

FARKLI AĞIR METALLERİN *Pleurotus sp.*' LERİNDE
RENK GİDERİMİNDE GÖREV ALAN
LİGNOLİTİK ENZİMLERE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Serkan FİDAN

Danışman

Yrd. Doç. Dr. S. Elif KORCAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Temmuz 2008

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI AĞIR METALLERİN *Pleurotus sp.*' LERİNDE RENK GİDERİMİNDE
GÖREV ALAN LİGNOLİTİK ENZİMLERE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Serkan FİDAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman
Yrd. Doç. Dr. S. Elif KORCAN

AFYONKARAHİSAR
2008

ONAY SAYFASI

Serkan FİDAN'ın yüksek lisans olarak hazırladığı “**Farklı Ağır Metallerin *Pleurotus sp.*'lerinde Renk Gideriminde Görev Alan Lignolitik Enzimlere Etkisinin Belirlenmesi**” başlıklı bu çalışma, lisansüstü yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

22 / 09/2008

Jüri Üyesi: Prof. Dr MUHSİN KONUK
(Başkan)

Jüri Üyesi: Yrd. Doç.Dr. S. Elif KORCAN
(Danışman)

Jüri Üyesi: Yrd.Doç.Dr. Meltem DİLEK

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

Gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Zehra BOZKURT
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FARKLI AĞIR METALLERİN *Pleurotus* sp.'LERİNDE RENK GİDERİMİNDE GÖREV ALAN LİGNOLİTİK ENZİMLERE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Serkan FİDAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. S. Elif KORCAN

Bu çalışmada, *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju* ve *Pleurotus florida* test organizması olarak kullanılarak, farklı ağır metal tuzlarının [HgCl₂, Pb(NO₃)₂, Ni(NO₃)₂.6H₂O, ZnSO₄.7H₂O, CoCl₂.6H₂O, Cd(NO₃)₂.4H₂O ve CuSO₄.5H₂O] dekolorizasyon üzerine etkisi araştırılmıştır.

Çalışmada Pb ve Ni'in 0,001 mM ≤; Hg, Pb ve Cd'nin 0.005 mM ≤ ve Co'ın 0.05 mM ≤ konsantrasyonunda *P. sajor-caju*'nun gelişimini inhibisyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P≤0.05). *P. florida* ise Ni ve Cd hariç denenen tüm metallerde 0.001 mM ≤ konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı iken Ni'in 0.005 mM ≤ ve Cd'nin 0.01 mM ≤ konsantrasyonlarındaki inhibisyon istatistiksel olarak anlamlı olmuştur. *P. ostreatus*' ta Hg ve Pb 0,01 mM ≤ konsantrasyondan sonra istatistiksel olarak anlamlı inhibisyon saptanmıştır. Diğer metallerde 0,001 mM ≤ konsantrasyonlarda gelişimin inhibisyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Enzim çalışmaları sonucunda Ağır metallerin Lcc aktivitesinde önemli bir değişiklik yapmadığı saptanmıştır. *Pleurotus florida*'da MnP aktivitesini Co %42 arttırmış, bunu %32 ile Pb takip etmiştir. Cd ise %26 MnP aktivitesini düşürmüştür. Bunu %8 ile Zn takip etmiştir.

2008, 48 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Pleurotus*, dekolorizasyon, ağır metal

ABSTRACT

M. Sc Thesis

**DETERMINATION of VARIOUS HEAVY METALS' INFLUENCE
on LIGNOTIC ENZYMES FUNCTION AS COLOR REMOVING in
*Pleurotus sp.***

Serkan FİDAN

Afyon Kocatepe University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Assit. Prof. S. Elif KORCAN

This study searches the influence of distinct heavy metals [HgCl₂, Pb(NO₃)₂, Ni(NO₃)₂.6H₂O, ZnSO₄.7H₂O, CoCl₂.6H₂O, Cd(NO₃)₂.4H₂O ve CuSO₄.5H₂O] on decolorization by using *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju* ve *Pleurotus florida*.

The study has found the inhibition of *P. sajor-caju*'s development statistically meaningful ($P \leq 0.05$) in Pb and Ni's 0,001 mM \leq ; Hg, Pb and Cd's 0.005 mM \leq and Co's 0.05 mM \leq concentrations. In side of *P. florida*, while 0.001 mM \leq concentration in all tested metals except for Ni an Cd is significant, the inhibition in Ni's 0.005 mM \leq and Cd's 0.01 mM \leq concentrations has been found statistically meaningful. In *P. Ostreatus*, the inhibition has been determined statistically significant following Hg and Pb 0,01 mM \leq concentration. Inhibition of development in 0,001 mM \leq concentration has been found considerable in other metals.

Enzyme studies've determined that in Lcc activity heavy metals don't cause any considerable alteration. In *Pleurotus florida*, Co %42 has increased MnP activity- which is followed by Pb with %32. Cd has decreased % 26 MnP activity- which is followed by Zn with %8.

2008, 48 pages

Key Words: Pleurotus, decolorization, heavy metals.

TEŞEKKÜR

Tez alıőmam esnasında beni yönlendiren, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Yrd. Do. Dr. S. Elif KORCAN'a, alıőmalarımın her aőamasında deneyimleri ile bana yol gösteren Prof. Dr Muhsin KONUK ve Yrd. Doç. Dr. İ. Hakkı CİĞERCİ'ye; yardımlarından dolayı Biyolog Seda AYVAZ ve Armağan DEMİRCİ'ye, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme teőekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
GRAFİKLER DİZİNİ.....	ix
1.GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	2
2.1. Ağır Metaller.....	2
2.1.1. Ağır Metallerin Etkileri.....	3
2.2. Boyar Maddeler ve Sınıflandırılması.....	5
2.3. Boyar Maddelerin Ortamdan Uzaklaştırılması.....	7
2.4. Biyolojik Arıtım.....	8
2.4.1. Aerobik Yöntem.....	8
2.4.2. Anaerobik Yöntem.....	9
2.5. Biyosorpsiyon.....	11
2.6. Fungal Dekolorizasyon.....	11
2.6.1. Mekanizma.....	11
3. MATERYAL METOD.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1. Metal tuzları.....	18

3.1.2. Agar ortamı.....	18
3.1.3. Malt Agar.....	18
3.2. Metod.....	19
3.2.1 Metal tuzlarının Pleurotus türlerinin gelişimine olan inhibisyon etkisinin saptanması.....	19
3.2.2. Farklı boyar maddelerin Pleurotus sp'ler ile degradasyonu ve pH'nın etkisinin belirlenmesi.....	19
3.2.3. Lanase mavi' in dekolorizasyonuna Pb ve Cd'nin etkisi...	20
3.2.4.Enzim deneyleri	20
3.2.4.1. Süpernatantın hazırlanması.....	20
3.2.4.2.MnP aktivitesinin saptanması.....	21
3.3. Lcc aktivitesinin belirlenmesi.....	21
3.4. İstatistiksel analiz.....	21
4. BULGULAR.....	22
4.1. Metal Tuzlarının Pleurotus Türlerinin Gelişimine Olan İnhibisyon Etkisinin Saptanması.....	22
4.2. Farklı Boyar Maddelerin Pleurotus Sp'ler ile Degradasyonu Ve Ph'nın Etkisi.....	26
4.3. Ph'nın Renk Giderimine Etkisi.....	28
4.4. Pleurotus sp. dekolorizasyonuna Pb ve Cd'nin etkisinin spektrofotometrik olarak saptanması.....	29
4.5. Ağır Metallerin Lacc Ve Mn Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	31
TARTIŞMA SONUÇ.....	33
KAYNAKLAR.....	40
ÖZGEÇMİŞ.....	X

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

LiP	: Lignin peroksidaz
MnP	: Mangan peroksidaz
mM	: Milimolar
ml	: Mililitre
gr	: Gram
lt	: Litre
UV	: Ultraviyole
Lcc	: Lakkaz
ABTS	: 2,2'-azino-bis (3-etilbenziazolin)-6- sulfonat
mm	: Milimetre
MnSO₄	: Mangan sülfat
nm	: Nanometre
°C	: Santigrad derece
HgCl₂	: Civa klorür
Pb(NO₃)₂	: Kurşun nitrat
ZnSO₄	: Çinko sülfat
CoCl₂	: Kobalt klorür
Cd(NO₃)₂	: Kadmiyum nitrat
CuSO₄	: Bakır sülfat
λ	: Lamda
μL	: Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Vücut Sıvısındaki Konsantrasyona Bağlı Olarak Ağır Metallerin Etkileri.....	4
Şekil 2.2. Ağır Metallerin İnsan Vücudunda Etki Mekanizması.....	5

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u> <u>No</u>
Çizelge.2.1 Temel endüstrilerden atılan metal türleri.....	3
Çizelge 2.2. Dekolorizasyon yapabilen çeşitli canlı fungal hücreler.....	14
Çizelge 2.3. Dekolorizasyon yapabilen çeşitli ölü fungal hücreler.....	17
Çizelge 4.1 Metal tuzlarının <i>Pleurotus sajor-caju</i> gelişimine etkisi.....	23
Çizelge 4.2 Metal tuzlarının <i>Pleurotus florida</i> gelişimine etkisi.....	24
Çizelge 4.3 Metal tuzlarının <i>Pleurotus ostreatus</i> gelişimine etkisi.....	25
Çizelge 4.4 Farklı metal konsantrasyonlarının <i>Pleurotus sp.</i> 'lerinin miselyal gelişimi üzerine % inhibisyonu.....	26
Çizelge 4.5. pH'nın fungal gelişim ve renk giderimi üzerine etkisi.....	28
Çizelge 4.6. Ağır metallerin Lacc ve Mn peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi....	31

GRAFİK DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Grafik 4.1. <i>Pleurotus sajor-caju</i> 'nun dekolorizasyonuna Pb ve Cd'nin etkisi.....	29
Grafik 4.2. <i>Pleurotus florida</i> 'nin dekolorizasyonuna Pb ve Cd'nin etkisi...	29
Grafik 4. 3. <i>Pleurotus ostratus</i> 'un dekolorizasyonuna Pb ve Cd'nin etkisi..	30

1. GİRİŞ

Günümüzde teknik olarak kullanılabilir durumda olan tatlı su kaynaklarının oldukça sınırlı olduğu bilinmektedir. Diğer taraftan hızla artan nüfus, hızlı kentleşme, sanayileşme, tarım alanlarında yaygın gübre ve pestisit kullanımı sınırlı olan tatlı su kaynaklarının hızla kirlenmesine neden olmaktadır. Gelişen teknoloji ile birlikte her gün yeni kirlilik çeşitleri gündeme gelmektedir.

Çevre kirliliğini arttıran ve ekolojik dengenin bozulmasında en önemli rol oynayan endüstri kuruluşlarının başında, atık sularında ağır metal içeren kuruluşlar gelmektedir. Bu kuruluşlar gereksinimleri doğrultusunda çeşitli ağır metalleri kullanmakta ve bu nedenle atıklarında civa, çinko, kobalt, bakır, demir, kurşun, krom, arsenik ve gümüş gibi metal iyonları bulunmaktadır. Kurşun, çinko, bakır, kobalt, kadmiyum, krom, nikel, arsenik, civa ve gümüş gibi metal iyonları canlı üzerinde belirli bir sınırı aşınca toksik etki göstermektedir (Sağlam ve Cihangir 1995).

Arıtım amacı için kullanılan mikroorganizma grubu içerisinde alglerde dahil olmak üzere çeşitli bakteri, maya, mantar türlerini saymak mümkündür. Mantarlardan *Neurospora*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* ve *Pleurotus* türleri metal kontaminasyonunda kullanılan organizmalardandır. Özellikle *Pleurotus* türleri biyodegradasyon çalışmalarında sıkça kullanılmaktadır (Sağlam ve Cihangir 1995).

Çalışmamızda günümüzde hızla artan endüstrileşmeyle birlikte su kirliliğinin önemli bir sorun haline gelmesi ve su kaynaklarında giderek azalması nedeni ile kirliliğinin giderilmesi ve doğal su kaynakların verimli şekilde kullanılması gerektiği düşünülerek, kirlilik etkenlerinden en önemlileri arasında sayılan ağır metallerden Pb' nin boyar maddelerin biyolojik arıtımında kullanılan fungusların boya giderimindeki verimliliğe etkisi ve ağır metallere *Pleurotus* sp'lerinin gelişimine olan etkisinin saptanması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Ağır Metaller

Fiziksel özellik açısından yoğunluğu 5 g/cm^3 ten daha yüksek olan metaller için ağır metal tanımı kullanılır. Bu gruba kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, civa ve çinko olmak üzere 60 tan fazla metal dahildir. Bu elementler doğaları gereği yer kürede genellikle karbonat, oksit, silikat ve sülfür halinde stabil bileşik olarak veya silikatlarla bulunurlar.

Ağır metaller, su kaynaklarına, endüstriyel atıklar veya asit yağmurlarının toprağı ve dolayısı ile bileşimde bulunan ağır metalleri çözmesi ve çözünen ağır metallerin ırmak, göl ve yeraltı sularına ulaşmasıyla geçerler. Sulara taşınan ağır metaller aşırı derecede seyrelirler ve kısmen karbonat, sülfat, sülfür olarak katı bileşik oluşturarak su tabanına çöker ve bu bölgede zenginleşirler. Sediment tabakasının adsorpsiyon kapasitesi sınırlı olduğundan dolayı da suların ağır metal konsantrasyonu sürekli olarak yükselir. Ülkemizde de başta tuz ihtiyacımızı karşıladığımız tuz gölü olmak üzere kapalı göllerimizde yeterli çevresel önlem almadığımız su havzalarında ağır metal konsantrasyonu yükselmektedir.

Ağır metallerin ekolojik sistemde yayılımları dikkate alındığında doğal çevrimlerden daha çok insanın neden olduğu etkiler nedeniyle çevreye yayılımı söz konusu olduğu görülmektedir. Sürekli ve kullanıma bağlı kirlenmenin yanı sıra kazalar sonucu da ağır metallerin çevreye yayılımı önemli miktarlara ulaşabilmektedir. Yıllık olarak doğal çevrimler sonucu 7600 ton Cd, 18800 ton arsen, 3600 ton cıva 332000 ton kurşun atmosfere atılmakta iken insan faaliyetleri sonucu deşarj edilen miktarlar dikkate alındığında ise selen (19 kat), kadmiyum (8 kat), cıva, kurşun, kalay (6 kat), arsen, nikel ve krom (3 kat) daha fazladır (Rether 2002).

Ağır metallerin çevreye yayılımında etken olan en önemli endüstriyel faaliyetler çimento üretimi, demir çelik sanayi, termik santraller, cam üretimi, çöp ve atık çamur yakma tesisleridir (Çizelge 1).

Havada bulunan ağır metaller, karaya ve buradan bitkiler ve besin zinciri yoluyla da hayvanlara ve insanlara ulaşırlar. Aynı zamanda hayvan ve insanlar tarafından havadan aerosol olarak veya toz halinde solunurlar.

Çizelge 2.1 Temel endüstrilerden atılan metal türleri* www.umweltbundesamt.de/uba-info-daten-t/daten/umweltkatastrophen.htm.

