

**ARASTIRMA MAKALESİ /RESEARCH ARTICLE**

***ASPERGILLUS NIVEUS* VE *FUSARIUM MONILIFORME* İLE BLUE 13  
BOYASININ RENK GİDERİMİ**

Hülya KARACA <sup>1</sup>, Merih KIVANÇ <sup>2</sup>

**ÖZ**

Değişen dünya eğilimlerine bağlı olarak renkli ürünlere olan ilgi artmaktadır. Tekstil endüstrisinde kumaşlara mavi rengi vermek amacı ile Ambifiks Blue H5R (Blue 13) boyası yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bu boyanın fabrikalardan çevredeki alıcı sulara verilmesi sonucu çeşitli toksik etkiler oluşmaktadır. Bu toksik etkileri indirmek amacıyla Porsuk Çayından izole edilmiş *Aspergillus niveus* 2 ve *Fusarium moniliforme*' nin bu boyayı farklı fizyolojik koşullarda (pH, sıcaklık, çalkalama koşulları) renk giderimi yetenekleri araştırılmıştır. *A. niveus* için pH 3, 35°C ve 120-150 rpm de % 95 e varan sonuçlar elde edilirken, *F. moniliforme* için pH 7, 20°C ve 120 rpm de % 95 e varan sonuçlar elde edilmiştir. *A. niveus* için ölü ve canlı hücrelerin renk giderim sonuçları yakinken, *F. moniliforme* için ölü hücrelerin renk giderimi %90 larda canlı hücrelerin ise % 75 lerdedir.

**Anahtar Kelimeler:** Tekstil boyası, Renk giderimi, *Aspergillus niveus*, *Fusarium Moniliforme*.

**DECOLORIZATION OF BLUE 13 WITH *ASPERGILLUS NIVEUS* AND *FUSARIUM MONILIFORME***

**ABSTRACT**

Depending on the changing world trends has been increasing interest in colored products. In the textile industry, to give the blue color to the textiles the heavily used Ambifiks Blue H5R (Blue 13) dye. This dye has been given from plants in the environment of the receiving water to results from the toxic effects. For reduction of this toxic effect has been isolated *Aspergillus niveus* and *Fusarium moniliforme* from porsuk Stream were investigated because of decolorization capabilities with different physiological conditions (pH, temprature, agitate condition). For *A. niveus* results have been obtained up to nearly %95 at pH 3, 35°C and 120-150 rpm . For *F. moniliforme* results have been obtained up to nearly %95 at pH 7, 20°C ve 120 rpm. For *A. niveus* decolorisation results were close to dead cells and live cells. Dead cells decolorisation were about %90 for *F. moniliforme* and live cells decolorisation were about %75.

**Keywords:** Textile dyes, Decolorization, *Aspergillus niveus*, *Fusarium moniliforme*.

<sup>1</sup> Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.  
hulyakaraca@anadolu.edu.tr

<sup>2</sup> Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Genel Biyoloji Anabilim Dalı.

## 1. GİRİŞ

Sentetik boyar madde üretimi 1856' da İngiliz kimyacı W.H. Perkin' in mavi boyar madde yerine kullanılacak ve çok iyi boyama özelliğine sahip olan daha sonraları anilin mor veya mauve diye anılan kuinini keşfi ile başlamıştır. Bu buluşu yenileri takip etmiş ve 20. yüzyılın başında sentetik boyar maddeler tamamen doğal boyar maddelerin yerini almıştır (Druding, 1982). Bugün yaklaşık 10.000 farklı boyar madde ve pigment endüstriyel olarak kullanılmakta ve yıllık olarak  $7 \times 10^5$  ton sentetik boyar madde üretilmektedir (Vitor ve Corso, 2008).

Tekstil endüstrisi tarafından atık sulara verilen birçok kimyasal çevreyi ve halk sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Alkali fenol etoksilaz gibi kimyasallar sucul canlıların metabolizmasını bozmakta ve etilendiamin-pentasetik asit (EDTA) ve dietilentriamin-pentasetik asit (DTPA) gibi kimyasallar metallerle kararlı bileşikler oluşturmakta ve biyoçeşitliliği olumsuz yönde etkilemektedir (Santos, 2005).

