kültür ortamları ve doğal kültür ortamlarına (ZYFA ve vinas) pamuk sapları eklenerek lakkaz aktivitesinin indüklenmesi amaçlanmıştır.

C. versicolor ile sentetik kültür ortamları ve distile su ortamında pamuk sapı eklenmesi ve eklenmemesi durumunda oluşan lakkaz aktivite değişimi günlere bağılı olarak Şekil 3.1 ve 3.2'de verilmiştir.

Bu şekiller incelendiği zaman, tüm kültür ortamlarında, ortama pamuk sapı eklenmesi ile lakkaz enziminin aktivitesi belirgin bir biçimde indüklenmektedir. DKYA+pamuk sapı ortamının lakkaz aktivitesini en fazla indükleyen ortam olduğu da şekiller ,incelendiği zaman görölmektedir. YKDA+pamuk sapı ortamının ise, bu ortamdan sonra lakkaz aktivitesini en fazla indükleyen ortam olduğunu görmekteyiz. Bu iki kültür ortamında, lakkaz aktivitesinin günlere bağılı değişimi incelendiği zaman, inkübasyon periyodunun 4. ve 8. günlerinde enzim aktivitesinin maksimuma ulaştığı ve sonraki günlerde azalışa geçtiği görölmektedir. Tüm ortamlar karşılaştırıldığı zaman, pamuk sapı içermeyen kültür ortamlarında enzim aktivitesinin 8. günde maksimuma ulaştığı ve sonraki günlerde korunduğu görölmektedir. Pamuk sapı içeren ortamlarda ise 4. günden itibaren enzim aktivitesi maksimuma ulaşmakta ve inkübasyonun 16. gününe kadar benzer aktivite korunmaktadır. Ancak tüm kültür ortamları için, 16. günden sonra enzim altivitesinde biraz düşüş gözlenmektedir. *C. versicolor* ile distile

su+pamuk sapı ortamında da, oldukça yüksek lakkaz aktivitesinin belirlenmesi ilgi çekicidir.

F. trogii ile 4 farklı sentetik kültür ortamında elde edilen lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak distile su ortamı ile karşılaştırılarak Şekil 3.9 ve 3.10'da verilmiştir. Bu şekiller incelendiği zaman, kültür ortamlarına pamuk sapı eklenmesi ile lakkaz aktivitesinin belirgin bir biçimde indüklendiği görülmektedir. Bütün pamuk sapı eklenen ortamlar için, lakkaz enzim aktivitesi 8. günden sonra maksimuma ulaşmış ve 12. 16. ve 20. günlerde aynı aktivite korunmuştur. Distile su, YKYA, DKDA, DKYA ortamlarında birbirine yakın lakkaz aktivite değerleri elde edilirken, YKDA+pamuk sapı ortamında nispeten daha düşük aktivite değerleri elde edilmiştir. *F. trogii* ile distile su+pamuk sapı ortamında oldukça yüksek lakkaz aktivitesi elde edilmesi ilgi çekicidir.

P. sajor-caju ile 4 farklı sentetik kültür ortamı ve distile su ortamına pamuk sapı eklenerek ve eklenmeyerek elde edilen lakkaz aktivite değişimleri günlere bağlı olarak şekil 3.17 ve 3.18'de verilmiştir. Bu şekiller incelendiği zaman, kültür ortamlarına pamuk sapı ilave edilmesi ile lakkaz aktivitesinin belirgin bir biçimde indüklendiği görülmektedir. YKYA+pamuk sapı ortamında enzim aktivitesinin 8. günde maksimuma ulaştığı ve sonraki günlerde azalışa geçtiği, DKDA+pamuk sapı ortamında ise lakkaz aktivitesinin 12. günde maksimuma ulaştığı ve 16. ve 20. günlerde hızlı bir düşüş gösterdiği şekiller incelendiği zaman gözlenmektedir. YKDA+pamuk ortamında ise lakkaz enzim aktivitesi 16. günde maksimuma ulaşırken, DKYA+pamuk sapı ortamında 8. günde maksimuma ulaşmış ve inkübasyonun sonraki günlerinde hızlı bir şekilde düşüşe geçmiştir. *P. sajor-caju* ile distile su ortamında,

sentetik kültür ortamları ile karşılaştırıldığı zaman daha düşük lakkaz aktivitesi elde edilmiştir.

Statik yüzey kültürlerinin sentetik ortamına pamuk sapı ekstraktlarının ilave edilmesinin kuru misel ağırlığını ve fungal gelişmeyi lineer bir şekilde arttırdığı Platt vd. 1983 tarafından bildirilmiştir. Ayrıca, Pleurotus türlerinin, diğer lignoselülozik substratlardan daha hızlı olarak pamuk sapsarı üzerinde geliştiği yapılan bazı çalışmalarda rapor edilmiştir (Kerem ve Hadar, 1993; Platt vd. 1981, 1984). Yaptığımız çalışmada pamuk sapı ilave edilen kültürlerde, fungal gelişmenin belirgin bir biçimde indüklenmesi literatür verileri ile uyum içerisindedir.

Ardon vd. 1996 yapmış olduğu çalışmada, pamuk sapı ekstraktlarını ilave ettikleri kültür ortamlarında lakkaz aktivitesinin belirgin bir şekilde indüklendiğini rapor etmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada da pamuk sapı eklenen ortamlarda lakkaz aktivitesinin belirgin indüksiyonu bu çalışmayı destekler niteliktedir.

Pamuk sapı ekstraktı ilave edilmiş kültür ortamlarında, jel elektroforezi yapıldığı zaman lakkaz aktivitesindeki artışın kalitatif olmadığı ve kantitatif olarak oluştuğu gösterilmiştir. Lakkaz aktivitesindeki artış, hernekadar lakkaz aktivitesi ve fungal gelişme arasında direkt bir korelasyon olmasa da, fenolik bileşenler ve diğer kompleks karbon kaynaklarının kullanılması sonucu oluşabilir. Lakkaz üretimini artıran bir başka muhtemel etken, doğal ortamda mevcut yada funguslar tarafından üretilen toksik bileşenler ve fenolik bileşenlerin detoksifikasyonu olabilir (Ardon vd., 1996; Haars ve Hutterman, 1980).

Ardon vd. (1996)'nin yapmış olduğu çalışmada yalnızca su ortamda da lakkaz üretiminin gerçekleşmesi, distile su ortamında lakkaz aktivitesi belirlememizi desteklemektedir.

Karbon ve azot oranı ayarlanmış kültür ortamlarında gözlenen lakkaz aktivite değişimi farklılıkları, enzimin hem konstitütif ve hemde indüklenabilir olmasından kaynaklanmaktadır .Bollog ve Leonowicz, (1984), Leonowicz veTrajanowski, (1978) enzim aktivitesindeki muhtemel farklılıkların, enzimin bu özelliğinden kaynaklanabileceğini bildirmiştir.

Lakkaz enzimi üretimi aromatik bileşenlerin varlığında artarken, esas olarak düşük glukoz ve yüksek azot konsantrasyonunda indüklenmektedir (Rogalski vd., 1991; Bollag ve Leonowicz, 1984; Trajonowski ve Leon, 1969). hattakka ve Uusi-Rauva (1983), *Trametes versicolor* kültür ortamına glukoz yada selüloz ilavesinin lakkaz üretimini güçlü bir şekilde baskıladığını bildirmiştir.

Bu çalışmada da, *C. versicolor* ile pamuk sapı içeren kültür ortamlarında en yüksek lakkaz enzim aktivitesinin DKYA içeren ortamda elde edilmesi literatür verileri ile uyum içerisindedir. *F. trogii* ve *P. sajor- caju* fungusları da aynı kültür ortamında yüksek lakkaz enzimi üretmiştir.

Lakkaz enzimi üretiminin, primer fazda başladığı ve genellikle 6. ve 8. günlerden sonra düşüşe geçtiği pekçok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmalarda, lakkaz üretiminin lignin yıkımını başlatıcı etken olduğu ve üretimin sekonder faz ile sınırlı olmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmaların tamamında lakkazın primer metabolit olarak sentezlendiği bildirilmiştir (Kerem, 1992; Leonowicz vd., 1978, Reinhammer, 1984).

Bizim çalışmamızda da lakkaz üretiminin primer fazda başlaması ve sekonder faza doğru üretiminin azalması lakkazın primer fazda sentezlenen ve sekonder fazda da üretimi devam eden bir enzim olduğunu göstermektedir ve literatür verileri ile uyum içerisindedir. Çeşitli çalışmalarda ise, lakkaz enziminin sekonder fazda sentezlendiği bildirilmektedir. Sklarz vd., 1989'da, lakkaz aktivitesinin primer fazda gözlemlendiği bildirilmiştir. Sonuçlarımız Sklarz vd., 1989'un çalışmasını desteklemektedir.

Pamuk sapı içermeyen sentetik kültür ortamları, lakkaz üretimleri açısından karşılaştırıldığı zaman ise, DKDA ve DKYA ortamlarında *C. versicolor* ve *F. trogii* ile diğer pamuk sapı içermeyen ortamlara göre daha yüksek enzim aktivitesi belirlenmiştir. *P. sajor-caju* ile pamuk sapı içermeyen kültür ortamlarında çok düşük lakkaz aktivitesi belirlenmiştir.

C. versicolor, *F. trogii* ve *P. sajor-caju* ile pamuk sapı eklenmiş kültür ortamlarında yüksek lakkaz aktivitesinin belirlenmesi, doğal besiyeri ortamlarında da aynı aktivitenin yüksek olabileceği fikrini vermiştir ve çalışmamızın diğer bir kısmında da atık ortamına (ZYFA ve vinas) pamuk sapı eklenerek lakkaz aktivitesi belirlenmiştir.