Endüstri	Cd	Cr	Cu	Hg	Pb	Ni	Sn	Zn
Kağıt Endüstrisi	-	+	+	+	+	+	-	-
Petrokimya	+	+	-	+	+	-	+	+
Klor-alkali Üretimi	+	+	-	+	+	-	+	+
Gübre Sanayi	+	+	+	+	+	+	-	+
Demir-Çelik San	+	+	+	+	+	+	+	+
Enerji Üretimi (Termik)	+	+	+	+	+	+	+	+

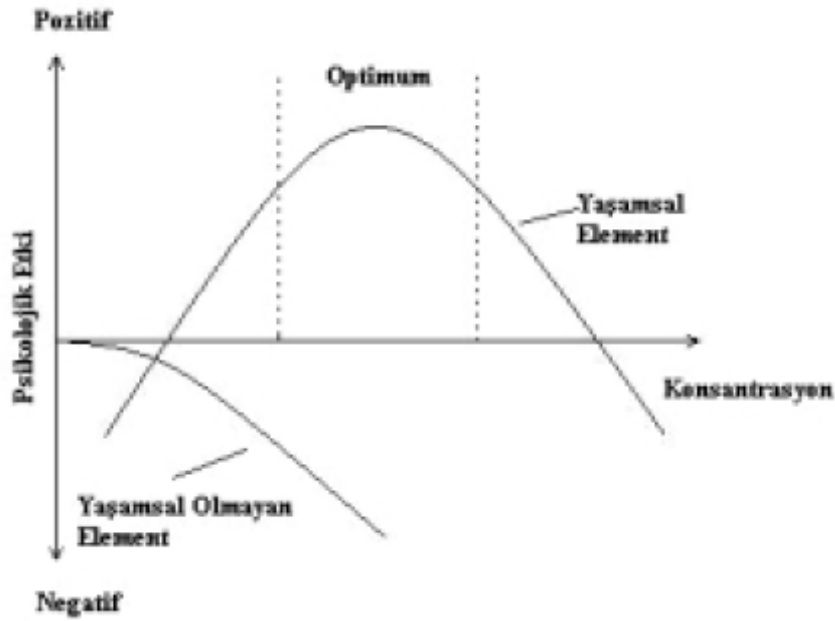
2.1.1. Ağır Metallerin Etkileri

Ağır metaller biyolojik proseslere katılma derecelerine göre yaşamsal ve yaşamsal olmayan olarak sınıflandırılırlar. Yaşamsal olarak tanımlananların organizma yapısında belirli bir konsantrasyonda bulunmaları gereklidir ve bu metaller biyolojik reaksiyonlara katıldıklarından dolayı düzenli olarak besinler yoluyla alınmalıdır. Mesela bakır hayvanlarda ve insanlarda kırmızı kan hücrelerinin ve birçok oksidasyon ve redüksiyon prosesinin vazgeçilmez parçasıdır (Bigersson 1988).

Buna karşın yaşamsal olmayan ağır metaller çok düşük konsantrasyonda dahi sağlık problemlerine yol açabilmektedirler. Bu gruba en iyi örnek kükürtlü enzimlere bağlanan civadır (John 1996).

Bir ağır metalin yaşamsal olup olmadığı dikkate alınan organizmaya da bağlıdır. Örneğin nikel bitkiler açısından toksik etki gösterirken, hayvanlarda iz elementi olarak bulunması gerekir.

Bazı sistemlerde ağır metallerin etki mekanizması konsantrasyona bağı olarak değişir. Bu tür organizmalarda metallerin konsantrasyonu dikkate alınmalıdır. Ağır metaller konsantrasyon sınırını aştıkları zaman toksik olarak etki gösterirler (şekil 2.1) Ağır metalin etkisi canlı türüne, metal iyonunun çözünürlük değerine, kimyasal yapısına, redoks ve kompleks oluşturma yeteneğine, vücuda alınış şekline, çevrede bulunma sıklığına, lokal pH değeri vb.yapısına da bağlıdır.



şekil 2.1. Vücut sıvısındaki konsantrasyona bağı olarak ağır metallerin etkileri

Ağır metallerin insan metabolizmasında oluşturdukları etkiler;

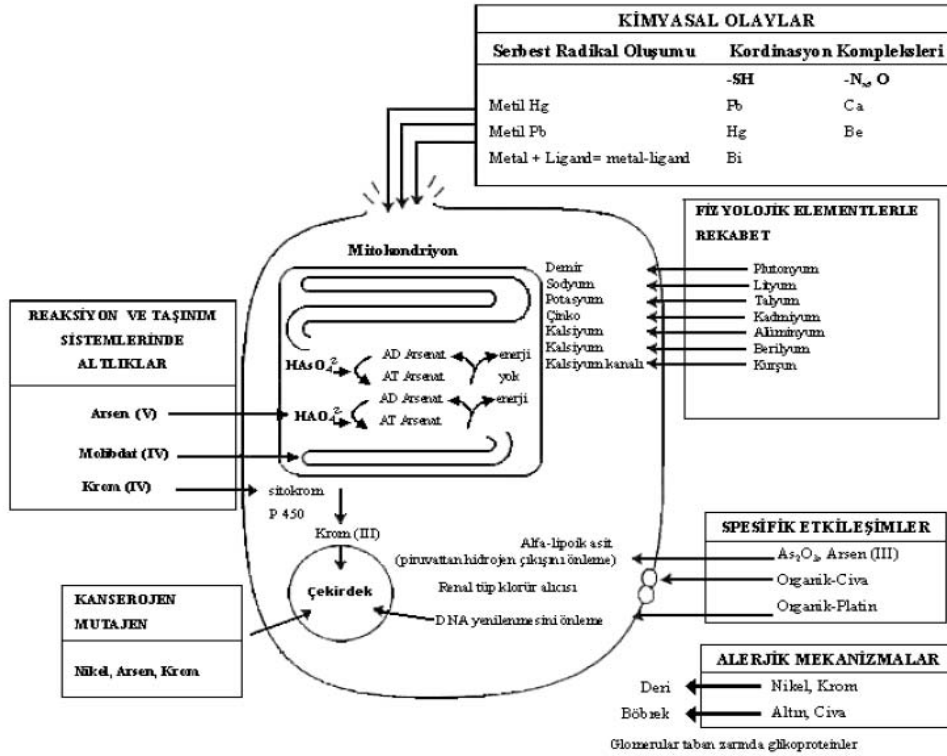
Kimyasal reaksiyonlara olan etkisi

Fizyolojik ve taşınım sistemlerine etkisi

Kanserojen ve mutojen olarak yapı taşlarına etkisi

Alerjen olarak etkisi ve

Spesifik etki edenler olarak sıralamak mümkündür (şekil 2.2).



Şekil 2.2. Ağır metallerin insan vücudunda etki mekanizması

PBG: Porfobilinojen; ATPase = Adenozintrifosfataz; ALA = Aminolaevulinikasit

2.2. Boyar Maddeler ve Sınıflandırılması

Boyar maddeler genellikle iki ana bileşenden oluşan küçük moleküllerdir. İlk bileşen rengi veren kromofor, ikinci bileşen boyayı ipliğe bağlayan fonksiyonel gruptur. Literatürde kimyasal yapısına göre veya uygulandığı ipliğin tipine göre sınıflandırılmış yüzlerce çeşit boya mevcuttur. Boyalar, genellikle sentetik orijinli aromatik kompleks moleküler yapıda olup, biyodegradasyonları oldukça zordur. Mishra ve Tripathy (1993) tarafından üç sınıfa ayrılmışlardır.

- 1-Anyonik= direk boyalar, asit ve reaktif boyalar
- 2- Katyonik=Temel boyalar
- 3- Noniyonik= Dispere boyalar

Anyonik ve noniyonik boyalardaki kromoforlar çoğunlukla azo gruplu ya da antrakuinon tiptedirler. Antrakuinon temelli boyaların aromatik yapıları ve atık sularda uzun süre renklerini koruma özelliklerinden dolayı degradasyonları zordur. Temel boyalar ise parlak olup düşük konsantrasyonlarda bile görülebilirler. Tüm bu boyalar içinde en çok kullanılanları azo boyalardır (Allen, 1971)

İkinci bir deri olarak kabul edilen giyim tekstillerindeki ağır metal iyonları (bakır, krom, nikel, kobalt, çinko) ter yoluyla vücuda geçmektedir. Ağır metal iyonları tekstil materyaline ham tekstil materyalinden, içme suyundan, tekstil yardımcı maddelerinden, boyarmaddelerden ve atım işlemlerinden geçebilmektedir. Metal kompleks boyalar genellikle kansorejen olduğu bilinen krom tabanlıdır (Mishra ve Tripathy, 1993). Eko-Standart 100 kriterlerinde ağır metal iyonlarının sınır değerleri verilmiştir (Seventekin 1998).

Tekstilde kullanılan boyalar alerjik reaksiyonlar'a neden olabilmektedir. Alman cilt kliniklerinde yapılan araştırmalar, alerjik reaksiyonların % 2' sinin tekstil kaynaklı olduğunu göstermektedir. Özellikle dispersiyon boyar maddelerinin kimyasal liflerden çözülerek kontakt alerjiye neden olduğu bilinmektedir. Hatch ve Maibach' a göre 49 boyarmadde özellikle dispersiyon boyarmaddeler temas halinde alerjik reaksiyonlara sebebiyet vermektedir (Hatch 1984, Hatch 1985, Hatch 1995). Ayrıca yapılan araştırmalar sonucu aromatik aminlere parçalanabilen azo boyar maddelerinde bulunan pfenilendiamin de alerjik reaksiyonlara neden olabileceği bildirilmiştir (Anonim 2001).

Dioksin gibi tekstilde kullanılan yüksek klorlu bileşiklerin toksikekuvalent- faktörleri 0.001 ölçülmüştür. Bu sonuç giyim tekstillerinde bir kısım dioksin bileşiğinin deriye geçebileceğini gösterir. Bu grup içerisinde klorlu organik taşıyıcılar, bazı boyar maddeler, bazı pestisit ve pentaklorfenol yer almaktadır.

Tekstil boyası içeren atıklar genellikle doğal su kaynaklarına boşaltılmaktadır (Meehan ve ark. 2000). 10.000'i aşkın farklı boya günümüzde ticari olarak 7×10^5 ton/m³ üretilmekte ve boya ilaçlarının % 5-10'u endüstriyel atık olarak kaybedilmektedir (Wong 1999). Boya ve boya ilaçları tekstil, kozmetik, farmasötik ve deri endüstrisinde

kullanılmasına rağmen en fazla atık tekstil endüstrisinden kaynaklanmaktadır. Mikroorganizmalarla degradasyon da bazı problemler olsa da bioremediasyon hala sorunun giderilmesinde en etkili metottur (Mc Kay 1979). Atık olarak çevrede bulunan boya maddelerinin çoğunun toksik ve genotoksik etkiye sahip olduğu bazı çalışmalarda bildirilmiştir (Walthall ve Stark 1999, Al Sabti 2000, Hu ve Wu 2006). Bunun yanı sıra boya maddesinin suya verilmesi ile su renklenmekte, bunun sonucunda ise göl ve nehirlerle gün ışığının penetrasyonu azalmaktadır ki bu nedenle doğal su kaynaklarında hem fotosentetik aktivite hem de çözülmüş oksijen miktarı azalmaktadır. Dolayısı ile su ortamında anaerobik bir ortam oluşmakta ve bu ortam aerobik organizmaların yaşamasına da engel olmaktadır (Banat ve ark. 1996).

2.3.Boyar Maddelerin Ortamdan Uzaklaştırılması

Renkli maddenin ortamdan uzaklaştırılması için biyolojik, fiziksel ve kimyasal metotlar uygulanmaktadır. Bu metotların bir kaçının bir arada kullanılması renk maddesinin ortamdan uzaklaştırılmasında daha etkili olmaktadır (Zhang ve Yu 2000).

Anaerobik mikroorganizmaların bazı boya maddelerini degrade ettiği bilinmektedir. Ancak bu tarz degradasyon sonucunda toksik veya kanserojenik bazı aromatik aminlerde oluşabilmektedir (Meyer 1981). Bu nedenle rekalsitrant bileşikler degrade edebilen spesifik mikroorganizmaların kullanılmasına yönelik yeni metotların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Beyaz çürükçül funguslar çok geniş yapıdaki farklı polutantları degrade edebilmektedirler (Bezalel ve Hadar 1997, Yeşilada ve ark. 1998, Kumar ve ark. 1998, Yesilede ve ark. 1999, Kapdan ve ark. 2000). Beyaz çürükçül funguslar boya degradesyonu için en etkili organizmalar olup polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAHs), poliklorobifenoller (PCBs), sentetik boya maddeleri ve bazı patlayıcı maddeleri de içine alan xenobiotik bileşikler lignolitik sistemleri ile degrade edebilirler (Pointing 2001).

Son yıllarda fungusların tekstil boya maddelerini biyosorpsiyon ile uzaklaştırdığı ve dekoloreasyon çalışmalarında kullanılacağı üzerine birçok çalışma vardır (Yeşilada

1995, Yesilada ve Özcan 1998, Sani ve Azmi 1998, Swamy ve Ramsay 1999, Aksu ve Tezer 2000).

2.4.Biyolojik Arıtım

Biyolojik arıtım, endüstriyel proseslerden alıcı sistemlere transfer olan organikler için en önemli giderim prosesidir. Tekstil endüstrisi atıksuları için önerilen fiziksel ve kimyasal yöntemlerin yüksek maliyet gerektirmeleri ve her boya için kullanılamıyor olmaları, uygulanmalarının sınırlı olmasına neden olmuştur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar birçok boya türünü atık sudan giderebilme yeteneğine sahip yaygın mikroorganizma türlerinin mevcudiyetini vurgulamış ve biyoteknolojik metotları ön plana çıkarmıştır. Yani, teorik olarak biyolojik arıtma sistemleri kimyasal ve fiziksel arıtma yöntemlerine göre daha az çamur üretmesi, maliyetinin daha düşük olması veya alıcı ortamlar için zararlı yan ürünlerin oluşmaması gibi özelliklerinden dolayı tekstil endüstrisi atıksularının arıtımı için ideal çözüm olarak kabul edilmektedir.

2.4.1.Aerobik Yöntem

Tekstil endüstrisi atıksuları, pH değişimlerine duyarlılığı yüksek olan konvansiyonel biyolojik arıtma tesislerinde önemli zorluklara sebep olmaktadır. Endüstriyel atıksuların arıtılmasında yaygın olarak kullanılan konvansiyonel aktif çamur sistemleri için tekstil endüstrisindeki birçok boya bileşiği ya biyolojik olarak çok zor indirgenemekte ya da inert kalmaktadır. Suda iyi çözünen bazik, direkt ve bazı azo boya atıklarının olması durumunda mikroorganizmalar bu tür bileşikleri biyolojik olarak indirgeyememekle birlikte boyanın bir kısmını adsorbe ederek atıksuyun rengini almakta ve renk giderimi sağlanabilmektedir.