Boyalı atık sular renkleri nedeni ile estetik probleme yol açtıkları gibi bunun yanında alıcı ortama verilen renkli atık sular su ortamındaki ışık geçirgenliğini azaltarak fotosentetik aktiviteyi olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca boyar maddelerin bazı sucul organizmalarda birikmesi toksik ve kanserojenik ürünlerin oluşmasını da beraberinde getirmektedir (Yeşilada vd, 2003b). Bu bağlamda boyar madde içeren tekstil endüstrisi atık sularının renk giderim prosesi ekolojik açıdan önem kazanmaktadır. Ancak kompleks kimyasal yapılarına ve sentetik kökenlerine bağlı olarak, boyar maddelerin giderilmesi oldukça zor bir işlemdir. Tüketicinin isteğine bağlı olarak yapıları sürekli değişmekte ve giderim işlemi daha da zorlaşmaktadır.

Kullanılabilir atık su arıtım sistemleri rekalsitrant boyar maddeleri ve diğer organik kalıntıları tam olarak ortadan kaldıramazlar. Kullanılan kimyasal ve fiziksel yöntemler oldukça maliyetlidir. Ayrıca maliyeti azaltmak istendiğinde ise giderim etkili olmamaktadır. Bunun yanı sıra arıtımda kullanılan çok sayıda biyolojik yöntem de bilinmektedir (Parshetti vd, 2007). Boyalar maddeleri etkili bir şekilde yıkıma uğratan geniş bir mikroorganizma grubu (bakteriler, funguslar, algler) bulunmaktadır. Bu mikroorganizma grupları içerisinde özellikle funguslarla, uygun fermentasyon teknikleri kullanılarak ucuz ve etkili arıtım gerçekleştirilebilmektedir (Fu ve Viraraghavan, 2000).

Boyar maddeler genel olarak anyonik (direkt, asid, reaktif boyalar); kationik (esas boyalar); iyonik olmayan (dispers boyalar) olarak gruplandırılırlar (Fu ve Viraraghavan, 2001). Reaktif boyar maddeler sucul ortamlarda çeşitli ekolojik problemlere yol açmaktadır. Boyama sürecinde, kullanılan reaktif boyar maddelerin yaklaşık olarak % 50 si atık sulara verilmektedir (Sheht ve Dave, 2009). Çalışmamızda doğal ortamlardan izole edilen *Aspergillus niveus 2* ve *Fusarium moniliforme*' nin Ambifiks Blue H5R (Blue 13) reaktif boyar maddesini renk giderimi yetenekleri araştırılmış ve her bir mikroorganizmanın renk giderimi için optimum koşulları belirlenmeye çalışılmıştır.

## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1 Mikroorganizmalar ve Pelletlerin Hazırlanması

Porsuk Çay'ından izole edilmiş olan *Aspergillus niveus 2* ve *Fusarium moniliforme* Anadolu Üniversitesi, Fen Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'ndan sağlanarak renk giderimi çalışmalarında kullanılmıştır. Kültürler 4 °C' de Patates Dekstroz Agar (PDA)'da stoklanmıştır.

Renk giderimi çalışmalarında kullanılan biyokitlenin üretimi için öncelikle küfler Patates Dekstroz Agar (PDA) petrilere ekilmiş, oda sıcaklığında 7 gün süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda plaklardan öze yardımı ile alınan sporlar içerisinde 100 ml Patates Dekstroz Broth (PDB) bulunan 250 ml'lik Erlen Mayerlere inoküle edilmiş ve 120 rpm çalkalama hızında 30 °C' de 7 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Pelletler steril şartlarda süzülerek besiyerinden ayrılmış ve renk giderimi çalışmalarında kullanılmıştır.

### 2.2 Boyar Madde

Çalışmalarımızda kullanılan reaktif boyar madde Ambifiks Blue H5R (Blue 13) Eskişehir, Sarar Tekstil Fabrikasından elde edilmiştir. Boyar madde solüsyonu başlangıç konsantrasyonu 100 mg/l olacak biçimde hazırlanmış ve otoklavlandıktan sonra kullanılmıştır.

