

**DRİMAREN BLUE CL-BR’NİN *Aspergillus oryzae* İLE
RENK GİDERİMİNİN ARAŞTIRILMASI**

ERDİ KESELİK

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MERSİN
TEMMUZ-2015**

**DRİMAREN BLUE CL-BR’NİN *Aspergillus oryzae* İLE
RENK GİDERİMİNİN ARAŞTIRILMASI**

ERDİ KESELİK

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ


**Danışman
Prof. Dr. Münir TUNÇER**

**MERSİN
TEMMUZ-2015**

Erdi KESELİK tarafından Prof. Dr. Münir TUNÇER danışmanlığında hazırlanan "Drimaren Blue CL-BR'nin *Aspergillus oryzae* ile Renk Gideriminin Araştırılması" başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

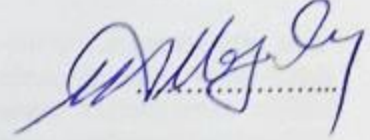
Prof. Dr. Burhan ARIKAN



Prof. Dr. Münir TUNÇER



Doç.Dr. M. Ali MAZMANCI



Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 03./03./2015 tarih ve2015..18./...751..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. Ayla ÇELİK
Enstitü Müdürü


Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir

Drimaren Blue CL-BR'nin *Aspergillus oryzae* ile renk gideriminin araştırılması

Erdi KESELİK

ÖZ

Boyar maddeler; tekstil boyama, deri ve kâğıt boyama, gıda boyası ve kozmetik sektörü başta olmak üzere birçok sanayi kolunda yaygın olarak kullanılan kimyasallardır. Bu endüstriyel sektörlerden kaynaklanan boyar madde içeren atık sular, alıcı ortam olarak ulaştıkları nehir ve göller için önemli çevre kirliliği etmenlerinden birisidirler.

Günümüzde boyar maddelerinin giderim yöntemi olarak kullanılan adsorbsiyon, oksidasyon, koagülasyon-flokasyon, kimyasal parçalama ve fotodegradasyon gibi fiziksel ve kimyasal yöntemler ise renk giderimi sağlasa da sonuçta farklı toksik ve karsinojenik madde oluşumuna sebep olmaktadır. Biyolojik yöntemler ise hem ekonomik olmaları, hem de ekoloji dostu çözümler sunmaları nedeniyle ön plana çıkmaktadırlar.

Bu çalışmada *Aspergillus oryzae* ile Drimaren Blue CL-BR boyar maddesinin renk-giderimine üzerine, inkübasyon ortamının pH'sının, boya derişiminin, glikoz ve maya özütü miktarının, sıcaklığın, çalkalama hızının ve çeşitli karbon ve enerji kaynaklarının etkileri incelenmiştir. Canlı *A. oryzae* hücrelerinin hif yapısı sayesinde boyar maddeyi absorbe ettiği ve optimum koşullarda %94,4 verimle renk giderimi gerçekleştirdiği görülmüştür. Drimaren Blue CL-BR boyar maddesinin toksik etkisinin belirlenmesi için ise *Lens culinaris* (yeşil mercimek) tohumları farklı oranlarda boya içeren ve renk-giderimi gerçekleştirilmiş olan kültür sıvısı ile sulanmış; boya içeren kültür sıvısı çimlenmeyi basılarken, renk-giderimi gerçekleştirilmiş olan kültür sıvısı ile sulanan tohumların çimlenmesinde ise bir sorun görülmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Boya giderimi, *Aspergillus oryzae*, biyosorpsiyon, Drimaren Blue CL-BR.

Danışman: Prof. Dr. Münir TUNÇER, Mersin Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı

Decolourisation of Drimaren Blue CL-BR by Using *Aspergillus oryzae*

Erdi KESELİK

ABSTRACT

Dyes have wide range of applications in the textile printing, leather and paper dyeing, food colouring, pharmaceutical and cosmetic industries. Dyes containing wastewaters originated from these industries results in the pollution of aquatic ecosystems such as lakes and rivers. Decolourisation of these dyes by using physical and chemical methods such as adsorption, oxidation, coagulation-flocculation, chemical degradation and photo-degradation also produce toxic and carcinogenic dye-derivatives. But biological decolourisation of dyes is more economic and ecologically friendly than other methods. In this study, the effects of various incubation conditions such as initial pH, dye concentrations, glucose and yeast extract concentrations; temperature, agitation rate and sources of carbon end energy on decolourising activity of *Aspergillus oryzae* were investigated. These were all found to be important for Drimaren Blue CL-BR decolourising activity of *A. oryzae*. The decolourisation of the dye involved adsorption and absorption of the dye compound by *A. oryzae* pellet at the initial stage, followed by the decolourisation through fungal metabolism. The maximum decolourisation rate of the dye was determined as 94.4% under optimum conditions. *Lens culinaris* seed germination tests proved, decolorized dye was less toxic than the original dye.

Key words: Dye decolorization, *Aspergillus oryzae*, biosorption, Drimaren Blue CL-BR.

Advisor: Prof. Dr. Münir TUNÇER, Department of Biology, University of Mersin.

TEŞEKKÜR

Lisans eğitimimden bugüne kadar sonsuz sabrı ve hoşgörüsü için minnettar olduğum, mikrobiyolojinin zengin dünyasıyla tanışmamı sağlayan danışman hocam Prof. Dr. Münir TUNÇER'e çok teşekkür ederim.

Tezimin planlamasından uygulamasına her aşamada fikirleri ve bizzat yardımlarıyla çalışmama büyük katkılarda bulunan sayın Arş. Gör. Ali Osman ADIGÜZEL'e çok teşekkür ederim.

Tezimde kullandığım *Aspergillus oryzae* suşunu sağlayan Prof. Dr. Mustafa ÖZYURT'a ve paylaştığı tecrübeleriyle lisansüstü eğitim hayatıma ışık tutan Doç. Dr. Mehmet Ali MAZMANCI'ya teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen Biyolog Gonca AY ve ablam Jülide KESELİK'e çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSRTACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGLER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	4
2.1. BOYAR MADDELER	4
2.2. TEKSTİL SEKTÖRÜ ve EKOLOJİ	7
2.2.1. Üretim Ekolojisi	8
2.2.2. Atık Ekolojisi ve Geri-dönüşüm	8
2.2.3. İnsan Ekolojisi	9
2.2.3.1. Tekstil boyar maddelerinin ortaya çıkardığı problemler	11
2.2.4. AB'nin ve Türkiye'nin Ekolojik Tekstil Konusundaki Mevzuatı	13
2.2.4.1. AB mevzuatı	13
2.2.4.2. Türkiye'deki mevzuat	14
2.3. BOYAR MADDELERİN RENK GİDERİMİ ÇALIŞMALARI	15
2.3.1. Kimyasal Yöntemler	16
2.3.1.1. Oksidatif prosesler	16
2.3.1.2. Fenton ayırıcı [H ₂ O ₂ /Fe(II) tuzları]	16
2.3.1.3. Ozonlama	16

2.3.1.4. Fotokimyasal işlemler	17
2.3.1.5. Sodyum hipoklorit (NaOCl)	17
2.3.1.6. Elektrokimyasal işlemler	18
2.3.1.7. Kimyasal flokleştirme ve çöktürme yöntemi	18
2.3.2. Fiziksel Arıtım	18
2.3.2.1. Membran filtrasyonu	18
2.3.2.2. İyon değıştiriciler	18
2.3.2.3. Adsorpsiyon	19
2.3.2.4. Radyasyon	19
2.3.3. Biyolojik Arıtım	20
2.3.3.1. Biyosorbsiyon	20
2.3.3.2. Aerobik yöntem	21
2.3.3.3. Anaerobik yöntem	22
2.4. BOYAR MADDELERİN MİKROBİYOLOJİK OLARAK AYRIŞTIRILMASI.....	23
2.4.1. Funguslar, Algler ve Mayalarla Yapılan Çalışmalar	23
2.4.2. Bakterilerle Yapılan Çalışmalar	27
2.5. ASPERGİLLUS CİNSİ MANTARLAR	29
2.5.1. <i>Aspergillus</i> Türünün Tanımı	29
2.5.2. Morfoloji	30
3. MATERYAL ve YÖNTEM	32
3.1. Kimyasallar	32
3.2. Kullanılan Mikrobiyal Suş	32
3.3. Cam Malzemeler	32
3.4. İnkübatörler	32
3.5. UV/Visible Spektrofotometre	33
3.6. pH Metre	33

3.7. Kullanılan Bilgisayar Yazılımları	33
3.8. <i>Aspergillus oryzae</i> Suşunun Kültürü ve Muhafazası	33
3.8.1. Katı Besiyeri	33
3.8.2. Sıvı Besiyeri	34
3.9. İnkübasyon Süresinin Renk Giderimi Üzerine Etkisi	34
3.10. Farklı Karbon Kaynaklarının Boya Giderimi Üzerine Olan Etkisi	34
3.11. Kültür pH'sının Renk Giderimi Üzerine Olan Etkisi	35
3.12. Maya Özütü Miktarının Renk Giderimi Üzerine Olan Etkisi	36
3.13. Sıcaklığın Renk Giderimi Üzerine Olan Etkisi	36
3.14. Glikoz Miktarının Renk Giderimi Üzerine Olan Etkisi	36
3.15. Çalkalama Şidetinin Renk Giderimi Üzerine Olan Etkisi	36
3.16. Dekolorize sıvı ve boyalı besiyerinin toksikolojik etkilerinin incelenmesi	37

4. BULGULAR VE TARTIŞMA 38

4.1. İNKÜBASYON SÜRESİNİN DRİMAREN BLUE CL-BR'NİN RENK GİDERİMİ ÜZERİNE ETKİSİ.....	38
4.2. BOYA MİKTARININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ	39
4.3. FARKLI KARBON KAYNAKLARININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ.....	41
4.4. İNKÜBASYON SICAKLIĞININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ	43
4.5. FARKLI pH DEĞERLERİNİN RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ.....	44
4.6. GLİKOZ MİKTARININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ ...	46

4.7. MAYA ÖZÜTÜ MİKTARININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ	47
4.8. ÇALKALAMA HIZININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ..	48
4.9. TOKSİSİTE ÇALIŞMALARI	50
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	63



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: <i>Aspergillus oryzae</i> 'nin yapısı	31
Şekil 3.1. Drimaren Blue CL-BR'nin 300-700 nm aralığındaki absorbans değerleri	35
Şekil.4.1: <i>A. oryzae</i> suşunun 7 günlük inkübsasyon süresince göstermiş olduğu renk giderim aktivitesi.	38
Şekil 4.2: Boya derişiminin renk giderimi ile ilişkisi.	40
Şekil 4.3: Farklı karbon kaynaklarının renk giderimine etkisi	42
Şekil 4.4: İnkübasyon sıcaklığına bağlı olarak renk giderim yüzdesi	44
Şekil 4.5: İnkübasyon pH'sı ile renk giderim yüzdesi arasındaki ilişki	45
Şekil 4.6: Glikoz derişimi ile renk giderim yüzdesi arasındaki ilişki	46
Şekil 4.7.Maya özütü miktarı ile renk giderim yüzdesi arasındaki ilişki ...	48
Şekil 4.8: Kültür oratımının çalkalanma hızı ile renk giderim yüzdesi arasındaki ilişki.	49
Şekil 4.9: Boya içeren,içermeyen ve arırlmış besi yeri ile sulanan <i>Lens culinaris</i> tohumlarının çimlendirilmesi	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1: Kimyasal yapılarına göre kromofor grupları	4
Çizelge 4.1. Boya içermeyen besiyerinin, Drimarene Blue CL-BR içeren (%100-0) besiyerinin ve <i>A. oryzae</i> ile renk gideriminden sonra elde kalan sıvının toksisitesinin incelenmesi	50



1. GİRİŞ

Boyar maddelerinin özellikle tekstil sanayisi başta olmak üzere çeşitli sanayi kollarında kullanıldığı bilinmektedir. Tekstil ürünlerinin boyandığı boyama banyolarından çıkan sular ise tekstil fabrikası çıkış sularına verilmektedir. Renkli çıkış suyunun, boyama, baskı ve yıkama işlemlerinden kaynaklandığı, renk derecesinin ise boyar madde derişimine ve kullanılan boyar maddenin yapısına bağlı olduğu belirtilmiştir [APHA, 1985].

Su kirliliği; su kaynağının kimyasal, fiziksel, bakteriyolojik, radyoaktif ve ekolojik özelliklerinin olumsuz yönde değişmesi şeklinde gözlenen ve doğrudan veya dolaylı yollarla biyolojik kaynaklarda, insan sağlığında, balıkçılıkta, su kalitesinde ve suyun diğer amaçlarla kullanılmasında engelleyici bozulmalar yaratacak madde veya enerji atıklarının boşaltılmasını ifade etmektedir.

1856'da, William Henry Perkin tarafından bulunan "muavine" ilk sentetik boyar maddedir. İlk sentetik boyar maddenin sentezlenmesinden günümüze kadar olan süreçte başta İngiltere, Fransa, Almanya ve İsviçre olmak üzere, bu sektör bir endüstri halini almıştır. Günümüzde üretilen boyar maddelerin 100.000'den fazla farklı yapıda olduğu, yıllık üretiminin yaklaşık 7×10^5 ton olduğu ve bu boyar maddelerin %10-15'i atık su ile alıcı ortama deşarj edildiği göz önüne alındığında, boyar madde içeren atık suların arıtımının şart olduğu ortaya çıkmaktadır [Fu ve Viraraghavan, 2001].

Endüstriyel atık sular arasında tekstil ve boyar madde üretim endüstrilerinden çıkan, boyar madde içeren atık sular, arıtılması en güç atık sulardandır. Bunun sebebi, boyar maddelerin genellikle sentetik kaynaklı ve kompleks aromatik molekül yapıya sahip olmaları ve bu yapıların boyar maddeleri daha kararlı ve biyolojik parçalanmaya karşı daha dirençli hale getirmesidir [Fu ve Viraraghavan, 2001]. Tekstil ve boyama endüstrilerinde sentetik boyaların kullanımı bu boyaların sentezinin kolay ve ucuz olması, oldukça dayanıklı ve doğal boyalarla karşılaştırıldığında renklerinin oldukça çeşitli olmaları nedeniyle giderek artmaktadır [Wong ve Yuen, 1996]. Ticari boyar maddelerin renkleri, içerdikleri kompleks

kromofor sisteminden kaynaklanmaktadır. Bu boyar maddelerin, güneş ışığına ve yıkama proseslerine oldukça dayanıklı oldukları ve ayrıca mikrobiyal saldırılara direnç gösterdikleri belirtilmektedir [Pagga ve Brown, 1986].

Atık sudaki renk gözle görülebilir olduğundan, sucul ortamlarda olumsuz bir görünüm yarattığı, suyun geçirgenliğini ve gaz çözünürlüğünü etkilediği belirtilmektedir. Ayrıca, bir çoğu benzidin ve diğer aromatik bileşikler gibi kanserojen maddelerden sentezlendiğinden, boyar madde içeren atık suların arıtılması gerektiği vurgulanmaktadır [Banat vd. 1996].

Son yıllarda atık sulardaki boyar maddeleri biyolojik parçalanma veya biyosorpsiyon yoluyla giderebilen bazı mikroorganizmalar üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Çeşitli boyar maddeleri renksizleştirebilen birçok bakteri [Yu vd. 2001], alg [Banat vd. 1996] ve fungus türü [Shin vd. 1997; Yeşilada vd. 2002] bilinmektedir. Mikrobiyal iyileştirme yöntemleri, sistem tasarımlarının kolay ve maliyetinin düşük olması nedeniyle geleneksel iyileştirme sistemlerinden (fiziksel, kimyasal ve fiziko-kimyasal) daha avantajlı olmaktadır [Nigam vd. 1996].

Çevreye verilen ve çevre kirleticileri olan boyar madde moleküllerinin yapılarına bağlı olarak, uygun mikroorganizma ve uygun ortam koşullarının belirlenmesi gerekmektedir. Uygun maliyet açısından, laboratuvar koşullarında, temel bilim düzeyinde araştırmaların yapılması ve uygun koşulların uygulamaya geçirilmesi gerekmektedir. Yapısal olarak farklı birçok boyar madde, tekstil sanaysinde olduğu kadar diğer sanayi alanlarında da kullanılmaktadır. Boyar maddelerin biyolojik arıtımlarının temeli ve kilit noktası, her bir boyar maddeyi etkili bir şekilde renksizleştirecek uygun mikroorganizma türünü saptamaktır.

Boyar madde molekülünün yapısı ve mikrobiyal renk giderimi arasında ilişki kurabilmek için ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir. Mikrobiyal renk giderimi, günümüzde kullanılan arıtım proseslerinin yerini alabilecek veya bu prosesleri destekleyecek bir alternatif olarak görülmektedir. Ancak boyar madde içeren atık sulardan mikrobiyal biyokütle ile renk giderimi araştırma aşamasındadır.

Bu çalışmada, çevreye zararlı etkileri olan ve tekstil fabrikalarında yaygın olarak kullanılan Drimaren Blue CL-BR boyar maddesinin *Aspergillus oryzae* ile adsorpsiyonu ve optimum adsorpsiyon seviyesinin çeşitli parametreler kullanılarak, sıvı fazda çalkalamalı olarak renk gideriminin araştırılması ve renk gideriminin optimum seviyesinin tespiti çalışılmıştır.



2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. BOYAR MADDELER

Boyar maddeler ışık spektrumunun 400-700 nm arasında görünür ışığı absorbe edebilme yetenekleriyle karakterize edilen ve ışığı absorbe ederek renkli görünen maddelerdir. Çok çeşitli yapıda olan ve değişik amaçlarla kullanılan bu bileşiklerin çeşitli sınıflandırmaları mevcuttur. Renklendiriciler iki büyük gruba ayrılırlar [Zollinger, 1991].

i. İnorganik boyar maddeler.

ii. Organik boyar maddeler.

Renklendiriciler ya boyar maddeler ya da pigmentlerdir. Pigmentler su ortamında çözünmemeleriyle karakterize edilirler. Diğer taraftan su ortamında tümüyle çözünebilen boyar maddeler saç, tırnak, deri ve tekstil materyalleri gibi çeşitli maddelere uygulanırlar. Normalde bütün hidrokarbonlar renksizdirler. Ancak bunlara kromofor adı verilen doymamış gruplar bağlanırsa renkli görünürler. Kromofor grup bağlanmış hidrokarbonlara ise “kromojen” adı verilmektedir. Kromofor renk verici anlamındadır ve kimyasal yapılarına göre 7 gruba ayrılırlar (Çizelge 2.1) [Zollinger, 1991].

Çizelge 2.1: Kimyasal yapılarına göre kromofor grupları.

Kimyasal yapı grupları	İçerdikleri bağlar
Nitrozo grubu	-NO (veya =N-OH)
Nitro grubu	-NO ₂ (veya =NO OH)
Azo grubu	-N=N-
Etilen grubu	=C=C=
Karbonil grubu	=C=O
Karbon-azot grubu	=C=NH ve -CH=N-
Kükürt grubu	=C=S ve =C-S-S-

Basit aromatik yapıya renk veren kromofor gruplar yer değiştirebilir ve görünür spektrumda absorpsiyon bantlarının gözlenmesini sağlarlar. Kromoforlar boyaların sınıflandırılmasında oldukça önemlidir. Kromofor gruplar redüksiyona uğrayabilirler. Eğer redüksiyona uğrarlarsa elektron rezonansının kaybolmasından ötürü renk kaybolabilir [Shreve ve Brink 1977].

Boyar maddeler boyama özelliklerine göre bazik (katyonik), asit (anyonik), direkt, mordan, küp, inkişaf, metal, dispersiyon, pigment ve reaktif boyalar şeklinde sınıflandırılmaktadırlar:

Bazik (katyonik) boyar maddeler, organik bazların hidroklorürleri şeklinde olup, katyonik grubu renkli kısımda taşırlar. Pozitif yük taşıyıcı olarak N veya S atomu içerirler. Yapılarından dolayı bazik (proton alan) olduklarından anyonik grup içeren liflerle bağlanırlar. Başlıca poliakril onitrit, kısmen de yün ve pamuk elyafın boyanmasında kullanılırlar [Başer ve İnancı, 1990].

Direkt boyar maddeler (substantif boyar maddeler), genellikle sülfonik, bazen de karboksilik asitlerin sodyum tuzlarıdır. Yapı bakımından direkt ve asit boyar maddeler arasında kesin bir sınır bulunmamaktadır.

Mordan boyar maddeleri; asidik veya bazik fonksiyonel gruplar içerirler. Bitkisel ve hayvansal elyaf ile kararsız bileşikler oluştururlar. Mordan sözcüğü, boyar maddeyi elyafa bağlayan madde veya bileşim anlamını taşır. Birçok doğal ve sentetik boyar madde bu sınıfa girmektedir.