Azo boyar maddeler gibi sentetik boyaların aerobik şartlar altında mikrobiyal parçalanmaya karşı dirençli olmasının nedeni boya malzemelerinin, kimyasal ve ışık kaynaklı oksidatif etkiler sonucu renklerinin solmamasını sağlayacak şekilde sentezlenmeleridir. Boyar maddelerin aerobik biyodegradasyonunu zorlaştıran diğer bir faktör ise moleküler ağırlıklarının yüksek olması nedeniyle biyolojik hücre zarından

geçişlerinin zor olmasıdır (Willmott ve ark. 1998). Azo, diazo ve reaktif boyar madde içeren bir tekstil atıksuyu renginin mikrobiyal proseslerle giderilmesinin araştırıldığı bir çalışmada aerobik kolonlardan izole edilmiş saf bakteri kültürlerinin renk giderimini gerçekleştiremediği belirlenmiştir (Nigam ve ark. 1996). Oneill ve ark. (2000a) atıksudaki azo boyar maddeler gibi reaktif boyaların ortalama %10'unun aerobik biyokütleyle adsorbe olduğunu, geri kalanının ise aktif çamur tesisinden herhangi bir değişime uğramadan geçtiğini belirtmişler ve azo boyar madde içeren tekstil atıksularının renginin giderilmesinde aerobik arıtmanın yetersizliğini vurgulamışlardır. Ancak bazı boyar maddelerin aerobik olarak parçalanabileceği doğrultusunda çalışmalar da mevcuttur. Odunsu bitkilerde bulunan, yapısal polimer lignini parçalayabilen ve ksenobiyotik maddelerin parçalanması amaçlı çalışmalarda en yaygın olarak kullanılan beyaz çürükçül küf *Phanerochaete chrysosporium*'un, lignin peroksidaz, manganeeze bağlı peroksidaz gibi enzimleri kullanarak boyar maddeleri parçalayabildiği bilinmektedir (Robinson ve ark. 2001, Palma ve ark. 1999). Ancak beyaz küflerin, ligninolitik enzimlerin düşük pH değerlerinde (pH=4,5-5) aktif olması ve atıksularda bulunma ihtimali düşük olan tiamin ile veratril alkol maddelerine ihtiyaç duyması gibi dezavantajları vardır (Kapdan ve Kargı 2000).

2.4.2.Anaerobik Yöntem

Anaerobik arıtımın ilk basamağında asidojenik bakteriler karbonhidratlar, yağlar veya proteinler gibi organikleri düşük moleküler ağırlıklı ara ürünlere dönüştürürler. Bu fermentasyon ürünleri daha sonra asetojenik bakteri tarafından kullanılır ve asetat, karbon dioksit ve moleküler hidrojen açığa çıkar. Son olarak metanojenik bakteriler asetat ve karbondioksiti metana indirgerler. Metan ve karbondioksit içeren biyogaz, anaerobik parçalanma testlerinde parçalanmanın seviyesini belirleme amacıyla kullanılabilir. Boyar maddelerle yapılan anaerobik parçalanma çalışmaları, özellikle aerobik ortamda parçalanamayan suda çözünebilir reaktif azo boyar maddeler üzerinde yoğunlaşmıştır. Çift bağlı azot halkasına bağlı bu boyaların aerobik proseslerle arıtılabilirliğinin mümkün olmaması anaerobik arıtmanın ön arıtma olarak kullanılmasını gerektirmektedir. Anaerobik olarak renk gideriminin gerçekleşebilmesi için ilave karbon kaynağına ihtiyaç vardır. İlave karbon metan ve karbondioksite

dönüştürülmekte ve elektronlar açığa çıkmaktadır. Bu elektronlar elektron taşıma zincirinden son elektron alıcısına yani azo-reaktif boyaya taşınmakta ve boyayla reaksiyona girerek azo bağıını indirgemektedir. Böylece anaerobik parçalanma sonucunda azo boyar maddelerdeki renkten sorumlu azo bağı kırılmakta ve renk giderimi sağlanmaktadır. Bu olay oksijen tarafından inhibe edilmektedir. Bu nedenle boya atıklarını renksizleştirmek için ilk adım azo köprüsünün indirgenerek parçalandığı anaerobik koşullar altında arıtım olmalıdır. (Robinson ve ark., 2001).

Yapılan bir çalışmada ilave karbon kaynağı olarak kullanılan optimum miktardaki tapioca nişastasının prosesin renk giderme kapasitesini arttırdığı vurgulanmıştır (Chinwetkitvanich ve ark., 2000). Sponza ve ark. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada Reaktif Black 5 ve Synozol Red boyaalarının anaerobik arıtma ile renksizleşebildikleri, kullanılan mikroorganizma kültürüne ve boya derişimine bağılı olarak %23 ile %78 arasında değışen KOİ giderme verimlerinin elde edilebileceğı belirlenmiştir. Rengin tamamının giderilmesi azo boyar maddelerin renk veren N=N yapısının anaerobik kültür tarafından parçalanması ile mümkün olmuştur. KOİ'nin tamamen giderilememesi, meydana gelen ara ürünlerin anaerobik kültür tarafından parçalanamamasındandır. Azo bağıının kırılmasıyla, anaerobik olarak parçalanamayan aromatik aminler de oluşabilmektedir.

Boyar maddeler normalde sitotoksik, mutajenik veya kanserojenik değılken, anaerobik parçalanma sonucu oluşan aminler bu özellikleri gösterebilmektedir. Bu nedenle anaerobik sistemler aerobik arıtmadan önce yer alan bir ön arıtım yöntemi olarak önerilmektedirler. Çünkü aromatik aminler, aromatik bileşimin halkasının açılması ve hidroksilasyonla aerobik ortamda mineralize olabilmektedirler. Böylece boyar madde içeren atıksuların kombine anaerobik-aerobik proseslerle arıtılması sonucu ilk basamakta etkili bir renk giderimi sağlanmakta ve anaerobik ortamda dirençli olan aromatik aminler aerobik basamakta giderilebilmektedir (Oneill ve ark. 2000b).

2.5.Biyosorpsiyon

Kimyasal maddelerin mikrobiyal kütle tarafından adsorpsiyonu veya kütlerde birikimi biyosorpsiyon olarak ifade edilmektedir. Ölü bakteriler, maya ve mantarlar boyar madde içeren atıksuların renginin giderilmesinde kullanılabilir. Tekstil boyalarının kimyası geniş bir yelpazede değişiklik gösterdiği için mikroorganizmalarla olan etkileşimler boyanın kimyasına ve mikrobiyal kütlelerin spesifik kimyasına dayanmaktadır. Bu nedenle kullanılan mikroorganizmanın cinsine ve boyaya bağlı olarak farklı bağlanma hızları ve kapasiteleri söz konusudur. Boyar madde içeren atıksu çok toksik olduğunda biyosorpsiyon avantajlı olmaktadır (Robinson ve ark. 2001).

2.6.Fungal Dekolorizasyon

Phanerochaete chrysosporium ve *Tinctoporia sp'* nin lignin içeren pulplarda ve kağıt endüstrisi atıklarında renk giderimi için kullanımı 1980 lerin başlarında bildirilmiştir (Eaton ve ark. 1980, Fukuzumi 1980) o günden bu yana *P chrysosporium* un pulp mill atıklarında ve çeşitli boyalarda dekolozasyon kullanılmasına ilişkin birçok araştırma yapılmıştır (Bilgiç ve ark 1997, Cammarota ve Sant Anna 1992, Yung ve Yu 1997, Ollikka ve ark. 1993). *P chrysosporium*'a ek olarak *Trametes versicolor*, *Coriolus versicolor*, *Funalia trogii* gibi diğer bazı white-rot funguslarında dekolozasyon yapabildikleri gösterilmiştir (Wong ve Yu 1999, Knapp ve ark. 1995, Yesilada ve ark. 1995). Bu beyaz çürükçül fungusların yanısıra *Aspergillus niger*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizopus oryzae* gibi funguslarda farklı boya renkleri adsorbe edebildiği ve dekolozasyon yapabildiği bulunmuştur (Fu ve Viraraghavan 2000, Gallagher ve ark, 1997). Boya atıksularında dekolozasyon yapabilen fungusları hayat döngülerine göre 2 gruba ayırabiliriz. Yaşayan hücrelerle boya renklerinin biyoadsorpsiyon (Çizelge 2) ve biyodegradasyonu, ölü hücrelerle (fungal biomas) boya renklerinin adsorpsiyonu (Çizelge 3).

2.6.1.Mekanizma

Yaşayan hücreler için temel mekanizma biyodegradasyondur çünkü yaşayan organizmalar lakkaz, mangan peroksidaz (MnP) ve lignin peroksidaz gibi (LiP) lignin

modifiye enzimleri lignini ve boyar maddeyi mineralize edebilmek için sentezleyebilirler (Raghukumar ve ark. 1996). Yinede bu enzimlerin dekolorizasyona katılımı türler arasında farklılık gösterebilmektedir. Pasti- Grigsby ve ark. (1992) *P. chrysosporium*'da boyar maddenin dekolorizasyondan sorumlu enzimin LiP olduğunu bildirmiştir. Ollikka ve ark. ise (1993) azo bayalarının, trifenilmetanın, heterosiklik ve polimerik boyaların dekolorizasyonunda LiP'in temel rolü oynadığı ancak bu boyaların degradasyonunun başlamasında MnP'a gereksinim duyulmadığını bildirmişlerdir. Young ve Yu (1997). Azo bayalarını, indigo, antrokuinon, metal kompleks bayalarını da içeren 8 sentetik boya ile yaptığı çalışmada *T. versicolorun* MnP'ın dekolorizasyonun başlaması için gerekli olmadığını ancak ligninazın boyaların %80 ini oksidasyon ile uzaklaştırdığını göstermişlerdir. Yinede Zhang ve ark. (1999) MnP'ın çürükcül funfuslarda önemli rol oynadığını ancak LiP'in kesin rol oynadığının belirlenemediğini söylemişlerdir. *T. versicolorun* temel ekstra selüler enzimi lakkaz olmasının nedeni antrakuinon, azo ve indigo bayalarının dekolorizasyonunda lakkaz aktivitesi temel mekanizmadır (Wong ve Yu 1999). Vasdev ve ark. (1995) *Cyathus bulleri* ile yapılan dekolorizasyonda lakkaz aktivitesinin maksimuma ulaştığını saptamışlardır. Biyodegradasyona ek olarak biyoadsorbsiyon mekanizmasında yaşayan hücreler ile yapılan dekolorizasyon çalışmalarında önemli rol oynar. Mou ve ark. (1991) *Myrothecium verrucaria*' yı boya solüsyonu içine eklediğinde ilk 5 dakikada boyanın %50 sini uzaklaştırdığını ve yaklaşık 10 saatte dengenin kurulduğunu göstermiştir. Bu adsorbsiyonun çok hızlı olduğunu göstermektedir. Hücre renginin boya molekülüne bağlı olarak 1 haftalık periyotta veya daha uzun sürede zamanla bozduğunu belirlemişlerdir. Knapp ve ark. (1995) adsorbsiyon ile renk gideriminin sınırlı olduğunu (genellikle %50 den az) bildirmiştir. Benito ve ark (1995) ise *T. versicolor* ile yaptıkları çalışmada bu oranın %5–10 ile sınırlı olduğunu bildirmişlerdir. Mineralli ve ark. (1996) *Aspergillus niger* ile yaptıkları çalışmada absorblanan renk yüzdesinin 10–25 arasında değiştiğini göstermişlerdir. Boussaid (1995) *Sagenomella striatisporanın* deneylerde ortamdaki renk gideriminin %74 oranında gerçekleştiğini ancak bunun % 12 sinin renk adsorbsiyonu ile gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Ölü hücrelerdeki bioadsorbsiyon mekanizmasına, adsorbsiyon, deposizyon ve iyon değişimi gibi fizikokimyasal reaksiyonlar etkili olmaktadır. Zhou ve Banks (1991) Ölü

Rhizopus arrhizus ile humik asid adsorbsiyon çalışmalarında adsorbsiyonun bifazik bir proses olduğunu göstermişlerdir. İlk faz metabolik enerjiye bağımlı değil iken ikinci faz daha yavaş olup metabolik enerjiye bağımlı idi. *R. arrhizus* ile yapılan çalışmalarda humik asid adsorbsiyonunda hücre duvarında olmakta ve büyük olasılıkla kitin kitisan adsorbsiyonu sağlayan temel bileşen olarak görev yapmaktadır (Zhou ve Banks 1993, Banks ve Parinson 1992). Gallagher ve ark. (1997) *Rhizopus oryzae* biyoması ile reaktif birilliant red kullanarak yaptıkları çalışmayla adsorbsiyon olayının kombine bir mekanizma olduğu (Freundlich ve Langmuir izoterm model) saptandı. Brahimî- Horn ve ark. (1992) sonikasyona tabi tuttıkları hücreleri 1 ila 24 saat 3 boya solüsyonunda denemişler ve yaklaşık 1 saat içinde aynı miktarda boyayı absorbladığını fakat 24 saat boya adsorbsiyonunun arttığını saptamışlardır.

Tatarko ve Bumpus (1998) otoklavlanmış ve canlı *P. chrysosporium* hücrelerini dekolorizasyon açısından değerlendirmiş otoklavlanmış hücrelerin Congo kırmızısının %90'dan fazlasını, canlı hücrelerin ise %70ini uzaklaştırdığını saptamıştır. 1991 yılında Mou ve ark. Yaptıkları çalışmalarda ölü ve canlı hücrelerin renk gideriminde kullanılmalarında benzer etkiler gösterdiğini saptamışlardır. Polman ve Breckenridge (1996) 28 mikroorganizma türü ile Reaktif Black 5 boyasında yaptıkları çalışmada bu türlerin ölü hücrelerinin % 64' ünün yüksek adsorbsiyon gösterdiğini saptamışlardır. Bu türlerin 21'i Reaktif Black 19 boyasını bağladığını, ölü hücrelerin %71'inin daha etkili olduğunu saptadılar ve bunun nedeninin hücreyi öldürmekle adsorbsiyon yüzeyinin artmasından kaynaklanabileceğini bildirdiler. Fakat bu türler içerisinde canlı hücre olarak 26 türün Sulfur Black 1 boyasını %54' ünü bağladığını ve bu oranın ölü hücrelere oranla daha başarılı olduğunu saptadılar. Bunun nedeninin ise boyalardaki farklılıktan kaynaklanabileceğini bildirdiler. Yaşayan hücreler çok çeşitli dekolorizasyon mekanizmalarına sahiptir ve performansları ortamın pH'sı, sıcaklığı influent konsantrasyonu, ile yakından ilişkilidir (Gadd 1990). Yaşayan hücrelerle ölü hücreler karşılaştırıldığında ölü hücreler depolanabilir çünkü besine ihtiyaç duymazlar (Brady ve ark. 1994), kolay ve basit uygulanabilirler. Ölü biyomas atıkların fermentasyon proseslerinde kullanılabilir (Kapoor ve Viraraghavan 1995).