### 2.3 Renk Giderimi Çalışmaları

Renk giderimi çalışmaları statik ve çalkalamalı olarak ve 3 paralel halinde yürütülmüştür. Renk giderimi; 250 ml'lik Erlen Mayerde 50'şer ml, 100 mg/l boyar madde içeren boyar madde solüsyonu ile yapılmıştır. Bunların di-

şında ölçümlerin yapıldığı her gün için kontrol amaçlı, boyar madde çözeltisi içeren fakat pellet içermeyen Erlen Mayer hazırlanmış ve bu Erlen Mayer de abiyotik mekanizmaya bağlı renk gideriminin gerçekleşip gerçekleşmediği absorbans değişimine bakılarak izlenmiştir. Aynı zamanda boyar maddenin test küfü üzerinde inhibe edici etki oluşturup oluşturmadığını anlamak amacı ile boyar madde içermeyen sadece distile su (100 ml) bulunduran ortama boyar madde içeren solüsyonlarla aynı koşullarda inkülyasyon ve inkübasyon yapılmıştır.

Her bir Erlen Mayer şişesine daha önce süzölmüş pelletlerden yaş ağırlığı 2 g olacak şekilde inkülyasyon yapılmıştır. İnkübasyon süresi boyunca 1., 2., 3., 5. ve 7. günlerde her üç paralel seride alınan örnekler öncelikle 15.000 rpm' de 30 dakika santrifüj edilmiş, süpernatantların, spektrofotometrede, boyar maddenin maksimum absorbans verdiği dalga boyunda (570 nm) absorbans değerleri okunarak boyar madde konsantrasyonları belirlenmiştir.

## 2.4 Boyar Madde Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Boyar madde konsantrasyonundaki değişim absorbans değerindeki değişime bağlı olarak izlenmiştir. Boyar madde içeren solüsyonunun absorbansı 570 nm de ölçölmüştür.

## 2.5 Çeşitli Çevresel Koşulların Renk Giderimi Üzerindeki Etkisinin Belirlenmesi

### 2.5.1 pH' ların Renk Giderimine Etkisi

Farklı pH' ların renk giderimi üzerine etkisini belirlemek amacı ile diğer tüm koşullar sabit tutulmak kaydıyla, boyar madde içeren solüsyonların başlangıç pH' ları 3, 5, 7 olacak şekilde ayarlanmıştır. pH değerlerinin ayarlanmasında 1 N HCl ve 1 N NaOH çözeltileri kullanılmıştır. Boyar madde içeren solüsyonlar otoklavlandıktan sonra renk giderimi çalışmalarında kullanılmışlardır. Bir hafta boyunca sıvıdan 1., 2., 3., 5., ve 7. günlerde alınan örnekler 15.000 rpm' de 30 dak. santrifüje edildikten sonra süpernatantların 570 nm' de absorbansları ölçölmüş ve ortamda kalan boyar madde miktarları izlenmiştir.

### 2.5.2 Sıcaklık Değerlerinin Renk Giderimine Etkisi

Farklı sıcaklık değerlerinin renk giderimine etkisini belirlemek amacı ile diğer tüm koşullar

sabit tutulmak kaydı ile, boyar madde içeren solüsyonlar otoklavlandıktan sonra pelletler ile ekimleri yapılmış ve sıcaklıkları 20 °C, 30 °C, 35 °C olacak şekilde inkübasyona bırakılmışlardır. Bir hafta boyunca sıvıdan 1., 2., 3., 5., ve 7. günlerde alınan örnekler 15.000 rpm' de 30 dak. santrifüje edildikten sonra süpernatantların 570 nm' de absorbansları ölçölmüş ve ortamda kalan boyar madde miktarları izlenmiştir.

### 2.5.3 Çalkalama Hızlarının Renk Giderimine Etkisi

Farklı çalkalama hızlarının renk giderimine etkisini belirlemek amacı ile diğer tüm koşullar sabit tutulmak kaydı ile boyar madde içeren solüsyonlar otoklavlandıktan sonra pelletler ile inoküle edilmiş ve 100 rpm, 120 rpm ve 150 rpm' lerde inkübasyona bırakılmışlardır. Bir hafta boyunca kültür sıvısından; 1., 2., 3., 5., ve 7. günlerde alınan örnekler 15.000 rpm' de 30 dak. santrifüje edildikten sonra süpernatantların absorbansları 570 nm' de ölçölmüş ve ortamda kalan boyar madde miktarları izlenmiştir.

