

DERİ ENDÜSTRİSİNDE KULLANILAN ÇEŞİTLİ BOYALARIN RENK GİDERİMİNDE *Pleurotus ostreatus* MCC07 SUŞUNUN KULLANIMI

M. Barış PAZARBAŞI^{1*}, İsmail KARABOZ², Ali KOÇYİĞİT², Güven ÖZDEMİR²,
İhsan YAŞA²

¹Celal Bayar Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 45140, Muradiye, Manisa, TÜRKİYE
²Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 35100, Bornova, İzmir, TÜRKİYE

Özet: Bu çalışmada; deri endüstrisinde kullanılan 10 farklı azo boyanın renk gideriminde, *Pleurotus ostreatus* MCC07 suşunun etkinlik derecesinin saptanması amaçlanmaktadır. Ülkemizde deri endüstrisinde yaygın olarak kullanılan Acid Black 24 boyasının renk giderimi, *P. ostreatus* MCC07 ile Nişasta Yeast Ekstrakt besiyeri kullanılarak çalkalamalı ve statik koşullar altında incelenmiştir. *P. ostreatus* MCC07'nin çalkalamalı koşullar altındaki yaptığı renk giderimi; % 98.7 (10. gün), statik koşullar altında ise % 80.2 (12. gün) olarak bulunmuştur. *P. ostreatus* MCC07 ile yapılan fiziko-kimyasal parametrelerden elde edilen sonuçlara bağlı olarak, Acid Black 24 boyasının optimum renk giderimi 27°C sıcaklıkta, pH 5.0 ve 100 ppm başlangıç boya konsantrasyonunda elde edilmiştir. Katı ve sıvı kültürde lakkaz enzim aktiviteleri saptanmıştır. *P. ostreatus* MCC07 ile renk gideriminde, maksimum lakkaz aktivitesi 601.3 U/L (10. gün) elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Deri endüstrisi, Azo boya, Renk giderimi, Lakkaz

THE USE OF *Pleurotus ostreatus* MCC07 STRAIN IN DECOLORIZATION OF VARIOUS DYES USED IN LEATHER INDUSTRY

Abstract: In this study, capabilities detection of *Pleurotus ostreatus* MCC07 strain in decolorization of ten different azo dyes which is used in leather industry were intended. Decolorization of Acid Black 24 which is used widely in leather industry in our country was investigated using Starch Yeast Extract medium under shaking and static condition with *P. ostreatus* MCC07. Decolorization of *P. ostreatus* MCC07 under shaking condition; 98.7 % (10 day), under static condition; 80.2 % (12 day) were determined. According to the results which were obtained from physico-chemical parameters using *P. ostreatus* MCC07, Acid Black 24 optimal decolorization rates occurred at pH 5.0, a temperature of 27°C and 100 ppm initial dye concentration. The laccase enzyme activities in solid and liquid cultures were determined. Decolorization was associated with maximum laccase activity which obtained 601.3 U/L on the tenth day of cultivation by *P. ostreatus* MCC07.

Keywords: Leather industry, Azo dye, Decolorization, Laccase

1. GİRİŞ

Boyar maddeler; renk vermekle sorumlu gruplar olan kromoforlar ve elektron alıcısı ya da vericisi gruplar olan oksokromlardan oluşur [1]. Azo boyalar tekstil, gıda, deri, kağıt, baskı endüstrileri ile araştırma laboratuvarlarında geniş kullanıma sahiptir [2]. Bu tür metabolitlerin hem kanserojen hem de mutajen etkiye sahip oldukları bilinmektedir. Yeterli arıtım görmeden çevreye salınmış boya, deri ve tekstil endüstrisi atıklarının yeraltı sularından bizim içme sularımıza veya sulama vasıtasıyla sebze ve meyvelerimize ulaşabilir [3].

Renk, karasal alanlara ve su yapısına boşaltılmadan önce giderilmesi gereken tanımlanmış olan ilk kontaminanttır. Boyanın sudaki çok az miktardaki varlığı (bazı boyalarda 1 ppm'den az) bile göller, nehirler ve diğer su birikintilerinde gaz erimesini, su akışını ve estetik değerini etkilemekte ve yüksek oranda görülebilmektedir [4].