Cizelge 2.2. Dekolorizasyon yapabilen çeşitli canlı fungal hücreler

Table 2
Data on various living fungal cells capable of dye decolorization*

Culture	Dye and concentration	Percent removal/ time	Mechanism	Reference
<i>Acremonium</i> sp.	Pulp mill effluent	44	Biodegradation	Lesley (1993)
<i>Aspergillus foetidus</i>	Remazole Red (50 mg/l)	98.4 (2 d)	Biosorption	Sumathi and Phatak (1999)
	Remazole Dark Blue HR (50 mg/l)	99.2 (2 d)		
	Remazole Brilliant Orange (50 mg/l)	68.0 (2 d)		
	Remazole Brown GK (50 mg/l)	98.7 (2 d)		
	Lignin (0.05%)	95 (2 d)	Lignolytic process	
	Lignin (0.10%)	90 (2 d)		
	Lignin (0.15)	90 (80 h)		
	Black liquor (10× dilution)	90 (2 d)	Biodegradation	
	Alkali liquor (5× dilution)	90 (2 d)		
	<i>A. niger</i>	Basic Blue 9 (50 mg/l)	1.17* (2 d)	
<i>A. niger</i>	Acid Blue 29 (50 mg/l)	6.63* (30 h)	Biosorption	Fu and Viraraghavan (1999)
<i>A. niger</i>	Molasses wastewater	57 (3-4 d)	Biodegradation and adsorption	Miranda et al. (1996)
<i>A. sojae</i> B-10	Amaranth (10 mg/l)	97.8 (5 d)	NR	Ryu and Weon (1992)
	Sudan III (10 mg/l)	97.4 (5 d)	NR	
	Congo Red (10 mg/l)	93.0 (5 d)	NR	
<i>Botrytis cinerea</i>	Reactive Blue 19 dye waste	13*	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
	Sulfur Black 1 dye waste	49.7*		
<i>Candida</i> sp. (yeast)	Procyon Black (100 mg/l)	93.8 (2 h)	Adsorption	De Angelis and Rodrigues (1987)
	Procyon Blue (100 mg/l)	96.8 (2 h)		
<i>Candida</i> sp. (yeast)	Procyon Red (100 mg/l)	98.9 (2 h)	Adsorption	De Angelis and Rodrigues (1987)
	Procyon Orange (100 mg/l)	96.8 (2 h)		
<i>C. rugosa</i> (yeast)	Reactive Black 5 dye waste	31*	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
	Reactive Blue 19 dye waste	8*		
	Sulfur Black 1 dye waste	308*		
<i>Coriolus</i> sp. No. 20	Melanoidin (0.5%)	80 (14 d)	Active oxygen	Watanabe et al. (1982)
<i>C. versicolor</i>	Diazo-linked chromophore effluent (5-40%, v/v)	70-80 (14-18 d)	NR	Knapp and Newby (1999)
	Acid Green 27	100	Biodegradation and adsorption	Knapp et al. (1995)
<i>C. versicolor</i>	Copper Phthalocyanine	99		
	Tetrasulphonic Acid			
	Indigo Carmine	100		
	Neutral Red	91		
	Acid Red 106	100		
	Mordant Yellow	84		
	Brilliant Yellow	99		
	Reactive Red 4	90		
	Orange II	100		
	Brilliant Green	100		
	Reactive Black 5 dye waste	60*	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
<i>Cryptococcus heveanensis</i> (yeast)	Reactive Blue 19 dye waste	22*		
	Sulfur Black 1 dye waste	360*		
<i>Cyathus bulleri</i>	Crystal Violet	87.5 (2 d)	Laccase activity	Vasdev et al. (1995)
	Bromophenol Blue	98.7 (2 d)		
<i>Cyathus bulleri</i>	Malachite Green	96.2 (2 d)	Laccase activity	Vasdev et al. (1995)
<i>Dekkera bruxellensis</i> (yeast)	Reactive Black 5 dye waste	38*	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
	Reactive Blue 19 dye waste	36*		
	Sulfur Black 1 dye waste	527*		
<i>Endothiella aggregata</i>	Reactive Black 5 dye waste	44*		
	Sulfur Black 1 dye waste	300*		
<i>Funalia trogii</i>	Olive mill wastewater (30% v/v)	31 (6 d) (Static)	NR	Yesilada et al. (1995)
		38 (9 d) (Agitated)		
<i>Ganoderma</i> sp.	Orange II (100 mg/l)	28-77 (2 d)	Adsorption	Mou et al. (1991)
	10B (Blue)	68-94 (2 d)		
	RS (Red) (100 mg/l)	80-97 (2 d)		
<i>Geotrichum fici</i>	Reactive Black 5 dye waste	7*	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
	Reactive Blue 19 dye waste	60*		
	Sulfur Black 1 dye waste	60*		

Cizelge 2.2. (Devamı) Dekolorizasyon yapabilen çeşitli canlı fungal hücreler

Culture	Dye and concentration	Percent removal/ time	Mechanism	Reference
<i>Halosarpheia ratnagiriensis</i>	Paper mill bleach effluent	85 (14 d)	Lignin enzymes	Raghukumar et al. (1996)
<i>Kluyveromyces waltii</i> (yeast)	Reactive Black 5 dye waste Reactive Blue 19 dye waste Sulfur Black 1 dye waste	60* 20* 445*	Adsorption	Polman and Breckenridge (1995)
<i>Merulius tremellosus</i>	Pulp bleach effluent (40 v/v)	50 (14 d)	Peroxidase	Lankinen et al. (1991)
<i>Myrothecium verrucaria</i>	Orange II (200 mg/l) 10B (Blue) (200 mg/l) RS (Red) (200 mg/l)	70.0 (5 h) 86.0 (5 h) 95.0 (5 h)	Adsorption	Brahimi-Horn et al. (1992)
<i>M. sp.</i>	Orange II (100 mg/l) 10B (Blue) RS (Red) (100 mg/l)	25-91 (2 d) 58-98 (2 d) 81-98 (2 d)	Adsorption	Mou et al. (1991)
<i>Neurospora crassa</i>	Vermelho Reanil p88 (16.0-32.0 mg/l)	91.3-89.1 (1 d)	NR	Corso et al. (1981)
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Congo Red (500 mg/l)	70 (2 d) (liquid culture) 90 (7 d) (Solid culture)	Lignin degradation	Tatarko and Bumpus (1998)
<i>P. chrysosporium</i>	Indigo Carmine (40-50 mg/l) Reactive Blue 15 (40-50 mg/l) Acid Violet 7 (40-50 mg/l) Reactive Black 5 (40-50 mg/l) Acid Green 27 (40-50 mg/l) Acid Blue 25 (40-50 mg/l)	29.8 (9 d) 75.6 (9 d) 26.9 (9 d) 11.3 (9 d) 0.2 (9 d) 55.6 (9 d)	Ligninase-catalyzed	Young and Yu (1997)
<i>P. chrysosporium</i>	Acid Orange 74 (40-50 mg/l) Acid Black 24 (40-50 mg/l)	6.6 (9 d) 98 (9 d)	Ligninase-catalyzed	Young and Yu (1997)
<i>P. chrysosporium</i>	Olive mill wastewater	70 (10)	Lignin peroxidase	Sayadi and Ellouz (1995)
<i>P. chrysosporium</i>	Bromophenol Blue (44.8 µm) Congo Red (28.7 µm) Methylene Blue (10.3 µm)	93 (15 min) 54 (15 min) 86 (15 min)	Lignin peroxidase	Ollikka et al. (1993)
<i>P. chrysosporium</i>	Methyl Green (29 µm) Methyl Orange (21.3 µm) Remazol Brilliant Blue R (79.8 µm) Toluidine Blue O (16.3 µm) Poly R-478 (0.002%) Poly S-119 (0.002%) Poly T-128 (0.002%)	88 (15 min) 88 (15 min) 75 (15 min) 81 (15 min) 46 (15 min) 78 (15 min) 48 (15 min)	Lignin peroxidase	Ollikka et al. (1993)
<i>P. chrysosporium</i>	Kraft bleach plant E1 stage effluent	70 (5.8 d)	Lignin peroxidase	Cammarota and Sant Anna (1992)
<i>P. chrysosporium</i>	Methyl Orange 52 (150 mg/l) Methyl Orange 52 (300 mg/l) Ethyl Orange (150 mg/l) Ethyl Orange (300 mg/l) Acid Yellow 9 (150 mg/l) Acid Yellow 9 (300 mg/l)	92 (15 d) 88 (15 d) 93 (15 d) 94 (15 d) 79 (15 d) 74 (15 d)	Peroxidase enzymes	Pasti-Grigsby et al. (1992)
<i>P. chrysosporium</i>	Orange II (150 mg/l) Orange II (300 mg/l) Orange I (150 mg/l) Orange I (300 mg/l)	99 (15 d) 53 (15 d) 67 (15 d) 71 (15 d)	Peroxidase enzymes	Pasti-Grigsby et al. (1992)
<i>P. chrysosporium</i>	Five sulfonated azo dyes	Mineralized	Lignocellulytic	Paszczynski et al. (1992)
<i>P. chrysosporium</i>	4-Phenylazophenol	28.4-38.2 (12 d)	Lignin degradation	Spadaro et al. (1992)
<i>P. chrysosporium</i>	4-Phenylazo-2-methoxyphenol Disperse Yellow 3 4-Phenylazoaniline <i>N,N</i> -Dimethyl-4-phenylazoaniline Disperse Orange 3 Solvent Yellow 14	20.7-48.1 (12 d) 42.7 (12 d) 25.8 (12 d) 29.9-46.0 (12 d) 40.1-42.5 (12 d) 4.5-23.1 (12 d)	Lignin degradation	Spadaro et al. (1992)
<i>P. chrysosporium</i>	Poly B-411 Poly R-481 Poly Y606	NR NR NR	Ligninolytic degradarion	Glenn and Gold (1983)
<i>P. chrysosporium</i>	Pulp bleach effluent (40 v/v)	76 (14 d)	Peroxidase	Lankinen et al. (1991)

Çizelge 2.2. (Devamı) Dekolorizasyon yapabilen çeşitli canlı fungal hücreler

Culture	Dye and concentration	Percent removal/ time	Mechanism	Reference
<i>P. chrysosporium</i>	Alkali extraction stage bleachery effluent	90 (3 d)	Lignin peroxidase	Bilgic et al. (1997)
<i>Phlebia radiata</i>	Pulp bleach effluent (40 v/v)	76 (14 d)	Peroxidase	Lankinen et al. (1991)
<i>Pichia carsonii</i> (yeast)	Reactive Black 5 dye waste	25*	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
	Reactive Blue 19 dye waste	3*		
	Sulfur Black 1 dye waste	499*		
<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	Pigment plant effluent	90 (3 d)	Extracellular oxidases	Schliephake et al. (1993)
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Humid acid (HPO-A)	3.0–6.5 (2 h)	Biodegradation	Zhou and Banks (1991)
	Humid acid (HPI-N)	1.5–3.8 (2 h)		
<i>R. oryzae</i>	Reactive Black 5 dye waste	99*	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
	Sulfur Black 1 dye waste	1107*		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (yeast)	Reactive Blue 19 dye waste	52*		
<i>Sagenomella striatispora</i>	Pulp-mill effluent	74 (15 d)	Biodegradation	Boussaid (1995)
<i>Schizophyllum commune</i>	(After secondary treatment) Bagasse-based pulp mill effluent	80–90 (2 d)	Lignin enzymes	Belsare and Prasad (1988)
<i>Sordaria fimicola</i>	Paper mill bleach effluent	55 (14 d)	Lignin enzymes	Raghukumar et al. (1996)
<i>Trametes versicolor</i>	Acid Green 27	165** (15 d)	Laccase-catalyzed	Wong and Yu (1999)
	Acid Violet 7	50** (15 d)		
	Indigo Carmine	50** (15 d)		
<i>T. versicolor</i>	Wastewater from an alcoholic fermentation	80 (3 d)	Biodegradation and adsorption	Benito et al. (1997)
<i>T. versicolor</i>	Paper mill effluent Caustic	69 (1 d)	Biodegradation	Pallerla and Chambers (1997)
	Paper mill effluent Acidic	48 (1 d)		
	Paper mill effluent Caustic and acidic	61–72 (10–24 h)		
<i>T. versicolor</i>	Indigo Caramine (40–50 mg/l)	29.8 (9 d)	Ligninase-catalyzed	Young and Yu (1997)
	Reactive Blue 15 (40–50 mg/l)	75.6 (9 d)		
	Acid Violet 7 (40–50 mg/l)	26.9 (9 d)		
	Reactive Black 5 (40–50 mg/l)	11.3 (9 d)		
	Acid Green 27 (40–50 mg/l)	0.2 (9 d)		
	Acid Blue 25 (40–50 mg/l)	55.6 (9 d)		
	Acid Orange 74 (40–50 mg/l)	6.6 (9 d)		
	Acid Black 24 (40–50 mg/l)	98 (9 d)		
<i>T. villosa</i>	Kraft el effluent	70–80 (1–2 d)	Biodegradation	Soares and Duran (1998)
<i>Tremella fuciformis</i>	Reactive Black 5 dye waste	92*	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
	Reactive Blue 19 dye waste	41*		
	Sulfur Black 1 dye waste	934*		
<i>Trichoderma</i> sp.	Hardwood extraction effluent	85 (3 d)	Ligninolytic enzymes	Prasad and Joyce (1991)
<i>Wood rotting fungus</i> (unidentified)	Cotton bleaching effluent (20–50%)	81.5–43.8 (5 d)	Manganese peroxidase	Zhang et al. (1999)
<i>Xeromyces bisporus</i>	Reactive Black 5 dye waste	11*	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
	Reactive Blue 19 dye waste	0*		
	Sulfur Black 1 dye waste	63*		

Çizelge 2.3. Dekolorizasyon yapabilen çeşitli ölü fungal hücreler

Culture	Dye and concentration	Biosorption capacity (mg of dye/g of biomass)	Mechanism	Reference
<i>Aspergillus niger</i>	Basic Blue 9 (50 mg/l)	10.49–18.54 (2 d)**	Biosorption	Fu and Viraraghavan (2000)
<i>A. niger</i>	Acid Blue 29 (50 mg/l)	1.44–13.82 (30 h)**	Biosorption	Fu and Viraraghavan (1999)
<i>A. niger</i>	Reactive Brilliant Red (250 mg/l)	14.2 (2 weeks)**	Adsorption	Gallagher et al. (1997)
<i>Botrytis cinerea</i>	Reactive Blue 19 dye waste	42	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
<i>Cryptococcus heveanensi</i> (yeast)	Sulfur Black 1 dye waste	360		
	Reactive Black 5 dye waste	76		
	Reactive Blue 19 dye waste	23		
<i>Candida rugosa</i> (yeast)	Reactive Black 5 dye waste	31		
	Reactive Blue 19 dye waste	8		
<i>Dekkera bruxellensis</i> (yeast)	Sulfur Black 1 dye waste	407		
	Reactive Black 5 dye waste	36		
	Reactive Blue 19 dye waste	19		
<i>Endothiella aggregata</i>	Sulfur Black 1 dye waste	589		
	Reactive Black 5 dye waste	44	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
<i>Fomitopsis carnea</i>	Reactive Blue 19 dye waste	4		
	Sulfur Black 1 dye waste	307		
	Basic Violet 16 (50 mg/g)	503.1	Adsorption	Mittal and Gupta (1996)
<i>Geotrichum fici</i>	Basic Blue 1 (50 mg/l)	545.2		
	Basic Red 18 (50 mg/l)	643.9		
	Reactive Black 5 dye waste	45	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
<i>Geotrichum fici</i>	Reactive Blue 19 dye waste	17	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
<i>Kluyveromyce waltii</i> (yeast)	Reactive Black 5 dye waste	45		
	Sulfur Black 1 dye waste	37		
	Reactive Black 5 dye waste	72		
	Reactive Blue 19 dye waste	14		
<i>Laminaria digitata</i>	Reactive Brilliant Red (250 mg/l)	20.5 (4 weeks)**	Adsorption	Gallagher et al. (1997)
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Congo Red (500 mg/l)	90* (2 d)** (liquid culture)	Adsorption	Tatarco and Bumpus (1998)
<i>Pichia carsonii</i> (yeast)	Reactive Black 5 dye waste	32	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Reactive Blue 19 dye waste	5		
	Sulfur Black 1 dye waste	549		
	Humid acid	NR	Physical adsorption	Zhou and Banks (1991, 1993)
<i>Rhizopus oryzae</i> (26668)	Reactive Brilliant Red (250 mg/l)	102.6 (4 weeks)**	Adsorption	Gallagher et al. (1997)
<i>R. oryzae</i> (57412)	Reactive Brilliant Red (250 mg/l)	37.2 (4 weeks)**		
<i>R. oryzae</i>	Reactive Black 5 dye waste	452	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (yeast)	Sulfur Black 1 dye waste	3008		
	Reactive Blue 19 dye waste	69		
<i>Tremella fuciformis</i>	Reactive Black 5 dye waste	79		
	Reactive Blue 19 dye waste	35		
	Sulfur Black 1 dye waste	892		
<i>Xeromyces bisporus</i>	Reactive Black 5 dye waste	1		
<i>Xeromyces bisporus</i>	Reactive Blue 19 dye waste	60	Adsorption	Polman and Breckenridge (1996)
	Sulfur Black 1 dye waste	60		

* % color removal; ** numbers within brackets relate to time of contact between the dye and the adsorbent.