### 2.5.4 Ölü Hücrelerle Renk Giderimi

Ölü hücreler ve canlı hücrelerin renk giderimi yeteneğini karşılaştırmak amacı ile canlı hücrelerin 120 °C de 15 dakika otoklavda sterilizasyonu sonucu elde edilen ölü pelletler başka bir işleme tabi tutulmadan 50 ml sinde 100 mg/l boyar madde içeren 250 ml' lik Erlen Mayer şişelerine inoküle edilmişlerdir. 120 rpm' de 30 °C' de bir hafta süre ile inkübasyona bırakılmışlardır. Erlen Mayer şişelerinden 1., 2., 3., 5., ve 7. günlerde 3 paralel halinde alınan örnekler 15.000 rpm' de 30 dak. santrifüje edildikten sonra süpernatantların absorbans değerleri 570 nm' de ölçölmüş ve ortamda kalan boyar madde miktarları izlenmiştir.

## 3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Statik ve çalkalamalı koşullarda yapılan renk giderimi çalışmalarında gerek *A. niveus* 2 ve gerekse *F. moniliforme'* nin statik koşullardaki renk giderimi yüzdesi çalkalamalı koşullardaki renk giderimi yüzdesine çok yakındır (Tablo 1). Bu nedenle oksijen gereksinimi açısından ve boyar madde ile pelletlerin daha iyi temas edeceği düşüncesi ile çalışmalara çalkalamalı ortamda devam edilmiştir.

Tablo1. *A. niveus* 2 ve *F. moniliforme*' nin 1 hafta süresince statik (30 °C, pH 5' de) ve çalkalamalı (120 rpm, 30 °C, pH 5) koşullardaki renk giderimi yüzdeleri

	<i>A. niveus</i>		<i>F. moniliforme</i>	
	Statik	Çalkalamalı	Statik	Çalkalamalı
<b>1. gün</b>	% 77.49	% 93.73	% 71.01	% 71.56
<b>2. gün</b>	% 90.41	% 92.24	% 71.56	% 78.8
<b>3. gün</b>	% 94.49	% 91.78	% 69.42	% 68.01
<b>5. gün</b>	% 92.43	% 91.01	% 67.03	% 75.10
<b>7. gün</b>	% 91.55	% 90.57	% 67.03	% 72.11

Optimizasyonu sağlamak amacı ile farklı ortamlara maruz bırakılan küflerin ilk olarak farklı pH lardaki renk giderimlerine bakılmış ve boyar madde içeren solüsyonların başlangıç pH ları 3-5-7' ye ayarlanmıştır. *A. niveus* 2 en iyi renk giderimini pH 3' de gerçekleştirmiş olup ilk 24 saat sonunda % 95,40 renk giderimi gözlemlenirken bir hafta sonundaki renk giderimi % 95,96' ya ulaşmıştır (Şekil 1). *F. moniliforme*' nin ise en iyi renk giderimi gösterdiği pH 7 olup 7. gün sonunda % 93, 94 renk giderimi kaydedilmiştir (Şekil 2).

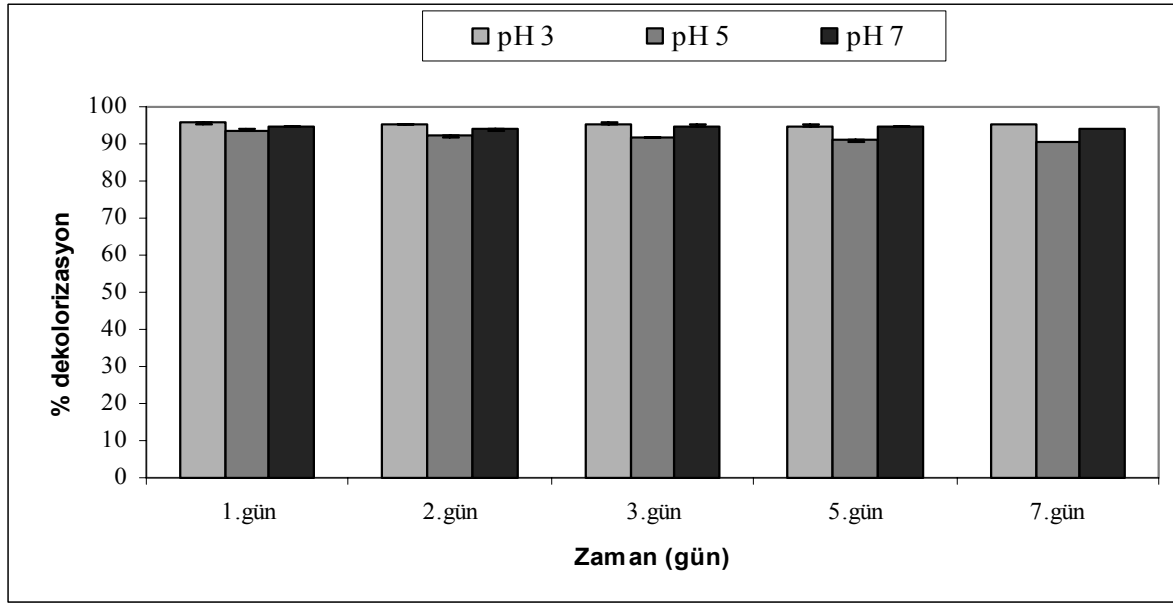
*A. niveus* 2 ve *F. moniliforme* boyar madde solüsyonu içeren Erlen Mayerlerde diğer koşullar sabit tutulmak kaydı ile farklı sıcaklıklarda (20 °C, 30 °C, 35 °C) inkübasyona bırakılmışlar ve sonuç olarak *A. niveus* 2 en iyi renk giderimini 35 °C' de yapmış olup % 95,58 değerine ulaşmıştır (Şekil 3). *F. moniliforme*' nin en iyi renk giderimini gerçekleştirdiği sıcaklık 20 °C' dir (% 93, 64) (Şekil 4).