Son yıllarda yapılan çalışmalar, birçok boya türünü atık sudan giderebilme yeteneğine sahip yaygın mikroorganizma türlerinin mevcudiyetini vurgulamış ve biyoteknolojik metodları ön plana çıkarmıştır [5]. Son yıllarda boyar maddelerin ve atık suların fungal renk giderimi üzerine yoğun çalışmalar yürütülmüştür [6]. *Bjerkandera sp.* [7], *Ganoderma sp.* [8], *Pleurotus ostreatus* [9], *Trametes sp.* [10], *Trametes versicolor* [11] ile yapılan birçok çalışmada, boya çözeltilerinin renk giderimini kolayca sağlayabildikleri gösterilmiştir.

Lakkaz dört tane bakır içeren, kendi katalitik döngüsü içinde moleküler oksijeni elektron alıcısı olarak kullanan, düşük molekül ağırlıklı kinonların ve çeşitli fenolik bileşiklerin oksidasyonunu katalizleyen bir enzimdir. Lakkazlar özellikle bitkilerde ve funguslarda bulunmuştur [12].

Bu çalışmada mikrobiyal renk giderimini ortaya çıkarmak için suda çözünen deri endüstrisinde kullanılan 10 boyar madde

seçilmiştir. *Pleurotus ostreatus* MCC07 ile deri endüstrisinde yaygın olarak kullanılan 10 adet boyar maddeye karşı renk giderimi etkinliği araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Boyar Maddeler

Deri ve tekstil boyaması için ticari öneme sahip ve yaygın olarak kullanılan, C.I. Acid Black 210, C.I. Acid Green 20, C.I. Acid Blue 7, C.I. Acid Yellow 36, C.I. Acid Black 24, C.I. Acid Black 234, C.I. Acid Viyolet 17, C.I. Acid Blue 134, C.I. Acid Brown 349 ve C.I. Acid Blue 113 boyar maddeleri yerel firmalardan elde edilmiştir. Bu boyaların stok çözeltisi membran filtrasyonu ile hazırlanmıştır.

2.2. Mikroorganizma

Çalışmada *Pleurotus ostreatus* MCC07 beyaz çürükçül fungusu kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan *P. ostreatus* beyaz çürükçül fungusu Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü misel kültür koleksiyonundan alınmıştır. Stok kültürler denemelerde kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

2.3. Katı Besiyerinde Renk Gideriminin Belirlenmesi

P. ostreatus MCC07 beyaz çürükçül fungusu Nişasta Yeast Ekstrakt (NYE) agar besiyerine 1 adet 5 mm çapında miselyal disk şeklinde inokule edilerek aktive edilmiştir. 27°C'de 10 günlük inkubasyondan sonra 1 adet 5 mm çapında miselyal disk aktif büyüme zonundan kesilerek alınmıştır. Bu disk, 100 ppm boyar madde içeren NYE agar ve boya ilave edilmemiş NYE agar içeren petri kaplarına (85 mm çapında) inokule edilmiştir. Başlangıç pH'ı, 1M HCl kullanılarak 5'e ayarlanmıştır. Boya içeren ortamlar ve boya ilave edilmemiş kontrol ortamları 27°C'de 14 gün süreyle

inkübe edilmiştir. Petri kaplarında gelişen kültürlerin büyüme zonu ve boyalı ortamdaki renk giderimi zonu 14 gün boyunca ölçülmüştür [8,13].

2.4. Sıvı Besiyerinde Renk Gideriminin Belirlenmesi

P. ostreatus MCC07, NYE agar ortamına 1 adet 5 mm çapında miselyal disk şeklinde inokule edilmiştir. 27°C'de 10 günlük inkubasyondan sonra 4 adet 5 mm çapında miselyal disk aktif büyüme zonundan kesilerek alınmıştır. Bu diskler, 250 mL'lik erlenlerde 50 mL olacak şekilde 100 ppm boyar madde içeren NYE ortamına aşılanmıştır. Başlangıç pH'ı, 1M HCl kullanılarak 5'e ayarlanmıştır. 27°C'de 150 devir/dakikalık orbital çalkalayıcıda 14 gün süreyle inkubasyona bırakılmıştır (çalkalamalı koşullar). Aynı miktarda miselyal disk, 250 mL'lik erlenlerde 50 mL olacak şekilde 100 ppm boyar madde içeren NYE ortamına aşılanmıştır. Statik koşullarda 27°C'de 14 gün süreyle inkubasyona bırakılmıştır (Statik koşullar). Bu erlenlerden iki günde bir alınan sıvı örnekleri 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrası renk giderimi spektrofotometre kullanımı ile tespit edilmiştir. Renk giderimi sonucu, aynı dalga boyundaki başlangıç absorbansına bağlı olarak absorbansda azalma yüzdesi olarak belirtilmiştir [8].