3. MATERYAL METOD

3.1. MATERYAL

3.1.1. Metal tuzları

HgCl₂ (Fluka 83366), Pb (NO₃)₂ (Fluka 15335), Ni (NO₃)₂.6H₂O (Riedel-de Haen 13621), ZnSO₄.7H₂O (Riedel-de Haen 14455), CoCl₂.6H₂O (Aldrich 20218-5), Cd (NO₃)₂.4H₂O, CuSO₄.5H₂O (Riedel-de Haen 12849) metalleri ağır metallerin boya degradasyonuna etkisini belirlemede kullanıldı.

3.1.2. Agar ortamı

Nişasta	3 g/lt
Malt ekstrat (Fluka 70167)	15 g/lt
Agar (Fluka 05039)	20 g /lt

Otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildikten sonra fungusların gelişimine pH, sıcaklık, ağır metallerin, sıcaklığın ve pH' nın etkisinin belirlemede ve biyodegradasyon çalışmalarında kullanıldı.

3.1.3. Malt Agar

Malt ekstrakt (Fluka 70167)	30gr/lt
Pepton Merck 1.07214)	5gr/lt
Agar (Fluka 05039)	15gr/lt
Distile su	1000ml

Otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edildikten sonra stokların hazırlanmasında kullanıldı.

3.2. METOD

3.2.1. Metal tuzlarının *Pleurotus* türlerinin gelişimine olan inhibisyon etkisinin saptanması

Pleurotus türlerinden *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus sajor-caju* ve *Pleurotus florida* test organizması olarak kullanıldı. Farklı ağır metal tuzları HgCl₂ (Fluka 83366), Pb(NO₃)₂ (Fluka 15335), Ni(NO₃)₂.6H₂O (Riedel-de Haen 13621), ZnSO₄.7H₂O (Riedel-de Haen 14455), CoCl₂.6H₂O (Aldrich 20218-5), Cd(NO₃)₂.4H₂O (), CuSO₄.5H₂O (Riedel-de Haen 12849). 0.001-0.5mM konsantrasyon aralığında agar ortama eklenerek (nişasta 3 g L⁻¹, malt ekstrat 15 g L⁻¹ ve agar 20 g L⁻¹) 6mm çapında kesilmiş 7 günlük taze *Pleurotus* sp suşlarının ekimi, plakların tam ortasına gelecek şekilde yapıldı. 27°C±2' de, 7-14 gün inkübasyonun ardından ağır metal içermeyen ve farklı konsantrasyonlarda ağır metal tuzları içeren plaklardaki fungal gelişim, koloninin çapı mm olarak ölçülerek belirlendi. Çalışmada, 3 tekrar sonucunda elde edilen değerlerin ortalamasına bakıldı. Kültürlerin devamı besi yerine her 15 günde bir besiyerine ekim yapılarak sağlandı (Hotmany ve Mecs 2003).

3.2.2. Farklı boyar maddelerin *Pleurotus* sp'ler ile degradasyonu ve pH'nın etkisinin belirlenmesi

Hatvani ve Mecs (2002) in kullandığı gelişme ortamı ağır metallerin ekstra selüler enzimlere ve boyar madde degradasyonuna etkisini belirlemede kullanılmıştır. Besiyeri nişasta 10 g L⁻¹, Malt ekstrat 3.5 g L⁻¹, agar 20 g L⁻¹ ve boyar madde 0.15 g L⁻¹ olacak şekilde hazırlanarak pH'ları 6 ve 5'e ayarlandıktan sonra 6mm çapında kesilmiş 7 günlük taze *Pleurotus* sp suşlarının ekimi plakların tam ortasına gelecek şekilde yapıldı. 27°C±2' de 7-14 gün inkübasyonun ardından ağır metal içermeyen ve farklı konsantrasyonlarda ağır metal tuzları içeren plaklardaki fungal gelişim, koloninin çapı mm olarak ölçülerek belirlendi. Çalışmada 3 tekrar sonucunda elde edilen değerlerin ortalaması alınarak değerlendirildi

3.2.3. Lanase mavi' in dekolorizasyonuna Pb ve Cd'nin etkisi

Nişasta 10 g L⁻¹, Malt ekstrat 3.5 g L⁻¹ ve boyar madde 0.15 g L⁻¹ içeren besiyerinde Cd ve Pb'nin renk (mavi) giderimine etkisine bakılmıştır. Pleurotus sp suşları katı besiyerinden sũspanse edilerek 250 ml'lik besiyerine homojenattan 2ml ekim yapılmıştır. Boyar maddenin UV spektrofotometrede maksimum absorbands yaptığı dalga boyu saptandıktan sonra boyar madde içeren buyyon iğerisindeki izolatlar ęalkalamalı etũvde 27°C'de , 150 rpm'de 7 gũn sũresince inkũbe edilmiştir. Her gũn, besiyerinden ȳrnek alınarak 7500g'de 4 dak santrifũj edilmiştir Supernatant kullanılan boyanın UV spektrofotometredeki max absorbandsın okunarak. Dekolorizasyon yũzdesi;

% Dekolorizasyon = (A₀-A)/A₀x100 formũlũ ile hesaplandı.

A₀= başlangığtaki absorbands

A=dekolorizasyon işleminden sonraki λ_{max} (nm)daki absorbands.

3.2.4. Enzim deneyleri

Ağır metallerin boya degradasyonuna etkisini belirlemek amacıyla %20 inhibisyonu sağlayan ağır metal konsantrasyonu ve boyar madde (0.15 g L⁻¹) besiyerine eklenmiştir. Ağır metal olaral Mn içermeyen besiyeri ortamlarına Mn substurat olarak 20mM oranında katılarak mangan peroksidaz enziminin (MnP) aktivite gȳstermesi sağlanmıştır. Besiyerinin pH'sı 6.5'e ayarlandıktan sonra ağır metallerin fungal misellere gelişimine olan etkisini belirlemede kullanılan ekim yȳntemi ile ekimler yapılmıştır 15 gũnlũk inkũbasyonun ardından dekolorizasyon zonları mm olarak ȳlçũlerek değerlendirilmiştir. Her bir deneme 3 paralel olarak ęalıřılmıřtır.

3.2.4.1. Sũpernatantın hazırlanması

Degradasyonda rol alan Lakkaz (Lcc), manganperoksidaz (MnP) enzimleri değerlendirmeye alınmıştır. Ekstra selũler enzimler agar plaklarından elde edilmiştir.

Bunun için öncelikle 2mLg-1 agar olacak şekilde siteril distile su ile Pleurotuslu agar karıştırılarak, homojenizatörde parçalanmış ve santrifüj edilmiştir (7500g'de 10 dak). Süpernatantdaki enzim aktivitesi ölçümlerinde kullanılmıştır.

3.2.4.2.MnP aktivitesinin saptanması

MnP aktivitesinin belirlenmesinde **Wariishi ve ark.'larının** (1992) kullandığı metod kullanılmıştır. Deneyde 0.5mM MnSO₄, 50mM sodyum molonat (pH 4.5) içerisine katılarak, reaksiyonu başlatmak için 10µL H₂O₂ final konsantrasyon 0.4mM olacak şekilde eklenmiştir. Mn (III)-malonat kompleksi 270nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmiştir ($\epsilon_{270}=11,590 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

3.3. Lcc aktivitesinin belirlenmesi

Lcc aktivitesi 2,2'-azino-bis (3-etilbenziazolin)-6- sulfonat (ABTS) oksidasyonu ile belirlenmiştir Reaksiyon karışımı 0.3mM ABTS 50 mM sodium molonat (pH4.5) içerisine katılarak hazırlanmıştır. Oksidasyon miktarı 420nm'de absorbans miktarına bakılarak ölçülmüştür ($\epsilon_{420} = 36,0000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) (**Wolfenden ve Willson 1982**).

3.4.İstatistiksel analiz

Koloni çapları arasında istatistiksel bir farklılığın olup olmadığı SPSS programı Kullanılarak Oneway Anova Dunnett t testi ile belirlendi ($p \leq 0.05$).

4. BULGULAR

4.1. Metal tuzlarının *Pleurotus* türlerinin gelişimine olan inhibisyon etkisinin saptanması

Pb ve Ni'in 0,001 mM \leq ; Hg, Pb ve Cd'nin 0.005 mM \leq ve Co'ın 0.05 mM \leq konsantrasyonunda *P. sajor caju*'nun gelişiminini inhibisyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P \leq 0.05$). *P. florida* ise Ni ve Cd hariç denenen tüm metallerde 0.001 mM \leq konsantrasyonları istatistiksel olarak anlamlı iken Ni'in 0.005 mM \leq ve Cd'nin 0.01 mM \leq konsantrasyonlarındaki inhibisyon istatistiksel olarak anlamlı olmuştur. *P. ostreatus*'ta Hg ve Pb 0,01 mM \leq konsantrasyondan sonra istatistiksel olarak anlamlı inhibisyon saptanmıştır. Diğer metallerde 0,001 mM \leq konsantrasyonlarda gelişimin inhibisyonu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.1, 4.2, 4.3)

Çizelge 4.1 Metal tuzlarının *Pleurotus sajor-caju* gelişimine etkisi

	Ağır Metaller	Konsantrasyonlar (mM) X(Zon Çapı) mm±(SD)						
		Kontrol	0,001	0,005	0,01	0,05	0,1	0,5
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Hg	6,23(0,25)	6,00(0)	5.2(0,2)*	5.03(0,41)*	4.96(0,45)*	4.30 (0,1)*	-
	Ni	5,00(0)	4.36(0,20)*	4.16(0,05)*	3.90(0,26)*	4,76(0,25)	3.93(0,11)*	-
	Co	8,16(0,28)	7,5(0,1)	7,4(0,1)	7,5(0,2)	6(0,5)*	5.93(0,5)*	-
	Zn	5(0)	4,63(0,11)	3,93(0,3)	3,7(0,43)	-	-	3(0,26)
	Pb	6,23(0,25)	4,6(0)*	5,1(0,3)*	4,43(0,25)*	4,5(0,1)*	-	-
	Cd	6,23(0,25)	6(0)	5,2(0,2)*	5,03(0,41)*	4,96(0,45)*	4,3(0,1)*	-

Çizelge 4.2 Metal tuzlarının *Pleurotus florida* gelişimine etkisi

	Ağır Metaller	Konsantrasyonlar (mM) X(Zon Çapı) mm±(SD)						
		Kontrol	0,001	0,005	0,01	0,05	0,1	0,5
<i>Pleurotus florida</i>	Hg	6,16(0,15)	3,5(0,1)*	3,8(0,1)*	3,53(0,15)*	3,00(0,1)*	2,86(0,11)*	-
	Ni	6,33(0,57)	4,36(0,05)	3,8(0,01)*	3,93(0,11)*	3,3(0,01)*	2,16(0,28)*	1,9(0,1)*
	Co	5,7(0,5)	4,7(0,01)*	4,93(0,4)*	4,6(0,17)*	4,03(0,05)*	4,00(0,01)*	-
	Zn	6,33(0,5)	4,9(0,17)*	4,73(0,23)*	3,6(0,69)*	3,4(0,01)*	-	0,5(0,01)*
	Pb	6,16(0,15)	3,93(0,11)*	4,66(0,57)*	4,00(0,3)*	3,7(0,88)	3,4(0,4)*	-
	Cd	5,7(0,5)	5,5(0,2)	5,43(0,11)	4,83(0,28)*	5,13(0,32)	2,83(0,28)	-

p≤0.05'e göre

Çizelge 4.3 Metal tuzlarının *Pleurotus ostreatus* gelişimine etkisi

	Ağır Metaller	Konsantrasyonlar (mM) X(Zon Çapı) mm±(SD)						
		Kontrol	0,001	0,005	0,01	0,05	0,1	0,5
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Hg	5,7(0,5)	5,5(0,2)	5,43(0,11)	4,83(0,28)*	5,13(0,32)*	2,83(0,28)*	-
	Ni	5,86(1,02)	4,6(0,36)*	3,9(0,1)*	-	3,36(0,41)*	2,73(0,25)*	-
	Co	6,76(0,25)	6,2(0,1)*	5,56(0,05)*	5,46(0,05)*	5,26(0,25)*	5,13(0,11)*	-
	Zn	6,00(0,01)	4,16(0,57)*	3,46(0,05)*	2,80(0,26)*	2,53(0,05)*	2,26(0,15)*	2,03(0,05)*
	Pb	6,53(0,05)	6,56(0,11)	6,43(0,20)	6,00(0,01)*	5,96(0,05)*	4,83(0,05)*	-
	Cd	7,06(0,6)	5,9(0,1)*	5,33(0,47)*	5,46(0,55)*	5,06(0,20)*	3,9(0,17)*	-

4.2. Farklı boyar maddelerin *Pleurotus sp*'ler ile degradasyonu ve pH'nın etkisi

Çizelge 4.4 Farklı metal konsantrasyonlarının *Pleurotus sp*'lerinin miselyal gelişimi üzerine % inhibisyonu

Metal Konsantrasyonların (mM)					
	0.001	0.005	0.01	0.05	0.1
Hg					
<i>Pleurotus ostreatus</i>	3.74	16.58	18.25	20.31	31.02
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	43.24	38.38	42.70	51.35	-
<i>Pleurotus florida</i>	12.82	11.28	12.31	16.92	20.00
Zn					
<i>Pleurotus ostreatus</i>	7.33	21.33	26.00	40.00	-
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	22.62	25.26	43.15	46.31	62.10
<i>Pleurotus florida</i>	30.50	42.22	53.3	57.78	62.22
Pb					
<i>Pleurotus ostreatus</i>	26.2	18.00	28.87	27.80	-
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	24.32	-	-	40.00	41.86
<i>Pleurotus florida</i>	-	1.53	8.16	8.67	26,02
Ni					
<i>Pleurotus ostreatus</i>	12.66	16.66	22.00	-	21.33
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	31.04	39.99	37.89	47.89	65.78
<i>Pleurotus florida</i>	21.59	33.52	-	42.61	53.41
Cd					
<i>Pleurotus ostreatus</i>	3.74	16.58	19.25	20.31	31.02
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	3.51	4.68	17.33	9.90	50.87
<i>Pleurotus florida</i>	16.51	24.53	22.64	28.30	44.81
Co					
<i>Pleurotus ostreatus</i>	8.16	9.39	8.16	26.53	27.35
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	17.54	13.45	19.29	29.24	29.82
<i>Pleurotus florida</i>	8.37	17.73	19.21	22.17	24.14

Pleurotus sajor-caju artan Hg konsantrasyonu ile miselyal gelişim inhibe olmuştur. İnhibisyon Hg'nin 0.005 mM ≤ konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı olup 0.05 mM ve üzeri Hg konsantrasyonları miselyal gelişimi %20'den fazla inhibe etmiştir. *Pleurotus* türleri içinde Hg varlığında *Pleurotus sajor-caju* ' nun gelişimi denenen diğer *Pleurotus* türlerine oranla daha fazla olmuştur. Bunu *Pleurotus ostreatus* ve *Pleurotus florida* takip etmiştir. *Pleurotus florida* ' da Hg'nin 0.05 mM konsantrasyonunda miselyal gelişimin %50 oranında inhibe olduğu saptanmıştır.