Farklı çalkalama hızlarının renk giderimine etkisine bakmak için diğer koşullar sabit kalmak koşulu ile her bir küf farklı çalkalama hızlarına (100 rpm, 120 rpm, 150 rpm) tabi tutulmuştur. Şekil 5' de görüldüğü gibi *A. niveus* 2 için 120 ve 150 rpm deki sonuçlar birbirine oldukça yakın olup 100 rpm' deki renk giderimi diğerlerin göre daha düşüktür. *F. moniliforme*' de ise en iyi renk giderimi 120 rpm' de gerçekleşirken 100 rpm' de renk giderimi yüzdesi düşmüştür (Şekil 6).

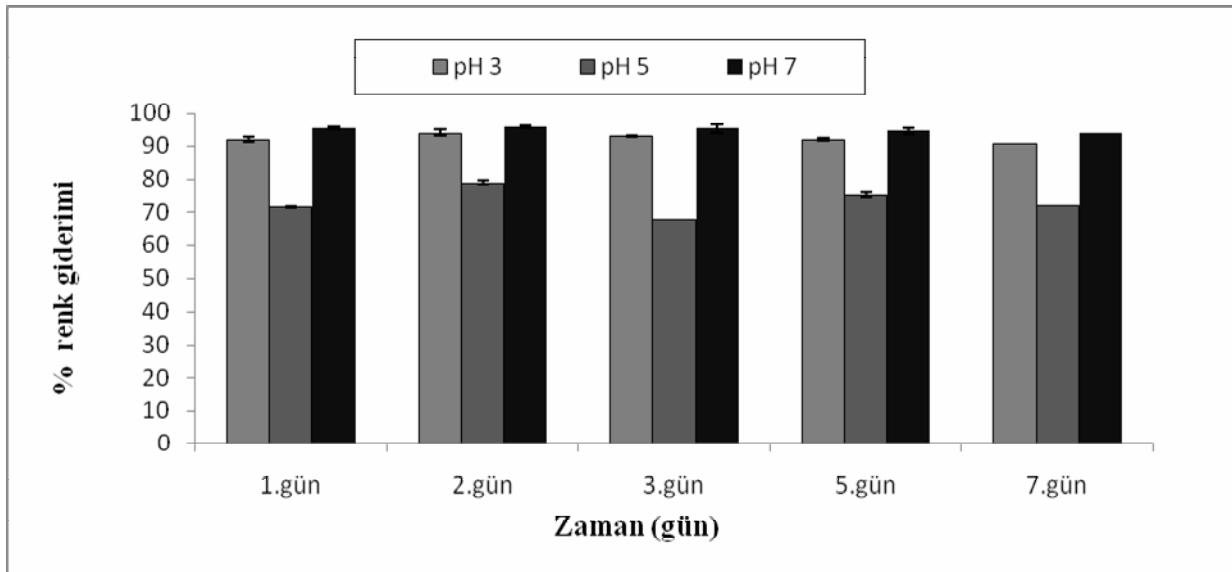
*A. niveus* 2' nin canlı hücreleri ölü hücrelerle yakın renk giderimi gerçekleştirirken *F.*

*moniliforme* için ölü hücreler renk giderimi konusunda daha başarılıdır (Tablo 2).