Küp boyar maddeleri, karbonil grubu içeren ve suda çözünmeyen boyar maddelerdir. Bunlar indirgeme ile suda çözünür hale getirilirler ve bu halde elyafa çektirilirlir.

İnkişaf boyar maddeleri, elyaf üzerinde oluşturularak son şekline dönüştürülebilir bütün boyar maddeler inkişaf boyar maddeleridir. *Azoik boyar maddeler* de denilen bu boyar maddeler ile fitalosiyenin boyar maddeleri de bu sınıfa girmektedirler.

Belirli gruplara sahip bazı *azo boyar maddeleri* ile metal iyonlarının kompleks oluşturduğu boyar maddeler ise *metal kompleks* boyar maddeleridir. Kompleks oluşumunda azo grubu rol oynar. Metal katyonu olarak Co, Cu ve Ni iyonları kullanılmaktadır [Başer ve İnanıcı, 1990].

Dispersiyon boyar maddeleri, suda eser miktarda çözünebilen, bu nedenle sudaki dispersiyonları halinde uygulanabilen boyar maddelerdir. Bu boyar maddeler, boyama işlemi sırasında dispersiyon ortamından hidrofob elyaf üzerine difüzyon yolu ile çekilmektedirler.

Pigment boyar maddeler, bağlayıcı madde denilen sentetik reçineler ile elyaf yüzeyine bağlanan boyar maddelerdir [Başer ve İnanıcı, 1990].

Reaktif boyar maddeler, selüloz liflerini boyamak için kullanılan renkli moleküllerdir. Bunlar azot-azot çift bağı ile karakterize edilirler ($-N=N-$ azo bağları). Azo boyalarının rengi azo bağı ve bunlara bağlı kromoforlardan ileri gelir. Boyalar ilk olarak selüloz üzerinde adsorbe olur ve daha sonra liflerle reaksiyona girerler. Reaksiyon, boya molekülü ile lif arasında dayanıklı bir kovalent bağ oluşumu ile gerçekleşir [Al-Degs vd, 2000].

Reaktif boyaların en önemli özelliği yapılarında kovalent bağ oluşturabilen bir veya iki grup bulunmasıdır [Zollinger, 1991]. Bu boyaların reaktif sistemleri selüloz substratı üzerindeki iyonize olmuş hidroksil grupları ile ilişkilidir. Bununla birlikte alkali boyama şartlarında boya banyosunda bulunan hidroksil iyonları selüloz substratı ile birlikte lifle kolayca reaksiyona giremeyen hidrolize olmuş boyalar oluşturabilir. Böylece başlangıç boya yükünün %10-50'lik kısmı boya banyolarından atık sulara verilerek oldukça renkli atık suların oluşumuna yol açabilirler. Bu boyalar, kimyasal yapıları, molekül boyutu ve yapısı nedeniyle biyolojik indirgenmeye dayanıklıdırlar. Alıcı ortamlarda kolayca biyolojik indirgenmeye uğramayan reaktif boyalar tekstil atık sularında problem yaratan bileşikler olarak tanımlanırlar [Al-Degs vd, 2000].

Reaktif boyar maddeler selülozik elyafın boya ve baskısına yarayan çok önemli bir boyar madde grubudur. Ayrıca çok fazla olmamakla beraber yün, ipek, naylon ve deri boyamada da kullanılmaktadırlar. Reaktif boyar maddeler de geniş bir renk serisine sahiptir ve renkleri oldukça parlaktır [Özcan, 1978].

Bütün reaktif boyar maddelerin ortak özellikleri, hepsinin kromoforu taşıyan renkli bir grup yanında, bir reaktif bir de moleküle çözünürlük sağlayan grup içermesidir. Kromoforu taşıyan moleküller çoğunlukla azo, antrakinin ve fitalosiyanın türevleridir. Boyar maddenin reaksiyon yeteneğini ve reaksiyon hızını tayin etmesi nedeniyle boyama tekniğinden sorumlu olan grup reaktif gruptur [Özcan, 1978].

Reaktif boyar maddenin molekülünde renk verici grup olarak her türlü sınıfa rastlamak mümkün olmaktadır. Ancak genelleme yapıldığında, sarı, turuncu ve kırmızı boyar maddelerin basit mono azo yapısında; mor, koyu kırmızı ve lacivert renklerin bakırlı mono ve diazo yapısında; parlak ve açık mavi renklerin ise antrakinin ve fitalosiyanın türevleri olduğu belirtilmektedir [Başer ve İnancı, 1990].

2.2. TEKSTİL SEKTÖRÜ ve EKOLOJİ

“Ekolojik tekstil” veya “ekotekstil” terimi, elyaf halinden bitmiş haldeki ürünün oluşumuna kadar olan tüm işlem basamaklarında çevre gözetilerek üretilmiş, kullanım aşamasında ise kullanıcıya zarar vermeyen, kullanıldıktan sonra atılacak olan ürünün ise geri dönüşümünün olduğunu veya çevreye zararsız ürünlere dönüşebildiğini ifade etmektedir [Çoban, 1995].

Avrupa birliği tarafından yapılan bir araştırmada tüketicilere ekolojik olarak zararsız, doğa dostu yeşil ürünlerle ilgili anket yapılmıştır. Bu ankette Almanya’da %83, Hollanda’da %80, İngiltere’de ise %60 olarak doğa dostu yeşil ürünlerin tercih sebebi olduğu bulunmuştur. Bu aynı zamanda uluslararası toplumun ekolojik dengeye verdiği önemin göstergesidir [Wang, 2012].

2.2.1. Üretim Ekolojisi

Tekstil sektörü en fazla su, hava, kimyasal madde ve enerji tüketen endüstri dallarından birisidir. Hammaddeden başlayarak bitmiş ürün haline gelinceye kadar tekstil mamüllerine çeşitli işlemler uygulanmaktadır.

Özellikle terbiye işletmelerinde müşteriler tarafından istenilen özelliklerin (renk, tutum, v.b.) kazandırılması amacıyla tekstil malzemeleri üzerine çeşitli şartlarda muhtelif kimyasal maddeler ve boyar maddeler uygulanmaktadır. Ekotekstillere kavramı içinde kalan üretim ekolojisi; bu işlem aşamalarında ortaya çıkan, insana ve çevreye zararlı atıklarla ilgilenmektedir. Üretim ekolojisinde lif cinsinin önemi büyüktür. Doğal lifler özellikle de pamuk ekolojik tekstil üretiminde tercih edilmektedir [Demircanlı, 1998].

Tekstil, kâğıt, deri, halı v.b endüstri kollarının gelişmesiyle birlikte üretim safhasında kullanılan boya ve kimyasal maddeler artmış ve bu maddeler atıksu olarak nehir ve diğer doğal su kaynaklarına karışmıştır. Bu tür zehirli kimyasallar içeren sanayi atıkları su kirliliğindeki en önemli aktörlerdendir. Ayrıca bu bileşenlerin toksik ve mutajenik etkileri, biyolojik çeşitliliği de doğrudan etkiler [Demircanlı, 1998].

2.2.2. Atık Ekolojisi ve Geri-dönüşüm

İşlevini yerine getiren her malzeme atık olur. Atık ekolojisi kavramı ise kullanımı sona eren tekstil ürünlerinin zararlı maddeler yaymaksızın geri dönüşümü, ayrıştırma yoluyla veya havanın saflığına zarar vermeksizin ısıyla yok edilmesi (termal eliminasyon) esaslarına dayandırılmıştır. Eskiyip çöpe atılan tekstil ürünlerinin, yakılarak, çürümeye bırakılarak, depolanarak veya başka bir şekilde yok edilirken çevreye ve insanlara zarar vermemesi gerekir. Bu alanda en önemli çözüm ise geri dönüşümdür. Yani eskiyen tekstil ürünlerinin liflerinin tekrar kullanılmasıdır [Çakıroğlu, 2003].

Avrupa birliği ülkelerindeki tekstil atık miktarının toplamı yıllık 5,8 milyon ton olarak tespit edilmiştir. Bu miktarın %25'i hayır kurumları ve diğer işletmeler tarafından geri dönüşümle tekrar kazanılmaktadır. Geriye kalan 4,3 milyon ton atık, belediyelere ait atık yakım tesislerine gönderilir [Briga-sa, 2013].

Günümüzde tekstil geri dönüşümüne ilgi, geri dönüşüm tekniklerinin yetersizliği, maliyet fazlalığı ve tam ölçekli uygulanabilirlik endişesinden dolayı sınırlıdır. Ayrıca kumaşlarda kullanılan ucuz lifler ve boyar maddeler geri dönüşümü zorlaştıran etmenlerdendir. Sürekli proseslere tekrar tabi tutulma, ürünün kalitesinin düşmesini de beraberinde getirmektedir [Briga-sa, 2013].

2.2.3. İnsan Ekolojisi

1856 yılında William Perkin'in ilk sentetik boyayı keşfetmesinden bu yana kumaş boyamada kullanılan boyar maddeye yönelik talep artarak devam etmektedir. Sentetik boyalar uygulama çerçevesi ve kimyasal yapılarına göre büyük çeşitlilik gösterirler [Forgacs v.d., 2004].

İnsan ekolojisi hazır giyimin, kullanıcılara ve yakın çevresine olan etkilerini kapsar. Normal kullanım koşullarında insanlara zararlı etkileri olduğunu bildiğimiz maddelerin tekstillerde yoğunlaşması önlenmelidir. Bu maddelerin insana verdiği zararlar deri ile temas, solunum ve sindirim yoluyla olabilir [Seventekin, 1995]. Sentetik boyar maddelerin insan sağlığına ve çevreye olumsuz yönde etkisi, doğal boyar maddelere ilginin artmasına sebep olmuştur. Ancak, boyama bitkisinin üretimi için son derece büyük ekim alanlarına ihtiyaç duyulması veya böceklerden doğal boya üretimi için çok fazla böceğin üretilmesi gerekliliği ekolojiye uygun bir durum değildir.

Sentetik boyar madde üretimine bağlı olarak tekstilde son ürün, ağır metal kalıntılarını içermektedir. Bu nedenle, elde edilen sentetik boyar maddelerdeki düşük metal içeriği, metalin ek bir yöntemle uzaklaştırılması zorunlu olduğu için kalite belirtisidir. İyi bir haslık (dayanıklılık) derecesi elde etmek için metal-

kompleks boyar madde kullanma zorunluluğu vardır. Metal, kimyasal olarak boyar madde molekülüne bağlıdır ve boyar madde parçalanmadan ayrılamamaktır. Bu durum ekoloji için metal kirliliği açısından olumsuz bir durumdur. Sentetik boyar maddeler toksikolojik olarak da incelenmektedir. Bunun için kimyasal maddelerin kalıtsal olarak değişen özelliklerini gösteren “Ames Testi” uygulanmaktadır [Ames, 1973]. Bakteri irkının gen değişikliğine dayanan bu test, bu gün yeni bir boyar maddenin geliştirilmesinin hazırlık döneminde rutin olarak yapılmaktadır.

Doğal boyar maddeler, genellikle metal içermemektedir; ancak genellikle mordan boyar maddeleri olarak kullanılmaktadırlar. Bu işlem esnasında, ağır metal tuzları büyük oranda kullanılmakta olduğundan, boyama sonrası metal iyonlarının uzaklaştırılması sorunu ortaya çıkmakta ve metallerin uzaklaştırılma prosesi ise fazladan bir çevre yükü meydana getirmektedir.

Günümüzde kullanımda olan boyar maddelerin %70'i azo boyar kromofor grup maddeler sınıfına girerler. Azo boyar maddeleri nispeten kolay üretilmekte ve farklı kullanım amaçları için farklı haslıklarda üretilebilmektedir. Biyolojik sistemlerde enzimlerin etkisiyle organizmada aromatik aminlere indirgenebilmektedir. Bazı aromatik aminler ise kanserojeniktir. Yaklaşık olarak piyasada bulunan 3.200 adet azo boyar maddesinden 130 tanesinin belirli koşullar altında redüktif parçalanması sonucunda kanserojen arilamin bileşiklerinin oluştuğu saptanmıştır.

Çevre açısından kullanılan boyar maddenin rengi de önemlidir. Bir mamulü koyu renklere boyamak demek daha fazla boyar madde kullanmak, bunun sonucu olarak da daha fazla kimyasal madde ve su kullanmak demektir [Seventekin, 1988].

2.2.3.1. Tekstil boyar maddelerinin ortaya çıkardığı problemler

Doğal boyar madde uygulamalarının ve araştırmalarının başlangıcı Çin ve Orta Asya'ya dayanmaktadır. Doğal boyar maddeler hayvansal ve bitkisel kökenli olmak üzere kendi içerisinde iki ana grupta incelenir. Bitkisel kökenli doğal boyar maddeler doğada sayıları pek çok olan bitkilerin meyve, kök, yaprak, kabuk, çekirdek ve meyve kabukları gibi kısımlarından elde edilir. Hayvansal kökenli boyar maddeler ise doğada bulunan genelde ise kabuklu deniz böcekleri, salyangoz koşnil, kermes, mureks gibi böceklerden elde edilmektedir.

Son yıllarda artan çevre bilinciyle doğal boyar maddelere doğru bir yönelim vardır. Kimyasal maddelere karşı güvensizlik sonucu doğal boyar maddelerle boyanmış, kısmen daha düşük renk saflıklarına sahip ve yüksek fiyatlı giysileri kabul eden alıcı kesimi mevcuttur. Doğal olarak boyanmış tekstil mamullerine artan bir talep bulunmaktadır.

Sentetik boyar maddeler, 19. yüzyıl ortalarında doğal boyar maddelerin kimyasal esaslarının araştırılması sonucunda geliştirilmişlerdir. Sentetik boyar maddelerin ard arda geliştirilmesi sonucunda doğal boyar maddeler anlamlarını yitirmişlerdir. Sentetik boyar maddeler, doğal boyar maddeye karşın hazır petro kimyasal hammaddelere dayanarak uygun maliyetlerde boyar madde üretimi sağlamıştır. Yüksek saflıklarda boyamalar, doğal boyar maddelerle yapılan pahalı ve ayrıntılı boyama yöntemlerinin sadeleştirilmesini sağlamıştır.

Çok parlak ve saflığı yüksek boyamalar veren krom boyar maddeleri de kanserojen olmaları nedeni ile sağlık açısından zararlıdır. Tekstil endüstrisinde sık sık kullanılan reaktif boyar maddeler de tehlikelidir. Yüksek haslıklara ve parlak renklere sahip olan reaktif boyar maddeler proteinlerle de reaksiyona girebilmekte ve alerjiye neden olmaktadır [Seventekin, 1988].

Sentetik boyar maddelerin insan sağlığına ve çevreye olumsuz yönde etkisi doğal boyar maddelere ilginin artmasına sebep olmuştur. Ancak bitkisel boyar maddeler, şartlı olarak sentetik boyar maddelere alternatif sayılabilmektedir.

Öyle ki boyama bitkisinin üretimi için son derece büyük ekim alanlarına ihtiyaç duyulmaktadır ki, bu durum ekolojije uygun değildir.

Yalnızca bitkilerden değil aynı zamanda bazı böceklerden de doğal boyar madde elde edilebilir; ancak gerekli boyar madde için çok fazla böceğe ihtiyaç vardır. Bu durum da çevre dostu bir işlem değildir.

Bitki boyar maddeleri ile boyamada, fiksasyon için ağır metal içeren tuzlara gereksinim duyulmaktadır. Ancak, çevre ve insan için ağır metallerin kullanılmaması gerekmektedir. Bunların yerine çevreye daha az yük veren demir sülfat ve şap kullanmak gerekmektedir. Hemen hemen bütün doğal boyar maddelerle boyamada boyar maddenin fikse olabilmesi için mordan kullanılması zorunludur. Mordan maddeleri, lif ile boyar madde arasında bağlayıcı köprü görevi üstlenir. Böylece suda çözünürlüğü olan boyar madde, boya molekülleri ile mordan ve lif arasında kurulan bağlar sayesinde suda çözülmez bir halde, liflerin üzerine sabitlenmiş olur.

Doğal boyar maddeler, genellikle metal içermemektedir; ancak genellikle mordan boyar maddeleri olarak kullanılmaktadırlar. Bu boyamada, ağır metal tuzları büyük miktarda kullanılmakta olduğundan, boyama sonrası metal iyonlarının uzaklaştırılmasının gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Yani fazladan bir çevre yükü getirmektedir.

Boyalı tekstil malzemelerinde iyi veya çok iyi saflıklar istenmektedir. Saflıklar; su, ter, tükürük, sürtme gibi tekstil mamulünün belli şartlar altında ne kadar boyar madde vereceğini görmek için yapılan testlerdir. Saflık ne kadar yüksekse bu boyar madde molekülünün, tekstil mamulünün lifine o kadar iyi bağlandığını gösterir. Tekstil malzemesine sıkı bağlarla bağlanmış bir madde, insana deri yolu ile geçmemektedir. Bu nedenle de boyalı tekstil malzemelerinde iyi veya çok iyi saflıklar istenmektedir. Bunun da yanı sıra yüksek saflık aynı zamanda mamulün renk bakımından uzun süre rengini muhafaza edeceğini ve kullanım süresinin uzun olacağını ifade eder.

Doğal boyar maddeler ile sentetik boyar maddeleri karşılaştırıldığında ise her iki tip boyar maddelerin de bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır:

i. Doğal boyar maddeleri elde etmek için çok fazla miktarda bitki ve hayvan yetiştirilmesine ve endüstriyel olarak ürün toplama ve ekstraksiyon teknolojisine gereksinim vardır. Yüksek boyar madde verimini yakalayabilmek için boyama bitkisinin yetiştirilmesinin iyileştirilmesi düşünülmelidir.

ii. Endüstriyel arıtma yapılmıyorsa, sentetik boyar maddelerle karşılaştırıldığında doğal boyar maddelerden atık su yükünü çok fazla arttıran döküntü yığınları ortaya çıkmaktadır.

iii. Doğal boyar maddeler zor standardize edilmektedir. Az sayıda renk tonları kullanılabilir. Sentetik lifler için bu zamana kadar hiçbir doğal boyar madde bilinmediğinden yalnızca yün ve pamuk için kullanılabilir.

iv. Doğal boyar maddeler sentetik boyar maddelerden 5-10 kat daha pahalıdır.

v. Şu anda kullanılan doğal boyar maddelerin tekstil maddelerini boyama talebini karşılamaının mümkün olmadığı da göz önüne alınarak, çevreye ve insan sağlığına zararlı olmayan boyar maddelerin üretiminin ve kullanımının her geçen gün artması beklenmektedir [Seventekin, 1995].

2.2.4. AB'nin ve Türkiye'nin Ekolojik Tekstil Konusundaki Mevzuatı

2.2.4.1. AB mevzuatı

Avrupa Birliği (AB) tekstil ürünlerinde ekoloji konusunu ilk kez 1976 yılında yayınlanan 76/69/EEC Konsey Direktifi'nde ele almıştır. Söz konusu direktif ile tekstil ürünlerinde kullanılan bazı ürünlerin zararlı olabileceği belirtilmiştir.

19 Temmuz 2002 tarihli, söz konusu direktifin 19. kez değiştirilmiş şekli olan 2002/61/EC Direktifi ile kanserojen olduğu belirlenmiş 22 adet aromatik arilamine parçalanan azo boyar maddelerin tekstil ve deri ürünlerinde kullanımı ve söz konusu boyar maddelerle boyanmış tekstil ve deri ürünlerinin pazarda yer alması yasaklanmıştır. Söz konusu yasaklanmış arilaminlerin bulunabileceği maksimum derişimleri ise 30 ppm olarak belirlenmiştir.

6 Ocak 2003 tarihli 2003/3/EC Direktifi ile 611-070-00-2 indeks nolu Blue Colourant (mavi boyar-maddenin) tekstil ve deri ürünlerini boyamada kullanılması ve pazarda yer alması yasaklanmıştır. 30 Haziran 2004 tarihinden itibaren söz konusu yasaklamanın uygulamaya konacağı belirtilmiştir. Avrupa Komisyonu 2003/03/EC Direktifi ile 30 Haziran 2004 tarihinden itibaren tekstil ürünlerini boyamada kullanılan krom bazlı azo boyar maddelerin kullanımını ve pazarlamasını yasaklamıştır.

29 Nisan 2004 tarihli Komisyon Tavsiyesi'nde ise asetonitril, akrilamid, akrilonitril, akrilik asit, bütadien, hidrojen florür, hidrojen peroksit, metakrilik asit, metil metakrilat, toluen ve triklorobenzen maddelerinin çeşitli üye ülkelerde incelendiği bildirilmiştir.

Metakrilik asitin çevresel olarak, su ekosistemi için belirli bir limit değere ihtiyaç olduğu belirtilmektedir. Toluene maddesi için su ve kara ekosistemi açısından limit değerlerin olması gerektiği belirtilmiştir. Ayrıca 2000/60/EC (Su Çevre Direktifi) Direktifi'nin X. ekinde yer alan öncelikler listesinin tolueni içine alacak şekilde genişletilmesinin göz önüne alınması gerektiği bildirilmektedir. 1,2,4-triklorobenzen için su ve kara ekosistemler için limit değerler olması gerektiği belirtilmiştir [Bayraktar, 2005].