Bu amaçla farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış ZYFA ve vinas kültür ortamlarına pamuk sapsarı eklenerek ve eklenmeyerek lakkaz aktivitesi günlere bağlı olarak belirlenmiştir. %1, %2.5, %5, %10, %20 ve %30'luk ZYFA konsantrasyonlarında *C. versicolor* ile pamuk sapı eklenmiş kültür ortamlarında, pamuk sapı eklenmemiş ortamlar ile karşılaştırıldığı zaman, oldukça yüksek lakkaz aktivitesi elde edilmiştir (Şekil 3.31 ve 3.32). Pamuk sapı eklenmemiş ZYFA

ortamlarında lakkaz aktivitesi 12. günde maksimuma ulaşmış ve 20. güne kadar artarak devam etmiştir. Pamuk sapı eklenmiş ZYFA ortamlarında ise lakkaz aktivitesi 8. günde maksimuma ulaşmış ve 20. güne kadar aynı aktivite korunmuştur. Lakkaz aktivitesi, atık konsantrasyonunun artışına bağlı olarak yükselmiştir. Bunun sebebi, atığın yapısında bol miktarda bulunan fenolik bileşenlerin ve organik maddelerin lakkaz aktivitesini indüklemesi olabilir. Pamuk sapı içermeyen ortamlarda lakkaz aktivitesini en fazla %10'luk ZYFA konsantrasyonu indüklerken, pamuk sapı içeren ortamlarda lakkaz aktivitesi en fazla %30'luk konsantrasyonda indüklenmiştir.

F. trogii ile farklı konsantrasyonda ZYFA içeren ortamlarda elde edilen lakkaz aktivite değişimleri ise Şekil 3.35 ve 3.36'da verilmiştir. *F. trogii* fungusu ile pamuk sapı eklenmiş ortamlarda, pamuk sapı eklenmemiş ortamlar ile karşılaştırıldığı zaman, yüksek lakkaz aktivitesi elde edildiği gözlenmektedir. Atık konsantrasyonundaki artış ile paralel olarak artan lakkaz aktivitesi ilgi çekicidir.

P. sajor-caju ile, ZYFA'nun farklı konsantrasyonlarında pamuk sapı eklenmiş ve eklenmemiş ortamlarda elde edilen lakkaz aktivite değişimleri ise Şekil 3.39 ve 3.40'da günlere bağlı olarak gösterilmiştir. Bu şekiller incelendiği zaman, pamuk sapı içeren ortamlarda, pamuk sapı içermeyen ortamlara göre lakkaz aktivitesinin belirgin bir şekilde indüklendiği görülmektedir. Atık konsantrasyonundaki artışa paralel olarak meydana gelen enzim aktivitesindeki artış göze çarpmaktadır.

ZYFA besiyerinde, beyaz-çürükçül funguslarla yüksek aktivitede lakkaz enzimi üretildiği yapılan bazı çalışmalarda belirtilmektedir (Vinciguerra vd., 1995; Yeşilada vd., 1996). Atık konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak lakkaz aktivitesinde meydana gelen artışın sebebi, besiyerindeki karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılacak

maddelerin konsantrasyon arttırıldıkça artması ve buna bağlı olarak hızlı üreme ve ayrıca besiyerinde bulunan polimer şekerler ve fenoller olabilir. ZYFA'nun yapısında bulunan fenoller, lakkaz aktivitesinin indükleyicisi olarak rol oynayabilirler (Yeşilada vd., 1996). yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar bu çalışmaları destekler niteliktedir.

Bu çalışmada herhangi bir ek kaynak eklenmeden sadece atık +pamuk sapı içeren ortamlarda yüksek enzim aktivitesinin elde edilmesi, lakkaz gibi uygulanabilirlik alanı yüksek olan bir enzimin üretiminin sağlanması açısından önemlidir. Reid ve Paice (1994) ve Paice vd., (1995), saf lakkaz enzimi kullanılarak kraft hamurunun demetileze edilebileceğini ve ağartılabileceğini bildirmiştir. Yine, enzim immuno analizlerinde saf lakkaz enzimi kullanılarak lakkaz-temelli biyosensörler ve organik materyaller üretilebileceği de bildirilmektedir (Yoropolov vd., 1994). Lakkaz enzimi kullanılarak, lignin ile ilgili bileşenlerin transformasyonu ve poliklorinefenoller ve guaiakollerin birçoğunun deklorasyonu da mümkündür (Roy-Archand ve Archibald, 1991; Milstein vd., 1993).

C. versicolor, *F. trogii* ve *P. sajor-caju* ile değişik konsantrasyonlarda vinas ortamlarında pamuk sapı eklenerek ve eklenmeyerek yapılan çalışmalarda elde edilen lakkaz aktivite değişimleri ise Şekil 3.33, 34, 37, 38, 41 ve 42'de verilmiştir. Bu şekilleri incelediğimiz zaman, bütün funguslar tarafından üretilen lakkaz aktivitesinin pamuk sapı eklenmiş ortamlarda indüklendiği görülmektedir. Ayrıca, vinas konsantrasyonlarındaki artışa paralel olarak lakkaz aktivitesinde de artış görülmektedir. Lakkaz enzimi üretimi genellikle primer fazda başlamakta ve 20. güne kadar artarak devam etmektedir. Sadece *P. sajor-caju*'da, pamuk sapı eklenmiş vinas

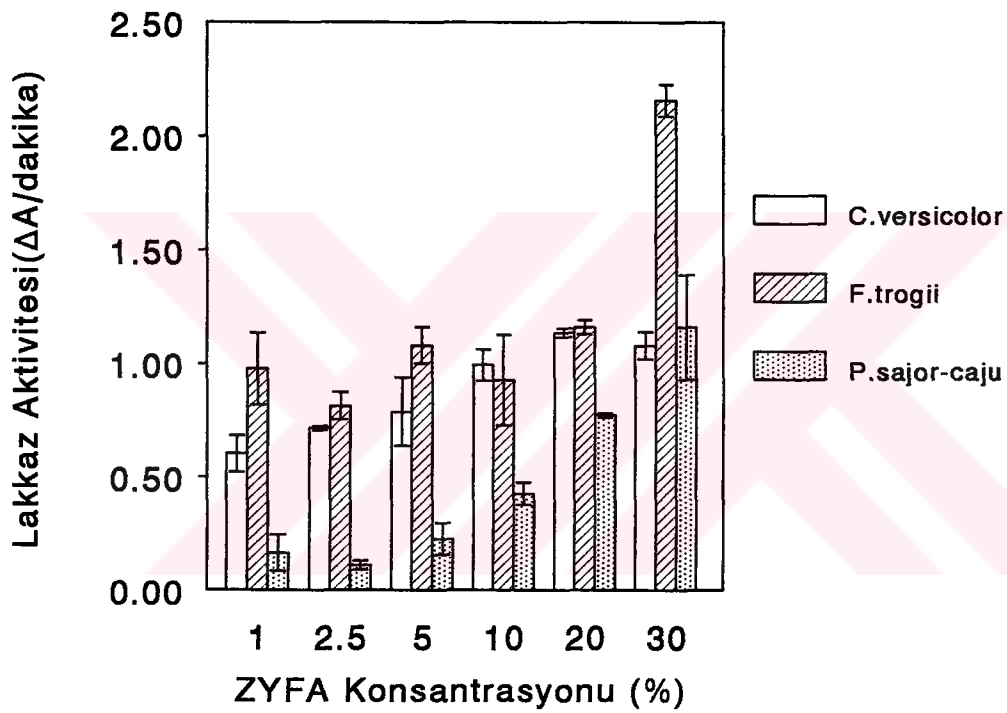
ortamlarında enzim aktivitesi 12. günde maksimuma ulaşmış ve 16. günden sonra düşüşe geçmiştir. *C. versicolor* ve *F. trogii* ile lakkaz aktivitesi 20. güne kadar korunmuş ve yüksek düzeyde enzim üretimi gerçekleşmiştir.

Vinasın rengini oluşturan maddenin, doğada sıklıkla rastlanan ve mikroorganizmalar tarafından yıkılması zor bir polimer olan, bir tür melanoidin olduğu bildirilmektedir (Ohmomo vd., 1988; Sirianuntapiboon vd., 1988). Çalışmamız sırasında, yüksek oranda lakkaz salınması, bu enzimin melanoidin biyodegradasyonundan kısmen sorumlu olabileceğini göstermektedir. Melanoidin, hümik asite yüksek oranda benzerlik göstermektedir ve bilindiği gibi hümik asit degradasyonunda, lignin degradasyonundan sorumlu olan sistemlerin bir kısmının veya tümünün rol aldığı bildirilmektedir (Blondeau, 1989). Atık konsantrasyonundaki artışa paralel olarak artan lakkaz aktivitesi, bu substrat tarafından enzimin indüklendiğini düşündürmektedir.