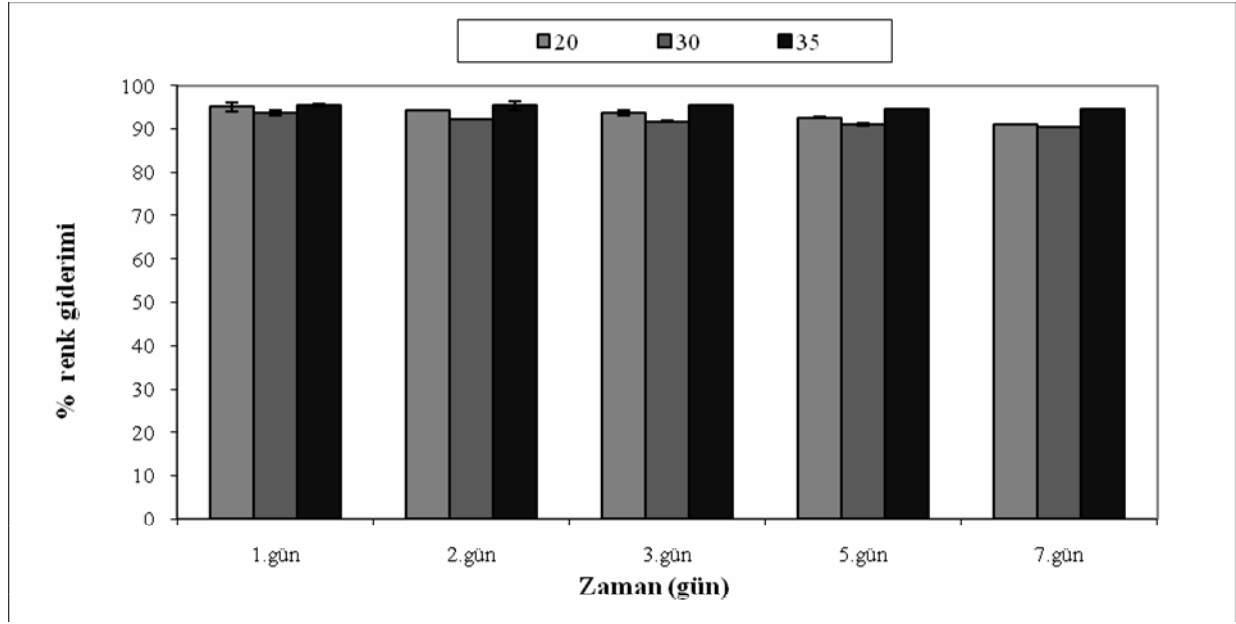
Yapılan çalışmalarda atık su ortamını arımsatabilmek için sadece boyar madde solüsyonu kullanılmış herhangi bir ek organik veya inorganik madde ilave edilmemiştir. Benzer olarak yapılan çalışmalarda Yeşilada vd, (2003a) farklı beyaz çürükçül funguslarla yüksek renk giderimi elde etmişlerdir. Yine Yeşilada vd, (2003b) *Phanerochaete chrysosporium* ve indigo boyar maddeleri ile yaptıkları çalışmalarda sadece boyar madde solüsyonları kullanmış ve 4 gün içerisinde % 75 renk giderimi elde etmişlerdir. Ancak bazı araştırmacılar renk giderimi için ortamda glikozun bulunması gerektiğini savunmuşlardır. Swamy and Ramsay (1999) yaptıkları fggp{ngtfg" renk "gideriminin "ortama ancak glikoz ilavesinden sonra gerçekleştiğini vurgulamışlardır. Yapılan çalışmada statik koşullarda % 71,01 - % 89,88 çalkalamalı koşullarda ise % 71,56 - % 96 oranlarında renk giderimi elde edilmiştir. Çalkalamalı ortamda ilk 24 saatte ulaşılan renk giderimi değerlerine statik ortamda daha geç ulaşılmasının sebebinin statik ortamda boyar madde ile pelletlerin temasının daha uzun sürede gerçekleşmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Blue 13 boyar maddesinin çalkalamalı ortamlarda yüksek renk giderimi Swamy ve Ramsey' in yaptığı çalışma ile izah edilebilir. Swamy ve Ramsey (1999) çalkalama sonucu oluşan oksijen transferinin ortamda yer alan ve renk gideriminde aktif rol oynayan oksidatif enzimlerin ekstraselüler aktivitesini optimuma yükseltmekte olduğunu açıklamışlardır.