2.2.4.2. Türkiye'deki mevzuat

İnsan sağlığına zararlı etkilerinin olması sebebiyle, Sağlık Bakanlığı'nın 29.12.1994 tarihli ve 15488 sayılı genelgesi ile bazı arilaminlerin yurt içinde deri, tekstil ve hazır giyim boyahanelerinde boya imalı için kullanılması ve bazı

boyar maddelerin yurt içinde deri, tekstil ve hazır giyim ürünlerinde kullanılması 1.3.1995 tarihinden itibaren yasaklanmıştır. Söz konusu olan boyar maddelerin ithali de 1996/16 sayılı ve 31.12.1995 tarihli İthalat Tebliği ile yasaklanmıştır [Bayraktar, 2005].

Tekstil sektörü faaliyetlerinin çevreye olabilecek olumsuz etkilerinin en aza indirilmesine, çevreyle uyumlu yönetiminin sağlanması için üretim sırasında suya, havaya ve toprağa verilecek her türlü emisyon, deşarj ve atıkların kontrolü ile hammadde ve enerjinin etkin kullanımına ve temiz üretim teknolojilerinin kullanımına ilişkin usul ve esasları düzenlemek amaçlı 14.12.2011 tarihli bir tebliğ yayınlanmıştır.

2.3. BOYAR MADDELERİN RENK GİDERİMİ ÇALIŞMALARI

Tekstil endüstrisi atıksuları çok çeşitli kimyasallardan ve özellikle boyar maddelerden dolayı arıtılması zor olan endüstriyel atıksulardandır. Değişik organik boyar madde, ağır metal, çözülmüş tuzlar, renk, bulanıklık içeren ve değişen pH'larda dış ortama verilen atıksular, birinci derece arıtma ihtiyacı duyulan sulardır. Ülkemizde Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği'nde, deşarj standartlarında renkle ilgili parametre olmamasından dolayı, bu atıksuların arıtımında daha çok Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ), Biyolojik Oksijen İhtiyacı (BOİ) ve Askıda Katı Madde (AKM) giderimi amaçlanmaktadır. Bununla birlikte ABD ve AB ülkelerinde renkle ilgili kesin deşarj sınırlamaları getirildiği için son yıllarda çalışmalar renk giderimi üzerine yoğunlaşmıştır [Tatlı, 2003; Tezer, 2002].

Tekstil sanayinde kullanılan boyalar uygulandığı ipliğin tipine ve kimyasal yapısına göre farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle, literatürde yüzlerce çeşit boyaya rastlanmaktadır. Tekstil fabrikalarında boyama işlemi esnasında birden fazla boyanın ve bazı yardımcı kimyasalların bir arada kullanılması, atıksuyu daha da karmaşık hale getirmektedir [Correia vd, 1994]. Günümüzde boyar maddelerin gideriminde fiziksel ve kimyasal işlemler kullanılmakta, ancak bu yöntemlerin çoğu ekonomik olarak maliyetli olması ve arıtım sonucu ortaya

çıkan aktif çamurun uzaklaştırılması gerekliliği gibi bazı dezavantajlara sahiptir. Renk giderim çalışmaları ile ilgili bazı yöntemler ise takip eden alt kısımlarda ele alınmaktadır.

2.3.1. Kimyasal Yöntemler

2.3.1.1. Oksidatif prosesler

Bu işlem, kimyasal maddeler kullanılarak renk gideriminin sağlandığı bir metot olmakla beraber, kimyasal yöntemler içerisinde en fazla uygulanan prosestir. Bu işlemde temel oksitleyici ajan olarak hidrojen peroksit (H_2O_2) kullanılmaktadır. Oksidatif proseslerde boya molekülündeki aromatik halka kırılarak atıksudan boya arıtılmış olur [Kocaer ve Alkan, 2002].

2.3.1.2. Fenton ayırıcı [$H_2O_2/Fe(II)$ tuzları]

Fenton ayırıcı, yani $Fe(II)$ tuzları ile inhibe edilmiş hidrojen peroksit, toksik atıkların oksidasyonu için iyi bir yöntemdir. Bu işlem ön-oksidasyon ve koagülasyon olmak üzere iki adımda gerçekleşir ve renk giderim hızı ilk basamakta daha yüksektir [Kang ve Chang, 1997]. Atıksularda bulunan renk bileşikleri bu yöntemle yok edilebilir ve özellikle metal-kompleks türündeki boyalardan kaynaklanan ağır metaller, demir oksitlerle birlikte nötralizasyon basamağında çöktürülebilirler. Fenton ayırıcı yönteminin KOİ, renk ve toksisite giderimi gibi avantajların yanında floklama prosesinde ortaya çıkan çamur problemi gibi dezavantajları da mevcuttur [Sewekow, 1993 ; Robinson vd, 2001].

2.3.1.3. Ozonlama

Ozonlama aromatik hidrokarbonlar, pestisitler, fenoller ve klorlu hidrokarbonların yıkımında, boyar madde ve KOİ gideriminde kullanılan etkili bir yöntemdir [Xu ve Lebrun, 1999]. Boyar maddedeki kromofor gruplar genellikle çift bağlı organik bileşiklerdir ve bunların ozonlama ile kırılmaları

sonucu renksiz moleküller oluşur [Peralto-Zamora vd, 1999]. Boyar madde bulunan atığa uygulanacak ozon dozajı toplam renge ve KOİ oranına bağlıdır. Ozonlama işlemi sonucunda çamur oluşumu gözlenmemektedir [Ince ve Gönenç, 1997]. Ozonlamanın dezavantajı ise gaz halde uygulanması ve uygulamada suyun hacminin arttırılmamasıdır. Bunlar dışında yüksek maliyetli olması, yarılanma ömrünün kısa olması (20 dak.), pH, sıcaklık ve tuz derişimi gibi değişkenlerden kolayca etkilenmesidir [Xu ve Lebrun, 1999]. Ozon, radyasyonla ve membran filtrasyon tekniği ile kullanıldığında iyi sonuç vermekte, ancak bu uygulama esnasında kullanılan iyon tutuculardan dolayı ozonlama işleminin renk giderimi üzerine etkisi azalmaktadır [Ölmez vd, 2003].

2.3.1.4. Fotokimyasal işlemler

Bu metod ile boyar madde H₂O₂ varlığında UV ile birlikte karbondioksit ve suya parçalanmaktadır [Peralto-Zamora vd, 1999]. Parçalanma sonucu yüksek derişimde hidroksil radikalleri üretilmektedir. UV-hidrojen peroksit ile renk giderimi, UV ışığının yoğunluğuna, ortamın pH'sına ve boyar maddenin yapısına bağlıdır [Slokar ve Marechal, 1997]. Renk giderim işleminin süresi ortamda bulunan metallere, inorganik asitlere, organik aldehitlere ve organik asitlere bağlıdır [Yang vd, 1998]. Fotokimyasal işlemlerin en önemli avantajı ise arıtım sonucunda çamur oluşmaması ve kötü kokulara neden olan organiklerin azalmasına neden olmasıdır [Kocaer ve Alkan, 2002].

2.3.1.5. Sodyum hipoklorit (NaOCl)

Ortamdaki klor derişimine bağlı olarak, renk giderim hızının değişiklik gösterdiği bir yöntemdir. Bu metotta, kullanılan kimyasaldaki klor, boyar maddelerin amino gruplarını etkilemektedir ve boyar maddenin azo grupları kırılmaktadır. Bu metod dispers boyar maddeler için uygun değildir. Metotta klorun kullanılması ve fazla klorun atıksuda kalması, işlemi dezavantajlı duruma sokar. Ayrıca reaksiyon sonucu karsinojenik ve aromatik aminlerin oluşması bir diğer olumsuz yanındır [Slokar ve Marechal, 1997].

2.3.1.6. Elektrokimyasal işlemler

Boyar madde gideriminde kimyasal maddenin oldukça az kullanıldığı, arıtım sonucunda etkili bir boya gideriminin sağlandığı ve çamurun oluşmadığı bir yöntemdir. Ancak bu yöntemin uygulanmasında tehlikeli bileşiklerin oluşumu söz konusudur [Kocaer ve Alkan, 2002].

2.3.1.7. Kimyasal flokleştirme ve çöktürme yöntemi

Kimyasal maddelerin yardımı ile flokleştirme ve çökelmenin sağlandığı bir yöntemdir. En çok kullanılan kimyasallar arasında, $Al_2(SO_4)_3$, $FeCl_3$, $FeSO_4$ ve kireç sayılabilir. Bu yöntemin kullanılması ekonomik açıdan dezavantaja sahiptir. Ayrıca, flokleştiren maddelerin ve oluşan çamurun uzaklaştırılması açısından da dezavantaja sahiptir [Tünay vd, 1996].

2.3.2. Fiziksel Arıtım

2.3.2.1. Membran filtrasyonu

Bu metod atıkların arıtımında, konsantre edilmesinde, en önemlisi de sürekli şekilde boyar maddeleri atıksudan ayırıp tekrar kullanıma olanak sağlaması ile karakterizedir [Robinson vd, 2001]. Bu metodun en önemli avantajı, diğer yöntemlerden farklı olarak sıcaklık değişimine, kimyasal çevreye ve mikrobiyal aktiviteye karşı dirençli olmasıdır [Kocaer ve Alkan, 2002; Machenbach, 1998]. En büyük dezavantajı ise oldukça yüksek yatırım maliyetinin olmasıdır. Sistemde atıksuyun membrandan dışarı çıkabilmesi için kimyasal potansiyel, basınç, elektrik gibi zorlayıcı kuvvetler uygulanmaktadır. Ayrıca sistemin atıksudan KOİ gideriminde de etkili olduğu rapor edilmiştir [Lopez vd, 2002; Ckhakraborty, 2003].

2.3.2.2. İyon değiştiriciler

Bu yöntemde atıksu, mevcut değişim bölgeleri doygunluğa erişene kadar iyon değiştirici reçineler üzerinden geçer. Böylelikle atıksudaki hem anyonik

hem de katyonik boyalar uzaklaştırılabilmektedir. Dispers boyalar için uygun olmayan bu yöntemin maliyetinin oldukça yüksek olmasının yanında, boyar maddelerin çok farklı kimyasal yapıya sahip olması bu metodun kullanımını sınırlar [Robinson vd, 2001].

2.3.2.3. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon yönteminin işleyişi, boya etkileşimi, adsorbanın yüzey alanı, tanecik büyüklüğü, sıcaklık, pH ve temas süresi gibi birçok fiziko-kimyasal etkiye bağlıdır. Metot oldukça etkili olup, maliyeti de uygundur. Adsorpsiyonla renk gideriminde en fazla kullanılan yöntem aktif karbon yöntemi olup, katyonik, mordant ve asit boyalar için oldukça etkili; dispers, direkt, pigment, vat ve reaktif boyalar için etkisi azdır. Metodun performansı kullanılan karbonun tipine ve atıksuyun karakteristiğine bağlıdır. Ayrıca rejenerasyon ve tekrar kullanım performansta azalmaya neden olur, bu nedenle aktif karbon miktarı artırılmalıdır. Bu durum ise maliyeti yükseltmektedir.

Adsorban olarak kullanılan diğer bir malzeme bataklık kömürüdür. Bataklık kömürü boya içeren atıksulardaki polar organik bileşikleri ve geçiş metallerini adsorblayabilmektedir. Bu yöntem özellikle bataklık kömürünün bol bulunduğu İrlanda ve İngiltere gibi ülkelerde uygulanabilir. Bunlar dışında, ağaç kırıntıları, uçucu kül ve kömür karışımı, silika jeller, doğal killer, mısır koçanı gibi malzemeler de adsorban olarak kullanılabilir [Robinson vd, 2001].

2.3.2.4. Radyasyon

Organik maddelerin radyasyonla parçalanabilmesi için uygun miktarda çözülmüş oksijen gereklidir. Ortama verilen oksijen ise hızla tüketilir ve tekrar verilmesi gerekir. Boyar maddelerin parçalanmasını sağlayan bu yöntem yalnızca laboratuvar koşullarında uygulanabilmektedir [Hosono vd, 1993].

2.3.3. Biyolojik Arıtım

Biyolojik arıtım endüstriyel atıkların giderimi için en önemli yöntemdir. Fiziksel ve kimyasal yöntemlerin yüksek maliyet gerektirmeleri ve her boya için kullanılamıyor olması, uygulamaların sınırlı olmasına neden olmuştur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, birçok boya türünü atıksudan giderebilme yeteneğine sahip yaygın mikroorganizma türlerinin varlığını tespit etmiş ve biyoteknolojik uygulamaları ön plana çıkarmıştır. Bu uygulamalar, arıtım sonucu az çamur üretilmesi, maliyetinin düşük olması, zararlı yan-ürünlerin oluşmaması gibi nedenlerden ötürü dikkat çekicidir [Kocaer ve Alkan, 2002].

2.3.3.1. Biyosorbsiyon

Kimyasal maddelerin mikrobiyal kütle tarafından adsorbsiyonu veya kütlede birikimi olarak ifade edilir. Bu yöntem için ölü bakteriler, mayalar ve mantarlar kullanılmaktadır. Tekstil boyalarının çok çeşitliliğe sahip olması, mikroorganizma ile boyanın etkileşimini etkiler. Bu nedenle mikroorganizmanın cinsine göre ve boyaya bağlı olarak, farklı bağlanma hızları ve kapasiteleri söz konusu olmaktadır. Boyar madde içeren atıksu çok toksik olduğunda, cansız hücrelerle biyosorpsiyon avantajlı bir yöntemdir [Robinson vd, 2001].

Aspergillus niger ve *Aspergillus terreus* ile yapılan çalışmada Procion red MX-5B boyasının biosorpsiyonu gözlenmiş, 24 saatlik bir sürede %60'lık bir verim alınmıştır [Almeida, 2014]. Cansız *Aspergillus fumigatus* hücrelerinin ise Metilen blue boyasını %25 verimle absorbe ettiği belirtilmiştir [Abdallah, 2012].

Thamnidium elegans'ın reaktif boyaları biyosorpsiyon kapasitesinin incelendiği bir çalışmada, 0,8 g/L lik bir biosorbent yoğunluğunda %98 erim elde edilmiştir [Akar, 2013]. Benzer bir çalışma *Penicillium simplicissimum* ile yapılmış; Metil violet %98, Kristal violet %95, Coton blue boyası ise %82 oranında giderilmiştir [Chen ve Ting, 2015]. Cansız *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin biyosorpsiyon etkeni olarak denendiği bir çalışmada, 5 dakikalık bir muamele ile Brilliant green ve Methylene blue boyalarını %98 oranında

giderildiği kaydedilmiştir [Ghaedi, 2013]. Cansız *Rhizopus arrhizus* hücrelerinin 4 saatlik bir muamele ile Methylene blue boyasını %90 verim ile giderdiği gösterilmiştir [Karatay vd., 2014].

2.3.3.2. Aerobik yöntem

Endüstriyel atıkların arıtılmasında yaygın olarak kullanılan geleneksel aktif çamur sistemleri için tekstil endüstrisindeki birçok boya bileşiği biyolojik olarak çok zor indirgenebilmekte ya da inert kalmaktadır. Mikroorganizmalar, suda çözünebilen bazik, dispers ve azo boyaları biyolojik olarak indirgeyememekte, fakat boyanın bir kısmını adsorbe ederek atıksuyun rengini almakta ve renk giderimi sağlanabilmektedir. Sentetik boyaların aerobik ortamda parçalanmaya karşı dirençli olmalarının nedeni boya malzemelerinin ışık ve kimyasal kaynaklı oksidatif etkiler sonucu renklerinin solmayacak şekilde sentezlenmeleridir [Willmott vd, 1998; Oneill vd, 2000 a]. Robinson ve arkadaşları (2001) yaptıkları çalışmada, 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 [Robinson vd, 2001].

Fakat son yıllarda bazı boyalarla ilgili çalışmalar, boyaların aerobik olarak da parçalandığını göstermiştir. Odunsu bitkilerde bulunan polimer lignini parçalayabilen bazı bakteriler ve funguslar aracılığıyla lignin peroksidaz (LiP) ya da mangan peroksidaz (MnP) gibi enzimlerle boyaların renklerinin giderilebildiği gösterilmiştir [Robinson vd, 2001; Palma vd, 1999]. *Candida tropicalis*'in aerobik olarak parçalayarak 100 mg/L Acid brilliant scarlet GR boyasını 24 saat içinde tamamen giderdiği belirtilmiştir [Tan, 2013]. *Bacillus halodurans* MTCC 865 suşunun Acid black-24 boyasını aerobik olarak 6 saatlik bir muamele ile %90 oranında giderdiği rapor edilmiştir [Prasad ve Bhaskara, 2013].

Tutuklanmış organizmalar da aerobik biyodegradasyon için kullanılmış verimli sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan bir çalışmada *Funalia trogii* suşunun Reactive black 5 boyar maddesini gidermesi incelenmiştir. Boyar maddenin inhibisyona uğrattığı *Funalia trogii*, *Luffa cylndrica* süngerini üzerinde tutuklanınca inhibisyon minimuma inmiş ve boya giderimi sağlanmıştır [Mazmancı, 2004].

2.3.3.3. Anaerobik yöntem

Boyar maddelerle yapılan çalışmalar özellikle suda çözünebilen azo-reaktif boyalar üzerine yoğunlaşmıştır. Bu boyalar aerobik ortamda parçalanamamaktadır. Anaerobik ortamda bu boyaların parçalanabilmesi mümkündür, ancak bunun için ilave karbon kaynağına ihtiyaç vardır. İlave karbon kaynağı metabolik faaliyet sonucu metan ve karbondioksit dönüşümüne ve elektronlar açığa çıkmaktadır. Bu elektronlar ise elektron taşıma zincirinden son elektron alıcısına yani azo-reaktif boyaya taşınmakta ve boya ile reaksiyona girerek azo bağına indirgenmektedir. Bu olay oksijen tarafından inhibe edilmektedir. Bu nedenle, boya arıtımında ilk adım azo bağlarının kırıldığı anaerobik yöntem olmalıdır [Robinson vd, 2001]. Reaktif black 5 ve Synozol red boyalarını anaerobik ortamda renksizleştirebilmek için yapılan bir çalışmada, kullanılan boya derişimine ve mikroorganizma kültürüne bağlı olarak %23 ile %78 arasında değişen KOİ giderme verimlerinin elde edilebileceği belirtilmiştir. Rengin tamamen giderilebilmesi azo bağının (N=N) anaerobik ortamda parçalanması ile mümkün olmuştur. KOİ'nin tamamen giderilememesi ise meydana gelen ara ürünlerin anaerobik ortamda parçalanamamasındandır [Sponza, 2000].

Aromatik aminler gibi ara-ürünler sitotoksik, mutajenik ve kanserojenik özellik gösterebilmektedirler. Boya maddesi normalde toksik özellikte olmasa bile anaerobik ortamda son derece toksik aminlerin oluşması mümkündür. Bu nedenle, anaerobik sistemler aerobik arıtmadan önce yer alan bir ön-arıtım yöntemi olarak önerilmektedir. Çünkü aromatik aminler, aromatik bileşiğin halkasının açılması ve hidroksilasyonla (OH grubunun ayrılması) aerobik

ortamda mineralize olabilmektedirler. Böylece boyar madde atık suların anaerobik-aerobik proseslerle arıtılması ile anaerobik basamakta etkili bir renk giderimi, aerobik sistemde ise anaerobik sistemde oluşan parçalanmaya dirençli aminlerin yıkımı söz konusudur [Oneill, 2000 b].

2.4. BOYAR MADDELERİN MİKROBİYOLOJİK OLARAK AYRIŞTIRILMASI

2.4.1. Funguslar, Algler ve Mayalarla Yapılan Çalışmalar

Çoğu sentetik boya fiziksel ve kimyasal yöntemlerle parçalanamaz. Mantarlar veya onların oksidatif enzimleri tekstil atık sularındaki bu boyar maddeleri hem adsorpsiyon hem de oksidatif degradasyon ile dekolorize edebilir [Singh et al., 2012].

Bir çok mikroorganizmanın boya giderim yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir. Ancak bir süre sonra mikrobiyal muamele biyokütle birikimine neden olur, bu da uygulama alanını genişletir ve dekolorizasyon hızını azaltır. Dolayısıyla günümüzde uygulamaların odak noktası direkt olarak enzim tabanlı muamele noktasına kaymıştır [Singh et al.,2013].

Potansiyel *Aspergillus* suşlarıyla, potato dextrose agar besi yerine blue, red ve orange RGB sentetik boyları eklenerek yapılan deneyde bu suşların yüksek kalitede dekolorizasyon değerleri verdiği gözlemlenmiştir [Rao, 2014].