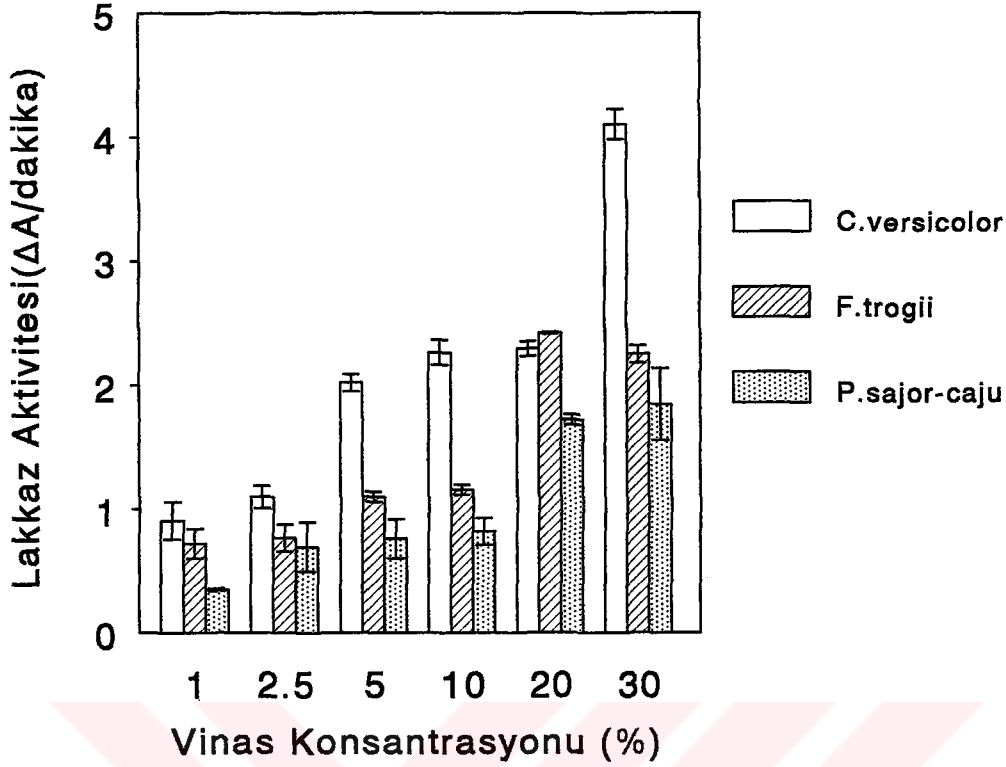
ZYFA ve vinas ortamlarında oldukça yüksek lakkaz aktivitesi oluşması endüstriyel amaçlı enzim üretimi çalışmaları için bir avantaj sağlayacaktır kanısındayız. *C. versicolor*, *F. trogii* ve *P. sajor-caju* funguslarını pamuk sapı eklenen ZYFA ve vinas ortamlarında enzim üretim kapasitelerine göre karşılaştırdığımız zaman ise en yüksek aktivitenin ZYFA ortamlarında *F. trogii* ile vinas ortamlarında ise *C. versicolor* ile elde edildiği görülmektedir. Buda bu amaçla yürütülecek çalışmalarda farklı beyaz çürükçül fungusların aktivitelerinin test edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Şekil 4.1'de farklı konsantrasyonlarda ZYFA içeren kültür ortamlarına pamuk sapı eklendiği zaman *C. versicolor*, *F. trogii* ve *P. sajor-caju* ile elde edilen

maksimum lakkaz aktivite değerleri karşılaştırılmıştır. Şekil 4.2'de ise farklı konsantrasyonlarda vinas içeren kültür ortamlarına pamuk sapı eklendiği zaman *C. versicolor*, *F. trogii* ve *P. sajor-caju* ile elde edilen maksimum lakkaz aktivite değerleri karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.1 Pamuk sapı eklenmiş farklı konsantrasyonlardaki ZYFA kültür ortamlarında, funguslar ile elde edilen maksimum lakkaz aktivite değişimleri



Şekil 4.2 Pamuk sapı eklenmiş farklı konsantrasyonlardaki vinas kültür ortamlarında, funguslar ile elde edilen maksimum lakkaz aktivite değişimleri

Sentetik kültür ortamları ve doğal besiyerleri lakkaz üretimleri bakımından karşılaştırıldığı zaman, hem vinas ve hemde ZYFA kültür ortamlarının lakkaz üretimini sentetik kültür ortamlarına göre daha fazla indüklediği saptanmıştır. Özellikle pamuk sapı eklenmiş ortamlar karşılaştırıldığı zaman, doğal kültür ortamlarının lakkaz aktivitesini belirgin bir şekilde indüklediği gözlenmektedir. Buda endüstriyel amaçlı lakkaz üretimi çalışmalarında oldukça önemli bir ekonomik kazanç sağlayacaktır kanısındayız. Ayrıca atıkların kullanım alanının genişlemesi ve değerlendirilmesi ise çalışmanın bir diğer avantajlı yönüdür.

C. versicolor ile değişik oranlarda karbon ve azot kaynağı eklenmiş sentetik kültür ortamlarında pamuk sapı eklenerek ve eklenmeyerek günlere bağlı olarak

selülaaz aktivitesi belirlenmiş ve bu aktivite distile su ortamı ile karşılaştırılarak Şekil 3. 5 ve 3. 6'da verilmiştir. Bu şekiller incelendiği zaman, *C. versicolor*'da YKYA+pamuk sapı ortamının 4. günde selülaaz aktivitesini en fazla indükleyen ortam olduğu görülmektedir. Bu aktivite 8. günde azalmakta ve 20. güne kadar azalış devam etmektedir. Fakat pamuk sapı eklenmemiş YKYA ortamındaki yüksek selülaaz aktivitesi 12. gündeki ufak bir düşüş gözardı edilirse 16. güne kadar korunmuştur.

F. trogii ile farklı sentetik kültür ortamlarında elde edilen selülaaz aktivite değerleri karşılaştırıldığı zaman ise, 4. günde YKYA ve distile su+ pamuk sapı içeren ortamlarda benzer düzeyde enzim aktivite değerleri elde edilmiş ve aktivitede inkübasyonun son günlerinde azalma olmuştur. DKYA+pamuk sapı ortamında ise 8. günde maksimum değere ulaşan selülaaz aktivitesi elde saptanmıştır (Şekil 3. 13 ve 3. 14).

P. sajor-caju ile farklı sentetik ortamlarda elde edilen selülaaz aktiviteleri karşılaştırıldığı zaman, DKDA ortamında 4. günde oldukça yüksek bir selülaaz aktivitesi elde edilirken sonraki günlerde aktivitede bir azalış gözlenmiştir. *P. sajor-caju* ile DKYA+ pamuk sapı ve YKDA+pamuk sapı ortamlarında , diğer sentetik ortamlar ile karşılaştırdığımız zaman yüksek selülaaz aktivitesi saptanmıştır. Ancak YKDA+pamuk sapı ortamında en yüksek aktivite 4. günde elde edilirken, DKYA+pamuk sapı ortamında en yüksek aktivite 12. günde saptanmıştır (şekil 3. 21 ve 3. 22).

P. chrysosporium ile sentetik kültür ortamlarında elde edilen selülaaz aktivite değerlerini karşılaştırdığımız zaman ise, en yüksek selülaaz aktivitesi DKDA+pamuk sapı ortamında 12. günde elde edilmiştir. Bu ortamdan sonra, en fazla selülaaz üretimini

indükleyen ortam DKYA+pamuk sapı ortamıdır. YKYA+pamuk sapı ortamında ise 4. günde yüksek bir selüloz aktivitesi elde edilmiş fakat sonraki günlerde aktivite hızla azalışa geçmiştir (Şekil 3. 27 ve 3. 28).

Selülozun enzimatik yıkımı, en azından üç enzimin sinerjistik aktivitesine ihtiyaç duymaktadır. Bu üç enzim; Endoglukanaz (EC 3.2. 1.4), sellobiyohidrolaz (EC 3.2.1.91) ve β - glukosidaz (EC 3.2.1.21)'dir. Bu enzim kompleksinin en iyi indüktörü selülozdur ve selülozdan sonra laktoz, sellobiyoz ve sophoroz'dur (Taj-Aldeen, 1993).

P. chrysosporium'da selüloz enzim kompleksi, adaptivdir ve karbon katobolit baskılamasına duyarlıdır. Selülozun yıkımı, direkt olarak kültür ortamındaki glukoz-sellobiyoz oranına ve glukozun ilave edilen miktarına bağlı olarak değişmektedir (Szabo vd.,1996). Bu çalışmada, sentetik kültür ortamlarının farklı karbon (glukoz) içeriklerinin ve ortama eklenen pamuk saplarının selüloz enziminin üretimine olan etkisi test edilmiştir. Sonuçlarımız göstermektedir ki, yüksek karbon içeren ortamlarda (*C. versicolor* hariç) düşük karbon içeren ortamlara göre daha düşük selüloz aktivitesi elde edilmiştir. Bu sonuç, yüksek selüloz aktivitesinin devamlılığı için glukoz seviyesinin düşük olmasını bildiren literatür verilerini desteklemektedir (Szabo vd., 1996).

Pamuk sapı eklenen kültür ortamlarında çoğunlukla selüloz aktivitesi indüklenmiştir. Selülozun, selüloz enzim kompleksi için en iyi indüktör olmasından kaynaklanan bu indüksiyonu gözlememiz, literatür verileri ile uyumludur. Ancak bazı ortamlarda, pamuk sapı eklenmemiş ortam ile pamuk sapı eklenmiş ortam karşılaştırıldığı zaman, pamuk sapı eklenmeyen ortamlarda daha yüksek selüloz

aktivitesi belirlenmiştir. Bunun sebebi, inkübasyon esnasında salgılanan selülazın oduna tutunması (adsorbsiyonu) olabilir. Szabo vd., (1996) aynı etkinin oluşmasından dolayı selülaz kaybı olabileceğini bildirmiştir.

Maksimum selülaz aktivitelerini, inkübasyonun ilk günlerinde (4. ve 8.) elde etmemiz, Platt vd. (1984) çalışmasını desteklemektedir. Bu çalışmada, inkübasyonun erken safhalarında selüloz giderimi hızlı olurken, 6-8. günlerden sonra aktivitede azalma başladığı bildirilmiştir.