Zn'nin 0.05 mM lık konsantrasyonları tüm *pleurotus* türlerinin gelişimini %40≤ inhibe etmiştir. Hg'ya benzer olarak Zn'da en az inhibisyonun *Pleurotus sajor-caju* 'da olduğu görülmüştür.

Pb'nin artan konsantrasyonları *Pleurotus* türlerinin gelişimini inhibe etmesine rağmen *Pleurotus ostreatus*'da 0.05mM≥ konsantrasyonlarda %10'dan daha az gelişim inhibisyonuna neden olurken Pb'a karşı en hassas suşun *Pleurotus florida* olduğu saptanmıştır.

Pleurotus sajor-caju'da Ni ile miselyal gelişimin inhibisyonunun diğer türlere oranla daha az olduğu belirlenmiştir. En fazla inhibisyon ise *Pleurotus florida*'da olduğu saptanmıştır. 0.1 mM'lık Ni konsantrasyonu *Pleurotus florida* ve *P. ostreatus*'u %50 den fazla inhibe ederken bu oran *P. sajor-caju*'da %21'de kalmıştır.

Cd'nin düşük konsantrasyonları (0.001–0.005 mM) *P.florida* üzerinde %10'dan az inhibisyon yaparken; inhibisyonun 0.1 mM Cd konsantrasyonunda %50'den fazla olduğu saptanmıştır. *P.sajor-caju* ve *P. ostreatus*'da artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak miselyal gelişimide inhibe olduğu saptanmıştır.

0.001- 0.1 mM Co konsantrasyonlarında *Pleurotus* türleri artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak miselyal gelişim inhibe olmuş ancak bu oran hiçbir konsantrasyonda %30'un üzerine çıkmamıştır. Özellikle *P. sajor-caju*'da düşük Co konsantrasyonlarında miselyal gelişim %10'dan daha az oranda inhibe olmuştur (Çizelge 4.4).

4.3. pH'nın renk giderimine etkisi

Çizelge 4.5 pH'nın fungal gelişim ve renk giderimi üzerine etkisi

Zon (mm)						
Boyar madde	Mavi		Yeşil		Kırmızı	
	KÇ	RAZÇ	KÇ	RAZÇ	KÇ	RAZÇ
<i>Pleurotus ostreatus</i>						
PH 5	28	35	35	52	-	-
pH6	16	20	3.0	50*	17	23
<i>Pleurotus sajor-caju</i>						
PH 5	30	40*	30	53*	30	40*
pH6	25	32*	25	37	30	34*
<i>Pleurotus Florida</i>						
PH 5	20	30	17	35	20	24
pH6	10	15	23	35	25	31

KÇ: Koloni çapı RAZÇ: Renk açılım zon çapı

Dekolorizasyon zonunun en fazla mavi boyar maddede olduğu saptanmıştır. *Pleurotus* suşları içinde, *Pleurotus sajor-caju* 'nun dekolozasyon zonlarının pH 5'de her 3 boyar maddede de diğer suşlara göre daha fazla olduğu saptanmıştır.

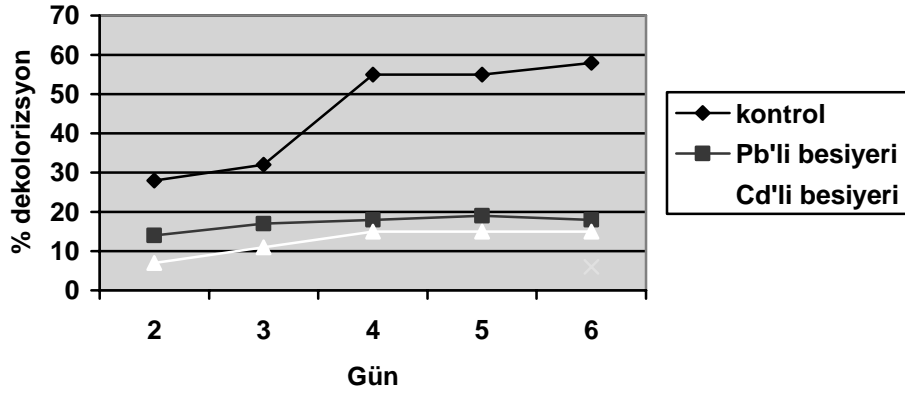
Tüm *Pleurotus* suşları renk giderimi deneylerinde kullanılan besiyerinde Ph 5'de daha iyi ürediği ve besiyeri üzerindeki renk açılımının pH 6'ya göre daha fazla olduğu örülmüştür. Ancak pH 6'da *Pleurotus ostreatus*'da yeşil boyar maddenin zon çapı 50mm olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5).

Mavi boyar maddenin dekolozasyon zonunun belirgin olması ve *Pleurotus* türlerinin tümünde zon saptanması nedeniyle renk açılımının spektrofotometrik olarak saptanmasında mavi boyar madde kullanılmıştır.

4.4. *Pleurotus sp.* dekolorizasyonuna Pb ve Cd'nin etkisinin spektrofotometrik olarak saptanması

Mavi boyar maddenin UV spektrofotometrede pik değeri 628 olarak belirlenmiştir. Standart 10 kat sulandırıldı değer 0.404

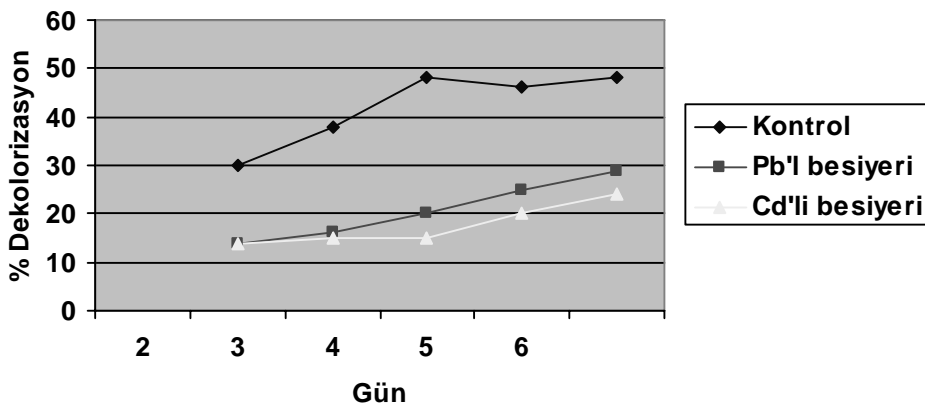
Grafik 4.1. *Pleurotus sajor-caju*'nun dekolorizasyonuna Pb ve Cd'nin etkisi



Agar besiyerindeki sonuçlara benzer olarak, *Pleurotus sajor-caju* dekolorizasyonda ağır metal içermeyen ortamda en etkili *Pleurotus* türü olarak saptanmıştır.

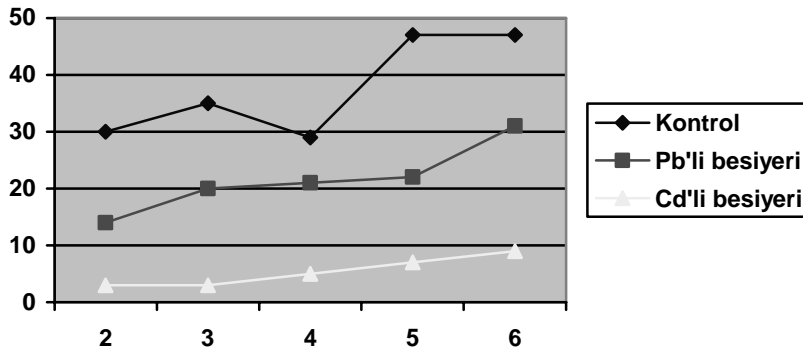
Ancak, *Pleurotus sajor-caju*'nun dekolorizasyonunu kurşun ve kadmiyum'un negatif yönde etkilediği görülmüştür. Kontrol grubunda % dekolorizasyon 3 ve 4.günlerde maksimuma ulaşırken, Ağır metal ortamda % dekolorizasyonun 6.günün sonunda Pb'da %18, Cd'da %14 olarak bulunmuştur.

Grafik 4.2. *Pleurotus florida*'nin dekolorizasyonuna Pb ve Cd'nin etkisi



Pleurotus florida'da dekolorizasyonu Pb ve Cd'nin negatif yönde etkilediği görülmüştür. Kontrol grubunda % dekolorizasyon 3 ve 5. günler arasında bariz şekilde artış gösterirken (%59) Pb ve Cd'li ortamda % dekolorizasyonun sırasıyla %39 ve %23 olarak bulunmuştur. Ağır metaller dekolorizasyonu olumsuz yönde etkilemesine rağmen *Pleurotus sajor-caju*'ya göre daha %dekolorizasyon daha fazla olduğu görülmüştür.

Grafik 4. 3. *Pleurotus ostratus* 'un dekolorizasyonuna Pb ve Cd'nin etkisi



Pleurotus ostratus'da dekolorizasyonu Pb ve Cd'nin negatif yönde etkilediği görülmüştür. Kontrol grubunda % dekolorizasyon 4 ve 5. günler arasında bariz şekilde artış gösterirken Pb(%31) ve Cd'li (%9) ortamda % dekolorizasyon çok daha az artış göstermiştir. Yüzde dekolorizasyonun düşüşünde Cd, Pb'ye oranla daha etkili olmuştur. Ağır metaller dekolorizasyonu olumsuz yönde etkilemesine rağmen *Pleurotus sajor-caju*'ya göre daha % dekolorizasyon daha fazla olduğu görülmüştür.

4.5. Ağır metallerin Lacc ve Mn peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi

Çizelge 4.6. Ağır metallerin Lacc ve Mn peroksidaz aktivitesi üzerine etkisi

	Dekolorizasyon zonu (mm)	Enzim Aktivitesi (UL ⁻²)	
		MnP	Lcc
<i>Pleurotus sajor-caju</i>			
Kontrol		12 (100)	46(100)
Hg	52	19(+58)	-
Ni	44	22 (+83)	46(+1)
Co	60	40 (+233)	44(-3)
Zn	40	32(+166)	46(+1)
Pb	46	18(+50)	47(+4)
Cd	52	19(+58)	46(+1)
<i>Pleurotus ostreatus</i>			
Kontrol		19 (100)	39(100)
Hg	52	22(+16)	41(+6)
Ni	46	27(+42)	49(+26)
Co	52	-	-
Zn	25	18(-5)	38(-3)
Pb	66	17(-11)	39(0)
Cd	53	18(-5)	38(-3)
<i>Pleurotus florida</i>			
Kontrol		26(100)	44(100)
Hg	38	-	-
Ni	43	-	-
Co	40	37(+42)	44(0)
Zn	48	24(-8)	44(0)
Pb	39	32(+23)	43(-1)
Cd	51	19(-26)	46(+1)

%20 inhibisyonu sağlayan ağır metal konsantrasyonu çeren besiyerinde *P.sajor-caju*'nun MnP aktivitesinin arttığı saptanmıştır. En fazla Co'lo besiyerinde %233 artış olmuş bunu %166 ile Zn,%83 ile Ni takip etmiştir. Ağır metallerin Lcc aktivitesinde önemli bir değişiklik yapmadığı saptanmıştır.

Pleurotus ostreatus, Hg ve Ni hem MnP hemde Lcc aktivitesini arttırmıştır. Zn ve Cd'nin MnP aktivitesini düşürdüğü ; Pb'nin ise Lcc aktivitesini düşürürken MnP aktivitesini arttırmıştır.

Pleurotus florida'da MnP aktivitesini Co %42 arttırmış, bunu %32 ile Pb takip etmiştir. Cd ise %26 MnP aktivitesini düşürmüştür. Bunu %8 ile Zn takip etmiştir. Lcc aktivitesinde ise ağır metallerler önemli bir değişmeye neden olmamıştır.

TARTIŞMA SONUÇ

Ağır metaller, özellikle ekstraselüler enzim aktivitesi ile toprak ekosisteminde beslenme ve penetrasyonu bozarak fungal gelişim üzerine toksik etki yaparlar. Ağır metaller arasında Cd ve Hg funguslar için en toksik olanlarıdır. Civanın 0.05mM'lık konsantrasyonu *P. chrysosporium* un statonal likuid kültürlerinde misalyal gelişime önemli bir inhibisyon etkisi göstermemektedir. Fakat *L.edodes*'i tamamen inhibe etmektedir *P. sajor-caju* ise 0.03 mM Hg konsantrasyonunda %85 inhibe olmaktadır Katı besiyerinde ise *P. ostreatus* da 0.1mM Hg konsantrasyonunda misalyel gelişim %6–75 oranında inhibe olmaktadır (Hatvani ve Mecs 2003) .

Çalışmamızda, *Pleurotus sajor-caju*'da artan Hg konsantrasyonu ile miselyal gelişim inhibe olmuştur. İnhibisyon Hg'nin 0.005 mM \leq konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı olup 0.05 mM ve üzeri Hg konsantrasyonları miselyal gelişimi %20'den fazla inhibe etmiştir. *Pleurotus sajor-caju* ' nun Hg varlığında gelişimi denenen diğer *Pleurotus* türlerine oranla daha fazla olmuştur. Bunu *Pleurotus ostreatus* ve *Pleurotus florida* takip etmiştir. *Pleurotus florida* ' da Hg'nin 0.05 mM konsantrasyonunda miselyal gelişimin %50 oranında inhibe olduğu saptanmıştır.

Cd ve Hg basidiomycetesler için genellikle çok fazla toksik etki gösterir. PAH larla kontamine olmuş topraklarda Cd bulunur ve biyoteknolojik proseslerde *P. ostreatus* kullanarak xenobiotics lerin biyodegradasyonu sağlanmaktadır. Likuid kültürlerde Cd'nin Lakkaz aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir. Yinede bu bulgu doğal ortam altında doğrulanamamıştır. *P. ostreatus* doğal ortamda yüksek kadmiyum konsantrasyonlarını (5 mM) tolere etmesine rağmen laboratuvar koşullarında 1 mM'da inhibe olmaktadır. Cihangir ve Sağlam (1997) *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 ve *Pleurotus sajor-caju*'yu Cu, Co, Cd, Zn ve Ag metal tuzları içeren ortamda geliştirdiklerinde *Phanerochaete chrysosporium* ME-446'yu *Pleurotus sajor-caju*'ya göre metallere daha dirençli olduğunu ve metal konsantrasyonunun artması ile miselyal gelişimin inhibe olduğunu saptamışlardır.

Bu çalışmada, Cd'nin düşük konsantrasyonları (0.001–0.005 mM) *P. florida* üzerinde %10'dan az inhibisyon yaparken; inhibisyonun 0.1 mM Cd konsantrasyonunda %50'den fazla olduğu saptanmıştır. *P. sajor-caju* ve *P. ostreatus*'da artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak miselyal gelişimi de inhibe olmuştur. Zn'nin 0.05 mM lik konsantrasyonları tüm *Pleurotus* türlerinin gelişimini $\%40 \leq$ inhibe etmiştir. Hg'ya benzer olarak Zn'da en az inhibisyonun *Pleurotus sajor-caju* 'da olduğu görülmüştür. 0.001- 0.1 mM Co konsantrasyonlarında *Pleurotus* türleri artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak miselyal gelişim inhibe olmuş ancak bu oran hiçbir konsantrasyonda %30'un üzerine çıkmamıştır. Özellikle *P. sajor-caju*'da düşük Co konsantrasyonlarında miselyal gelişim %10'dan daha az oranda inhibe olmuştur. *Pleurotus sajor-caju*'da Ni ile miselyal gelişimin inhibisyonunun diğer türlere oranla daha az olduğu belirlenmiştir. En fazla inhibisyon ise *Pleurotus florida*'da olduğu saptanmıştır. 0.1 mM'lık Ni konsantrasyonu *Pleurotus florida* ve *P. ostreatus*'u %50 den fazla inhibe ederken bu oran *P. sajor-caju*'da %21'de kalmıştır.