Kâğıt ve kâğıt hamuru atığının 1980'lerin başında *Phanerochaete chrysosporium* ve *Tinctoporia* sp. fungusları ile renk-giderimi, renk-giderimi çalışmalarının temelini oluşturmaktadır [Anjaneyulu, 2005]. Daha sonraki çalışmalar renk-giderimi mekanizmasının lignin peroksidaz (LiP), mangan peroksidaz (MnP) ve lakkaz enzimleri ile ilişkili olduğunu ispatlamıştır [Michael FC vd, 1991]. *Phanerochaete chrysosporium*'un veratril alkol varlığında birçok boyayı ayrıştırdığı gösterilmiştir. Veratril alkolün ligninaz aktivitesini uyardığı bilinmektedir. Renk-giderimi yeteneğine sahip birçok yeni funguslarla fazla sayıda çalışmalar mevcuttur. Lakkaz, MnP ve LiP enzimlerini üreten yeni mantar

türleri izole edilerek renk-giderim verimlilikleri arttırılmaya çalışılmıştır. Bazı funguslar ile yapılan adsorbent çalışmalarında, örneğin *Rhizomucor pusillus* fungusunun adsorben olarak kullanılması ile kâğıdın beyazlatılmasında %48-%50 değerinde sonuçlar elde edilmiştir [Christov vd, 1999].

Güncel olarak mantar kökenli lakkaz çalışmalarının yoğunlaştığı türler *Anthracoxyllum discolor*, *Pycnoporussanguineus*, *Aspergillus niger* ve *Trichoderma harzianum* olarak görülmektedir [A.K. Sidhu, 2014].

Fungusların ölü biyokütelleri ile yapılan adsorbsiyon çalışması ile enzimatik ayrıştırmanın (degradasyon) karşılaştırıldığı bir çalışmada, *Trametes vesicolor* fungusu kullanılmış ve biyokütlenin hem adsorban ile hem de enzimatik ayrıştırma ile boyanın %90'ının elimine olduğu belirtilmiştir [Aretxage, 2001].

Funalia trogii fungusunun biyokütlesi ile yapılan bir çalışmada ise Astrozon red boyasının %55'inin absorbe olup, ayrıştırıldığı belirtilmiştir. Bu çalışmada, yüksek biyokütle miktarının iyi bir renk-giderimiyle ilişkili olduğu ve renk-giderimini arttırabileceği rapor edilmiştir [Yeşilada vd, 2002].

Beyaz çürükçül bir fungus olan *Thelephora* sp. suşu ile Orange G, Congo red ve Amido black 10B boyaalarının renk-giderimi amacıyla yapılan bir çalışmada ise, bu fungal suşun gerçekleştirdiği renk-giderim oranlarının sırasıyla %33,3, %97,1 ve %98,8 olduğu belirtilmiştir [Selwam, 2003].

Boyar maddelerin biyolojik parçalanması amacıyla aerobik/anaerobik reaktörde *Phanerachyta cryso sporium* ve *Coriolus versicolor* fungusları ile yüksek parçalanma verimlilikleri elde edilmekte ancak aerobik sistemde, renk-giderimi adsorbsiyonla gerçekleştiğinden etkili bir yöntem olmamaktadır. Ayrıca, *P. cryso sporium* ve *C. versicolor* funguslarının özel besin ihtiyaçları, çevre şartlarına karşı hassas olmaları ve düşük pH değerlerinde (pH 4,5) renk-giderimi yapmalarından dolayı arıtma tesislerinde uygulanabilirliği oldukça zordur [Manu ve Chaudhari, 2002]. Ancak anaerobik çalışmalarda daha iyi

sonuçlar mevcuttur. Azo indirgenmesi elektrokimyasal bir reaksiyondur ve azo boyar maddeler mikroorganizmalar tarafından elektron taşıma zincirindeki son elektron alıcı olarak kullanılmaktadırlar. Bu olay sırasında elektron taşıma zincirindeki elektron taşıyıcılar karbon kaynağına bağlı olarak yeniden oluşarak, azo halkalarını indirger ve boyar madde çekirdeğini kırarlar. Bu olayın oksijen tarafından inhibe edildiği de belirtilmiştir [Manu ve Chaudhari, 2002].

Türkiye’de tekstil atıksularının arıtımı için işletilmekte olan aktif çamur sistemlerinin önüne kurulacak anaerobik reaktörün, alıcı ortamların kalitesi açısından olumlu etkiler meydana getireceği kanaatine varılmıştır [Manu ve Chaudhari, 2002; Kapdan ve Alparslan, 2004].

Yapılan başka bir çalışmada, Direct Violet (DV31) ve Remazol Black (RB5) reaktif tekstil boyalarının ortadan kaldırılması ile ilgili biyotik ve abiyotik adsorban çalışmasında 2, 4, 24 ve 48 saatlik inkübasyon deneyleri yapılmıştır. Çalışmanın amacı boyaların ortadan kaldırılması için ucuz ve yenilenebilir kaynakların kullanımınıdır. Biyotik ajanlar olarak *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium commune*, *Aspergillus terreus*, *Eurotium repens*, *Penicillium fregii*, *Penicillium alli* ve bu suşların karışımından oluşan funguslar kullanılmıştır. Abiyotik ajan olarak ise talaş, pirinç samanı, kömür ve şekerpancarı kullanılmıştır [Kaykıoğlu ve Debik, 2006].

Fungus suşları arasından DV31 boyası için en iyi biyotik adsorbanın 2 saatlik inkübasyon sonucunda *Penicillium commune*, *P. fregii* ve *P. alli* fungusları olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan sırasıyla %96, %64 ve %65 oranlarında verim elde edilmiştir. *P. fregii* hariç aynı suşlar RB5 boyasını büyük oranda ortadan kaldırmışlardır. Abiyotik ajanlardan pirinç samanı ile iyi bir adsorban gerçekleştiği belirtilmiştir. Ancak adsorban, boyaların degradasyonu ile karşılaştırıldığında verimli bir arıtım olmamaktadır [Kaykıoğlu ve Debik, 2006; El-Rahim, 2006].

Phanerochaete chrysosporium ile ilgili yapılan bir diğer renk-giderim çalışmasında ise azo boyar maddelerinden olan Remazol blue RR gran, Remazol

red RR gran, Remazol yellow RR gran'ın belli oranlarda karıştırılmasıyla elde edilen model atıksuda biyolojik parçalanma verimleri araştırılmıştır. Çeşitli derişimlerdeki renk, KOİ, bakır ve aromatik grup giderim verimleri incelenmiştir. Deneysel çalışmaların sonuçlarına göre, renk giderimi başarılı olsa dahi, rengi oluşturan bileşenlerden olan aromatik grubun belli oranlarda atıksu içerisinde bozunmamış halde kaldığı belirlenmiştir. Degradasyon oranları Remazol yellow, Remazol red ve Remazol blue için sırasıyla %55, %33, %12'dir [Demir vd, 2006].

Tekstil atığı ile kirlenmiş topraktan izole edilen karışık kültüre dayalı anaerobik-aerobik arıtım prosesi Remazol brilliant orange 3R, Remazol black B ve Remazol brilliant biolet 5R reaktif azo boyalarının degradasyonu için çalışılmıştır. *Paenibacillus* ve *Pseudomonas* fungus cinsleri ile çalışılan ardışık anaerobik-aerobik arıtım prosesi rengin büyük bir kısmının anaerobik sistemde gerçekleştiğini kanıtlamıştır. KOİ büyük bir kısmının ise aerobik sistemde ortadan kaldırıldığı gösterilmiştir. Sonuçlar azo boyaların anaerobik sistemde aromatik aminlere indirgendiğini ve aromatik aminlerin bakteri biyokütlesi tarafından üretildiğini göstermektedir. İkinci bir basamak olan aerobik sistemde ise bu aromatik aminler aynı izolatlarla parçalandığı gösterilmiştir. Fakat bu boyaların ayrışma oranları farklıdır ve yeterli değildir. Bunun sebebinin boyaların moleküler ya da kimyasal yapılarından kaynaklandığı belirtilmiştir [Supaka vd, 2004].

Boyar maddelerin renklerinin giderilmesinde alglerin kullanıldığı çalışmaların sayısı ise oldukça sınırlıdır. İlk kez 1978 yılında kâğıt hamurunun beyazlatılması gibi çalışmalarla renk-giderim yeteneği rapor edilmiştir [Lec vd, 1978]. Saf ve karışık alg kültürleri ile 3 aylık inkübasyon süresinde %50-70 oranında renk-giderimleri gözlenmiştir. Algal renk-gideriminin azo redüktazlar ile gerçekleştiği çalışmalar da gösterilmiştir [Jinqui ve Houtain, 1992]. *Chlorella andoscillatoria* alginin aromatik aminleri basit organik yapılara ve CO₂'ye indirgediği gösterilmiş, hatta bazı türlerinde azo boyaları karbon ve azot kaynağı olarak kullandığı da rapor edilmiştir [Banat vd, 1996].

Wasniewska [1985] tarafından kırmızı oksidatif mayalarla Crystal violet boyasının biyolojik ayrıştırmasının amaçlandığı çalışmada, *Rhodotorula* sp. ve *Rhodotorula rubra*'nın Crystal violet'i parçalayabilme yeteneğinde olduğunu belirtilmiştir. Bir başka çalışmada fermantasyon yeteneğinde sahip *Saccaromyces cerevisiae*'nin Crystal violet'i parçalayamadığı gözlenmiştir. Bunun nedeninin ise kesinlikle boyar maddenin toksik etkisinden kaynaklanmadığı belirtilmiştir. Nedeni ise organizmanın hem kontrol hem de test erlenlerinde iyi gelişme göstermiş olmasındandır [Wasniewska, 1985].

Aspergillus flavus ile yapılan bir biyosorpsiyon çalışmasında, Remazol black boyalı besi yerinde büyütülen *Aspergillus flavus*'un boyar maddeyi %94 absorbe ettiği bildirilmiştir [Ranjusha, 2010]. *Aspergillus lentulus* pelletlerinin biyosorpsiyonu ile Acid blue 120 boyasının %98,3 oranında giderimi tespit edilmiştir [Kaushik, 2014].

2.4.2. Bakterilerle Yapılan Çalışmalar

Çok sayıda bakterinin renk-giderme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir [Banat vd, 1996]. Azo boyaları ayrıştırabilen bakterilerin izolasyonu ile ilgili çalışmalar önceleri *Bacillus subtilis*, *Aeromonas hydrophilia* ve *Bacillus cereus* suşlarının, ardından da *Klepsiella* sp. ve *Streptomyces* sp. suşlarının izolasyonu ile devam etmiştir [Horistsu vd, 1977; Idaka ve Ogewa, 1978; Wuhrmann vd,1980]. *Pseudomonas* sp. ve *E. coli* ile yapılan çalışmalarda ise Congo Red ve Direct Black 38 boyalarının anaerobik, aerobik ve mikroaerofilik ortamda renk-giderim deneylerinde *E. coli* ile yalnızca anaerobik ortamda %72-98 oranlarında verim alınırken, aerofilik ortamda renk-giderimi gözlenmemiştir. Ayrıca *Pseudomonas* sp. ile mikroaerofilik ortamda %98-100 oranlarında boya ayrıştırması gözlenmiştir [Işık ve Sponza, 2003].

Chen ve arkadaşları (1999), *Proteus mirabilis* kullanarak 100 mg/L boya derişiminde 20 saat içinde kırmızı azo (Red RBN) boyanın %95 civarında indirgendiğini bulmuşlardır [Chen vd, 1999].

Sani ve Banerjee [1999], gram pozitif bir bakteri olan *Kurthia sp.* kullanarak, Magenta, Crystal Violet ve Malaşit yeşili boyalarında %92-96 arasında renk giderimi elde etmişlerdir. Ayrıca, çalışmada KOİ için yüksek oranlarda giderim verimi (%56-85) gözlenmiştir [Sani ve Banerjee, 1999].

Çetin ve Dönmez [2005] yapmış oldukları bir çalışmada, tekstil boya atıksularından izole edilerek melasda büyütülmüş karışık kültürlerle (*Synechococcus* ve *Gloecapsa* cinslerine ait termofilik siyanobakteriler ile *Phormidium*, *Oscillatoria* ve *Lyngbya* cinslerine ait filamentli termofilik fotosentetik siyanobakteriler) kesikli bir anaerobik sistemde tekstil atıksularından yüksek renk giderimi için optimum şartları belirlemişlerdir. Burada bulunan mikrobiyal biyokütle, düşük kapasite ile boya maddelerini parçalamakta ya da hücrelerinde biriktirilerek atıksulardan uzaklaştırmaktadır. Renk giderimi için optimum pH değeri bütün boya numuneleri için 8 olarak tespit edilmiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi temel alınarak yapılan uygulamada, karışık kültürlerin en yüksek renk giderme oranı Reaktive red RB için %94,9, Reaktive black B için %91, Remazol blue için %63,6 olarak bulunmuştur. 12 saat inkübasyon süresi ve 35°C'de Reaktive red RB için renk giderimi %82-98 civarında elde edilmiştir. Çalışma ile anaerobik şartlar altında karışık kültürlerin atıksulardan reaktif boya gideriminde etkili olarak kullanılabilceği belirtilmiştir [Çetin ve Dönmez, 2006].

Karışık anaerobik bakteri topluluklarının kesikli denemelerde iki azo tekstil boyasının (mono azo boya ve diazo boya) renk giderimi üzerine etkileri laboratuvar ölçekli metanojenik havasız çamur yataklı reaktörde (HÇYR) araştırılmış ve başlangıç karbon kaynağı olarak asetat kullanıldığında 24 saat HBS'de her iki boya için de %88'den daha yüksek giderim verimi elde edildiği tespit edilmiştir [Br'as vd, 2005]. Kapdan ve Öztekin (2003), fakültatif anaerobik bakterileri (*Alcaligenes faecalis* ve *Commomonas acidovarans*) kesikli beslemeli reaktörde 1-5 mg/L aşırı konsantrasyonuyla kullanarak, Reaktif Orange 16 boyasının rengini oda sıcaklığında (19 °C) ve nötral pH'da %90 verimle gidermişlerdir. 50-300 mL/saat aralığında farklı debilerin, 50-600 mg/L arasında boya derişimlerinin test edildiği çalışmada, 350 mg/L boya derişimi ve 200

mL/saat besleme debisinde en yüksek verimi belirlemişlerdir. Fakat KOİ'nin ortadan kaldırılma verimliliğinin düşük olduğu belirtilmiştir [Kapdan ve Öztekin, 2003].

Işık ve Sponza [2004], pilot ölçekli HÇYR'de renk ve KOİ giderimi üzerine tuzluluk derişiminin etkisini araştırdıkları çalışmada, tuz derişiminin artmasının metan ve KOİ giderim verimini etkilediğini ancak, renk gideriminde olumsuz bir etki oluşturmadığını belirlemiştir. Çalışmada 20 saat HBS kullanılmış, tuzluluk derişimi artırıldığında KOİ giderim verimi %80'den %18'e düşerken renk giderimi %100 olarak gözlenmiştir [Işık, 2004].

Ertuğrul ve arkadaşları [2008], termofilik siyanobakteriyel bir suş olan *Phormidium* sp. ile yapmış oldukları çalışmada Remazol Blue ve Reactive Black B ayrıştırma oranları belirlenmiştir. Termofilik koşullar altında (45 °C) yapılan bu deneyde pH 8,5'de, farklı derişimlerdeki (9,1 mg/L'den 82,1 mg/L'ye kadar) boyaların kalsiyum alginata tutuklanmış *Phormidium* sp. suşu ile yüksek derecede dekolorizasyonu sağlanmıştır. Tüm boya derişimlerindeki verimlilik %50 ile %88 arasındadır. Deneyde kalsiyum alginata tutuklanan *Phormidium* mikroorganizmasının serbest haldeki *Phormidium*'a göre daha verimli olduğu tespit edilmiştir [Ertuğrul vd, 2008].

2.5. ASPERGİLLUS CİNSİ MANTARLAR

2.5.1. *Aspergillus* Türünün Tanımı

Aspergillus türlerinin sınıflandırılması kültür ve morfoloji özelliklerindeki farklılıklara dayanır; kimya ve biyokimya yöntemlerinin tanım değeri düşüktür. *Aspergillus* hücre duvarlarında N-asetilglukozamin, glukoz, mannoz ve galaktoz bulunduğu belirlenmiştir [Latge, 1999; Samson ve Pitt, 1990].

Tür tanımı için üreme yapıları, kleistotesyum (eşeyli sporların üretildiği tam kapalı askokarp) bulunup bulunmadığı, askosporların ve konidiyumların biçimi, boyut ve renkleri gibi özellikler kullanılır. *Aspergillus glaucus* ve

Aspergillus restrictus grupları gibi ozmofilik türler tanıma uygun gelişme ve konidiyumlanma için yüksek glukoz veya sukroz yoğunluğuna gerek duyarlar. Çeşitli sistematikçiler ve araştırmacıların küf çalışmalarında bazı görüş ayrılıkları vardır. Samson bir kısım küfler için besiyerlerine pepton eklenmesini, bu maddenin koloni formlarında doğal özelliklerinden sapmalara sebep olduğunu öne sürmüştür [Samson vd, 1995].

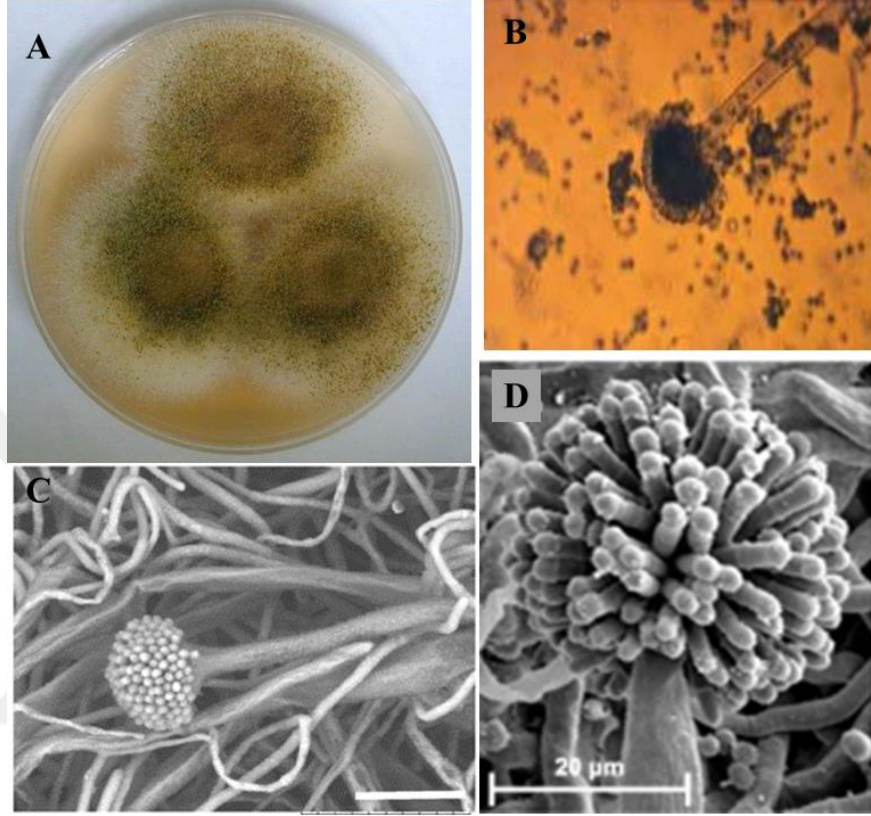
Genelde bu cinsin üyeleri hızlı gelişirlerse de gelişme hızları değişiktir ve türlerin ayırt edilmesinde önem taşır. Tanım için tarif edilmiş besiyerlerinde, sıcaklık ve ışık bakımından standart koşullar altında belirli bir gündeki koloni çapı ve kadifemsi, pamuksu, yünsü, tanecikli, kubbemsi, yassı gibi koloninin makroskobik görünümü tanım için kullanılır. Koloni rengi tanım için kabul edilmiş standart renk skalası ile karşılaştırılarak belirlenir [Samson ve Pitt, 1990; Samson vd, 1995].

2.5.2. Morfoloji

Koloniler ekseri hızlı gelişirler; renkleri türlere ve gelişme koşullarına bağlı olarak beyaz, sarı, sarımsı kahverengi, siyaha yakın kahverengi, kırmızı veya yeşil tonlarında harelidir; sık konidiyoforların oluşturduğu bir keçe görünümündedir. Koloni rengi daima vejetatif hiflerin, konidiyumlu başların ve varsa eşeyli yapıların rengine bağlıdır. Besiyerine dağılan pigment üretebilirler ve bu pigmentin rengi koloninin hava miselli kısmının renginden farklı olabilir [Samson ve Pitt, 1990; Samson vd, 1995].