Selülaz enzim kompleksini oluşturan, Endoglukanaz ve sellobiyohidrolaz, sellobiyoz konsantrasyonunun artırılmasıyla inhibe edilirken, β -glukosidaz glukoz fazlalığına daha fazla duyarlıdır (Ramos vd., 1993). Yüksek karbon içeren ortamlarda selülaz enziminin inhibe olmasının bir sebebi de, enzim aktivitesi sonucu oluşan bazı son ürünlerin (glukoz ve sellobiyoz gibi) ortamda birikmesi olabilir. Yapılan bir başka çalışmada da, glukoz ve ksiloz gibi basit şekerlerin selülaz üretimini fazla indüklediği ancak laktoz veya diğer selüloolitik indüktörlerin aktiviteyi arttırdığı bildirilmiştir (Warzywoda vd., 1992).

Karbon-azot oranı değiştirilmiş sentetik kültür ortamlarında *C. versicolor* ile elde edilen ksilanaz aktivite değişimi şekil 3. 7 ve 3. 8'de verilmiştir. Şekiller incelendiği zaman, DKYA+pamuk sapı ve DKDA+pamuk sapı ortamlarında ksilanaz aktivitesinin belirgin bir şekilde indüklendiği görülmektedir. Bu iki ortamı takiben oluşan en yüksek ksilanaz aktivitesinin distile su+pamuk sapı ortamında oluşması, düşük karbon içeriğinin ksilanaz aktivitesini indükleyen bir ortam olduğunu göstermektedir. Ksilanaz aktivitesi, inkübasyonun sonlarına doğru yani 12. günden sonra maksimuma ulaşmıştır.

F. trogii ile farklı içeriklerde hazırlanmış sentetik kültür ortamlarında saptanan ksilanaz aktivitelerini karşılaştırdığımız zaman ise yine en yüksek aktivitenin DKYA+pamuk sapı ortamında meydana geldiğini ve bu ortamı takiben DKDA+pamuk sapı ve distile su+pamuk sapı ortamlarında yüksek ksilanaz aktivitelerinin elde edildiği görülmektedir (Şekil 3. 15 ve 3. 16). *F. trogii*'de DKYA+pamuk sapı ortamında, ksilanaz aktivitesinin 4. ve 8. günlerde maksimuma ulaşması, *C. versicolor*'dan farklı bir durum olarak ortaya çıkmıştır. *F. trogii*'de ksilanaz aktivitesi ortamın azot içeriğinden fazla etkilenmeden, direkt olarak düşük karbon konsantrasyonunda ve pamuk sapı varlığında indüklenmiştir.

P. sajor-caju ile sentetik kültür ortamlarında saptanan ksilanaz aktivite değişimlerini karşılaştırdığımız zaman ise, yine DKYA+pamuk sapı ortamında en yüksek ksilanaz aktivitesi elde edilmiştir (Şekil 3. 23 ve 3. 24). *P. sajor-caju*'da DKYA ortamına pamuk sapı eklenmediği zaman yine aktivitenin yüksek çıkması ilgi çekicidir. Aynı şekilde YKDA ortamında da, *P. sajor-caju*'da ksilanaz aktivitesi, YKDA+pamuk sapı ortamına göre daha yüksek elde edilmiştir. DKDA, YKYA ve distile su ortamlarında ise ortama pamuk sapı eklenmesi ksilanaz aktivitesini belirgin bir şekilde arttırmıştır. *P. sajor-caju*'da ksilanaz aktiviteleri inkübasyonun ilk periyodunda maksimuma ulaşmış ve sonraki günlerde azalışa geçmiştir.

P. chryso sporium ile sentetik kültür ortamlarında saptanan ksilanaz aktivite değişimleri karşılaştırıldığı zaman, DKDA+pamuk sapı ve distile su+pamuk sapı ortamlarında en yüksek değerlere ulaşıldığı gözlenmektedir (Şekil 3. 29 ve 3. 30). *P. chryso sporium*'da ksilanaz aktivitesinin düşük karbon konsantrasyonunda belirgin bir şekilde indüklendiği ve bu indüksiyonu pamuk saplarının arttırdığı görülmektedir.

Ortamin azot konsantrasyonunun ise ksilanaz aktivitesi üzerine fazla bir etkisi olmadığı şekiller incelendiği zaman açıkça görülmektedir.

Funguslar tarafından lignin ve selüloz yıkım metabolizmasının düzenlenmesi, odunun diğer önemli bir bileşeni olan hemiselülozun yıkımı ile de yakından ilgilidir. Yapılan çalışmalar odun yıkıcı fungusların çoğunun hemiselüloz fraksiyonlarını selüloza tercih ettiğini göstermektedir (Blanchette, 1984; Blanchette ve Reid, 1986). Bunun nedeni, odun hemiselülozünün amorf yapısının, selülozun kristal yapısına göre daha kolay depolimerize edilebilmesidir (Reid ve Deschamp, 1991; Blanchette ve Reid, 1986).

Odun hemiselülozünün en önemli bileşeni olan ksilan, selülozdan sonra doğada en çok yenilenen polisakkarittir (Monti vd., 1991). Bu nedenle, çalışmamızda ksinitik sistemin bir üyesi olan ksilanaz aktivitesindeki değişimler ve bazı kültür koşullarının enzim aktivitesine olan etkileri test edilmiştir. Burada en önemli amaç, ksinitik aktivitenin lignin ve selülozun biyolojik yıkım süreci sırasında değişimini saptamaktır.

Sonuçlarımız, ksilanaz aktivitesinin *C. versicolor* hariç genellikle ilk 8 gün içerisinde maksimuma ulaştığını ve bu günleri izleyen günlerde aktivite de düşme olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlarımız literatür verileri ile uygunluk göstermektedir (Copa-Patino vd., 1993; Monti vd., 1991; Lee vd., 1993).

Özgül selülitik enzimler ile, hemiselülitik aktivitenin artması arasında pozitif sinerjistik bir ilişki olduğu yapılan bir çalışmada belirtilmiştir (Warzywoda vd., 1992). Bizim çalışmamızda da, selüloz ve ksilanaz enzim aktivitelerinin hemen hemen

aynı günlerde maksimuma ulaşması bu ilişkinin olduğunu savunan çalışmayı desteklemektedir.

Ksilanaz aktivitesinin hintkeneviri sapları ilave edilen kültür ortamlarında artış gösterdiği Ghosh ve Nanda (1993) tarafından bildirilmiştir. Ancak, aynı çalışmada hintkeneviri saplarının kültür ortamına ilave edilen miktarı arttıkça, kültür süpernatantındaki ekstraselüler toplam protein miktarında arttığı için ksilanaz aktivitesinde azalma gözlenmiştir. %1 konsantrasyondaki odunsu madde ilavesi, ksilanaz aktivitesini maksimum olarak indüklemekte ve daha fazlası aktiviteyi baskılamaktadır. Yürüttüğümüz çalışmada da, düşük karbon içeren ortamlarda pamuk sapı ilavesi ile ksilanaz aktivitesinin daha belirgin bir biçimde indüklenmesi ve yüksek karbon içeren ortamlarda pamuk sapı ilavesinin ksilanaz aktivitesini baskılaması bu sonuçları desteklemektedir.

Dört farklı beyaz çürükçül fungus ile farklı kültür ortamlarında günlere bağlı olarak pamuk sapı eklenmiş ve eklenmemiş kültür ortamlarında amilaz aktivitesinde belirlenmiştir. *C. versicolor* ile farklı kültür ortamlarında yürütülen çalışmada, yüksek amilaz aktivite değerleri elde edilmiştir. Bu çalışmada, amilaz aktivitesi ortamda pamuk sapları olsun veya olmasın, en fazla düşük karbon ortamlarında indüklenirken, azot içeriğinin amilaz aktivitesinin açığa çıkmasında direkt bir etkisinin söz konusu olmadığı şekiller incelendiği zaman anlaşılmaktadır (Şekil 3. 3 ve 3. 4). YKYA ortamı hariç diğer kültür ortamlarında, amilaz aktiviteleri inkübasyonun ilk periyodunda açığa çıkarken, bu ortamda 16. ve 20. günlerde maksimuma ulaşmıştır. Pamuk sapı eklenmesi tüm ortamlarda amilaz aktivitesini pamuk sapı içermeyen ortamlara göre hafifçe artırmıştır.

F. trogii ile yapılan çalışmada ise, yine düşük karbon ortamları amilaz aktivitesini indüklerken, yüksek karbon içeren kültür ortamlarında benzer düzeyde enzim aktiviteleri elde edilmiştir. Yüksek karbon içeren kültür ortamlarında, enzim aktivitesi inkübasyonun ilk günlerinde maksimuma ulaşırken, düşük karbon kültür ortamlarında inkübasyonun sonlarına doğru maksimum aktivite değerleri elde edilmiştir. *F. trogii*'de kültür ortamlarına pamuk saplarının eklenmesi amilaz aktivitesini pamuk sapı içermeyen ortamlara göre nispeten indüklemiştir (Şekil 3. 11 ve 3. 12).

P. sajor- caju ile yürütülen çalışmada ise, farklı kültür ortamlarında birbirine yakın amilaz aktivite değerleri elde edilmiştir. Aynı şekilde, kültür ortamlarına pamuk sapı eklenmesi ile amilaz aktivitesi azda olsa indüklenmiş ve aktiviteler inkübasyon periyodunun sonuna kadar aynı seviyede korunmuştur (Şekil 3. 19 ve 3. 20).

P. chrysosporium ile yürütülen çalışmada ise, pamuk sapı eklenen kültür ortamlarında amilaz aktivitesinin baskılanması ilgi çekicidir. Amilaz aktiviteleri diğer funguslarda olduğu gibi inkübasyonun ilk periyodunda maksimuma ulaşmış ve sonraki günlerde azalışa geçmiştir (Şekil 3. 25 ve 3. 26). Amilaz aktivitesinin tüm funguslarda inkübasyon süresince primer metabolit olarak salgılandığı görülmektedir. Aynı zamanda, pamuk sapı eklenmesi sonucu, kültürlerde amilaz aktivitesi pek fazla indüklenmemiş ve hatta *P. chrysosporium* kültürlerinde baskılanmıştır.