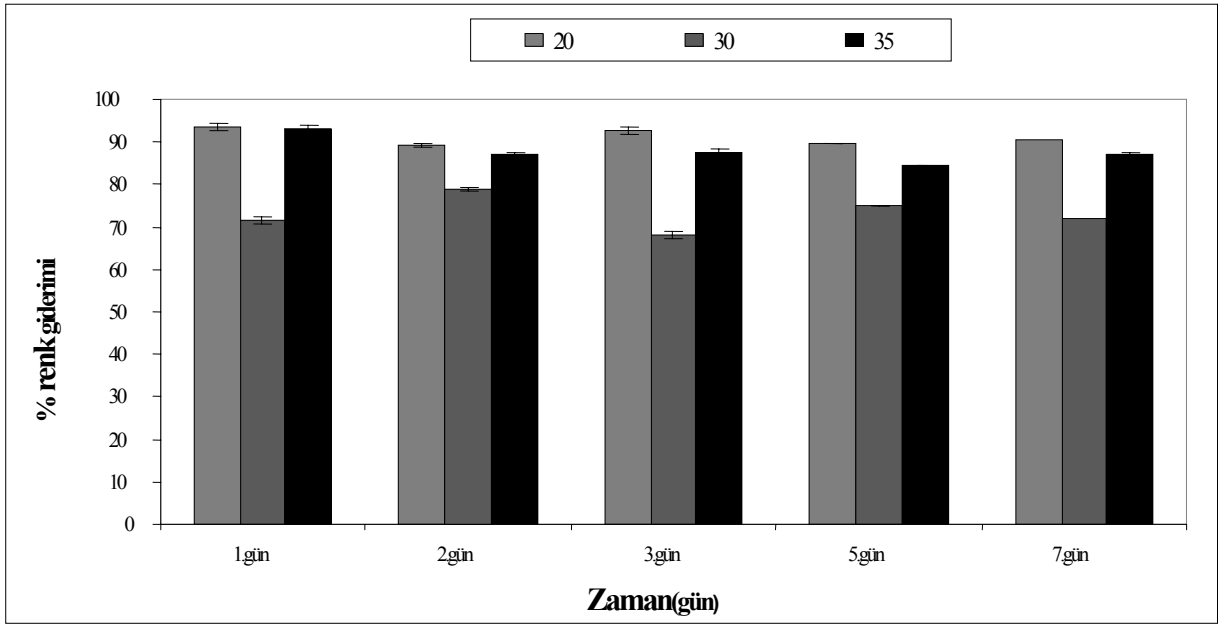
Şekil 1. *A. niveus* 2 'nin Blue 13 boyasını farklı başlangıç pH' larında zamana bağlı renk giderimi 30 °C' de ve 120 rpm' de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde renk giderimi olarak verilmiştir.