Hifler bölmelidir, ince veya kalın olabilir; hif hücreleri ekseri çok çekirdeklidir. Miselyum birçok enzimler ve bazı mikotoksinler üretme yeteneğine sahiptir. Vejetatif hifin “ayak hücresi” denen özelleşmiş bir hücresinden dik olarak çıkan konidyofofor denen konidyum taşıyıcı hiflerin ucu şişkinleşmiştir, yukarı doğru oluşturdukları yuvarlak veya oval biçimli baş kısmına “vezikül” adı verilir. Vezikül üzerindeki üreme alanı türlere göre farklıdır ve bu özellik tür tanımında kullanılır. Konidiyum yapıcı hücreler olan “fiyalidler” ya doğrudan vezikülün üzerinde (uniseriate) veya metulaların

üzerinde (biseriate) doğarlar ve altındaki sap (stibe) denilen hücre ile birlikte konidiyumlu baş denen tipik görünümü oluştururlar [Klich ve Pitt, 1998]. (Şekil 2.1)



Şekil 2.1: *Aspergillus oryzae*'nin (A) koloni yapısı ve (B) ışık mikroskobu altında genel morfolojik yapısı [Klich ve Pitt, 1998]. *A. oryzae*'nin (C) hif morfolojisinin elektron misroskopisi görüntüsü, bar: 20 µm [Jin, 2011]. *A. oryzae*'nin (D) medullada öbeklenmiş sporlarının elektron misroskopisi görüntüsü, bar: 20 µm [Krijgsheld vd., 2012].

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kimyasallar

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar, aksi belirtilmediği sürece, Sigma (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) ve Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) firmalarından ve mevcut olan en yüksek saflık derecesinde temin edilmiştir.

3.2. Kullanılan Mikrobiyal Suş

Çalışmada kullanılan *Aspergillus oryzae*, Mersin Üniversitesi Çevre Mühendisliği bölümünden sağlanmıştır.

3.3. Cam Malzemeler

Kullanılan bütün cam malzemeler deterjanla yıkandıktan sonra, önce şehir suyu ile birkaç kez durulanmış ve ardından son bir defa da distile su ile durulanarak kullanıma hazır hale getirilmiştir. Besiyeri içeren erlenler otoklavda 121 °C'de 0,124 MPa basınç altında 15 dk süre ile steril edilerek kullanılmıştır. Katı besiyerleri için kullanılan petri kapları ise besiyeri dökülmeden önce Pasteur fırınında 200 °C'de 2 saat süre ile steril edilmişlerdir.

3.4. İnkübatörler

Aspergillus oryzae kültürünün muhafaza edilmesi amacıyla kullanılan katı ortamların inkübasyonu, Nüve marka EN400 model (Nüve Sanayi Malzemeleri İmalat ve Ticaret A.Ş., Ankara, Türkiye) bir inkübatör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mikroorganizmanın oksijen ile temasını sağlamak için, kullanılan sıvı kültür ortamlarının inkübasyonunda ise J.P. Selecta marka Rotabit model (J.P. Selecta, Barcelona, İspanya) orbital çalkalamalı inkübatör kullanılmıştır.

3.5. UV/Visible Spektrofotometre

Drimaren Blue CL-BR reaktif boyasının dalga boyu taramasında, *Aspergillus oryzae* kültürleriyle çalkalamalı inkübasyonu sonucunda gerçekleşen dekolorizasyon oranlarının ölçülmesinde ve absorpsiyon değerlerinin elde edilmesinde Perkin Elmer marka Lambda EZ 210 serisi bir UV/Visible spektrofotometre (Perkin Elmer Instruments, Norwalk, USA) kullanılmıştır.

3.6. pH Metre

Hazırlanan besiyerlerinin, tamponların ve çözeltilerin pH'sı Hanna marka HI 2210 model (Hanna Instruments, Washington, ABD) pH ölçerle hesaplanmıştır.

3.7. Kullanılan Bilgisayar Yazılımları

Tez hazırlanırken metin düzenleyicisi olarak Word (v12, Microsoft Corporation, Washington, ABD) yazılımları kullanılmıştır. Çalışmalar sırasında elde edilen verilerin grafiklere dönüştürülmesi için ise Excel (v12, Microsoft Corporation, Washington, ABD) yazılımlarından yararlanılmıştır.

3.8. *Aspergillus oryzae* Suşunun Kültürü ve Muhafazası

Aspergillus oryzae suşu, malt extract agar katı besi yeri üzerine ekimleri yapılarak 72 saat 30 °C'de inkübe edildi. Daha sonra 3 °C'de muhafaza edilerek belirli periyotlarla suşlar yenilendi.

3.8.1. Katı Besiyeri

Malt Extrat Agar besiyerinin bileşimi:

Malt extract	: 30 g/L
Pepton from soymeal	: 3 g/L
Agar agar	: 15 g/L

Besiyeri otoklavlamadan önce, NaOH ve HCl (1M) kullanılarak pH 5,0'e ayarlanmıştır.

3.8.2. Sıvı Besiyeri

Glukoz	: 10 g/L
(NH ₄) ₂ HPO ₄	: 0,5 g/L
KNO ₃	: 0,5 g/L
NaCl	: 1 g/L
Yeast extract	: 5 g/L
Boya	: 0,05 g/L
MgCl	: 0,5 g/L

Besiyeri otoklavlamadan önce, NaOH ve HCl (1M) kullanılarak pH 5,0'e ayarlanmıştır.

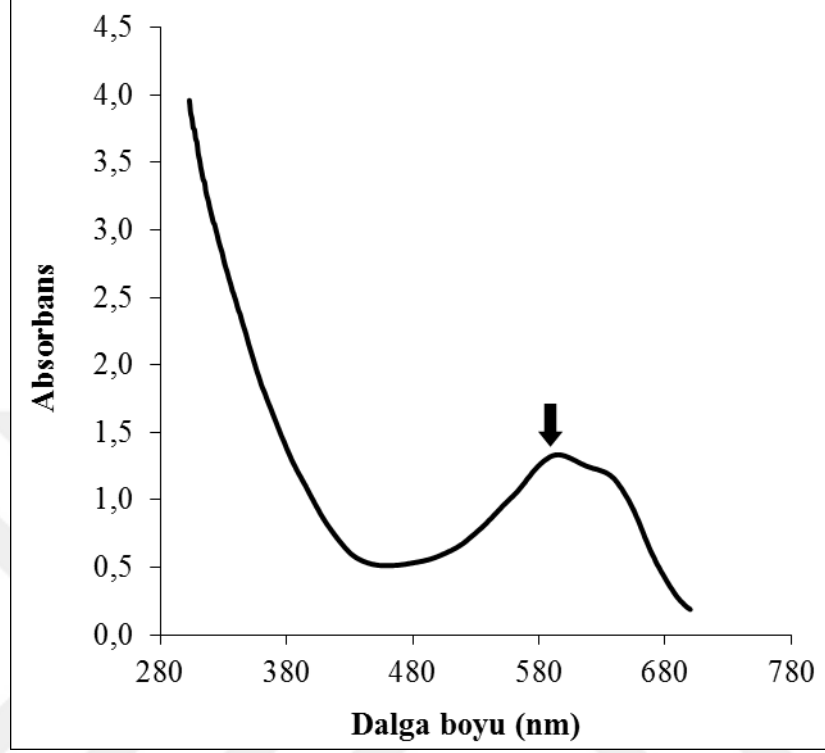
3.9. İnkübasyon Süresinin Renk Giderimi Üzerine Etkisi

Bu çalışmada kullanılan Drimaren Blue CL-BR boyasının *Aspergillus oryzae* suşu ile günlük olarak dekolorizasyon ilişkisinin belirlenmesi amacıyla, boya içeren sıvı besiyerine aşılana mikroorganizmaların inkübasyonuna 5 gün boyunca devam edilmiştir. 5 günlük inkübasyon periyodu boyunca, 24 saat aralıklarla sıvı kültür örnekleri alınmıştır. Alınan örneklerin absorbans değerleri, Drimaren Blue CL-BR'nin maksimum absorbans gösterdiği 593 nm'de (Şekil 3.1) spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

3.10. Farklı Karbon Kaynaklarının Boya Giderimi Üzerine Olan Etkisi

Bu çalışmada kullanılan *Aspergillus oryzae* suşu tarafından boya dekolorizasyonu üzerine farklı karbon ve enerji kaynaklarının etkilerini belirlemek amacıyla organizmalar, sıvı besiyerinde bulunan glikoz yerine, laktoz, sukroz, nişasta, arpa samanı veya öğütülmüş buğday samanı, meşe veya kavak talaşı, muz yaprağı samanı içeren sıvı besiyerlerinde 30 °C'de, 2 gün, 150 rpm'de inkübe

edilmiştir. Bu çalışmalar ile *Aspergillus oryzae* suşunun farklı karbon kaynaklarını kullanmasıyla oluşan renk giderim farkları karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.1. Drimaren Blue CL-BR'nin 300-700 nm aralığındaki absorbans değerleri.

3.11. Kültür pH'sının Renk Giderimi Üzerine Olan Etkisi

Aspergillus oryzae izolatu tarafından gerçekleştirilen renk giderimi üzerine, kültür pH'sının etkisini belirlemek için organizmalar, pH değerleri 3-10 arasında değişen, karbon ve enerji kaynağı olarak sadece Drimaren Blue CL-BR'nin (% 0,01 w/v) içeren sıvı besiyerinde, 30 °C'de 48 saat süreyle, 150 rpm'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda sıvı kültürlerden alınan örnekler, renk yoğunluğu bakımından spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Tüm çalışmalar üçer tekrarlı olarak yapılmış ve tekrarlamalı sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.

3.12. Maya Özütü Miktarının Renk Giderimi Üzerine Olan Etkisi

Aspergillus oryzae izolatu tarafından gerçekleştirilen renk giderimi üzerine, besiyerindeki ekstrakt miktarının etkisini belirlemek için organizmalar maya ekstrakt değerleri 0-5 g/l değerleri arasında sıvı besi yerlerine eklenmiş ve inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon süresinin sonunda sıvı kültürlerden alınan örnekler, renk yoğunluğu bakımından spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Tüm çalışmalar üçer tekrarlı olarak yapılmış ve tekrarlamalı sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.

3.13. Sıcaklığın Renk Giderimi Üzerine Olan Etkisi

Aspergillus oryzae izolatu tarafından gerçekleştirilen renk giderimi üzerine, sıcaklığın etkisini belirlemek için organizmalar sıcaklık değerlerinin 25-60 °C arasında değiştiği ortamlarda inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda sıvı kültürlerden alınan örnekler, renk yoğunluğu bakımından spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Tüm çalışmalar üçer tekrarlı olarak yapılmış ve tekrarlamalı sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.

3.14. Glikoz Miktarının Renk Giderimi Üzerine Olan Etkisi

Aspergillus oryzae izolatu tarafından gerçekleştirilen renk giderimi üzerine, glikoz miktarının etkisini belirlemek için organizmalar eklenen glikoz miktarının 0-10 g/l arasında değiştiği sıvı besi yerinde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda sıvı kültürlerden alınan örnekler, renk yoğunluğu bakımından spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Tüm çalışmalar üçer tekrarlı olarak yapılmış ve tekrarlamalı sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.

3.15. Çalkalama Şiddetinin Renk Giderimi Üzerine Olan Etkisi

Aspergillus oryzae izolatu tarafından gerçekleştirilen renk giderimi üzerine, çalkalama şiddetinin etkisini belirlemek için organizmalar çalkalama şiddetinin 0-200 rpm arasında değiştiği sıvı besi yerlerinde inkübe edilmiştir. İnkübasyon

süresinin sonunda sıvı kültürlerden alınan örnekler, renk yoğunluğu bakımından spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Tüm çalışmalar üçer tekrarlı olarak yapılmış ve tekrarlamalı sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.

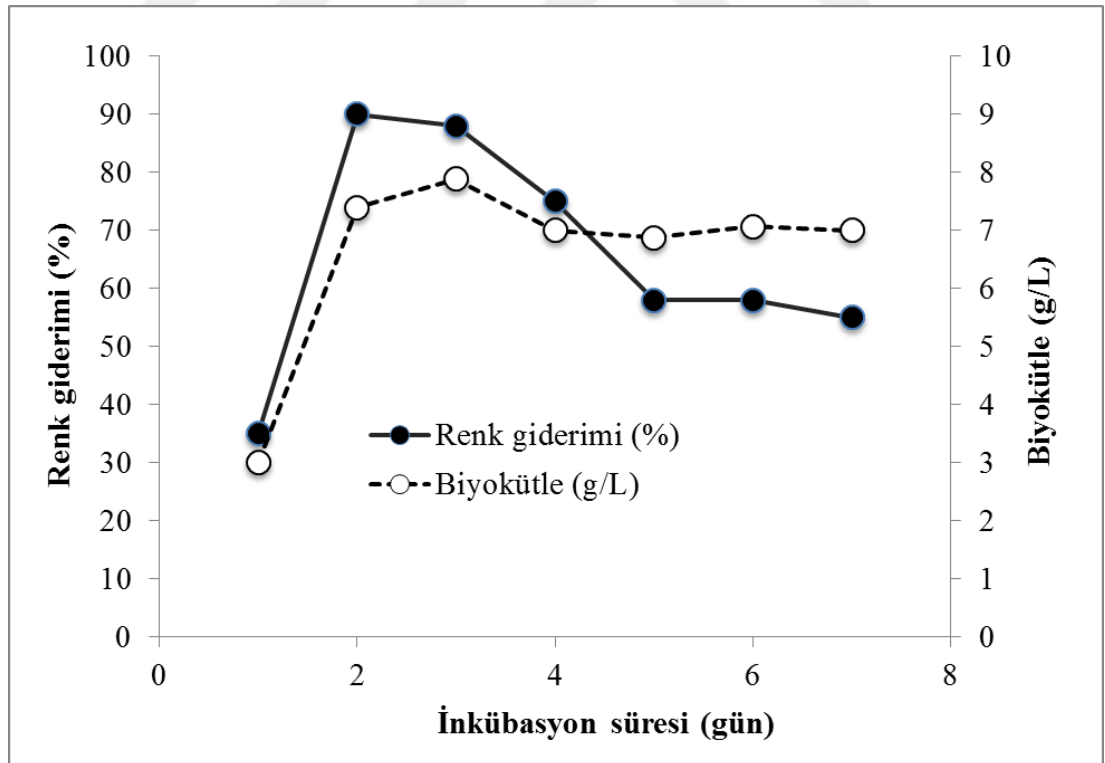
3.16. Dekolorize sıvı ve boyalı besiyerinin toksikolojik etkilerinin incelenmesi

Aspergillus oryzae izolatu tarafından gerçekleştirilen renk giderimi sonra oluşan sıvı renk giderimi açısından olumlu sonuçlar vermiştir. Ekolojik olarak da etkisini ölçebilmek için *Lens culinaris* tohumlarına dekolorize sıvı, boya içeren besi yeri, ve saf su ayrı ayrı sulama suyu olarak verilmiş ve 1 haftalık sürede oluşan çimlenme takip edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. İNKÜBASYON SÜRESİNİN DRİMAREN BLUE CL-BR'NİN RENK GİDERİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Bu çalışmada öncelikle *A. oryzae* tarafından fenolik bir yapıya sahip olan Drimaren Blue CL-BR boyar maddesinin renginin giderilmesi ile fungusun büyüme döngüsü arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla, başlangıç boyar madde derişimleri belli olan sıvı besiyerlerinde fungusun 7 günlük inkübasyonu gerçekleştirilmiştir. Kontrol olarak ise başlangıç boyar madde derişimleri belli olan fakat *A. oryzae* ile inoküle edilmeyen sıvı kültürler kullanılmıştır. 7 Günlük inkübasyon periyodu boyunca, 24 saat aralıklarla kültür sıvısından ve kontrollerden alınan numunelerin renk yoğunlukları spektrofotometrik olarak Drimaren Blue CL-BR'in maksimum absorbans gösterdiği 593 nm dalga boylarındaki absorbanslarının belirlenmesi ile ölçülmüştür.



Şekil.4.1: *A. oryzae* suşunun 7 günlük inkübasyon süresince göstermiş olduğu renk giderim aktivitesi.

A. oryzae normal gelişimini göstererek inkübasyon süresinin 2. gününde hem maksimum biyokütleyle (7,38 g/mL) ulaşmış, hem de %90 renk giderimi sağlamıştır. Renk gideriminin özellikle *A. oryzae*'nin büyüme döngüsünün ekponansiyel fazına denk geldiği, büyüme fazının sona ermesi ile başlayan durgun ve ölüm fazları boyunca renk giderimlerinin kademeli olarak düştüğü ve %58 civarında sabitlendiği belirlenmiştir. Bu olay *A. oryzae*'nin renk giderimini biyosorpsiyonla yaptığına, renk gideriminin biyolojik yıkımla olmadığına işaret etmektedir. Çünkü inkübasyon süresinin durgun ve ölüm fazları boyunca yaşanan ve ölen hücrelerin absorbe ettikleri boyayı çalkalamanın da etkisiyle besi yerine geri saldıkları ve bunun sonucunda da ölüm fazına paralel olarak besiyerindeki boya derişiminin kademeli olarak yeniden arttığı tespit edilmiştir. Şayet *A. oryzae* enzimatik bir reaksiyon ile renk giderimi sağlamış olsaydı, büyüme fazı durduğunda renk gideriminin en azından sabit kalması beklenirdi. Renk gideriminde meydana gelen düşüş, hatta besiyerinin 593 nm'deki absorbans değerindeki yeniden artış renk gideriminde enzimatik reaksiyonun olmadığına işaret etmektedir. Benzer şekilde, başka bir *Aspergillus* sp. izolatu ile yapılan bir çalışmada ise bu izolatu Poly-R478'i dekolorize ederken lakkaz, MnP veya LiP üretmediği, dolayısı ile boya dekolorizasyonu ile ligninin parçalanması arasında bir korelasyonun bulunmadığı rapor edilmiştir [Barbosa ve Hardy, 1996].

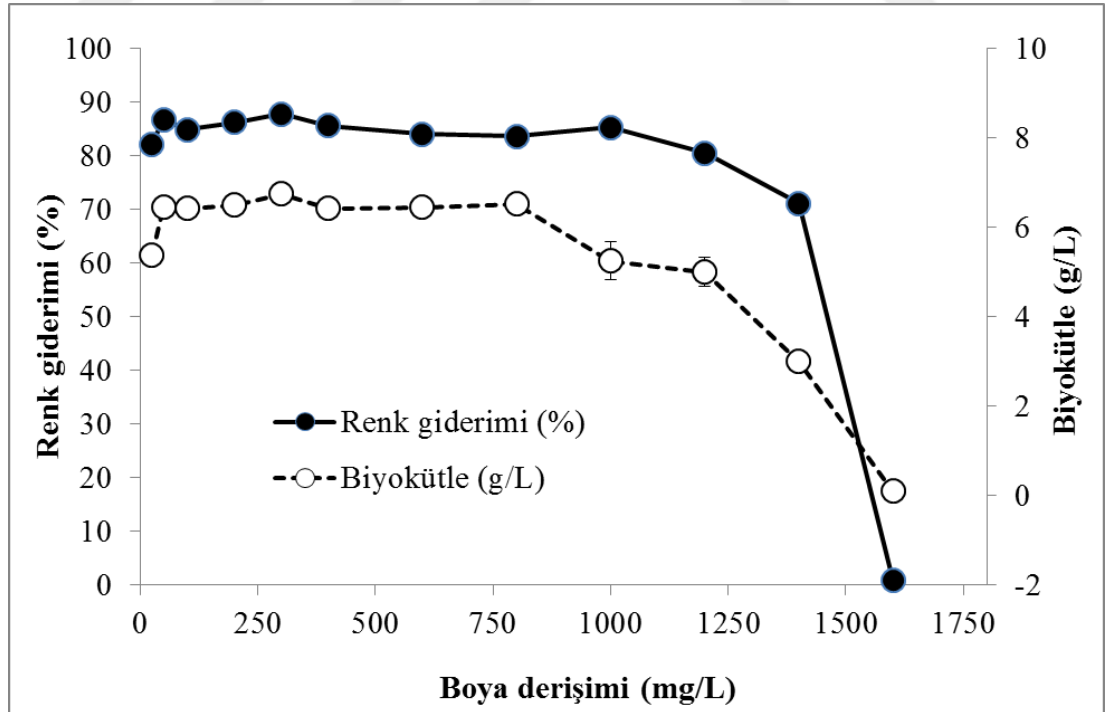
Aspergillus flavus ile yapılan Remazol Black B boyar maddesinin biyosorpsiyon çalışmasında ise 96 saat üzerinden yapılan deneylerde 48 saatten sonra boya gideriminde artış olmadığı gözlemlenmiştir [Ranjusha vd, 2010]. *Aspergillus foetidus*'un Drimarene boyar maddelerini %95-98 verimle giderdikleri tespit edilmiştir [Sumathi, 2000]. *Aspergillus ficuum* ile Direct Black 22 boyar maddesinin çalkalamalı kültivasyon ile %96 renk giderimi sağladığı rapor edilmiştir [Dong, 2001].