ZYFA ve vinas endüstriyel atıkları, fungus üretimi sırasında enzim üretimini indükleyebilmek amacıyla doğal besiyeri olarak kullanılmıştır. Bu süreç esnasında, doğal besiyerlerinin de sentetik ortamlar kadar hatta daha fazla enzim aktivitesini indüklediği tespit edilmiştir.

Çalışmanın diğer bir kısmında, fungusların bu atıkların arıtımında kullanılabilirlikleri araştırılmıştır. Bu amaçla öncelikle atıkların içerikleri analiz edilmiştir. Tablo 3.2'de ZYFA ve vinasın içerikleri verilmiştir. Bu tablo incelendiği zaman, her iki atığında, yüksek kirlilik değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Bu formdaki atıkların, doğaya direkt olarak verilmesi durumunda, doğayı çok hızlı bir şekilde kirlilettiği kaçınılmazdır. Şu anda, Türkiye'de birçok fabrika atıklarını herhangi bir arıtım işleminden geçirmeden alıcı ortama vermektedirler. Önemli olan nokta, bu atıkların arıtım değerlendirme işlemlerinden geçtikten sonra ve atık deşarj kriterlerine uyularak alıcı ortama verilmesidir. Bizim çalışmamızda ise atıkların besiyeri olarak kullanılma sürecinde hem değerlendirilmesi ve hemde oluşacak biyolojik yıkım ile atığın kirlilik ile ilgili parametrelerinin doğaya zarar vermeyecek seviyeye indirilmesi hedeflenmiştir.

Çalışmalarımız sırasında, atıklar pamuk sapı içerecek ve içermeyecek şekilde farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış ve funguslar ile inkübasyona tabi tutulmuştur. Statik olarak yürütülen bu çalışmalar sırasında, atıklarda yüksek biyolojik yıkım değerleri elde edilmiştir.

C. versicolor, *F. trogii*, *P. sajor-caju* ve *P. chrysosporium* ile pamuk sapı içeren atık kültür ortamlarında yürütülen çalışmalarda pamuk sapı eklenmemiş ortamlara göre daha yüksek biyolojik giderim değerleri elde edilmiştir. Bu ortamlarda, ayrıca yüksek biyokütle değerlerine ulaşılması biyokütlenin de değerlendirilebileceği fikrini vermektedir. Elde edilen bu biyokütlenin, herhangi bir zararlı etkisi olmadan hayvan besini olarak kullanılabileceği Hamdi vd., 1991 tarafından bildirilmiştir. Hernekadar, bu besiyerlerinde üretilen fungusların hayvan besini olarak herhangi bir

olumsuz etkisi olmadığı ifade ediliyorsa da, bu fungusların hayvan besini olarak katkı maddesi olarak kullanılmadan önce, amino asit analizleri, nükleik asit analizleri ve toksikoloji testleri gibi protein kaynağı olarak değerlendirilebilecek katkı maddeleri için gerekli olan testler yapılmalıdır. Bu çalışmanın bu açıdan yol gösterici olacağı düşünülmektedir.

C. versicolor, *F. trogii*, *P. sajor-caju* ve *P. chrysosporium* ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış ZYFA ve vinas ortamlarında elde edilen KOİ giderim aktiviteleri pamuk sapı içeren ve içermeyen ortamlarda karşılaştırıldığı zaman; pamuk sapı eklenen kültür ortamlarında genellikle daha yüksek KOİ giderim değerlerine ulaşıldığı gözlenmektedir. KOİ gideriminin daha yüksek olarak açığa çıkmasının sebebi, eklenen pamuk saplarının fungus için üreme yüzeyi oluşturarak KOİ giderim aktivitesini artırması olabilir. Özellikle *F. trogii*'de pamuk sapı içeren ortamlarda, pamuk sapı içermeyen ortamlara göre oldukça yüksek KOİ giderimi sağlanmıştır. Atık konsantrasyonuna bağlı olarak, KOİ gideriminde farklılıklar açığa çıkmıştır. *C. versicolor* ile en yüksek giderim her iki atık için %20'lik konsantrasyonda, *F. trogii* ile en yüksek giderim her iki atık için %30'luk konsantrasyonda, *P. sajor-caju* ile ZYFA ortamında %20'lik konsantrasyonda, vinas ortamında %30'luk konsantrasyonda, *P. chrysosporium* için ise, her iki atık için %30'luk konsantrasyonda en yüksek KOİ giderimi elde edilmiştir.

ZYFA'da çok yüksek miktarda fenol bulunduğundan (Yeşilada vd., 1998), fungusların bu ortamdan fenol giderim verimi de ayrıca araştırılmıştır. Fungusların fenol giderim aktiviteleri incelendiği zaman, atık kültür ortamlarına pamuk sapı eklenmesi sonucu tüm funguslarda fenol gideriminin baskılandığı ve pamuk sapı

içermeyen ortamlarda daha yüksek fenol gideriminin olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni ise, funguslar tarafından üretilen ekstraselüler odun yıkıcı enzimlerin etkisi ile (lakkaz gibi) odunun yapısında bulunan aromatik fenolik bileşenlerin kültür ortamına geçmesi ve ortamın fenol içeriğini arttırması olabilir.

ZYFA ve vinas kültür ortamlarında meydana gelen renk giderimleri de dört fungus ile işlem görmüş atıklarda günlere bağlı olarak belirlenmiştir. Pamuk sapı eklenmiş bütün kültür ortamlarında, renk giderimi belirgin bir şekilde indüklenmiştir. Atık konsantrasyonuna paralel olarak renk gideriminde meydana gelen artış dikkat çekicidir. %10, %20 ve %30'luk konsantrasyonlarda meydana gelen biyolojik yıkım değerleri karşılaştırıldığı zaman, biyokütle miktarındaki artış ve meydana gelen yüksek biyolojik yıkımlar atık konsantrasyonundaki artışa paralel olarak genellikle artmıştır.

Martirani vd., 1996, *P. ostreatus*'u yalnızca %20'lik ZYFA'da üretebildiklerini bildirmiştir. Bu araştırmacılar %10'luk atıksu kullandıkları çalışmada %90 fenol ve %55'e yakın renk giderimine ulaşmışlardır. Ayrıca *P. chrysosporium* ile yürütülen bir çalışmada, atık suyun sulandırım oranının artması ile KOİ ve renk gideriminin de artacağı bildirilmiştir (Sayadi ve Ellouz, 1995). Ancak bizim yaptığımız çalışmada, atıkların içeriğindeki küçük artış oranlarının üremeyi indükleyici etki göstermesinden dolayı, biyolojik yıkım değerleri de konsantrasyondaki artışa paralel olarak artmıştır. Bunun nedeni, besiyerindeki karbon ve azot kaynağı olarak kullanılacak maddelerin, atık konsantrasyonuna bağlı olarak artması olabilir.

Dört beyaz çürükçül fungusun biyolojik yıkım aktiviteleri (KOİ, fenol ve renk giderimi) bakımından karşılaştırıldığı zaman, *C. versicolor* ve *F. trogii* yüksek biyolojik yıkım aktivitesi göstermiştir. Çalışmalarımız sırasında atıklara herhangi bir ek

kaynak eklenmeden yüksek biyolojik yıkım değerlerine ulaşılabilmesi çok önemlidir. Çünkü farklı araştırmacıların çalışmalarında, besiyerine giderim için ek kaynak eklenmesinin mutlaka gerekli olduğu bildirilmiştir (Sanjust vd., 1991). Ayrıca, bu atık ortamlarına tarımsal bir atık olan pamuk sapları eklendiği zaman daha yüksek giderim elde edilmesi hem pamuk saplarının değerlendirilmesi ve hemde atıkların biyolojik yıkımının arttırılması bakımından önemli olacaktır kanısındayız.

Çalışmamız sonucunda;

- 1- Pamuk saplarının alternatif bir kağıt hamuru hammaddesi olarak düşünülmesi gerektiğini,
- 2- Pamuk sapı eklenmesinin lakkaz üretimini indüklediğini, bunun özellikle çevre biyoteknolojisi açısından çok önemli olduğunu,
- 3- Kağıt hamuru üretiminde endüstriyel atıkların en azından lignin giderimi için, indükleyici olarak düşünülmesi gerektiğini ,
- 4- Besiyeri olarak kullandığımız endüstriyel atıklarla yüksek lakkaz aktivitelerine ulaşılacağı ve pamuk sapı eklenmesinin lakkaz üretimini yüksek miktarda indüklediğini,
- 5- Pamuk sapı + endüstriyel atık besiyerlerinde bazı funguslarla yüksek arıtım değerlerine ulaşabildiğini söyleyebiliriz.

Bu çalışmanın bu açılardan bundan sonra yapılacak çalışmalara bilimsel bir temel oluşturacağı inancındayız.