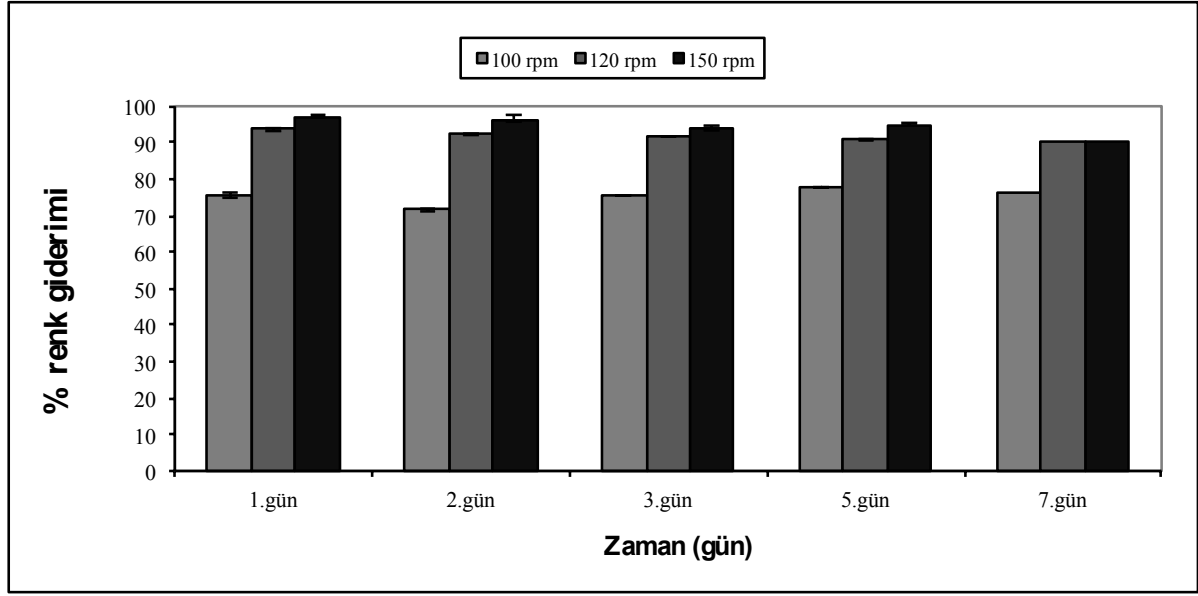
Şekil 2. *F. moniliforme*' nin Blue13 boyasını farklı başlangıç pH' larında zamana bağlı renk giderimi 30 °C' de ve 120 rpm' de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde renk giderimi olarak verilmiştir.



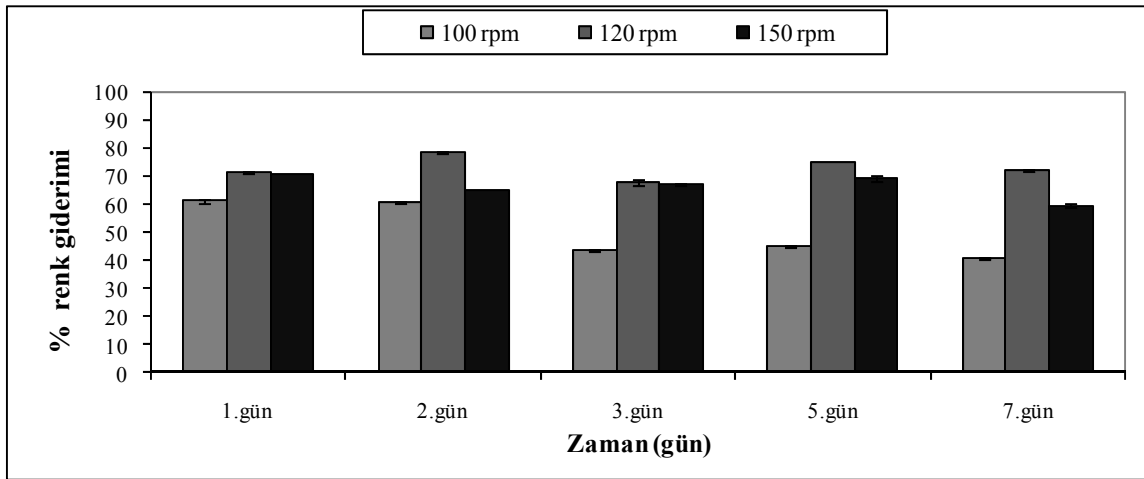
Şekil 3. *A. niveus* 2' nin Blue 13 boyasını farklı sıcaklıklarda zamana bağlı renk giderimi pH 5' de ve 120 rpm' de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde renk giderimi olarak verilmiştir



Şekil 4. *F. moniliforme* ' nin Blue 13 boyasını farklı sıcaklıklarda zamana bağlı renk giderimi pH 5 'de ve 120 rpm' de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde renk giderimi olarak verilmiştir.



Şekil 5. *A. niveus* 2' nin Blue 13 boyasını farklı çalkalama hızlarını zamana bağlı renk giderimi pH 5'de ve 30°C' de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde renk giderimi olarak verilmiştir.



Şekil 6. *F. moniliforme*' nin Blue 13 boyasını farklı çalkalama hızlarında zamana bağlı renk giderimi pH 5'de ve 30°C' de 3 paralel halinde belirlenmiş yüzde renk giderimi olarak verilmiştir.