Deri endüstrisinde yaygın olarak kullanılan Acid Black 24, renk giderimi denemelerinde en iyi sonuçların elde edildiği boya olduğu için optimizasyon çalışmalarında kullanılmıştır. Optimizasyon çalışmalarından sonra farklı kimyasal yapıda 9 azo boyası da renk giderimi denemelerinde kullanılmıştır.

2.5. Farklı Büyüme Ortamlarında Renk Giderimi

Farklı büyüme ortamlarında renk giderimi derecelerinin saptanması için; G.A.E. ortamı

[14], Nişasta Yeast Ekstrakt ortamı [8], Tien ve Kirk Ortamı 1 [15] ve Tien ve Kirk Ortamı 2 [15] kullanılmıştır. 100 ppm Acid Black 24 (AB 24) içeren bu ortamlarda, optimum sıcaklıkta ve çalkalamalı koşullarda 14 gün inkübe edilen beyaz çürükçül fungusun renk giderimi derecesi saptanmıştır [8].

2.6. Farklı Sıcaklık Derecelerinde Renk Giderimi

NYE ortamında farklı sıcaklık derecelerinde (20°C, 27°C, 37°C ve 40°C); çalkalamalı koşullarda 14 gün inkübe edilen beyaz çürükçül fungusun renk giderimi derecelerinin saptanması; 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra supernatantın absorbansının spektrofotometre ile ölçülmesiyle sağlanmıştır [8,16].

2.7. Farklı Başlangıç Boya Konsantrasyonları Kullanıldığında Renk Giderimi

NYE temel ortamına farklı başlangıç boya konsantrasyonları olarak 50, 100, 200, 400, 600 ve 800 ppm AB 24 ilave edilerek hazırlanmış ortamlarda, optimum sıcaklıkta ve çalkalamalı koşullarda 14 gün inkübe edilen beyaz çürükçül fungusun renk giderimi derecesi saptanmıştır [8,17].

2.8. Farklı pH Derecelerinde Renk Giderimi

Boya rengi pH'dan etkilendiği için renk gideriminin mikroorganizma tarafından gerçekleştiğini göstermek amacıyla yapılan denemede, farklı pH derecelerine (4.0; 5.0; 6.0; 7.0; 8.0 ve 9.0) sahip ortamlar hazırlanmıştır. pH'lar otoklav sonrası HCl ve NaOH ile ayarlanmıştır. Mikroorganizma 100 ppm Acid Black 24 içeren NYE ortamında, optimum sıcaklıkta ve çalkalamalı koşullarda 14 gün inkübe edilmiştir. Renkleri giderilmiş besiyerlerinin renk ölçümleri spektrofotometre

ile boyanın maksimum absorbands verdiği dalga boyunda sağlanmıştır [8,18].

2.9. *Pleurotus ostreatus* MCC07'nin Ölü ve Canlı Miselleriyle Yapılan Renk Giderimi Denemeleri

P. ostreatus MCC07 NYE agar ortamına 1 adet 5 mm çapında miselyal disk şeklinde inokule edilmiştir. 27°C'de 10 günlük inkubasyondan sonra 4 adet 5 mm çapında miselyal disk aktif büyüme zonundan kesilerek alınmıştır. Bu diskler, 250 mL'lik erlenlerde 50 mL olacak şekilde 100 ppm AB 24 içeren NYE ortamına aşılmalıdır. Başlangıç pH'ı, 1M HCl kullanılarak 5'e ayarlanmıştır. 27°C'de 150 devir/dakikalık orbital çalkalayıcıda 14 gün süreyle inkubasyona bırakılmıştır [19].

P. ostreatus MCC07'nin NYE agar ortamında 27°C'de 10 günlük inkubasyonundan sonra alınan 4 adet 5 mm çapında miselyal disk otoklavda 1,5 atmosfer basınç altında 121°C'de 20 dakika süre ile steril edilmiştir. Bu şekilde elde edilen ölü miseller de 100 ppm AB 24 ilave edilmiş sentetik atık su ortamı içeren 250 mL'lik erlenlerdeki 50 mL besiyerine inokule edilerek 27°C'de 14 gün inkübe edilmiştir. Renk giderimi sonucu, aynı dalga boyundaki başlangıç absorbandsına bağlı olarak absorbandsa azalma yüzdesi olarak belirtilmiştir [8].