KAYNAKLAR

Abdel-Naby, M. A., : Immobilization of *Aspergillus niger* NRC 107 Xylanase And β -Xylosidase And Properties of The Immobilized Enzymes, Appl. Biochem. And Biotechnol. 138, 69-81. (1993)

Aksöz, N., Aksöz, E., Cihangir, N., : Bazı Gıda Endüstrisi Atık ve Artıklarını Kullanarak *Giberella fujikori*'den Giberillik Asit Üretimi, Doğa Türk Biyoloji Dergisi. 15:1, 34-36. (1991)

Algur, F. Ö., Kadioğlu, A., : Şlempenin (Vinas) Çeşitli Bitki Tohumlarının Çimlenmesine Etkileri, Doğa Türk Botanik Dergisi. 13:2, 117-123. (1989)

Ander, P., Eriksson, K. E., . The Importance of Phenol-Oxidase Activity in Lignin Degradation by The White Rot Fungus *Sporotrichum pulverulentum*, Arch. Microbiol., 109, 1-8. (1976)

Ardon, O., Kerem, Z., Hadar, Y., : Enhancement of Laccase Activity in Liquid Cultures of The Ligninolytic Fungus *Pleurotus ostreatus* by Cotton Stalk Extract, Jour. of Biotechnol. 51, 201-207. (1996)

Asada, Y., Miyabe, M., Kikkawa, M., Kuwahara, M., : An Extracellular NADH-Oxidising Peroxidase Produced by A Lignin-Degrading Basidiomycete, *Phanerochaete chrysosporium*, J. Ferment. Technol. 65:4, 483-487. (1987)

Bajpai, P., Bhardwaj, N. K., Bajpai, P. K., Jauhari, M. B., : The Impact of Xylanases on Bleaching of Eucalyptus Kraft Pulp, Journal of Biotechnol. 38, 1-6. (1994)

Balasubramanya, R. H., Pai, Y. D., Shaikh, A. J., Khandeparker, V. G., : Biological Softening of Spent Cotton Stalks For The Preparation of Pulp, Biological Wastes. 30, 317-320. (1989)

Blanchette, R. A., Reid, I. D., : Ultrastructural Aspects of Wood Delignification by *Phlebia (Merulius) tremellosus*, Appl. Environ. Microbiol. 52, 239-245. (1986)

Blondeau, R., : Biodegradation of Natural And Synthetic Humic Acids by The White Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium*, Appl. Environ. Microbiol. 55:5, 1282-1285. (1989)

Bollag, J. H., Leonowicz, A., : Comparative Studies of Extracellular Fungal Laccases, Appl. And Environ. Microbiol. 48:4, 849-854. (1984)

Bostancı, Ş., : Kağıt Hamuru Üretimi ve Ağartma Teknolojisi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fak. Yayın No: 13, 350. (1987)

Bourbonnais, R., Paice, M. G., : Oxidation of Non-Phenolic Substrates: An Expanded Role For Laccase in Lignin Biodegradation, FEBS Lett. 267, 99-102. (1990)

Cabrera, F., Toca, G. C., Diaz, E., Arambarri, D. E. P., : Acid Mine-Water And Agricultural Pollution in a River Slurting The Donana National Park (Guardiamar, South West Spain), Water Res. 18:12, 1469-1482 (1994)

Camarero, S., Böckle, B., Martinez, M. J., Martinez, A., : Manganese- Mediated Lignin Degradation by *Pleurotus pulmonarius*. Appl. And Environ. Microbiol. 62:3, 1070-1072. (1996)

Cancel, A. M., Orth, A. B., Tien, M., : Lignin And Veratryl Alcohol Are Not Inducers of The Ligninolytic System of *Phanerochaete chrysosporium*, Appl. And Environ. Microbiol. 59:9, 2909-2913. (1993)

Copa-Patino, J. L., Kim, Y. G., Broda, P., : Production And Initial Characterization of The Xylan-Degrading System of *Phanerochaete chrysosporium*, Appl. Microbiol. Biotechnol. 40, 69-76. (1993)

Crawford, R. L., Crawford, D. L., :Recent Advances in Studies of The Mechanism of Microbial Degradation of Lignins, Enzyme Microb. Technol. 6, 434-442. (1984)

Cui, F., Dolphin, D., : Veratryl Alcohol As A Mediator in lignin Model Compound Biodegradation, Holzforschung. 45, 31-35. (1991)

Çetin, E. T., : Endüstriyel Mikrobiyoloji, İstanbul Üniv. Tıp Fakültesi Vakfı, BAYDA Yayın No:2 418. (1983)

Çevre Sorunları (TOBB); Ekonomik ve Sosyal Sorunlar Çözüm-Öneriler Dizisi-1
Syf:2 (1991)

Eriksson, K. E., Valender, L., :Biomechanical Pulping in Lignin Biodegradation, Microbiology Chemistry and Applications. CRC. Press. Inc. (1980)

Eriksson, K.E., : Advances in Microbial Delignification, Biotech. Adv. 2, 149-160. (1984)

Eriksson, K. E., Paterson, B., Vole, J., Musilek, V., : Formation And Partial Characterization of Glucose -2- Oxidase a Hydrogen Peroxide Producing Enzyme in *Phanerochaete chrysosporium*, Appl. Microbiol. Biotechnol. 23, 257-262. (1986)

Evans, C. S., : Lignin Degradation , Process Biochemistry. 102-105. (1987)

Evans, C. S., : Enzymes of Lignin Degradation , Chapter 9. Biodegradation. Ed. Betts. W. B. pg:175-184. (1991)

Fähraeus, G., : Aromatic Compounds As Growth Substances For Laccase Producing Rot Fungi, *Physiol. Plant.* 15, 572-579. (1962)

Faison, B. D., Kirk, T. K., : Factors Involved in The regulation of a Ligninase Activity in *Phanerochaete chrysosporium*, *Appl. And Environ. Microbiol.* 49:2, 299-304. (1985)

Garcia, S., Latge, P. J., Prevost, C. M., Leisola, M., : Wood Degradation by White Rot Fungi , Cytochemical Studies Using Lignin Peroxidase-Immunoglobulin -Gold Complexes. *Appl. Environ. Microbiol.* 53, 2384-2387. (1987)

Ghosh, M., Nanda, G., : High Activity Xylanase From *Aspergillus sydowii* MG49 During Growth on Jute Stalk Lignocellulose, *Lett. Appl. Microbiol.* 17, 68-71. (1993)

Gold, M. H., Alic, M., : Molecular Biology of The Lignin- degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*, *Microbiological Reviews*, 57;3, 605-622 (1993)

Gonzales, D. M., Moreno, E., Sarmiento, Q. J., Cormenzana, R. A., : Studies ON Antibacterial Activity of Wastewater From Olive Oil Mills (Alpechin): Inhibitory Activity of Phenolic and Fatty Acids, *Chemosphere.* 20, 423-432. (1990)

Gök, S., : Arpa ve Buğday Samanının Sindiriminin Artırılması Üzerine Araştırmalar, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. Ankara (1985)

Haars, A., Huttermann, A., : Function of Laccase in The White Rot Fungus *Fomes annosus*, *Arch. Microbiol.* 125, 233-237. (1986)

Hamdi, M., Kahdir, A., Garcia, L. J., : The Use of *Aspergillus niger* For The Bioconversion of Olive Mill Wastewaters, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 34, 828-831. (1991)

Hamdi, M., : Future prospects And Constraints of Olive Mill Wastewater Use And Treatment : A Review, *Bioprocess Engineering.* 8, 209-214. (1993)

Hamdi, M., Garcia, L. J., : Anaerobic Digestion of Olive Oil Mill Wastewater After Detoxification by Prior Culture of *Aspergillus niger*, *Process Biochemistry.* 28, 155-159. (1993)

Hatakka, A. I., Uusi-Rauva, A. K., : Degradation of ¹⁴C-Labelled Poplar Wood Lignin by Selected White Rot Fungi, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 17, 235. (1983)

He, L., Bickerstaff, G. F., Paterson, A., Buswell, J. A., : Purification And Partial Characterization of Two Xylanases That Differ in Hydrolysis of Soluble And Insoluble Xylan Fractions, *Enzyme Microb. Technol.* 15, 13-18. (1993)

Johannes, C., Majcherczyk, A., Huttermann, A., : Degradation of Anthracene by Laccase of *Trametes versicolor* in The Presence of Different Mediator Compounds , *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 46, 313-317. (1996)

Katagiri, N., Tsutsumi, Y., Nishida, T., : Correlation of Brightening With Cumulative Enzyme Activity Related To Lignin Biodegradation During Biobleaching Of Kraft Pulp by White Rot Fungi in The Solid- State Fermentation System, *Appl. And Environ. Microbiol.* 61:2, 617-622. (1995)

Kawai, S., Umezawa, T., Higuchi, T., : Oxidation of Methoxylated Benzyl Alcohols by Laccase of *Coriolus versicolor* in The Presence of Syringaldehyde, *Wood Res.* 76, 10-16. (1989)

Kelley, R. L., Reddy, A. C., : Identification of Glucose Oxidase Activity As The Primary Source of Hydrogen Peroxide Production In Ligninolytic Cultures of *Phanerochaete chrysosporium*, Arch. Microbiol. 144, 248-253. (1986)

Kelley, R. L., Ramasamy, K., Reddy, A. C., : Characterization of Glucose Oxidase-Negative Mutant of a Lignin Degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*, Arch. Microbiol. 144, 254-257. (1986)

Kerem, Z., Friesem, D., Hadar, Y., : Lignocellulose Degrading During Solid-State Fermentation: *Pleurotus ostreatus* versus *Phanerochaete chrysosporium*, Appl. and Environ. Microbiol. 58:4, 1121-1127. (1992)

Kerem, Z., Hadar, Y., Chemically Defined Solid-State Fermentation of *Pleurotus ostreatus*. Enzyme Microbiol. Technol. 15, 785-790. (1993)

Khaziyev, K. F., Gulko, Y. A., : Some Properties of The Humus Peroxidase, Complex Pachvo. 2, 30-36. (1990)

Kida, K., Ikbal, , Sonoda, Y., Kawase, M., Nomura, T., : Influence of Mineral Nutrients on High Performance During Anaerobic Treatment of Wastewater From a Beer Brewery, Jour. Ferment. Bioeng. 72:1, 54-57. (1991)

Kirk, T. K., : Degradation of Lignin: Microbiol Degradation of Organic Compounds, D. T. Gibson (Ed). Microbiology Series. 13. New York, Marcel Dekkar. Inc. 14, 399-437. (1984)