Çalışmamıza benzer olarak Pointig ve ark (2000) Pb, Zn ve Cu'nun 0.2 mM konsantrasyonları *P. chrysosporium* un kuvvetli inhibisyonuna neden olduğunu bildirmişlerdir. Purkayastha ve ark. (1994) *P. sanguineus* ve *T. versicolor* un sıvı kültürlerinin *P. sajor-caju* nun 0.09mM konsantrasyonları ile benzer sonuç verdiğini ve 0.007mM Pb'nin *P.sajor-caju* 'nun gelişimini %85 oranında inhibe ettiğini saptamışlardır.

Çalışmamızda, *Pleurotus ostreatus*'da $0.05\text{mM} \geq$ konsantrasyonlarda %10'dan daha az gelişim inhibisyonuna neden olurken Pb'a karşı en hassas suşun *Pleurotus florida* olduğu saptanmıştır.

El- Fallal ve ark. (2003) *Pleurotus columbinus*, *Pleurotus pulmonarius* türlerinin optimum pH 7'de geliştiğini. *P.columbinus*'un denenen diğer türe göre pH'ya daha toleranslı olduğunu bildirmişlerdir. Das ve ark. (2001) *P. florida*'nın L1 ve Fungusun vejetatif gelişimi sırasında izole edilen L2 olmak üzere 2 farklı lakkaz enzimi sentezlediğini bildirmişlerdir. L2 nin molekül ağırlığı 73kDa-70kDa olduğu kromotografik ve SDS-PAGE ile belirlenmiştir. Enzimin reaksiyon ısısının optimum 50

°C olduğu ve 2 bakır atomuna (Tip1 ve2) sahip olduğu saptanmıştır. Substrata göre enzimin optimum aktivite gösterdiği pH değişmektedir. Mesela *P.florida*'da substrat guaiacol ve o-dianisidin olduğunda lakkaz enzimi pH 6–5,5'de optimum aktivite gösterirken, *P. erynpii* ise substrat ABTS olduğunda pH 4'de maksimum aktivite göstermektedir. Dolayısıyla substrata göre enzimin maksimum aktivite gösterdiği pH değişmektedir. Yine de *Pleurotus* türlerinin Lcc aktivitesini pH 5–7 ve 50–25°C arasında gösterdiği söylenebilir.

Çalışmamızda tüm *Pleurotus* suşları renk giderimi deneylerinde kullanılan besiyerinde Ph 5'de daha iyi ürettiği ve besiyeri üzerindeki renk açılımının pH 6'ya göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Ancak pH 6'da *Pleurotus ostreatus*'da yeşil boyar maddenin zon çapı 50mm olarak saptanmıştır (Çizelge 4.18).

Knapp ve ark. (1995) adsorbsiyon ile renk gideriminin sınırlı olduğunu (genellikle %50 den az) bildirmiştir. Benito ve ark. (1995) ise *T. versicolor* ile yaptıkları çalışmada bu oranın %5–10 ile sınırlı olduğunu bildirmişlerdir. Mineralli ve ark. (1996) *Aspergillus niger* ile yaptıkları çalışmada absorblanan renk yüzdesinin 10–25 arasında değiştiğini göstermişlerdir. Boussaid (1995) *Sagenomella striatisporanın* deneylerde ortamdaki renk gideriminin %74 oranında gerçekleştiğini ancak bunun % 12 sinin adsorbsiyonu ile gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Gallagher ve ark. (1997) *Rhizopus oryzae* bioması ile reaktif birillant red kullanarak yaptıkları çalışmayla adsorbsiyon olayının combine bir mekanizma olduğunu (Freundlich ve Langmuir izoterm model) saptandı. Brahimi- Horn ve ark. (1992) sonikasyona tabi tuttıkları hücreleri 1 ila 24 saat 3 boya solüsyonunda tutmuşlar ve yaklaşık 1 saat içinde aynı miktarda boyayı absorbladığını fakat 24 saat boya adsorbsiyonunun arttığını saptamışlardır.

Tatarko ve Bumpus (1998) otoklavlanmış ve canlı *P. chrysosporium* hücrelerini dekolorizasyon açısından değerlendirmiş otoklavlanmış hücrelerin Congo kırmızısının %90'dan fazlasını, canlı hücrelerin ise %70ini uzaklaştırdığını saptamıştır. 1991 yılında Mou ve ark. Yaptıkları çalışmalarda ölü ve canlı hücrelerin renk gideriminde

kullanılmalarında benzer etkiler gösterdiğini saptamışlardır. Polmann ve Breckenridge (1996) 28 mikroorganizma türü ile Reaktive Black 5 boyasında yaptıkları çalışmada bu türlerin ölü hücrelerinin % 64'ünün yüksek adsorbsiyon gösterdiğini saptamışlardır. Bu türlerin % 21'inin Reaktive Black 19 boyasını bağladığını, ölü hücrelerin %71'inin daha etkili olduğunu saptadılar ve bunun nedeninin hücreyi öldürmekle adsorbsiyon yüzeyinin artmasından kaynaklanabileceğini bildirdiler

Fakat bu türler içerisinde canlı hücre olarak 26 türün Sulfur Black 1 boyasını %54'ünü bağladığını ve bu oranın ölü hücrelere oranla daha başarılı olduğunu saptadılar. Bunun nedeninin ise boyalardaki farklılıktan kaynaklanabileceğini bildirdiler. Yaşayan hücreler çok çeşitli dekolorizasyon mekanizmalarına sahiptir ve performansları ortamın pH'sı, sıcaklığı influent konsantrasyonu, ile yakından ilişkilidir (Gadd 1990). Yaşayan hücrelerle ölü hücreler karşılaştırıldığında ölü hücreler depolanabilir çünkü besine ihtiyaç duymazlar (Brady ve ark. 1994), kolay ve basit uygulanabilirler. Ölü biyomas atıkların fermentasyon proseslerinde kullanılabilir (Kapoor and Viraraghavan 1995).

Çalışmamızda, en fazla dekolorizasyon zonunun mavi boyar maddede olduğu saptanmıştır. Denenen suşlar içinde *Pleurotus sajor-caju* 'nun dekolorizasyon zonları pH 5'de her 3 boyar maddede de diğer suşlara göre daha fazladır.

Mavi boyar maddenin dekolorizasyon zonunun belirgin olması ve *Pleurotus* türlerinin tümünde zon saptanması nedeniyle renk açılımının spektrofotometrik olarak saptanmasında mavi boyar madde kullanılmıştır.

Agar besiyerindeki sonuçlara benzer olarak, *Pleurotus sajor-caju* dekolorizasyonda ağır metal içermeyen ortamda en etkili *Pleurotus* türü olarak saptanmıştır. Ancak, *Pleurotus sajor-caju*'nun dekolorizasyonunu kurşun ve kadmiyum'un negatif yönde etkilediği görülmüştür. Kontrol grubunda % dekolorizasyon 3. ve 4. günlerde maksimuma ulaşırken, Ağır metal ortamda % dekolorizasyonun 6. günün sonunda Pb'da %18, Cd'da %14 olarak bulunmuştur.

Pleurotus florida'da dekolorizasyonu Pb ve Cd 'nin negatif yönde etkilediği görülmüştür. Kontrol grubunda % dekolorizasyon 3 ve 5. günler arasında bariz şekilde artış gösterirken (%59) Pb ve Cd'li ortamda % dekolorizasyonun sırasıyla %39 ve %23 olarak bulunmuştur. Ağır metaller dekolorizasyonu olumsuz yönde etkilemesine rağmen *Pleurotus sajor-caju*'ya göre daha %dekolorizasyon daha fazla olduğu görülmüştür.

Pleurotus ostratus'da dekolorizasyonu Pb ve Cd'nin negatif yönde etkilediği görülmüştür. Kontrol grubunda %dekolorizasyon 4 ve 5. günler arasında bariz şekilde artış gösterirken Pb(%31) ve Cd'li (%9) ortamda % dekolorizasyon çok daha az artış göstermiştir.% dekolorizasyonun düşüşünde Cd, Pb'ye oranla daha etkili olmuştur. Ağır metaller dekolorizasyonu olumsuz yönde etkilemesine rağmen *Pleurotus sajor-caju*'ya göre daha % dekolorizasyon daha fazla olduğu görülmüştür.

Cyathus bulleri ile yapılan dekolorizasyonda lakkaz aktivitesinin maksimuma ulaştığını saptamışlardır. Biyodegradasyona ek olarak biyoadsorbisyon mekanizmasında yaşayan hücreler ile yapılan dekolorizasyon çalışmalarında önemli rol oynar Mou ve ark. (1991)

Yaşayan hücreler için temel mekanizma biyodegradasyondur çünkü yaşayan organizmalar lakkaz, mangan peroksidaz (MnP) ve lignin peroksidaz gibi (LiP) lignin modifiye enzimleri lignini ve boyar maddeyi mineralize edebilmek için sentezleyebilirler (Raghukumar ve ark. 1996). Yinede bu enzimlerin dekolorizasyona katılımı türler arasında farklılık gösterebilmektedir. Pasti- Grigsby ve ark. (1992) *P. chrysosporium*'da boyar maddenin dekolorisasyondan sorumlu enzimin LiP olduğunu bildirmiştir. Ollikka ve ark. ise (1993) azo bayalarının, trifenilmetanın, heterosiklik ve polimerik boyaların dekolorizasyonunda LiP'in temel rolü oynadığı ancak bu boyaların degradasyonunun başlamasında MnP'a gereksinim duyulmadığını bildirmişlerdir. Young ve Yu (1997) azo bayalarını, indigo, antrokuinon, metal kompleks boyalarında içeren 8 sentetik boya ile yaptığı çalışmada *T. versicolorun* MnP'in dekolorizasyonun başlaması için gerekli olmadığını ancak ligninazın boyaların %80 ini oksidasyon ile uzaklaştırdığını göstermişlerdir. Yinede Zhang ve ark (1999) MnP'in dekolorizasyonun türü belirlenemeyen çürükçül funguslarda önemli rol oynadığını ancak LiP'in kesin rol oynadığının belirlenemediğini söylemişlerdir. *T. versicolor*'un temel ekstra selüler

enzimi lakkaz olmasının nedeni antrakuinon, azo ve indigo boyalarının dekolorizasyonunda lakkaz aktivitesi temel mekanizmadır (Wong ve Yu 1999, Vasdev ve ark., 1995).

Fungal Lcc proteininin fiziko-kimyasal yapısı ile ilgili son bilgiler saflaştırılmış protein çalışmalarına dayanır. Bugüne kadar 100 den fazla lakkaz funguslardan izole edilmiştir. Özellikle basidiomycetes, ascomycetes ve imperfect fungi grubundaki funguslarda çalışmalar yoğunlaşmıştır. Tipik fungal lakkaz protein 60-70 kDa olup, asidik izoelektrik noktası 4.0 civarındadır. bir çok beyaz çürükçül fungus türünde birkaç tane lakkaz isoenzim saptanmıştır (Blaich ve Esser 1975).

Bu türler *Coprinus plicatilis*, *Fomes fomentarius*, *Heterobasidion annosum*, *Hypholoma fasciculare*, *Kuehneromyces mutabilis*, *Leptoporus litschaueri*, *Panus stipticus*, *Phellinus igniarius*, *Pleurotus corticatus*, *P. ostreatus*, *Polyporus brumalis*, *Stereum hirsutum*, *Trametes gibbosa*, *T. hirsuta* ve *T. versicolor* dur. Bu türlerdeki enzimin pH'sı 3-5 arasında değişmektedir.

P. ostreatus en az 8 farklı lakkaz izomeraz enzimi sentezleyebilmektedir. Bunların 6sı izole edilip karakterize edilmiştir (Giardina ve ark. 1999). *P. ostreatus* 'da lakkaz izomeraz enziminin üretimi bakır varlığında regüle edilir ve 2 dimerik izoenzim sadece bakır varlığında saptanmıştır (Palmieri ve ark. 2003).

Çalışmamızda %20 inhibisyonu sağlayan ağır metal konsantrasyonu içeren besiyerinde *P.sajor-caju*'nun MnP aktivitesinin arttığı saptanmıştır. En fazla Co'lo besiyerinde %233 artış olmuş bunu %166 ile Zn,%83 ile Ni takip etmiştir. Ağır metallerin Lcc aktivitesinde önemli bir değişiklik yapmadığı saptanmıştır.

Pleurotus ostreatus, Hg ve Ni hem MnP hemde Lcc aktivitesini arttırmıştır. Zn ve Cd'nin MnP aktivitesini düşürdüğü ; Pb'nin ise Lcc aktivitesini düşürürken MnP aktivitesini arttırmıştır.

Pleurotus florida'da MnP aktivitesini Co %42 arttırmış, bunu %32 ile Pb takip etmiştir. Cd ise %26 MnP aktivitesini düşürmüştür. Bunu %8 ile Zn takip etmiştir. Lcc aktivitesinde ise ağır metallerler önemli bir değişmeye neden olmamıştır.

Hatvani (2003) Fe ve Hg varlığında *L.edodes*'de MnP miktarının arttığını ve boya değredasyonunda bu enzimin etkin olabileceğini bildirmişlerdir.Çalışmamızda Lcc aktivitesi ağır metal ve boya içeren ortamda değişmezken MnP aktivitesinde farklılıklar olmuştur.

Ağır metallere toleranslı funguslar, toksik metallerle kontamine çevrelerde biosorpsion teknolojisi ile remediasyon çalışmalarında kullanılabilir. Yinede fungal misalyal gelişimin hassasiyet/ tolerans mekanizması ve enzimatik prosesler hala açıklığa kavuşmamıştır. Endüstriyel atıklar genellikle kompleks karışımlar olup çeşitli ağır metal tuzları içerirler. Bu çalışmadan elde edilen verilerin *Pleurotus* türlerinin boyar maddelerle kontamine olmuş sularda, biyoremediasyon teknolojiler kullanılarak renk giderimi konusunda yapılacak çalışmalara yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Aksu, Z., Tezer, S., “Equilibrium and kinetic modeling of biosorption of Remazol Black B by *Rhizopus arrhizus* in a batch system effect of temperature”. *Process Biochem* 2000; 36:431/9.
- Alexander, R., 2002, Doktora Tezi, Münih Teknik Üniveristesi, “Entwicklung und Charakterisierung wasserlöslicher Benzoylthioharnstofffunktionalisierter Polymere zur selektiven Abtrennung von Schwermetallionen aus Abwässern und Prozesslösungen”.
- Allen, RLM., 1971, “The chemistry of azo dyes in: *Colour Chemistry*, Appleton-Century- Crofts”, New York, p.21.
- Al-Sabti, K., “Chlorotriazine reactive Azo Red 120 textile dye induces micronuclei in fish”. *Ecotox Environ Safe* 2000; 47:149-55.
- Anonim, 2001b. Patzek, T., “Fachgebiet Toxikologie der Sonstigen Bedarfsgegensteande”, BGVV.
- Baldrian, Petr, “Fungal laccases – occurrence and properties”. *FEMS Microbiology Reviews* 30 (2), 215-242. doi: 10.1111/j.1574-4976.2005.00010.x
- Banat, IM., Nigam, P., Singh, D., Marchant, R., “Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: a review”. *Biores. Technol.* 1996; 58:217-27.
- Banks,C.J., Parinson, M.E.,1992. “The mechanism and application of fungal biosorption to colour removal from raw waters.”*J.Chem. Technol. Biotecchnol.*28, 301-304.