2.10. Farklı Azo Boyaların Rengini Giderme Yeteneğinin Saptanması

Bu denemede *P. ostreatus* MCC07 100 ppm boya içeren NYE besiyerinde, optimum sıcaklıkta ve çalkalamalı koşullarda 14 gün inkübe edilmiştir. Renk giderimi gözlenen besiyerlerinin renk ölçümleri spektrofotometre ile boyanın maksimum absorbands verdiği dalga boyunda sağlanmıştır. Her bir boyanın maksimum absorbandsı boyaların spektrofotometrede taranması sonucu elde edilen grafiklerin değerlendirilmesiyle belirlenmiştir. Örnekler 10.000 rpm'de 10

dakika santrifüj edilmiş ve supernatantın absorbandsı ölçülmüştür [8,13].

2.11. Lakkaz Enzim Aktivitesi

Nitel lakkaz taramaları için ABTS (0,35 g/L) ve guaiakol (5 mM) içeren NYE agar besiyerleri, petri kaplarında (85 mm çapında) hazırlanmıştır. Başlangıç pH'ı, 1 M HCl kullanılarak 5.0'e ayarlanmıştır. Substrat içeren ortamlar ve substrat ilave edilmemiş kontrol ortamları aktive edilmiş *P. ostreatus* MCC07 kültürleri ile inokule edilmiştir. Petri kapları 27°C'de 14 gün süreyle inkübe edilmiştir. Petri kaplarında gelişen kültürlerin büyüme zonu, ABTS ve guaiakol içeren petrilerdeki oksidasyon zon çapları 14 gün boyunca ölçülmüştür [20,21].

P. ostreatus MCC07 NYE agar besiyerine 1 adet 5 mm çapında miselyal disk şeklinde inokule edilerek aktive edilmiştir. 27°C'de 10 günlük inkubasyondan sonra 4 adet 5 mm çapında miselyal disk aktif büyüme zonundan kesilerek alınmıştır. Bu diskler, 250 mL'lik erlenlerde 50 mL olacak şekilde 100 ppm boya içeren NYE ortamına ve boya ilave edilmemiş NYE ortamına aşılmalıdır. Başlangıç pH'ı, 1 M HCl kullanılarak 5.0'e ayarlanmıştır. 27°C'de 150 devir/dakikalık orbital çalkalayıcıda 14 gün süreyle inkubasyona bırakılmıştır. Bu erlenlerden iki günde bir alınan sıvı örnekleri +4°C'de 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrası lakkaz enzim aktivitesi ölçülmüştür.

Lakkaz enzim aktivitesinin ölçümünde substrat olarak ABTS kullanılmıştır. Aktivite ölçümü; 0,1 M Glisin-HCl (pH 3.0) tamponunda ve 5 mM ABTS substratı varlığında 5 dakika süresince absorbands değişiminin ölçülmesi ile gerçekleştirilmiştir. ABTS'nin oksidasyonu 420 nm dalga boyundaki absorbands artışıyla saptanmıştır. Bir ünite (U) enzim aktivitesi, 1 dakikada 1 µmol ABTS'yi dönüşüme uğratan enzim miktarı olarak tanımlanmıştır. Aktiviteler U/L olarak ifade edilmiştir [22,23].

3. BULGULAR

3.1. Katı Besiyerinde Renk Giderimi Denemeleri

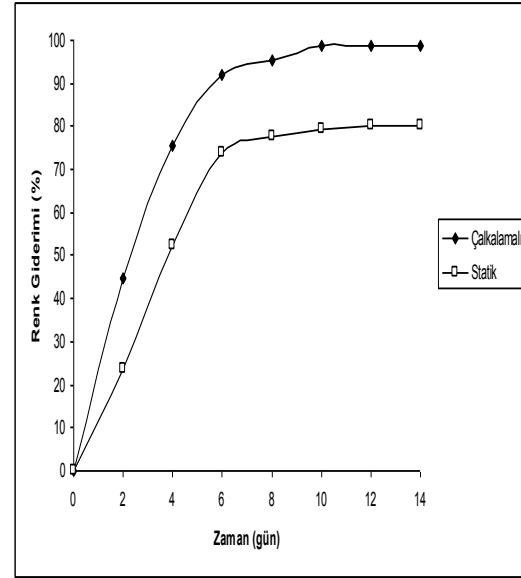
P. ostreatus MCC07 kültürü ile inoküle edilmiş 100 ppm AB 24 boyası içeren NYE agar ortamında 14 gün boyunca büyüme ve renk giderimi zon çapları ölçülmüştür. Zamana bağlı büyüme ve renk giderim zonlarının çapı Çizelge 3.1’de belirtilmiştir. 14 günlük inkubasyon sonunda, *P. ostreatus* MCC07 inoküle edilmiş boyalı NYE agar ortamında büyüme ve renk giderimi zonu belirgindir. Kontrol olarak boya ilave edilmiş NYE agar ortamı kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. AB 24 boyası içeren NYE agar besiyerinde *P.ostreatus* MCC07’nin zamana bağlı büyüme ve renk giderim zonları