Kirk, T. K., Croan, S., Tien, M., : Production of Multiple Ligninase by *Phanerochaete chrysosporium* : Effect of Selected Growth Condition And Use of A Mutant Strain, Enzyme Microb. Technol. 8, 27-32. (1986)

Kirk, T. K., Tien, M., Johnrud, S. C., Eriksson, K. E., : Lignin-Degrading Activity of *Phanerochaete chrysosporium* Burds: Comparasion of Cellulase- Negative And Other Strain, Enzyme Microbiol. Technol. 8, 75-80. (1986)

Koutinas, A. A., Toutouzidakis, G., Kana, K., Kounis, I., : Methane Fermentation Promoted by Alumina Pellets, Jour. Ferment. Bioeng. 72:1, 64-67. (1991)

Kuwahara, M., Glenn, J. K., Morgan, M. A., Gold, M. H., : Seperation And Characterization of Two Extracellular H₂O₂-Dependent Oxidases From Ligninolytic Cultures of *Phanerochaete chrysosporium*, FEBS Lett. 169, 247-250 (1984)

Lee, Y. E., Lowe, S. E., Zeikus, G. J., : Regulation And Characterization of Xylanolytic Enzymes of *Thermoanaerobacterium saccharolyticum* B6A-RI, Appl. And Environ. Microbiol. 59:3, 763-771. (1993)

Leisola, M. S: A., Kozulic, B., Meusoloerffer, F., Fiechter, A., : Homology Among Multiple Extracellular Peroxidases From *Phanerochaete chrysosporium*, Jour. of Biol. Chem. 262, 419-424. (1987)

Leonowicz, A., Trojanowski, J., : Induction of Laccase in Basidiomycetes: The Laccase- coding Messenger, Acta Biochim. Polon. 25, 147. (1978)

Leonowicz, A., Grzywnowicz, K., : Quantitative Estimation of Laccase Forms in Some White- Rot Fungi Using Syringaldazine as a Substrate. Enzyme Microbiol. Technol. 3:55. (1981)

Mandels, M., Kostick, J., Parizel, R., : The Use of Absorbed Cellulose in The Continous Conversion of Cellulose to Glucose , Jour. Polymer Sci. Part C. 36, 445-459. (1971)

Martirani, L., Giardina, P., Marzulla, L., Sannia, G., : Reduction of Phenol Content And Toxicity in Olive Oil Mill Wastwaters With The Ligninolytic Fungus *Pleurotus ostreatus*, *Water Research*. 30:8, 1914-1918. (1996)

Miller, G. L., : Use of Dinitrosalicilic Acid Reagent For Determination of Reducing Sugar, *Anal. Chem.* 31, 426-428. (1959)

Milstein, O., Huttermann, A., Majcherczyk, A., Schulze, K., : Transformation of Lignin-Related Compounds With Laccase in Organic Solvents. *Jour. of Biotech.* 30, 37-47. (1993)

Monti, R., Terenzi, H. F., Jorge, J. A., : Purification And Properties of An Extracellular Xylanase From The Thermophilic Fungus *Humicola grisea var. thermoidea*, *Canadian Jour. Microbiol.* 37, 675-681. (1991)

Ohmomo, S., Daengsubha, W., Yoshikawa, H., Yui, M., Nozaki, K., Nakajima, T., Nakamura, I., : Screening of Anaerobic Bacteria With The Ability to Decolorize Molasses Melanoidin, *Agric. Biol. Chem.* 52:10, 2429-2435. (1988)

Oruç, N., Gök, M., : Eskişehir Şeker- Alkol Fabrikası Sıvı Atığı Şlempenin Tarım Topraklarında Yarattığı Kirlilik, *Çevre Biyolojisi Sempozyumu*. Ankara. 26. (1990)

Paice, G. M., Bourbonnas, R., Reid, I. D., Archibald, S. F., Jurasek, L., : Oxidative Bleaching Enzymes: A Review. *Journal of Pulp and Paper Science.* 21, 280-284. (1995)

Palmer, J. H., Evans, C. S., : Extracellular Enzyme Produced by *Coriolus versicolor* in Relationship to The Degradation of Lignin, *International Symp. on Wood and Pulping Chemistry*. Thusuba Science City Japan, 3, 19-25. (1983)

Pandey, S. N., Shaikh, A. J., : Production of Various Grades of Paper From Cotton Stalk, *Indian Pulp and Paper*. 40, 14-18. (1986)

Paterson, A., : Fungal Enzymes ; Physiology of Industrial Fungi. London, 101-129. (1988)

Pena, G. L., Sardinero, E., Sarrano, G. P., Schnabel, I., Garrido, J., : Continuous Production of Volatile Fatty Acids by Acidogenesis oa Sugar Beet Vinasse, *Environ. Tech. Letters*. 7, 479-486. (1986)

Perez, D. J., Esteban, E., Gomez, M., Gallardo-Lara, F., : Effect of Wastewater From Olive Processing on Seed Germination and Early Plant Growth of Different Vegetable Species, *Environmental Science and Health*. B21 (4), 349-357. (1986)

Pilon, L., Barbe, M. C., Desrachers, M., Juraseh, L., : Fungal Treatment of Mechanical Pulp, Its Effect on Paper Properties, *Biotech. and Bioeng.* 24, 2063-2076. (1982)

Platt, M. W., Chet, I., Henis, Y., : Lignocellulose Degradation During Growth of The Mushroom *Pleurotus sp. Florida* on Cotton Straw, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 13, 194-195. (1981)

Platt, M. W., Hadar, Y., Chet, I., : Fungal Activities Involved in Lignocellulose Degradation by *Pleurotus*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 20, 150-154. (1984)

Platt, M. W., Hadar, Y., Henis, Y., Chet, I., : Increased Degradation of Straw by *Pleurotus ostreatus sp. Florida*, *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 17, 140-142. (1993)

Ramos, L. P., Breuil, C., Saddler, J. N., : The Use of Enzyme Recycling And The Influence of Sugar Accumulation on Cellulose Hydrolysis by *Trichoderma Cellulases*, *Enzyme Microb. Technol.* 15, 19-25. (1993)

Reid, I. D., : Solid- State Fermentations For Biological Delignification, *Enzyme Microb. Technol.* 11, 786-803 (1989)

Reid, I. D., Deschamp, A. M., : Nutritional Regulation of Synthetic Lignin (DHP) Degradation by The Selective White Rot Fungus *Phlebia (merulius) tremellosa*: Effect of Glucose And Other Cosubstrates, *Can. J. Bot.* 69, 147-155. (1991)

Reid, I. D., Paice, G. M., : Biological Bleaching of Kraft Pulps by White Rot Fungi and Their Enzymes. *FEMS Microbiological Reviews.* 13, 369-376. (1994)

Reinhammer, B., : Laccase, 1-35, In R. Lontia (Ed.) *Copper Proteins And Copper Enzymes*, Vol: CRC Press. Inc. Boca Baton. Flo. (1984)

Rodriquez, J., Duran, N., : Some New Aspects of Enzymatic Lignin Biodegradation, *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 21, 411-422. (1988)

Rogalski, J., Lundell, T., Leonowicz, A., Hatakka, A., : Production of Laccase, Lignin Peroxidase And Manganese- Dependent peroxidase by Various Strains of *Trametes versicolor* Depending on Culture Conditions, *Acta Microbiologica Polonica.* 40:3/4, 221-234. (1991)

Rosenberg, S. L., : Physiological Studies of Lignocellulose Degradation by Thermotolerant Mold *Chrysosporium prunosum*, Symposium on The Biological Transformation of Lignocellulose. 12, 133-142. (1980)

Roy-Arcand, L., Archibald, S. F., : Direct Dechlorination of Chlorophenolic Compounds by Laccase From *Trametes (Coriolus) versicolor*. *Enzyme and Microbiol. Technol.* 13, 194-203. (1991)

Sanayi ve Çevre- Özel İhtisas Komisyon Raporu Syf: 3 (1993)

Sanjust, E., Pompel, R., Rescigno, A., Augusto, R., Ballero, M., : Olive Milling Wastewater As a Medium For Growth of Four *Pleurotus* species, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 31, 223-235. (1991)

Sayadi, S., Ellouz, R., : Decolourization of Olive Mill Waste-waters by The White-Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium*: Involvement of Lignin Degrading System, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 37, 813-817 (1992)

SEKA- AR-GE Raporu: Zirai Atıkların Selüloz-Kağıt Sanayiinde Kullanılabilmesi Üzerine Çalışmalar (Pamuk Sapı)

Shaikh, A. J., : Blending of Cotton Stalk Pulp With Bagasse Pulp For Paper Making, *Biological Wastes.* 31, 37-43. (1990)

Srianuntapiboon, S., Somchai, P., Ohmomo, S., Atthasampunna, P., : Screening of Filamentous Fungi Having The Ability to Decolorize Molasses Pigments , *Agric. Biol. Chem.* 52:2, 387-392. (1988)

Srinivasan, C., D'souza, T. M., Boominathan, K., Reddy, C. A., : Demonstration of Laccase in The White Rot Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium BKM-F1767*, *Appl. and Environ. Microbiol.* 61:12, 4274-4277. (1995)

Srivastava, N., Sahai, R., : Effects of Distillery Waste on The Performance of *Cicer arietinum L.*, *Environmental Pollution.* 43, 91-92. (1987)

Standart Methods : Standart Methods For The Examination of Water And Wastewater , Fourteenth Edition. American Public Health Association. 1138 (1979)

Szabo, I. J., Johansson, G., Pettersson, G., : Optimized Cellulase Production by *Phanerochaete chrysosporium*: Control of Catabolite Repression by Fed-Batch Cultivation, Jour. of Biotechnol. 48, 221-230. (1996)