4.2. BOYA MİKTARININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Çalışmada kullanılan *A. oryzae* suşu ile besiyerindeki başlangıç boyar madde miktarının renk giderim verimi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla, Drimaren Blue CL-BR'in miktarı 0 mg/L ile 1.600 mg/L arasında ayarlanarak incelenmiştir

(Şekil 4.2). Drimaren Blue CL-BR ile hazırlanan sıvı besiyeri büyüme ortamı olarak kullanılmış ve inkübasyon 30 °C sıcaklıkta, 150 rpm'de, 48 saat süreyle gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmalar sırasında kullanılan *A. oryzae* suşu, en yüksek dekolorizasyon aktivitesini Drimaren Blue CL-BR'nin 25-1.000 mg/L olduğu değerler arasında göstermiştir (Şekil 4.2). Boya miktarının 25-1.000 mg/L olduğu koşullarda renk gideriminin inkübasyonun 2. gününde %90 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Boya derişiminin 1.000 mg/L'den 1.200 mg/L'ye çıkması ile renk giderim verimliliği %5 düşmesine rağmen; boya derişimi 1.400 mg/L'ye çıktığında ise maksimum renk giderimine oranla düşüş %14 olmuştur. Derişimin 1.600 mg/L olduğu koşullarda ise biyokütle ve renk giderimi belirlenememiştir. Bunun sebebinin ise boyanın yüksek derişimde gösterdiği toksik etki nedeniyle *A. oryzae*'nin gelişiminin baskılanması olduğu düşünülmektedir. *A. oryzae* ile Drimaren Blue CL-BR'nin renk gideriminin absorpsiyonla olduğuna işaret eden diğer bir veri ise renk giderim verimliliği ile biyokütle miktarındaki artışın paralel olmasıdır (Şekil 4.2).



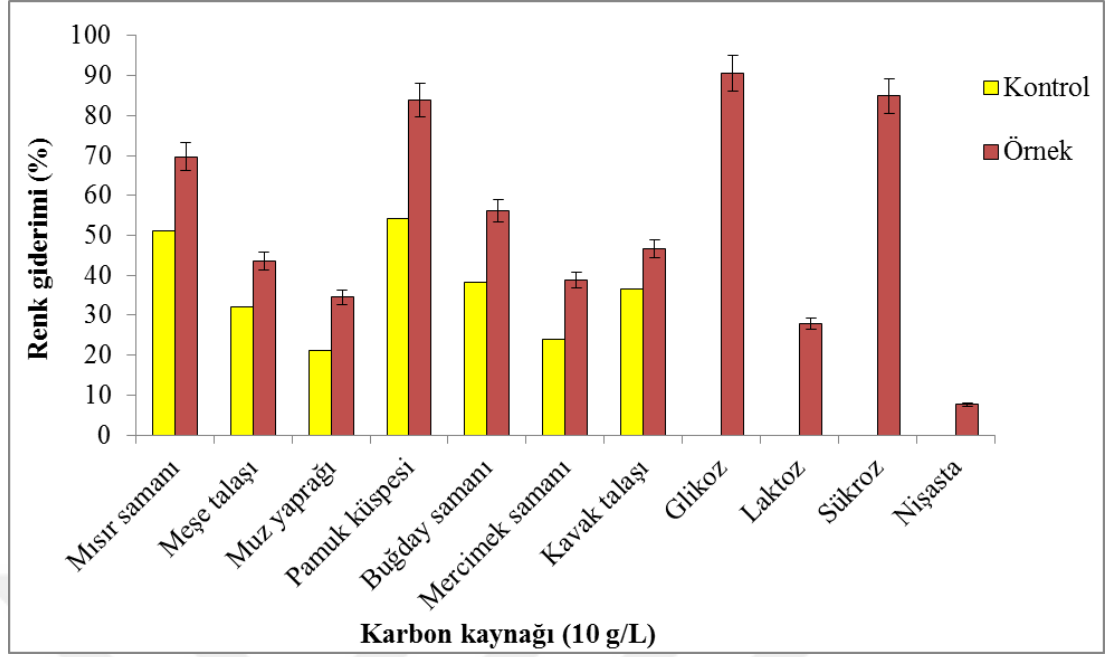
Şekil 4.2: Boya derişiminin renk giderimi ile ilişkisi.

Pleurotus ostreatus ile yapılan bir çalışmada İndigo Carmine boyasının derişiminin 50 mg/L'den 500 mg/L'ye artmasının, verimin %93'ten %64'e inmesine sebep olduğu rapor edilmiştir [Kahraman, 2012]. *Aspergillus flavus* ile yapılan bir çalışmada ise 250 mg/L Remazol Black B derişimine kadar %100 renk giderimi gözlenirken, boya derişiminin 500 mg/L'ye çıkmasıyla verimin %20'lere düştüğü belirtilmiştir [Ranjusha, 2010].

4.3. FARKLI KARBON KAYNAKLARININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Farklı karbon kaynaklarının renk giderimi üzerine olan etkisini araştırmak için, karbon ve enerji kaynağı olarak Drimaren Blue CL-BR boyasına ilaveten öğütülmüş buğday ve arpa samanı, meşe ve kavak talaşı ve muz yaprağı samanı, nişasta, sükroz ve glikoz sıvı besiyerine karbon kaynağı olarak eklenmiştir. Kontrol olarak Drimaren Blue CL-BR ve karbon kaynağı içeren, fakat *A. oryzae* ile inoküle edilmeyen besiyerleri kullanılmıştır. Karbon kaynaklarına ilaveten Drimaren Blue CL-BR boya maddesi içeren sıvı besiyerine organizma inoküle edilerek, 30 °C sıcaklıkta, 150 rpm'de çalkalamalı olarak 48 saat boyunca inkübe edilmişlerdir. 48 saat sonunda alınan sıvı kültür numunelerinin boya derişimleri 593 nm'deki absorbans değerleri ölçülerek belirlenmiştir.

A. oryzae ile inoküle edilmeyen ve kontrol olarak kullanılan mısır samanı (%51), meşe talaşı (%32), muz yaprağı (%21), pamuk küspesi (%54), buğday talaşı (%38), mercimek samanı (%24) ve kavak talaşı (%36) ise kendi başlarına dahi renk giderimi göstermişlerdir. Buna rağmen, aynı karbon kaynaklarını içeren ve *A. oryzae* ile inoküle edilen besiyerlerindeki renk giderimleri ise ilgili kontrollerine göre daha yüksek olmuştur (Şekil 4.3). Kullanılan karbon kaynakları içerisinde en verimli renk giderimi sırayla glikoz (%90,7), sükroz (%85), pamuk küspesi (%84) ve mısır samanı (%70) olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: Farklı karbon kaynaklarının renk giderimine etkisi.

Tekstil atığı giderimi ile ilgili birçok çalışma, biyolojik arıtım muamelesinin birçok dış parametreden etkilendiğini kanıtlamaktadır. Ortamın oksijen seviyesi, sıcaklık, sistemin redoks potansiyeli ve pH, boya renginin indirgenmesinde önemli dış faktörlerdendir. Elektron verici derişimi ve redoks mediatörü sistemdeki biyokütle ve boya miktarı ile dengede olmalıdır. Saydığımız bu etkenlerin hepsi boya indirgenmesine hız veren ya da redüksiyonu inhibe eden faktörler olabilmektedir [Pearce, 2003].

Penicillium sp. fungusları ile yapılan bir çalışmada dört farklı abiyotik ajan kullanılmıştır. Şeker kamışı melası, talaş, pirinç samanı ve kömürün kullanıldığı çalışmada *P. commune*, *P. fregii* ve *P. alli* funguslarının Direk Violet boyasını sırayla %96, %64 ve %65 oranında dekolorize ettiği ve abiyotik ajan olarak pirinç samanının varlığında, melas ve talaş atığına göre daha etkili bir renk giderimi olduğu sonucuna varılmıştır [Abd El Rahim, 2006].

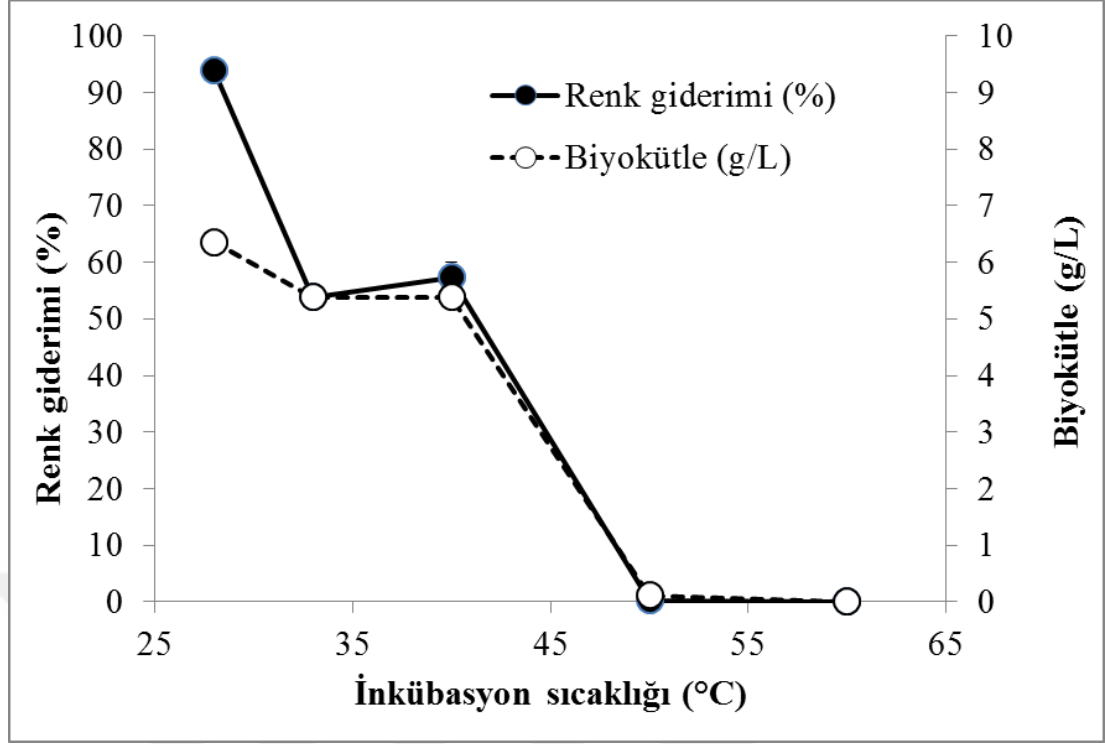
Al-Duri ve arkadaşlarının Basic Blue 69 ve Acid Blue 25 boyalarının tekstil atığı içerisinde arıtılması için aktive edilmiş karbon kaynağı yerine şeker kamışı melası kullanılmasının daha avantajlı bir yöntem olduğu belirtilmiştir [Al-Duri, 1990]. El-Geundi ve arkadaşlarının yapmış oldukları başka bir çalışmada ise renk gideriminde karbon ilavesi olarak zirai atıklardan mısır koçanı ve arpa atığının renk gideriminde kullanılabileceği belirtilmiştir [El-Geundi, 1991].

Ramya ve arkadaşları *Aspergillus* sp. kullanarak yaptıkları Reactive Blue renk giderimi çalışmalarında karbon kaynağı olarak sükroz, laktoz, nişasta ve glikoz kullanmışlardır. Sonuç olarak glikoz, sükroz ve laktoz'un dekolorizasyonu pozitif etkilediğini bulmuşlardır [Ramya, 2007]. Kumar ve arkadaşları *Aspergillus sulphureous* ile yaptıkları Black HFGR boyasının renk giderim çalışmalarında sükroz karbon kaynağı olarak kullanılmış ve %93 verim elde edilmiştir [Kumar, 2012]. Bizim çalışmamızda ise en iyi renk giderimi, karbon kaynağı olarak glikoz kullanıldığında %90,7 olarak belirlenmiştir.

4.4. İNKÜBASYON SICAKLIĞININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Farklı inkübasyon sıcaklıklarının renk giderimi üzerine olan etkisini araştırmak için, boya içeren ve *A. oryzae* ile inoküle edilen besiyerleri 30, 35, 40, 50 ve 60 °C'lerde, 150 rpm'de, 48 saat boyunca inkübe edilmiştir. 2 Günlük inkübasyon periyodu sonunda kültür sıvısından alınan numunelerin renk yoğunlukları spektrofotometrik olarak Drimaren Blue CL-BR'in maksimum absorbans gösterdiği 593 nm dalga boylarındaki absorbanslarının belirlenmesi ile ölçülmüştür.

Yapılan spektrofotometrik ölçümlerde en fazla renk gideriminin %94 ile 30 °C'de gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bunu takiben 40 °C'de %57 olan renk giderimi, 50 °C ve üstü değerlerde ise 0 olarak gözlenmemiştir (Şekil 4.4). Yapılan çalışmada en fazla renk gideriminin 30 °C'de olmasının sebebinin *A. oryzae*'nin mezofilik olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. *Aspergillus* türlerinin mezofilik canlılar olduğu geçmiş çalışmalarda ortaya konmuştur [Tırıncı, 1969; Bellí vd., 2004].



Şekil 4.4: İnkübasyon sıcaklığına bağlı olarak renk giderim yüzdesi.

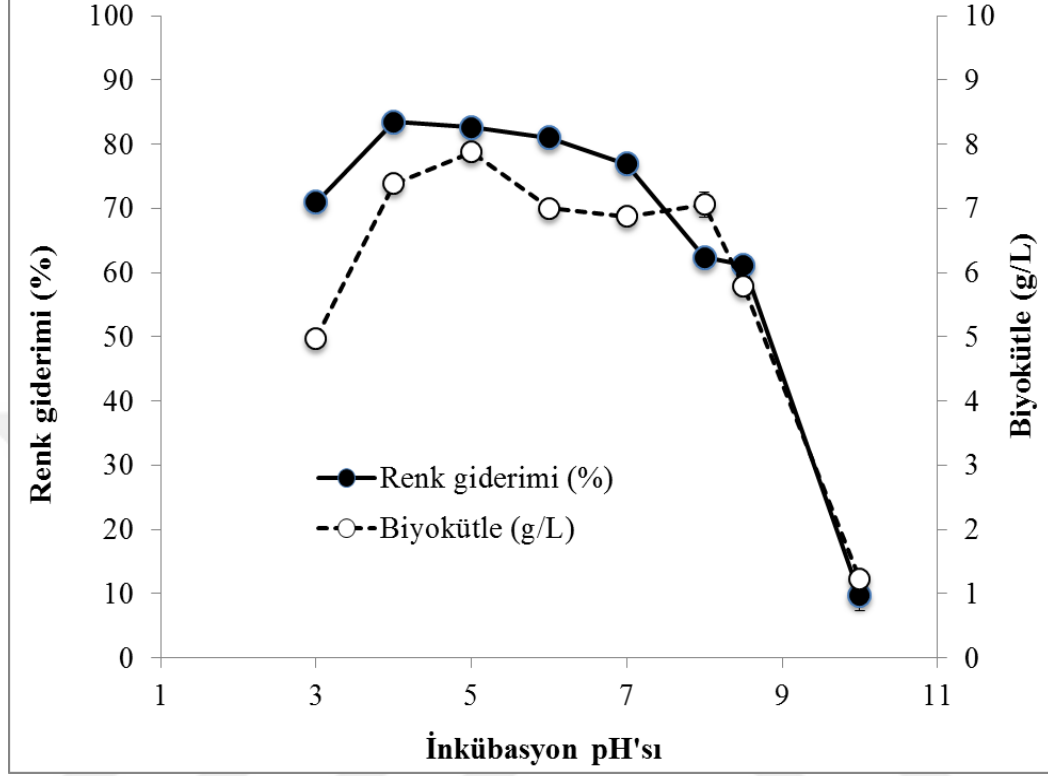
Assaidi ve arkadaşları *A. niger* ile yaptıkları çalışmada tekstil atık sularında renk gideriminin optimum sıcaklığını 28-30 °C olarak bulmuşlardır [Assaidi, 2001]. Sıcaklığa bağlı olarak adsorpsiyon artışının sebebinin boya iyonlarının kinetik enerji artışıyla doğru orantılı artan mobilizasyonu olabileceği rapor edilmiştir [Aksu, 2008].

4.5. FARKLI pH DEĞERLERİNİN RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Çalışmada kullanılan *A. oryzae* ile Drimaren Blue CL-BR'in renginin giderilmesinin üzerine kültür pH'sının etkisinin belirlenmesi için kültür ortamının pH'sı 3 ile 10 arasında ayarlanarak incelenmiştir. Çalışmada Drimaren Blue CL-BR içeren sıvı besiyeri büyüme ortamı olarak kullanılmış ve inkübasyon 30°C sıcaklıkta, 150 rpm'de, 48 saat süreyle gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmalar sırasında kullanılan *A. oryzae*, en yüksek renk giderim aktivitesini %85 ile pH 4'te göstermiştir. Diğer pH değerlerine ise pH 5,0'de %80,

pH 6,0'da %77, pH 8,0'de %65 ve pH 9,0'da %63 renk giderimi gerçekleştirmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: İnkübasyon pH'sı ile renk giderim yüzdesi arasındaki ilişki.

Assadia ve Jahangiri (2001), *Aspergillus niger* peletleri ile en iyi renk gideriminin fungal büyüme için uygun olan pH 4-6 arasında gerçekleştiğini belirtmişlerdir [Assaidi, 2001]. *A. oryzae* ile yapılan diğer bir çalışmada maksimum boyar madde giderimin pH 5'de gerçekleştiği bulunmuştur [Ataç, 2006]. *A. oryzae* IFO 30113 suşunun büyüme ve morfolojisinin ortamın başlangıç pH'sına karşı oldukça hassas olduğu; pH 3'de pelet ve serbest dağılmış hif elementleri gözlenirken, pH 4-5 aralığında tek büyüme şeklinin pelet olduğu; pH 6'da ise pelet oluşumu gözlenmediği, fungusun kümeler halinde büyüdüğü rapor edilmiştir [Tung, 2014].

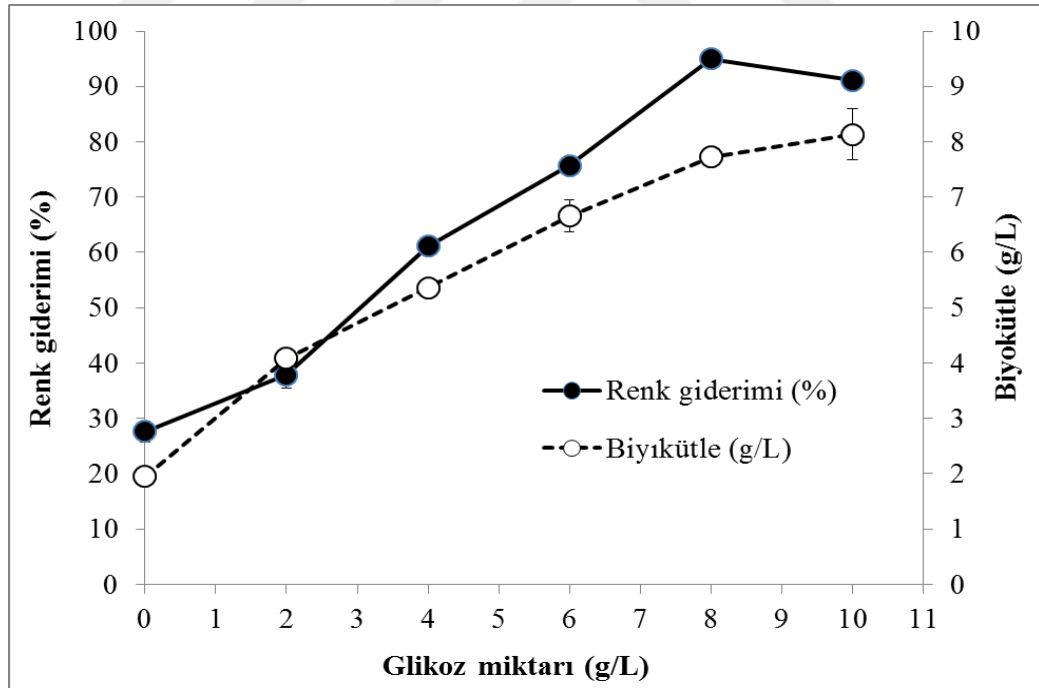
Karaca ve Kıvanç (2012) yaptıkları çalışmada *Aspergillus niveus* ve *Fusarium moniliforme* ile renk giderimine pH'ın etkisi olmadığını gözlemlemişlerdir [Karaca,

2012]. İlyas ve Rehman (2012) *Aspergillus niger* ile yaptıkları çalışmada en yüksek renk giderimini pH 6-7 arasında tespit etmişlerdir [İlyas ve Rehman, 2012].