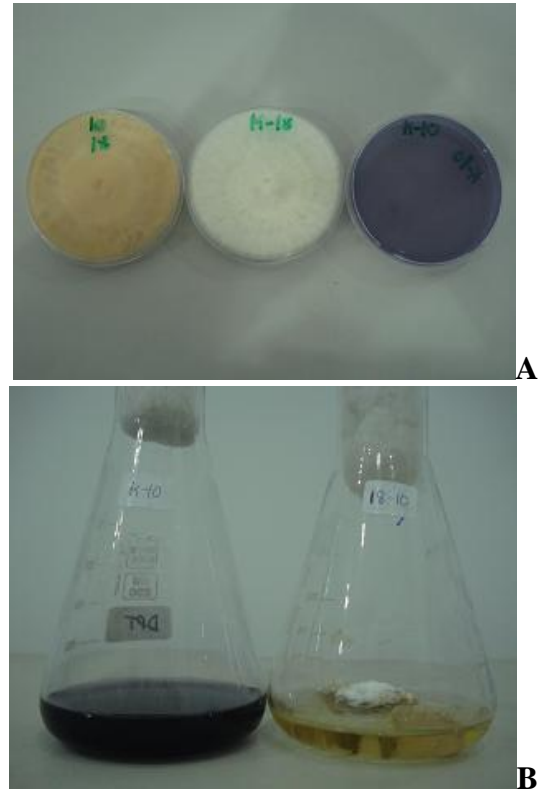
Zaman (gün)	Büyüme Zon Çapı (<i>P.ostreatus</i>)	Renk Giderimi Zon Çapı (<i>P.ostreatus</i>)
2. gün	12 mm	12 mm
4. gün	36 mm	36 mm
6. gün	56 mm	56 mm
8. gün	79 mm	79 mm
10. gün	84 mm	84 mm
12. gün	85 mm	85 mm
14. gün	85 mm	85 mm

3.2. Sıvı Besiyerinde Renk Giderimi Denemeleri

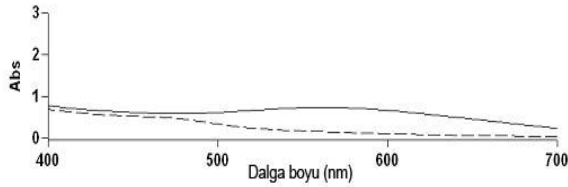
AB 24’ün *P. ostreatus* MCC07 tarafından renk giderimi; 12 gün sonunda statik koşullar altında; % 80.2 iken 10 gün sonunda çalkalamalı koşullar altında; % 98.7 olarak bulunmuştur (Şekil 3.1– 3.4).



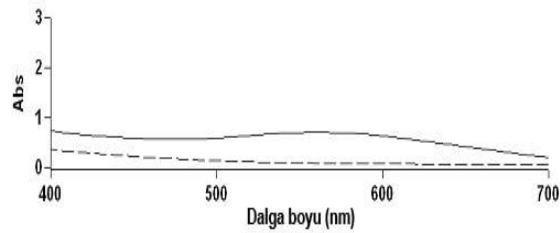
Şekil 3.1. Statik ve çalkalamalı koşullar altında AB 24’ün *P. ostreatus* MCC07 tarafından renk giderimi.



Şekil 3.2. AB 24’ün *P. ostreatus* MCC07 tarafından renk giderimi A; katı besiyeri, B; sıvı besiyeri.



Şekil 3.3. Statik koşullarda 573 nm'de *P. ostreatus* MCC07 tarafından renk giderimi. ; 0. saat absorptans grafiğini, --- ; 12. gün absorptans grafiğini göstermektedir.