Szklarz, D. G., Antibus, K. R., Sinsabaugh, L. R., Linkins, E. A., : Production of Phenol Oxidases And Peroxidases by Wood Rotting Fungi, Mycologica. 81:2, 234-240. (1989)

Şık, S., : Tarımsal Bir Atık Olan Pamuk Sapının Bio-Pulp Yönünden Kullanılabilirliğinin Araştırılması, İnönü Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Master Tezi. Malatya. (1994)

Taj-Aldeen, S. J., : Effet of Starch on The Induction of β -Glucosidase in *Trichoderma reesei*, Mycol. Res. 97:3, 318-320. (1993)

Taygun, N., : Maya Fabrikası Atık Suyunun Arıtımı, Şeker Dergisi. 115:30, 43-48. (1984)

Telefoncu, A., : Biyoteknoloji, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi Yayınları, 152:1. (1995)

Tien, M., Kirk, T. K., : Lignin-degrading From *Phanerochaete chrysosporium* Purification, Characterization and Catalistic Properties of A Unique H_2O_2 -requiring Oxygenase, Proc. Natl. Aced. Sci. USA. 81, 2280-2284. (1984)

Totti, S. D., Nicoli, R. J., : Vinasse As Substrate For Production of Microbiol Protein From *Fusarium oxysporum var.lini*, Rev. Lat-amer. Microbiol. 25, 297-304. (1987)

Trojanowski, J., Leonowicz, A., : The Biodegradation of Lignin by Fungi, *Microbios.* 3, 247. (1969)

Türkiye Çevre Sorunları Vakfı: Türkiye Çevre Sorunları Syf:478 (1989)

Ünyayar, A., : Bio-pulp Üretiminde Beyaz Çürükçül Fyngusların Kullanılması, Hacettepe üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bilim Uzmanlığı Tezi. Ankara. (1988)

Vander Woude, M. W., Boominathan, K., Reddy, C. A., : Nitrogen Regulation of Lignin Peroxidase And Manganese-Dependent Peroxidase Production is Independent of Carbon And Manganese Regulation in *Phanerochaete chrysosporium*, *Arc. Microbiol.* 160, 1-4. (1993)

Vinciguerra, V., D'Annibale, A., Monache, G. D., Sermanni, G. G., : Correlated Effects During The Bioconversion of Waste Olive Waters by *Lentinus edodes* , *Bioresource Technology.* 51, 221-226.(1995)

Vyas, B. R. M., Volc, J., Sasek, V., : Ligninolytic Enzymes of Selected White Rot Fungi Cultivated on Wheay Straw , *Folia Microbiol.* 39:3, 235-240. (1994)

Wainwright, M., : An Introduction To Fungal Biotechnology. John Wiley & Sons. Inc. 605, New York, 10158-0012. USA (1992)

Warzywoda, M., Larbre, E., Pourquoi, J., : Pruduction And Characterization of Cellulolytic Enzyme From *Trichoderma reesei* Grown on Various Carbon Sources, *Bioresource technology.* 39, 125-130. (1992)

Weigand, E., Kirchgessner, M., : Protein And Energy Value For Pigs, *Animal Feed Science And Technology.* 5, 221-231. (1989)

Westermark, V., Eriksson, K. E., : Cellobiose Quinone Oxidoreductase A New Wood Degrading Enzyme From White Rot Fungi, Acta Chem. Scan. 28, 209-214. (1974)

Whister, R. L., Teng, J., : Cellulose Chemistry. Handbook of Pulp and Paper Technology, K.W. Britt. (Ed.) VNR Company New York, 13-23. (1970)

Worthington, Enzymes and Related Biochemicals. sayfa; 18; Millipore Corperation, Bedford, MA, USA. (1978)

Yazıcıoğlu, T., Çelikkol, T., Öcal, Ş., Aran, N., Ömeroğlu, S., : Some Trials on The Utilization of Whey, Black Water of Olive And Vinasse For Production of SCP in Turkey. TUBITAK Marmara Scientific And Industrial Research Institute. Nutrition And Food Technology Unit Marmara Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü Matbaası. Gebze, 42, 1-23 (1986)

Yeşilada, Ö., Topçuoğlu, Ş. F., Ünyayar, A., Ünyayar, S., Fışkın, K., Bozcuk, S.,: Şlempe (Vinasse) İçeren İnkübasyon Ortamında Bazı Beyaz- Çürükçül Funguslarda Absisik Asit (ABA) Üretimi, X. Ulusal Biyoloji Kongresi. Erzurum. 31-37 (1990)

Yeşilada, Ö., : Alkol Fabrikası Atığı Olan Şlempe (Vinasse)'nin Biyolojik Olarak Değerlendirilmesi ve Beyaz-çürükçül Funguslarda Şlempe-Enzim İlişkisinin Araştırılması, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. Malatya. (1992)

Yeşilada, Ö., Fışkın, K., Yeşilada, E., : The Use of White Rot Fungus *Funalia trogii* (Malatya) For The Decolourization and Phenol Removal From Olive Oil Mill Wastewater, Environmental Technology. 16, 95-100. (1995)

Yeşilada, Ö., Fışkın, K., : Degradation of Olive Mill Waste by *Coriolus versicolor*. Turkish Journal of Biology. 20, 73-79. (1996)

Yeşilada, Ö., Özcan, B., Şık, S., Fışkın, K., : Enzim Üretiminde Endüstriyel Atıkların Kullanımı, 13. Ulusal Biyoloji Kongresi. İstanbul. (1996)

Yeşilada, Ö., Şık, S., Şam, M., : Biodegradation of Olive Oil Mill Wastewater by *Coriolus versicolor* And *Funalia trogii*: Effects of Agitation, Initial COD Concentration, Inoculum Size And Immobilization, World J. Microbiol. Biotechnol. 14, 37-42. (1998)

Yoropolov, I. A., Skorobogat, V. O., Vartanov, S., Vorfolomeyev, D. S., : Laccase: Properties, Catalytic Mechanism and Applicability. Appl. Biochem. and Biotechnol. 49, 257-280. (1994)

ÖZGEÇMİŞ

ADI SOYADI:	Sibel ŞIK
DOĞUM TARİHİ:	24.06.1971
DOĞUM YERİ:	Baskil/ ELAZIĞ
İLK ÖĞRENİM:	Yazı Mezrası İlkokulu- MALATYA (1978-1983)
ORTA ÖĞRENİM:	Atatürk Kız Lisesi- MALATYA (1983-1988)
YÜKSEK ÖĞRENİM:	İnönü Üniversitesi- MALATYA (1988-1992)
YÜKSEK LİSANS:	İnönü üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü- MALATYA (1992-1994)
DOKTORA:	İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü MALATYA (1994-.....)
ÇALIŞTIĞI KURUM:	İnönü üniversitesi. Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi Bölümü
GÖREVİ:	Araştırma Görevlisi (1993-.....)

BİLİMSEL FAALİYETLERİ:

Şık, S., Ünyayar, A.; Yarı-katı fermentasyon tekniği ile pamuk sapının, Beyaz-çürükçül funguslar tarafından biyodegradasyonu, XII. Ulusal Biyoloji Kongresi. Edirne. (1994)

Şık, S.; Tarımsal bir atık olan pamuk sapının bio-pulp yönünden kullanılabilirliğinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Malatya. (1994)

Şık, S., Ünyayar, A.; Tarımsal bir atık olan pamuk sapının biyoteknolojik olarak kullanılabilirliğinin araştırılması, II. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi- Ankara. (1995)

Yeşilada, Ö., Şık, S., Özcan, B., Fışkın, K., Şam, M.; Zeytin Fabrikası atıklarının kirlilik yükünün saptanması ve biyolojik giderimi, XIII. Ulusal Biyoloji Kongresi, İstanbul. (1996)

Yeşilada, Ö., Özcan, B., Şık, S., Fışkın, K.; Enzim üretiminde çeşitli endüstriyel atıkların kullanımı, XIII. Biyoloji Kongresi, İstanbul. (1996)

Şık, S., Ünyayar, A.; Pamuk sapı ile *Phanerochaete chrysosporium* ve *Funalia trogii*'nin yarı-katı fermentasyonu sonucu oluşan lakkaz, peroksidaz, ligninaz ve selüloz aktiviteleri, Doğa Türk Biyoloji Dergisi, (Baskıda)

Yeşilada, Ö., Şık, S., Şam, M.; Zeytin yağı fabrikası atıklarının arıtımında *Coriolus versicolor* ve *Funalia trogii*'nin kullanımı, 10. KÜKEM Kongresi. Mersin. (1997)

Yeşilada, Ö., Şık, S., Şam, M., : Biodegradation of Olive Oil Mill Wastewater by *Coriolus versicolor* And *Funalia trogii*: Effects of Agitation, Initial COD Concentration, Inoculum Size And Immobilization, World J. Microbiol. Biotechnol. 14, 37-42. (1998)

GÖREV ALDIĞI PROJELER

1. Tarımsal bir atık olan pamuk sapının beyaz çürükçül funguslar tarafından biyodegradasyonu. TUBİTAK-TBAG- AY121 Nolu Proje
2. Zeytin fabrikası atık suyundan renk, KOİ ve fenol gideriminde beyaz çürükçül fungus kullanımının araştırılması. İ.Ü.A.F. 94/4 Nolu Proje.
3. Beyaz çürükçül funguslarla yağ fabrikası atıklarının aerobik degradasyonu ve değerlendirilmesi. TUBİTAK-TBAG 1277 Nolu Proje
4. Endüstriyel ve tarımsal atıkların biyoteknolojik olarak değerlendirilmesinde yeni bir yaklaşım. DPT Projesi. (Proje NO: 97K121470)
5. Tekstil ve boya fabrikası atıklarının yıkımında beyaz çürükçül fungusların kullanımının araştırılması. DPT Projesi. (Proje NO: 97K121480)