4.6. GLİKOZ MİKTARININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Çalışmada kullanılan *A. oryzae* ile Drimaren Blue CL-BR'in renginin giderilmesinin üzerine sıvı besiyerindeki glikoz miktarı etkisinin belirlenmesi, kültür ortamının glikoz miktarı 0 g/L ile 10 g/L arasında ayarlanarak incelenmiştir. Çalışmada Drimaren Blue CL-BR içeren sıvı besiyeri büyüme ortamı olarak kullanılmış ve inkübasyon 30°C sıcaklıkta, 150 rpm'de, 48 saat süreyle gerçekleştirilmiştir.

A. oryzae'nin en yüksek dekolorizasyon aktivitesini %98 ile 8 g/L glikoz bulunan sıvı kültürde gösterdiği belirlenmiştir. Glikoz bulunmayan sıvı besi yerinde ise dekolorizasyon %20'ye düşmüştür (Şekil 4.6).



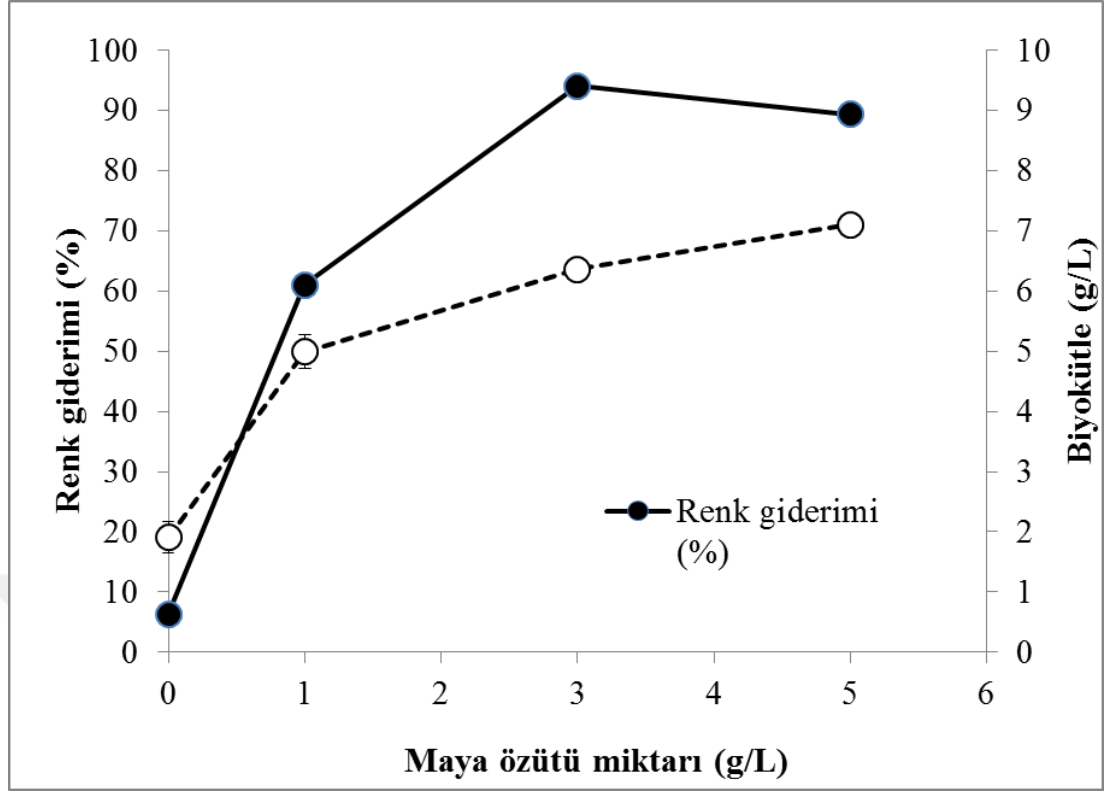
Şekil 4.6: Glikoz derişimi ile renk giderim yüzdesi arasındaki ilişki.

Funguslarla yapılan renk giderim çalışmalarında glikoz derişimi genellikle 15-20 g/L'dir [Knapp, 1997]. *Aspergillus oryzae*'nin renk gideriminde biyokütle gelişimi için kolaylıkla kullanılabilir bir karbon ve enerji kaynağına ihtiyaç duyması, Sumathi ve Manju (2000) tarafından da belirtildiği gibi, boyar maddenin hücre duvarına ya da hücre membran bileşenlerine bağlanarak ve/veya hücre içerisine girerek birikimle (akümülyasyonla) giderildiğini gösterebilmektedir [Sumathi, 2000]. Glikoz birçok mantar çeşidi için ortak kullanılabilen verimli bir karbon kaynağı olmasına rağmen pahalı bir kaynak olmasından dolayı atık su arıtımında pek tercih edilmez [Aracagök, 2013]. Bu nedenle, boyar maddelerin renk giderimlerinde kullanılan fungusların kullanabilecekleri karbon ve enerji kaynakları olarak pamuk küspesi ve mısır samanı gibi diğer alternatif kaynakların da *A. oryzae* tarafından nispeten verimli olarak kullanılabilmesi ise işletme maliyetini düşürmek açısından önem kazanmaktadır.

4.7. MAYA ÖZÜTÜ MİKTARININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Çalışmada kullanılan *A. oryzae* ile Drimaren Blue CL-BR'in renginin giderilmesinin üzerine sıvı besiyerindeki maya özütü miktarının etkisinin belirlenmesi, kültür ortamının maya özütü miktarı 0 g/L ile 5 g/L arasında ayarlanarak incelenmiştir. Çalışmada Drimaren Blue CL-BR içeren sıvı besiyeri büyüme ortamı olarak kullanılmış ve inkübasyon 30°C sıcaklıkta, 150 rpm'de, 48 saat süreyle gerçekleştirilmiştir.

2 günlük inkübasyon süresinin ardından en yüksek renk giderim değeri %95 ile 3 g/L maya özütü bulunan kültür ortamında gözlemlenmiştir. Maya özütünün olmadığı kültür ortamında ise renk giderimi %5'e kadar düşmüştür (Şekil 4.7).



Şekil 4.7: Maya özütü miktarı ile renk giderim yüzdesi arasındaki ilişki.

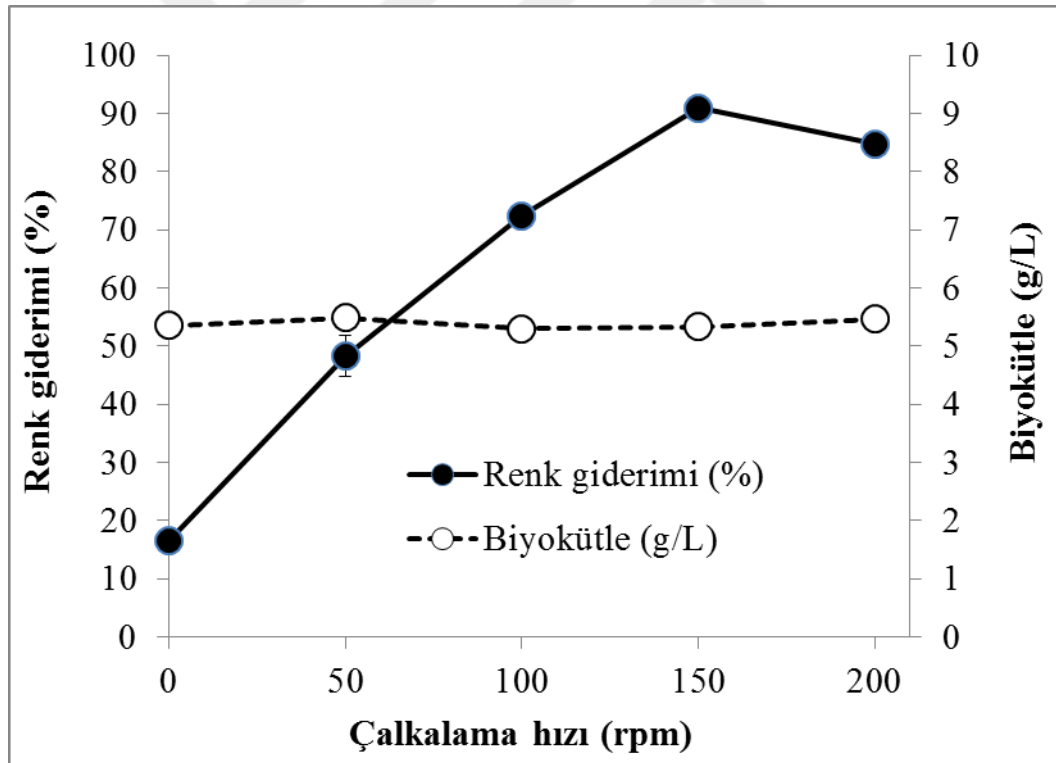
4.8. ÇALKALAMA HIZININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Çalışmada kullanılan *A. oryzae* ile Drimaren Blue CL-BR'in renginin giderilmesinin üzerine kültür ortamının çalkalama hızının etkisinin belirlenmesi, kültür ortamının çalkalama hızı 0 rpm ile 200 rpm arasında ayarlanarak incelenmiştir. Çalışmada Drimaren Blue CL-BR içeren sıvı besiyeri büyüme ortamı olarak kullanılmış ve inkübasyon 30°C sıcaklıkta, 48 saat süreyle gerçekleştirilmiştir.

48 saatlik inkübasyon periyodunun sonunda en yüksek renk giderim değeri %95 ile 150 rpm hızla çalkalanan kültürde gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra, durağan bırakılan kültürde ise dekolorizasyon %15'e kadar düşerken, 200 rpm'deki renk giderim verimi ise %84,7 olarak ölçülmüştür (Şekil 4.8).

A. oryzae ile maksimum büyümenin ve maksimum krom gideriminin 150 rpm'de saptandığı, çalkalama hızı artışı ile fungusun nütrient kullanımının ve oksijen transferinin baskılandığı belirtilmiştir [Nasseri, 2002]. Knapp ve ark. (1997), statik koşullarda beyaz çürükçül fungus ile Orange II boyar maddesinin %45'nin, çalkalamalı koşullarda ise %97,5'nin giderildiğini rapor etmişlerdir [Knapp, 1997].

Kahraman (2012) *Pleurotus ostreatus* ile yaptığı renk giderimi çalışmasında 150-200 rpm değerlerini optimal değerler olarak tespit etmiştir [Kahraman, 2012]. Hadibarata (2013), beyaz çürükçül mantarlarla yaptığı çalışmada Azo Dye Reactive 5 gideriminin en yüksek olduğu çalkalama değerinin 120 rpm olduğunu tespit etmiştir [Hadibarata, 2013]. Benzer sonuçlar *Funalia trogii* ile yapılan Astrazon Red FBL boyasının renk giderim çalışmalarında da çıkmış ve optimum çalkalama değeri 100-150 rpm arasında kaydedilmiştir [Zouari-Mechichi, 2006].



Şekil 4.8: Kültür ortamının çalkalanma hızı ile renk giderim yüzdesi arasındaki ilişki.

4.9. TOKSİSİTE ÇALIŞMALARI

Drimarene Blue CL-BR boyasının *A. oryzae* ile gideriminden sonra elde kalan sıvı besiyeri, toksisitesinin incelenmesi için *Lens culinaris* (yeşil mercimek) tohumlarına sulama suyu olarak verilmiştir. Pozitif kontrol olarak Drimarene Blue CL-BR boyası içermeyen kültür besiyeri ile sulanan tohumlar, negatif kontrol olarak ise renk giderimine uğramamış boyalı sıvı besi yeri kullanılmıştır. 3 günlük çimlenme sonucunda çimlenme yüzdesi ve filiz uzunlukları ölçülmüş (Çizelge 4.1); 7 gün sonundaki çimlenme görünüşleri ise Şekil 4.9'daki gibi gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.1. Boya içermeyen besiyerinin, Drimarene Blue CL-BR içeren (%100-0) besiyerinin ve *A. oryzae* ile renk gideriminden sonra elde kalan sıvının toksisitesinin incelenmesi¹.

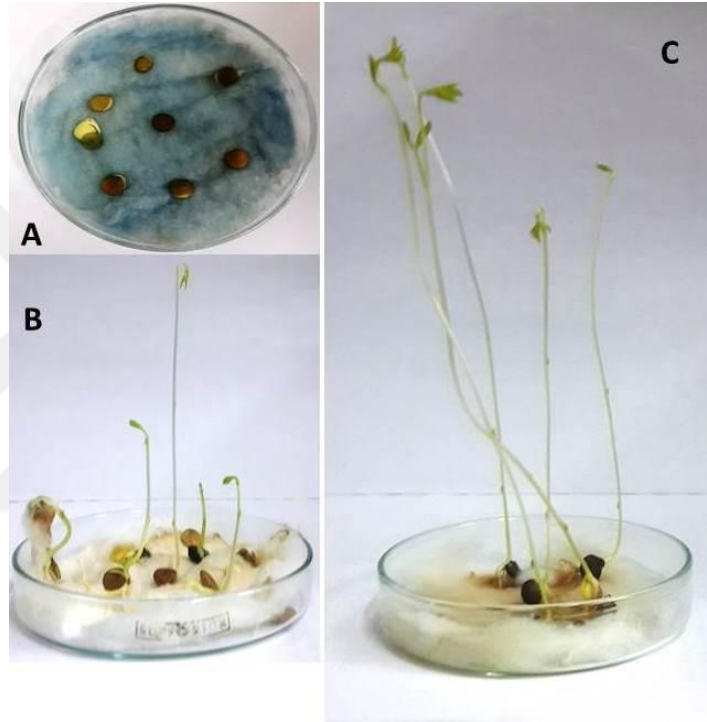
Boya miktarı (%)	Çimlenme (%)	Ortalama filiz boyu (mm)
100	0	0
80	10	150 (±10)
60	40	170 (±13,45)
40	50	180 (±15,82)
20	70	182 (±23,87)
0	100	195 (±24,78)
Kalan sıvı ²	90	200 (±36,79)

¹ Tüm denemeler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar ortalama değerleri göstermektedir ve standart sapmaları ise parantez içinde verilmektedir.

² Drimarene Blue CL-BR içeren besiyerinin ve *A. oryzae* ile renk gideriminden sonra elde kalan sıvı.

Çimlenme ve gelişim değerleri incelendiğinde en yüksek çimlenmenin (%100) hiç boya içermeyen ve *A. oeryzae* ile inoküle edilmemiş olan sıvı besiyeri ile sulanan tohumlarda olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber, renk giderimi gerçekleştirilmiş olan sıvı besi yeri ile sulanan tohumlarda %90 oranında çimlenme görülmüştür. Boyalı besi yeri ile sulanan tohumlarda ise boya miktarının %100 olduğu koşullarda

hiç bir tohum çimlenmezken, boya miktarı düştükçe çimlenme yüzdesi de artmıştır. Bu sonuçlara göre Drimarene Blue CL-BR boyasının toksik etki göstererek tohumların çimlenme ve büyümesini baskıladığı söylenebilir. Benzer bir çalışmada *Aspergillus flavus* ile tekstil boya ları giderilmiş ve dekolorize sıvı ile boyalı sıvı *Vigna mungo* (siyah mercimek) tohumlarına sulama suyu olarak verilmiş, renk giderimi sağlanmış suyun boyalı suya göre çimlenmede avantaj sağladığı gösterilmiştir [Abubacker ve Kirthiga, 2015].



Şekil 4.9: Boya içeren (%100) besi yeri ile sulanan *Lens culinaris* tohumları (A); Drimarene Blue CL-BR boyası içermeyen kültür besiyeri ile sulanan *L. culinaris* tohumlarının çimlenmesi (B); dekolorize olmuş besiyeri ile sulanan *L. culinaris* tohumlarının çimlenmesi (C).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, tekstil fabrikalarında yaygın olarak kullanılan Drimaren Blue CL-BR boyar maddesinin *Aspergillus oryzae* tarafından sıvı kültür ortamında değişik parametreler kullanılarak 7 günlük inkübasyonu boyunca optimum renk giderim verimlilikleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Tekstil fabrika sularının verildiği ortamlarda çevre kirliliği oluşmaktadır. Bunun sonucunda doğal flora ve fauna yok olmaktadır. Çevre kirliliğinin önlenmesi için boyar maddelerin çeşitli yöntemlerle ortamdan uzaklaştırılması zorunludur. Daha önceden de belirtildiği gibi boyar maddeler ortamdan uzaklaştırılmasında çeşitli yöntemler geliştirilmiş bulunmaktadır. Ancak her hangi bir boyama işlemi esnasında birden çok ve yapıları birbirinden oldukça farklı boyar madde bir arada kullanıldığından, tek bir metot yeterli olamamaktadır. Aynı zamanda kullanılan fiziksel ve kimyasal metotlar, çok fazla atık oluşturduklarından ve ana maliyetleri yüksek olduğundan, daha ekonomik ve daha az atık oluşturan yöntemler geliştirilmek zorunda kalmıştır. Bunun başında ise biyolojik yöntemler gelmektedir. Yine de çok fazla boyar madde bir arada kullanıldığı için bu yöntem de yeterli değildir. Etkili bir arıtım için çoğunlukla anaerobik ve aerobik prosesler bir arada kullanılmaktadır.

Anaerobik biyolojik yöntemin uygulandığı proseste 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 girmekte, böylece renkten sorumlu olan azo bağları kırılmaktadır. Azo bağlarının kırılmasını O₂ inhibe etmektedir. Bu nedenle boya degradasyonunun gerçekleşmesinde ilk adım azo köprüsünün kırıldığı anaerobik yöntem olmalıdır. Azo bağlarının kırılmasıyla ortaya çıkan aromatik aminler, aromatik bileşiğin halkasının açılması ve hidroksilasyonla aerobik ortamda mineralize edilebilmektedirler. Ayrıca yapılan aerobik mikrobiyal proseslerde azo bağlarının kırılmış olmamasından dolayı büyük moleküller halinde hücre içine giremeyeceği bu nedenle bu çalışmalarda daha çok adsorpsiyonun meydana geldiği gözlenmiştir. Bu nedenle tekstil atığının arıtım muamelesinde ilk

olarak azo bağının kırılıp daha sonra da aerobik ortamda aminlerin parçalanabildiği anaerobik/aerobik reaktör sistemlerinin kullanılması önerilmiştir.

Yapılan çalışma aerobik koşullarda gerçekleştirilmiş olup, Drimaren Blue CL-BR boyasının:

- *A. oryzae*'nin 7 günlük inkübasyon süresinin 2. gününde maksimum biyokütleyle ulaştığı ve aynı fazda iken maksimum düzeyde boya adsorpladığı, durgun ve ölüm fazlarında ise renk giderim yüzdesinin düştüğü tespit edilmiştir.
- *A. oryzae* suşu, en yüksek dekolorizasyon aktivitesini boyanın 200-1000 mg/L derişim değerleri arasında göstermiştir.
- Farklı karbon kaynaklarının renk giderimi üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması sonucunda sükröz, glikoz, mısır samanı ve kağıt hamuru içeren sıvı besi yerlerinde dekolorizasyonun daha yüksek olduğu görülmüştür.
- En fazla renk gideriminin 30 °C'de %80; 40 °C'de %60 olduğu tespit edilmiş ve 50 °C ve üstü değerlerde renk giderimi gözlenmemiştir.
- *A. oryzae*, en yüksek dekolorizasyon aktivitesini %85 ile pH 4'te gösterirken, pH 5,0 de %80; pH 6,0 da % 77; pH 8,0 de %65 ve pH 9,0 da %63 renk giderimi gerçekleştirmiştir.
- Drimarene blue CL-BR boyasının *A. oryzae* ile gideriminden sonra elde kalan sıvı atığın toksisitesinin incelenmesi için kullanılan *Lens culinaris* tohumlarının tamamının çimlenmesine karşı, boya içeren sıvı ile sulanan tohumların çimlenmediği belirlenmiştir. Bu da boya içeren sıvının toksik olmasına rağmen, renk giderimi sonucunda bu toksisitenin ortadan kaldırıldığını göstermektedir.