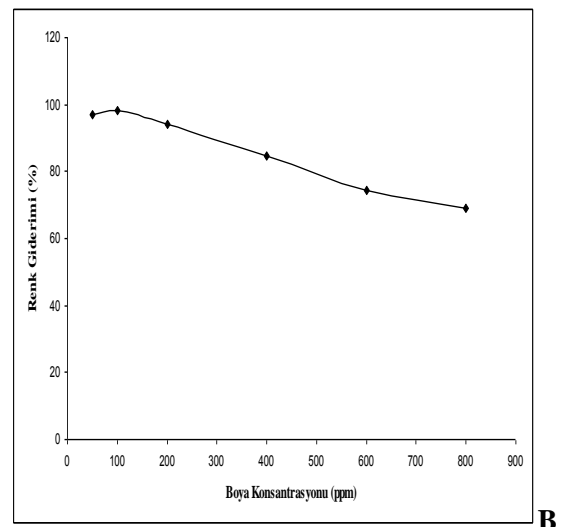
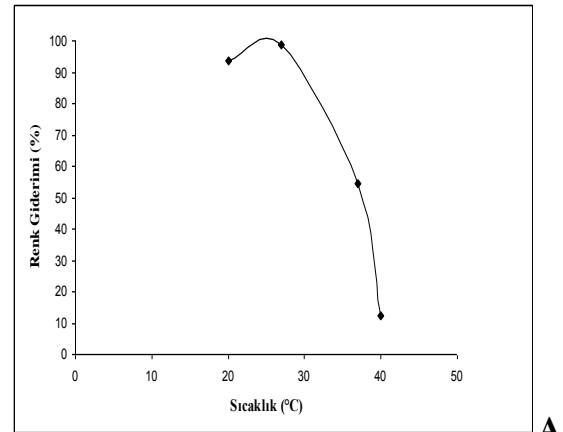
Şekil 3.4. Çalkalamalı koşullarda 573 nm'de *P. ostreatus* MCC07 tarafından renk giderimi. — ; 0. saat absorptans grafiğini, --- ; 10. gün absorptans grafiğini göstermektedir.

3.3. Farklı Büyüme Ortamlarında Renk Giderimi

100 ppm AB 24 ilave edilerek hazırlanan farklı ortamlara 4 disk şeklinde inokule edilen mikroorganizmaların optimum sıcaklık ve sürede çalkalamalı koşullarda inkübasyonu sonucu en iyi renk gideriminin; NYE besiyerinde (% 98.7) gerçekleştiği saptanmıştır. GAE (% 73.2), Tien ve Kirk Ortamı 1 (% 39.7), Tien ve Kirk Ortamı 2 (% 30)'de daha düşük renk giderimi değerleri elde edilmiştir. *P. ostreatus* MCC07 en iyi renk giderimini NYE ortamında gerçekleştirdiği için optimizasyon çalışmalarının diğer denemelerinde NYE ortamı kullanılmıştır.

3.4. Renk Gideriminde Farklı Sıcaklık, Başlangıç Boya Konsantrasyonu ve pH Etkisi

Pleurotus ostreatus MCC07 için en yüksek renk giderimi 27°C'de elde edilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Çalkalamalı koşullar altında AB 24'ün *P. ostreatus* MCC07 tarafından renk giderimi üzerine A; sıcaklığın etkisi, B; başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi.

Çalkalamalı koşullar altında 14 günlük inkübasyon süresinde, *P. ostreatus* MCC07 için 100 ppm başlangıç boya konsantrasyonunda yapılan renk giderimi çalışmalarında en yüksek değerlere ulaşılmıştır (Şekil 3.5).

Farklı pH derecelerine (4.0; 5.0; 6.0; 7.0; 8.0; ve 9.0) sahip NYE ortamına 100 ppm AB 24 ilave edilerek hazırlanan besiyerlerinde ve optimum şartlarda inkübe edilen mikroorganizma, en iyi renk giderimini pH 5.0 olan ortamda gerçekleştirmiştir.

3.5. *P. ostreatus* MCC07'nin Ölü Ve Canlı Miselleriyle Yapılan Renk Giderimi Denemeleri

P. ostreatus MCC07 ölü (% 15.5) ve canlı (% 97.4) miselleriyle gerçekleştirilen renk giderimi denemeleri sonucunda; canlı misellerle yapılan renk gideriminin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu da, bu mikroorganizmalarla gerçekleşen renk gideriminin biyobozunum ile ilgili olduğunu düşündürmektedir.

3.6. Çeşitli Azo Boyaların *P. ostreatus* MCC07 ile Renk Giderimi

P. ostreatus MCC07 en az renk giderimini; C.I. Acid Black 210, C.I. Acid Blue 7 ve C.I. Acid Brown 349 azo boya kullanıldığında gerçekleştirirken (% 1, % 17 ve % 44), denemede kullanılan diğer boyalarda % 82 - % 97'e varan oranlarda renk giderimi yapabildiği saptanmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Çeşitli azo boya renk giderimi *P. ostreatus* MCC07 ile renk giderimi (%) dereceleri.