- Benito, G.G., Miranda, M.P., De Los Santos, D.R., 1997, "Decolorization of wastewater from an alcoholic fermentation process with *Trametes Versicolor*". *Bioresource Technol.* 61, 33-37.
- Bezalel, L., Hadar, Y., Cerniglia, CE., "Enzymatic mechanisms involved in phenanthrene degradation by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*". *Appl. Environ. Microbiol* 1997; 63:2495-501.
- Bigersson, B., O. Sterner, E. Zimerson, *Chemie und Gesundheit "Eine verst 2ndliche Einf"uhung in die Toxikologie"*, VCH Verlagsgesellschaft, 1988.
- Bilgiç, H., Gokcay, C.F., Hasirci, N., 1997, "Color removal by whiterot fungi. In: Wise, D.L. (Ed.), *Global Environmental Biotechnology*". Elsevier, UK, pp.211-222.
- Boussaid, A., 1995, "Pulp-mill effluent color removal using *Sagenomella striatispora*". Ph.D.Thesis, Oregon State University, USA.
- Brady, D., Stoll, A., Duncan, J.R., 1994. "Biosorption of heavy metal actions by non-viable yeast biomass". *Environ. Technol.* 15, 428-438.
- Brahimi-Horn, M.C., Lim, Liany, S.L., Mou, D.G., 1992. "Binding of textile azo dyes by *Mirothecium verrucaria* Orange II, 10B (blue) and. RS (red) azo dye uptake for textile wastewater decolorization." *J.Ind.Microbiol.*, 10, 245-261.
- Cambridge, UK: "Royal Society of Chemistry Information Services", 1996.
- Cammarota, M.C., Sant Anna Jr., G.L., 1992, "Decolorization of kraft bleach plant El stage effluent in a fungal bioreactor". *Environ.Technol.* 13, 65-71.

- Chinwetkitvanich, S., Tuntoolvest, M. and Panswad, T., 2000 “Anaerobic Decolorisation of Reactive Dyebath Effluents by a Two Stage UASB System with Tapioca as a Co-Substrate”, *Water Research*, 34(8), 2223-2232.
- Eaton, D., Chang, H.M., Kirk, T.K., 1980, “Fungal decolorization of Kraft bleach plant effluent”. *Tappi J.* 63,103-109.
- El- Fallal, A.A., El-DEin, M.M.N., Khalil, A.E., 2003 “Studies on some requirements for vegetative growth of two pleurotus spp”. *Egyptian Journal of Microbiology*, 389,27–38.
- Fu, Y., Viraraghavan, T., 2000, “Removal of a dye from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger*”. *Water Qual. Res. J., Canada* 35(1), 95-111.
- Fukuzumi, T., 1980. “Microbial decolorization and defoaming of pulping waste liquors in lignin biodegradation”. In: Jury, T.K., Higuchi, T., Chang, H.(Eds.), *Microbiology, Chemistry and Potential Applications*, vol. 1.CRC press, Boca Raton FL, USA, pp. 215-230.
- Gadd, G.M., 1980, “Chemistry and Industry” *Biosorption.*, 13, 421-426.
- Gallagher, K.A., Healy, M.G., Allen, S.J., 1997. “Biosorption of synthetic dye and metal ions from aqueous effluents using fungal biomass”. In: Wise, D.L.(Ed.), *Global Environmental Biotechnology*. Elsevier, UK, pp. 27-50
- Giardina, Palmieri, Scaloni, Fontanella, Faraco, Cennamo ve Sannia, 1999. “Protein and gene structure of a blue laccase from *Pleurotus ostreatus*”. *Biochem J* 341,655–663.
- Hatch, K.L., 1984, “Dermatological Problems Related to Fiber Content and Dyes”. *Textile Research Journal* 54: 664-682

- Hatch, K.L., 1984, "Dermatological Problems Related to Finishes". Textile Research Journal 54: 721-732
- Hatch, K.L., Maibach, H.I., 1995, "Textile Dye Dermatitis". J. Am. Acad. Dermatol 32: 631-639.
- Hatvani, N., Me'cs, I., 2002. Effect of the nutrient composition on dyedecolorisation and extracellular enzyme production by *Lentinus edodes* on solid medium. Enzyme Microbiol. Technol. 30, 381–386
- Hatvani and Imre Me'cs., 2003, "Effects of certain heavy metals on the growth, dye decolorization, and enzyme activity of *Lentinula edodes*" Ecotoxicology and Environmental Safety. 55, 199–203.
- Hu, TL., Wu, SC., 2006, "Assessment of the effect of azo dye RP2B on the growth of nitrogen fixing cyanobacterium-*Anabaena* sp". Biores Technol 2001; 77:93 _/5. isolated from composting environment Enzyme and Microbial Technology 40, 42–45
- John, H., Duffus, Howard, G.J., Worth, "Fundamental toxicology for chemists"
- Kapdan, IK., Kargı, F., McMullan, G., Marchant, R., 2000, "Effect of environmental conditions on biological decolorization of textile dyestuff by *C. versicolor*". Enzyme Microb Technol, 26, 381-7.
- Kapoor, A., Viraraghavan, T., 1995. "Fungal biosorption-an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewater: a review". Bioresource Technol. 53, 195-206.
- Knapp, J.S., Newby, P.S., Reece, L.P., 1995, "Decolorization of dyes by wood-rotting basidiomycete fungi". Enzyme and Microbial Technol. 17, 664-668.

- Kumar, V., Wati, L., Nigam, P., Banat, IM., Yadav, BS., Singh, D., Marchant, R., 1998, "Decolorization and biodegradation of anaerobically digested sugarcane molasses spent wash effluent from biomethanation plants by white-rot fungi". *Process Biochem.* 33(1), 83-8.
- M.J. L'opez, G. Guisado, M.C. Vargas-Garc'ia, F. Su'arez-Estrella, J. Moreno., 2006, "Decolorization of industrial dyes by ligninolytic microorganisms". *Enzyme and Microbial Technology*, 40, 42-45
- McKay, G., 1979, "Waste colour removal from textile effluents". *Am Dyes Rep.* 68, 29-36.
- Meehan, C., Banat, IM., McMullan, G., Nigam, P., Amyth, F., Marchant, R., 2000, "Decolorization of Remazol Black B using a thermotolerant yeast, *Kluyveromyces marxianus* IMB3". *Environ Int.* 26, 75-9.
- Meyer U., 1981, "Biodegradation of synthetic organic colorant". *FEMS Symp.* 12, 371-85.
- Miranda, M.P., Benito, G.G., Cristobal, N.S., Nieto, C.H., 1996, "Color elimination from molasses wastewater by *Aspergillus niger*". *Bioresource Technol.* 57, 229-235.
- Mishra, G., Tripathy, M., 1993, "A critical review of the treatment for decolorization of textile effluent". *Colourage* 40, 35-38.
- Mou, D.G., Lim, K.K., Shenn, H.P., 1991, "Microbial agents for decolorization of dye wastewater". *Biotechnol. Adv.* 9, 613-622.
- Nigam, P., Banat, I. M., Singh, D. and Marchant, R., 1996, "Microbial Process for the Decolorization of Textile Effluent Containing Azo, Diazo and Reactive Dyes, *Process Biochemistry*", 31(5), 435-442.

- Nirmalendu, D., Topas, K., 2001, "Chakraborty and Mina Mukherjee, Purification and characterization of growth regulating laccase from *P.florida*". *J. Basic Microbiol.* 41,261-267.
- Nora, H., Imre. M., 2003. "Effects of certain heavy metals on the growth, dye decolorization, and enzyme activity of *Lentinula edodes*". *Ecotoxicology and environmental safety* . 55, 199-203.
- Ollikka, P., Alhonmaki, K., Leppanen, V. M., Glumoff, T., Rajjola, T., Suominen, I., 1993. "Decolorization of azo, triphenyl methane, heterocyclic, and polymeric dyes by lignin peroxidase isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*". *Appl. Environ. Microbiol.* 59 (12), 4010-4016.
- O'Neill, C., Hawkewes, F. R., Hawkws, D. L., Esteves, S. and Wilcox, S. J., 2000a, "Anaerobic-Aerobic Biotreatment of Simulated Textile Effluent Containing Varied Ratios of Starch and Azo Dye, *Water Research*", 34(8), 2355-2361.
- O'Neill, C., Lopez, A., Esteves, S., Hawkes, F. R., Hawkes, D.L. and Wilcox, S., 2000b, "Azo Dye Degredation in an Anaerobic-Aerobic Treatment System Operating on Simulated Textile Effluent", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 249-254.
- Palma, C., Moreira, M.T., Mielgo, I., Feijoo, G. and Lema, J. M., 1999, "Use of Fungal Bioreactor as a Pretreatment or Post Treatment Step for Continuous Decolorisation of Dyes", *Water Science and Technology*, 40(8), 131-136.
- Palmieri, Cennamo, Faraco, Amoresano, Sanna ve Giardina., 2003, "Atypical laccase isoenzymes from copper supplemented *Pleurotus ostreatus* cultures". *Enzyme Microb Technol*, 33, 220–230.

- Pasti-Grigsby, M.B., Paszczynski, A., Goszczynski, S., Crawford, D.L., Crawford, R.L., 1992. "Influence of aromatic substitution patterns on azo dye degradability by *Streptomyces spp.* and *Phanerochaete chrysosporium*". *Appl. Environ. Microbiol.* 58(11), 3605-3613.
- Pointing SB., 2001, "Feasibility of bioremediation by white-rot fungi". *Appl Microbiol Biotechnol.* 57, 20–33.
- Polmann, J.K., Breckenridge, C.R., 1996, "Biomass-mediated binding and recovery of textile dyes from waste effluents". *Textile Chemist and Colorist.* 28 (4), 31-35.
- Purkayastha, R.P., Mitra, A.K., Bhattacharyya, B., 1994. "Uptake and toxicological effects of some heavy metals on *Pleurotus sajor-caju* (Fr.)" *Singer. Ecotoxicol. Environ. Saf.* 27, 7–13, doi:10.1006/ eesa.1994.1002.
- Raghukumar, C., Chandramohan, D., Michel Jr., F.C., Reddy, C.A., 1996, "Degradation of lignin and decolorization of paper mill bleach plant effluent (BPE) by marine fungi". *Biotechnol. Lett.* 18 (1), 105-106.
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R. and Nigam, P., 2001, "Remediation of Dyes in Textile Effluent: A Critical Review on Current Treatment Technologies with a Proposed Alternative", *Bioresource Technology.* 77, 247-255.
- Sağlam, N., Cihangir, N., 1995, "Ağır Metallerin Biyolojik Süreçlerle Biyosorbsiyonu Çalışmaları". *Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi.* 11, 157–161.
- Sani, RK., Azmi, W., Banerjee, UC., 1998, "Comparison of static and shake culture in the decolorization of textile dyes and dye effluents by *Phanerochaete chrysosporium*". *Folia Microbiol.* 43(1), 85-8.
- Seventekin, N., Özdoğan, E., 1998. "Ekotekstiller Açısından Toksik Ağır Metaller". *Tekstil ve Konfeksiyon.* 1, 58-64.

- Sponza, D., Işık, M. ve Atalay, H., 2000. “Reaktif Black 5 ve Synozol Red Azo Boyalarının Anaerobik Arıtılabilirliği”.
- Swamy, J., Ramsay, JA., 1999, “Effects of glucose and NH₄ concentrations on sequential dye decolorization by *Trametes versicolor*”. *Enzyme Microb Technol*, 25, 278-84.
- Tatarko, M., Bumpus, J.A., 1998, “Biodegradation of Congo Red by *Phanerochaete chrysosporium*”. *Water Res.* 32(5), 1713-1717.
- Toprakkaya, D., Seber, A., 1998. “Tekstil Terbiyesinde Kullanılan Bazı Kimyasalların Ekolojik Etkileri”. *Tekstil ve Konfeksiyon*, 5, 337-344 U.S.A. *Chemical Regulation Reporter*, 1991. 14, 1783.
- Vasdev, K., Kuhad, R.C., Saxena, R.K., 1995. “Decolorization of triphenylmethane dyes by the bird’s nest fungus *Cyathus bulleri*”. *Current Microbiol.* 30, 269-272.
- Walthall, WK., Stark JD., 1999, “The acute and chronic toxicity of two xanthene dyes, fluorescein sodium salt and phloxine B, to *Daphnia pulex*”. *Environ Pollut.* 104:207-15.
- Wariishi, H., Valli, K., Gold, M.H., 1992. “Manganese(II) oxidation by manganese peroxidase from the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*.” *J. Biol. Chem.* 267, 23688–23695.
- Willmott, N., Guthrie, J. and Nelson, G., 1998, “The Biotechnology Approach to Colour Removal from Textile Effluent”, *Journal of the Society of Dyers and Colorists*, 114, 38-41.

- Wolfenden, B.S., Willson, R.L., 1982. „Radical-cations as reference chromogens in kinetic studies of one-electron transfer reactions.” J. Chem. Soc. Perkin Trans. II, 805–812.
- Wong, Y., Yu, J., 1999, “Laccase catalyzed decolourisation of synthetic dye”. Wat Res. 33, 3512-20.
- Wong, Y., Yu, J., 1999. “Laccase-catalyzed decolorization of synthetic dyes”. Water Res. 33(16), 3512-3520.
- Yeşilada, O., Özcan, B., 1998. “Decolorization of Orange II with the crude culture filtrate of white rot fungus *Coriolus versicolor*”. Tr J Biol. 22:463-76.
- Yeşilada, E., Özmen, M., Yeşilada, O., 1999. “Studies on the toxic and genotoxic effect of olive oil mill wastewater”. Fresenius Environ Bull. 8:732-9.
- Yeşilada, O., 1995.“Decolorization of crystal violet by fungi”. World J Microb Biot. 11:601-2.
- Yeşilada, O., Fiskin, K., Yeşilada, E., 1995. “The use of white-rot fungus *Funalia trogl*II (Malatya) for the decolourization and phenol removal from olive mill wastewater”. Environ. Technol. 16, 95-100.
- Yeşilada, O., İlk, S., Sam, M., 1998, “Biodegradation of olive oil mill wastewater by *Coriolus versicolor* and *Funalia trogl*ii: effects of agitation, initial COD concentration, inoculum size and immobilization”. World J Microb Biot. 14:37 /42.
- Young, L., Yu, J., 1997. “Ligninase-catalyzed decolorization of synthetic dyes”. Water Res. 31(5), 1187-1193.

Zhang, F., Knapp, J.S., Tapley, K.N., 1999. "Decolourisation of cotton bleaching effluent with wood rotting fungus". *Water Res.* 33(4), 919-928.

Zhang, F., Yu J., 2000, "Decolourisation of acid violet 7 with complex pellets of white rot fungus and activated carbon". *Bioproc Eng.* 23:295-301.

Zhou, J.L., Banks, C.J., 1991. "Removal of humic acid fraction by *Rhizopus arrhizus*: uptake and kinetic studies". *Environ. Technol.* 12, 859-869.

Zhou, J.L., Banks, C.J., 1993. "Mechanism of humic acid colour removal from natural waters by fungal biomass biosorption". *Chemosphere.* 27(4), 607-620.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Serkan Fidan
Doğum Yeri : Ankara
Doğum Tarihi : 11.04.1981
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : 17 Ağustos Lisesi, 1999
Lisans : Kırıkkale Üniversitesi, 2005
Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, 2008