Bu sonuçlar da göstermektedir ki, *A. oryzae* tekstil sanayi atıklarından renk giderimi ve boyaların biyosoprpsiyonunda aktif ve verimli olarak kullanılma potansiyeline işaret etmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdallah, R. and Taha, S. "Biosorption of methylene blue from aqueous solution by nonviable *Aspergillus fumigatus*", Chemical Engineering Journal, 195-196: 69-76 (2012).
- Adkins, S., Gan Kn, Mody M, La Du Bn. "Molecular basis for the polymorphic forms of human serum paraoxonase/arylesterase: glutamine or arginine at position 191, for the respective A or B allozymes", Am J Hum Genet, 52(3):598-608, (1993)
- Akar, T., Arslan, S., Akar, S.T. "Utilization of *Thamnidium elegans* fungal culture in enviromental cleanup: A reactive dye biosorption study", Ecological Engineering, 58: 363-370 (2013).
- Al-Degs, Y., Khraisheh, M.A.M., Allen, S.J. and Ahmad, M.N. "Effect of carbon surface chemistry on the removal of reactive dyes from textile effluent" Water Res., 34(3): 927-935, (2000).
- Almeida, E.J.R. and Corso, C.R. "Comparative study of toxicity of azo dye Procion Red MX-5B following biosorption and biodegradation treatments with the fungi *Aspergillus niger* and *Aspergillus terreus*", Chemosphere, 112: 317-322 (2014).
- Ames, B., F. Lee, and W. Durston. "An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens". Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 70: 782-786, (1973).
- Anjaneyulu, Y., Chary, N.S., and Raj, D.S.S., "Decolourization of industrial effluents - available methods and emerging technologies a review", Reviews in Environmental Science and Bio/Technology 4: 245-273, (2005).
- APHA,. "Standart Methods for Examination of Water and Wastewater", American Public Assoc. ,16th Ed. ,Washington D.C. (1985)
- Aracagök, Y.D. and Cihangir, N. Decolorization of Reactive Black 5 by *Yarrowia lipolytica* NBRC 1658. American Journal of Microbiological Research, 1(2), 16, 20 (2013)

- Aretxage A, Romero S, Sarra M and Vincent T "Adsorption step in the biological degradation of textile dye". *Biotech. Prog.* 17: 664-668 (2001).
- Arun Prasad A.S. and Bhaskara Rao K.V., "Aerobic biodegradation of azo dye Acid Black-24 by *Bacillus halodurans*", *Journal of Environmental Biology*, 35: 549-554, (2014).
- Banat, I.M., Nigam, P., Shing, D. and Marchant, R. "Microbial decolorization of textile dye-containing effluents: a review", *Bioresource Technol.*, 58: 217-227, (1996).
- Baser, İ. ve İnanıcı, Y. "Boyarmadde kimyası", *Marmara Üniv.Teknik EğitimFak.Yayın No: 2, İstanbul*, s.47-52, 103-115, (1990).
- Bayraktar, T., İTKİB, Genel Sekreterliği, İTKİB AR&GE ve Mevzuat Şubesi, (2005).
- Br'as, R., Gomes, A., Ferra, M.I.A., Pinheirob, H.M., and Gonçalves, I.C., "Monoazo and diazo dye decolourisation studies in a methanogenic UASB reactor", *Journal of Biotechnology* 115: 57-66, (2005).
- Briga-sa, A., Nascimento, D., Pinto, J. and Varum, H., "Textile waste as an alternative thermal insulation building material solution", *Construction and Building Materials*, 38: 155-160, (2013)
- Çakıroğlu, F./İhracatçı Gözüyle Ekolojik Tekstilde Alınması Gereken Tedbirler", *Tekstil Terbiye ve Teknik, Tanıtım Sayısı* (2003).
- Çetin D. ve Donmez G., "Decolorization of reactive dyes by mixed cultures isolated from textile effluent under anaerobic conditions", *Enzyme and Microbial Technology*, 38:(7), 926-930, (2006).
- Chen KC.,Huang WT.,Wu JY.,and Houng JY., "Microbial decolorization of azo dyes by *Proteus mirabilis*", *J Ind Microbiol Biotechnol.*, 23: (1), 686-690, (1999).
- Chen, H.S. and Ting, A.S.Y. "Biosorption and biodegradation potential of triphenylmethane dyes by newly discovered *Penicillium simplicissimum* isolated from indoor wastewater sample", *International Biodeterioration and Biodegradation*, 103: 1-7 (2015).
- Christov LP, Driessel VB and Plessis CAB "Fungal biomass from *Rhizomucor pusillus* as adsorbent of chromosphere from a bleach plant effluent". *Proc. Biochem.* 35: 91-95 (1999).

- Ckhakraborty, S., Purkait, M.K., DasGupta, S., De, S. and Basu, J.K. "Nanofiltration of textile plant effluent for color removal and reduction in COD", *Separat. and Purific. Tech.*, 31: 141-151, (2003).
- Çoban, S. , "Neden eko tekstil", *Eko Tekstiller Eki*, Yıl 5, Sayı 1, (1995).
- Correia, V.M., Stephonson, T. and Judd, S.J. "Characterisation of textile wastewaters-a review, *environmental technology*", 15: 917-929, (1994).
- Demir, G. Özcan, H.K., Elmaslar, E., ve Borat, M. "bir beyaz çürükçül mantar türü Olan *Phanerochaete chrysosporium* ile azo boyar maddelerinde renk giderimi", *Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 3: 74-85(2006).
- Demircanlı, Ü., "Ekolojik üretim ve çevre ilişkileri", *Tekstil ve Konfeksiyon*, No:2, (1998).
- El-Rahim, W.M.A "Assessment of textile dye remediation using biotic and abiotic agents", *J. Basic Microbiol.* 46: (4) 318-328, (2006).
- Ertugrul, S., Bakır, M., and Dönmez, G., "Treatment of dye-rich wastewater by an immobilized thermophilic cyanobacterial strain: *Phormidium* sp". *ecological engineering* 32: 244-248. (2008).
- Forgacs, E., Cserhati, T. and Oros, G., "Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review", *Enviromental International*, 30: 953-971, (2004).
- Fu, Y. and Viraraghavan, T. "Fungal decolorization of dye wastewaters: a review", *Bioresource Technol.*, 79: 251-262, (2001).
- Ghaedi, M., Hajati, S., Barazesh, B., Karimi, F. "*Saccharomyces cerevisiae* for the biosorption of basic dyes from binary component systems and the high order derivative spectrophotometric method for simultaneous analysis of Brilliant green and Methylene blue", *Journal of Ind. And Eng. Chem.*, 19: 227-233 (2013).
- H. BIYIK, G. BASBULBUL, F. KALYONCU, E. KALMIS, E. ORYASIN, Biological Decolorization of Textile Dyes From Isolated Microfungi. *J. Environ. Biol.*, 33, 667, 671 (2012).
- Horistsu H, Takada M, Idaka E, Tomoyda M and Ogewa T "Degradation of *p*- amino azo benzene by *Bacillus subtilis*". *Eur. J. Appl. Microbiol.* 4: 217-224, (1977)
- Hosono, M., Arai, M., Yamamoto, I., Shimizu, K. and Sugiyama, M. "Decoloration and degradation of azo dye in aqueous solution of süper saturated with oxygen

- by irradiation of high-energy electron beams", *Appl. Radiat. Isotopes*, 44: 1199-1203, (1993).
- Idaka E and Ogewa Y "Degradation of azo compounds by *Aeromonas hydrophila* var. 2413", *J. Soc. Dye. Colorist.* 94: 91-94, (1978).
- Ince, N.H. and Gonenç, D.T. "Treatability of a textile azo dye by UV/H₂O₂", *Environ. Technol.*, 18: 179-185, (1997).
- Isik M and Sponza DT "Effect of oxygen on decolorization of azo dyes by *E. coli* and *Pseudomonas sp.* and fate of aromatic amines", *Proc. Bioch.* 38: (8) 1183-1192, (2003).
- Işık M., "Efficiency of simulated textile wastewater decolorization process based on the methanogenic activity of upflow anaerobic sludge blanket reactor in salt inhibition condition", *Enzyme and Microbial Technology*, 35: 399-404, (2004).
- Işık, M., ve Sponza, D.T., "Simüle tekstil atıksuyunun anaerobik/aerobik arıtımı", *Ekoloji Dergisi*, 14: 53, 1-8 (2004).
- Jin, F.J., Takahashi, T., Matsushima, K., Hara, S., Shinohara, Y. And Koyama, Y., "ScIR, a basic Helix-loop-helix transcription factor, regulates hyphal morphology and promotes sclerotial formation in *Aspergillus oryzae*", *Eukaryotic Cell*, 945-955, (2011).
- Jinqui L. and Houtian L., "Degradation of azo dyes by algae". *Environ. Pollut.* 75: 273-278 (1992)
- Kang, S.F. and Chang, H.M "Coagulation of textile secondary effluents with fenton's reagent, *water science and technology*", 36: (12) 215-222, (1997)
- Kapdan İ.K. and Oztekin R., "Decolorization of textile dyestuff Reactive Orange 16 in fedbatch reactor under anaerobic condition", *Enzyme and Microbial Technology*, 33: 231- 235, (2003).
- Kapdan İ.K.,ve Alparslan S."Tekstil endüstrisi atıksularından anaerobik- aerobik ardışık reaktör sisteminde KOI ve renk giderimi", *ÇEVRE 2004 I.Ulusal Çevre Kongresi Cumhuriyet Üniversitesi, Ekim*, 217-223. (2004).
- Karatay, S.E., Gül, Ü.D., Dönmez, G., "Determination of Methylene Blue biosorption by *Rhizopus arrhizus* in the presence or surfactants with different chemical structures", *Preparative Biochem. An Biotech.*, 44:7, 653-662, (2014).

- Kaushik, P., Mishra A., Malik, A., Pant, K.K., "Biosorption of textile dye by *Aspergillus lentulus* pellets: process optimization and cyclic removal in areated bioreactor", *Water Air Soil Pollut.*, 225:1978, (2014).
- Kaykıoğlu, G., ve Debik, E., "Anaerobik Arıtım Prosesleri ile Tekstil atıksularından Renk Giderimi", *Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 4:5968, (2006).
- Kocaer, F.O.,ve Alkan, U., "Boyar Madde içeren tekstil atıksularının arıtım alternatifleri", *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 7: (1), 47-55, (2002).
- Krijgsheld, P., Bleichrodt, R., Veluw, G.J., Wang, F., Müller, W.H., and Wösten, H.A.B., "Development in *Aspergillus*" *Studies in Mycology*, 74: 1-29 (2012).
- Lec EGH, Muller JC and Walden CC "Decolorization of bleached Kraft mill effluent by algae". *TAPPI61*: 7-59 (1978).
- Lopez, C., Mielgo, I., Moreira, M.T., Feijoo, G. and Lema J.M. "Enzymatic membrane reactors for biodegradation of recalcitrant compounds. application to dye decolourisation", *J. Biotechnol.*, 99: 249-257, (2002).
- Machenbach, I, "Membrane technology for dyehouse effluent treatment, membrane technology", 96: 7-11. (1998).
- Mali PL, Mahajan MM, Patil DP and Kulkarni MV "Biodecolorists of members of Triphenyl methane and azo group of dyes". *J. Sci. Ind. Res.* 59: 221-224, (2000)
- Manu B.,Chaudhari S., "Anaerobic decolorisation of simulated textile wastewater containing azo dyes", *Bioresource Technology*, 82: 225-231, (2002).
- Mazmancı, M, and Ünyayar, A. "Decolourisation of Reactive Black 5 by *Funalia trogii* Immobilised on luffa cylindrica sponge", *Process Biochemistry*, 40: 337-342, (2005)
- Michael FC Jr, Dass SB, Grulke EA and Reddy CA "Role of Mn Peroxidase and lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium* in the decolourization of Kraft bleaching plant effluent". *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 2368-2375, (1991).
- Misra, G. and Tripathy, M. "A critical review of the treatments for decolourization of textile effluent", *Colourage*, 40: 35-38, (1993).

- Nagarathnamma R, Bajpai P and Bajpai KP "Studies on decolorization and detoxification of chlorinated lignin compounds in Kraft bleaching effluent by *Ceripriopsis Subvermisporre*". Proc. Biochem. 334: 939-948, (1999).
- Nigam, P., McMullan, G., Banat, I.B. and Marchant, R. "Decolorization of effluent from the textile industry by a microbial consortium", Biotechnol. Lett., 18: 117-120, (1996).
- Ölmez, T., Kabdaslı, I. ve Tünay, O., "Tekstil endüstrisi reaktif boya banyolarında ozon ile renk giderimine etki eden faktörlerin belirlenmesi". SKKD ,13:(1), 19-24, (2003).
- Oneill, C., Hawkwes, F. R., Hawkws, D. L., Esteves, S. and Wilcox, S. J., "Anaerobic-aerobic biotreatment of simulated textile effluent containing varied ratios of starch and azo dye", Water Research, 34: (8) 2355-2361. (2000a).
- Oneill, C., Lopez, A., Esteves, S., Hawkes, F. R., Hawkes, D.L. and Wilcox, S. "Azo dye degradation in an anaerobic-aerobic treatment system operating on simulated textile effluent", Applied Microbiology and Biotechnology, 53: 249-254, (2000b).
- Özcan, Y. "Tekstil elyaf ve boyama tekniği", İstanbul Üniv. Yayın., 2557: 311-335, (1978).
- P.S. MAULIN, K.A. PATEL, S.S. NAIR, A.M. DARJI, J.M. Shaktisinh Optimization of Environmental Parameters On Decolorization of Remazol Black B Using Mixed Culture. American Journal of Microbiological Research, 1(3), 53,56 (2013).
- Pagga, U. and Brown, D. "The degradation of dyestuffs : part II behaviour of dyestuffs in aerobic biodegradation tests", Chemosphere, 15: 479-491,(1986).
- Palma, C. Moreira, M.T. Mielgo, I. Feijoo, G. and Lema, J. M. "Use of fungal bioreactor as a pretreatment or post treatment step for continuous decolorisation of dyes", Water Science and Technology, 40: (8), 131-136, (1999).
- Panswad T., Luangdilok W., "Decolorization of reactive dyes with different molecular structures under different environmental conditions", Wat. Res., 34: (17) 4177-4184 (2000).

- Peralto-Zamora, P., Kunz, A., Gomez de Morales, S., Pelegrini, R., Capos M.P., Reyes, J. and Duran, N. "Degradation of Reactive Dyes I. A Comparative Study of Ozonation, Enzymatic and Photochemical Processes", *Chemosphere*, 38: 835-852, (1999).
- R. KHAN, P. BHAWANA, M.H. FULEKAR, Microbial Decolorization And Degradation of Synthetic Dyes: A Review. *Rev Environ. Sci. Biotechnol.*, 12, 75, 97 (2013).
- Ranjusha, V. P., Pundir, R., Kumar, K., Dastidar, M. G. And Sreekrishnan, T.R., "Biosorption of Remazol Black B dye (azo dye) by the growing *Aspergillus flavus*" , *Journal of Enviromental Science and Health*, 45: 10, 1256-1263, (2010).
- Robinson, T. McMullan, G. Marchant, R. and Nigam, P. "Remediation of dyes in textile effluent: a critical rewiev on current treatment technologies with a proposed alternative, bioresource technoloy", 77:, 247-255, (2001).
- S. ERUM, S. AHMED, Comparison of Dye Decolorization Efficiencies of Indigenous Fungal Isolates. *Afr. J. Biotechnol.*, 10(17), 3399, 3411 (2011).
- S. Ilyas, A. Rehman A, Decolorization And Detoxification of Synozol Red HF-6BN Azo Dye, by *Aspergillus niger* And *Nigrospora* sp. *I.J.E.H.S.E.*, 10(12), 1, 9 (2013).
- S.R. KUMAR, R.S. KUMAR, R.J. KUMAR, Decolorization of Reactive Black HFGR by *Aspergillus sulphurous*. *ISCA J. Biological Sci.*, 1(1), 55, 56 (2012).
- Sani RK.,and Banerjee UC., "Decolorization of triphenylmethane dyes and textile and dyestuff effluent by *Kurthia* sp. ", *Enzyme Microb Technol.*, 24: 433-437, (1999).
- Selvam K, Swaminathan K and Chae KS "Decolourization of azo dyes and a dye industry effluent by a white rot fungus *Thelephora* sp.", *Biores. Technol.* 88: 115-119, (2003).
- Seventekin, N. "Boyar Madde Kimyasına Giriş", Bornova-İzmir, (1988).
- Seventekin, N."İnsan ekolojisi", *Eko Tekstiller Eki*, Yıl 5, Sayı 1, (1995).
- Sewekow, U. "Treatment of reactive dye effluents with hydrogen peroxide/iron(II) sulphate, *melliand textilberichte*", 74: 153-156, (1993).

- Shreve, R.N. and Brink, J.A. "Chemical Process Industries", McGraw- HillBook Company, 867s., (1977).
- Slokar, Y.M. and Le Marechal, A.M. "Methods of decoloration of textil wastewaters", Dyes Pigments, 37: 335-356, (1997).
- Sponza D., Işık M., Atalay H., "İndigo boyar maddelerinin anaerobik arıtılabilirliklerinin incelenmesi", DEÜ Mühendislik Fakültesi Fen Mühendislik Dergisi, 2: (3), 23-34 Ekim (2000).
- Supaka, N., Juntongjin, K., Damronglerd, S., Delia, M.L., and Strehaiano, P., "Microbial decolorization of reactive azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system", Chemical Engineering Journal 99: 169-176. (2004).
- T. Hadibarata, R.A. Kristanti, Effect of Environmental Factors In The Decolorization Of Remazol Brilliant Blue R by Polyporus sp. S133. J. Chil. Chem. Soc., 57(2), 1095, 1098 (2011).
- Tan, L., Ning, S., Zhang, X. And Shi, S., "Aerobic decolorization and degradation of azo dyes by growing cells of a newly isolated yeast *Candida Tropicalis* TL-F1", Bioresoure Technology, 138: 307-313, (2013).
- Tatlı, A. "Çesitli Tekstil Boyarmaddelerinin Adsorbdiyön/Biyosorbisyönunun Karsılaştırılmalı Olarak İncelenmesi", Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, (2003).
- Tezer, S., "Tekstil endüstrisi atıksularında yer alan reaktif boyaaların biyosorbisyönunun incelenmesi". , Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, (2002).
- Tünay, O., Kabdashi, I., Eremektar, G. and Orhon, D. "Color removal from textile wastewaters", Water Sci. Technol., 34: (11) 9-16, (1996).
- Wang, Y., Li, J., Zhou, M. "The Ecological Design and Development Ways of Ecological Textile", Advanced Material Research, 347-353: 2938-2942, (2012).
- Wasniewska, K. "Biodegradation of Crystal Violet (hexamethyl-p-rosaniline chloride) by oxidative red yeast", Bull. Environ. Contam. Toxicol., 34: 323330, (1985).

- Willmott, N., Guthrie, J. and Nelson, G. "The biotechnology approach to colour removal from textile effluent, journal of the society of dyers and colorists", 114: 38-41, (1998).
- Wong, P.K. and Yuen, P.Y. "Decolorization and biodegradation of methyl red by *Klebsiella pneumoniae* RS-13", Water Res., 30: 1736-1744, (1996).
- Wuhrmann K., Mechsner K. and Zkappeler T. "Investigation on rate determining factors in the microbial reduction of azo dyes". Environ. J. Appl. Microbiol. 9: 325-338, (1980).
- Xu, Y. and Lebrun, R.E. "Treatment of Textile Dye Plant Effluent by Nanofiltration Membrane", Separ. Sci. Technol. 34: 2501-2519, (1999).
- Y.D. ARACAGÖK, N. CIHANGIR, Decolorization of Reactive Black 5 by *Yarrowia lipolytica* NBRC 1658. American Journal of Microbiological Research, 1(2), 16, 20 (2013)
- Yang, Y., Wyatt, D.T. and Bahorsky, M. "Decolorization of dyes using uv/h₂o₂ photochemical oxidation", Text. Chem. Color., 30: 27-35, (1998).
- Yesilada O, Cing S and Asma D "Decolorization of the textile dye Astiazon Red FBL by *Funalia trogii* pellets". Biores. Technol. 81: 155-157, (2002).
- Yu, J., Wang, X. and Yue, P.L. "Optimal decolorization and kinetic modeling of synthetic dyes by pseudomonas strains", Water Res., 35: 3579-3586, (2001).
- Zollinger, H. "Color Chemistry", VCH, Weinheim, Germany, 496 s., (1991).

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	:	Erdi KESELİK
Doğum Tarihi	:	04.11.1988
Doğum Yeri	:	Adana

Eğitim Bilgileri

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü	Mersin Üniversitesi	2006-2012
Yüksek Lisans	Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü	Mersin Üniversitesi	2012-2015

Yabancı Dil Bilgisi

İngilizce	İyi (B1)
Almanca	Orta (C2)

Bildiri, Bilimsel Aktivite ve Etkinlikler

Erasmus Öğrenci Değişim Programı, Julious Maximilian Üniversiteât, Würzburg, Eylül, 2009 - Ağustos, 2010

Yayın:

Adıgüzel, A.O., Keselik E. and Tuncer M (2015). Decolorization of Drimaren Blue CL-BR by the growing *Aspergillus oryzae* and Evaluation of Toxicity After Decolorization. *Romanian Biotechnological Lettewrs* (**Kabul edildi**)

Proje:

MEÜ. BAP.FBE.BB (EK) 2014YL. Drimaren Blue CL-BR'nin *Aspergillus oryzae* ile renk gideriliminin araştırılması