Boyanın Adı	Absorbans derecesi	Renk giderimi (%)
C.I. Acid Black 210	604 nm	1,3
C.I. Acid Green 20	611 nm	97,7
C.I. Acid Blue 7	637 nm	17,1
C.I. Acid Yellow 36	434 nm	82,4
C.I. Acid Black 234	466 nm	89,8
C.I. Acid Viyolet 17	545 nm	93,4
C.I. Acid Blue 134	606 nm	97,9
C.I. Acid Brown 349	425 nm	44,4
C.I. Acid Blue 113	566 nm	90,9

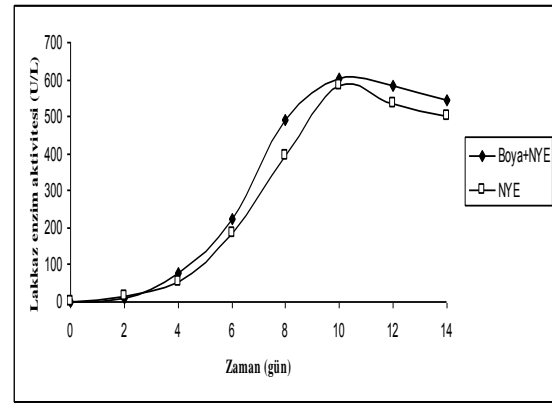
3.7. Nitel Lakkaz Taramaları

ABTS ve guaiakolun kullanıldığı nitel lakkaz taramalarında *P. ostreatus* MCC07'nin 14. günde sırasıyla 84 mm ve 72 mm substrat

oksidasyon zon çapları oluşturduğu görülmüştür.

3.8. Sıvı Besiyerinde Lakkaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

P. ostreatus MCC07 için boya ilave edilmiş NYE ortamında maksimum lakkaz aktivitesi 601.3 U/L (10. gün) bulunmuştur. *P. ostreatus* MCC07 için boya ilave edilmemiş NYE ortamında maksimum lakkaz aktivitesi 584.5 U/L (10. gün) bulunmuştur. *P. ostreatus* MCC07'nin lakkaz aktivitesinin zamana bağlı değişimini gösteren grafik Şekil 3.6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.6. *P. ostreatus* MCC07'nin lakkaz aktivitesinin zamana bağlı değişimi.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

P. ostreatus MCC07'nin çalkalamalı ve statik koşullar altında AB 24 boyasının rengini giderme yeteneği ile ilgili yapılan denemelerde, çalkalamalı koşullarda daha iyi renk giderimi elde edildiği saptanmıştır. Buna benzer sonuçlar *Ganoderma sp.* [8] suşunun ve *Pleurotus sp.* suşlarının [13,24] kullanıldığı renk giderimi çalışmalarında statik ve çalkalamalı koşullarda gerçekleştirilen inkübasyonlarla da elde edilmiştir. Bir çalışmada 30 farklı bazidiomiset suşu 200 ppm Orange G ve Remazol Brilliant Blue R içeren katı besiyerinde büyüme ve renk giderimi zonu için test edildi. Bütün suşlar boya varlığında katı besiyerinde büyürken, yalnızca 15 tanesi

test edilen boyaların rengini giderebilmiştir [25].

P. ostreatus MCC07 için AB 24 ile yapılan renk giderimi çalışmalarında en yüksek renk giderimi oranı 27°C’de elde edilmiştir. 40°C’nin üzerinde belirgin bir büyüme ve renk giderimi saptanmamıştır. Benzer sonuçlar *Funalia trogii* ile yapılan renk giderimi çalışmasında da elde edilmiştir [26]. *Ganoderma sp.* WR-1 suşu ile Nişasta Yeast Ekstrakt ortamında Amaranth boyasının % 96 oranında rengini giderdiğini saptamışlardır [8]. Başka bir araştırmada çalışmamızda gözlediğimiz gibi başlangıç boya konsantrasyonunun artmasıyla renk giderimi değerinde bir dereceye kadar artma olmuş ancak 100 ppm üzerindeki konsantrasyonlarda renk giderim değerlerinin azaldığı gözlenmiş, 800 ppm boya konsantrasyonunun üzerinde ise inhibisyon etkisi yaptığı bildirilmiştir [27,28]. *Trametes trogii*’nin kullanıldığı bir çalışmada; boyaların (Reactive Blue 4, Acid Red 1, Acid Blue 129 ve Reactive Black 5) renk giderimi oranları, pH 4.0 ve 5.0’de en yüksek değerlere ulaşmıştır [29].

Mikroorganizmalarla elde edilen bu renk giderimi etkinliğinin adsorpsiyon, absorpsiyon, biyosorpsiyon v.b gibi etkenlerle mi yoksa biyobozunum ile mi olduğu konusuna açıklık getirmek amacıyla; *Pleurotus ostreatus* MCC07’nin ölü ve canlı miselleriyle de renk giderimi denemeleri yapılmıştır. Bu amaçla gerçekleştirilen denemeler sonunda canlı misellerle % 97 renk giderimi elde edilmişken ölü misellerle % 15 gibi düşük derecelerde renk giderimi saptanmıştır. Benzer sonuçların başka bir çalışmada [30] da saptanmış olması azo boya renginin gideriminde mikrobiyal aktivitenin rol oynadığına dair düşüncemizi kuvvetlendirmektedir.

Denemede kullanılan C.I. Acid Blue 7, C.I. Acid Black 210 ve C.I. Acid Brown 349’un renk gideriminin en az olduğu boyalar olduğu saptanmıştır. Bu durum, boyaların farklı kimyasal yapısından kaynaklanmaktadır. Çalışmamızdaki sonuçlara benzer bulgular,

Ganoderma sp.’nin boya rengini giderme yeteneğinin incelendiği çalışmada da bildirilmektedir. *Ganoderma sp.*’nin aynı ortam şartlarında, çalışmada kullanılan Amaranth ve Remazol Brilliant Blue R boyalarının rengini daha yüksek oranda gidermekte iken Orange II ve Acid Red 106 gibi boyaların rengini gidermede daha az etkili olduğu saptanmıştır [8].

Başka bir çalışmada, 8 farklı *Pleurotus* türünün sıvı besiyerinde lakkaz aktivitesi ölçülmüştür. *Pleurotus ostreatus* CCBAS 473 ile sıvı besiyerinde 73.0 U/L lakkaz aktivitesi elde edilmiştir [13]. *Pleurotus ostreatus* suş 32 ile yapılan renk giderimi çalışmasında, 12 günlük inkubasyondan sonra 120 U/mL lakkaz aktivitesi elde edildiği bildirilmiştir [9]. Yapılan lakkaz enzim aktivitesi denemelerinde boya ilave edilmiş besiyerinde lakkaz aktivitesi daha yüksek çıkmıştır. Besiyerlerine ilave edilen boya, lakkaz aktivitesini indükleyici etki göstermiştir. Çalışmada gözlediğimiz gibi, antrakinin ilave edilmiş besiyerlerinde daha yüksek lakkaz aktivitesi saptanmıştır [31]. *P. ostreatus* MCC07’nin bazı azo boyalara karşı renk giderimi etkinliğinin yüksek olması, büyük ölçüde lakkaz enziminin varlığına ve misellere tutunma şeklinde olduğunu düşündürmektedir.

Renk giderimi denemelerinde kullanılan *P. ostreatus* MCC07’nin bazı azo boyalara karşı renk giderimi değerlerinin yüksek olması bu mikroorganizmanın endüstriyel uygulamalarda kullanılabilirliğini göstermektedir. Ancak mikroorganizmaların çeşitli deri boyalarının rengini giderme yetenekleriyle ilgili mekanizmaların aydınlatılması için daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır. Çalışma bulgularımızın bu araştırmalara temel olacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma “Deri Endüstrisinde Deri ve Atık Sularda Mikrobiyolojik ve Enzimatik Yöntemlerle Renk Giderimi ve Farklı Renk

Efektlerinin Elde Edilmesi” isimli DPT 2005 001 projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Kaynaklar

[1] Welham, A., “The theory of dyeing (and the secret of life)”, Journal of the Society of Dyers and Colourists, 116: 140-143 (2000).

[2] Novak, J.T., Hoehn, R.C., Randall, C.W. and Wallace, T.H., “Biological treatment of a synthetic dye water and an industrial textile wastewater containing azo dye compounds”, Master Thesis, Blacksburg, Virginia, 79p. (2001).

[3] Karaoğlu, F., “Benzidin ve Analoglarının Toprak Mikroflorası ve Enzimatik Aktivitesi Üzerine Etkileri”, , Doktora tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 112s. (2008).

[4] Banat, I.M., Nigam, P., Singh, D. and Marchant, R., “Microbial Decolorization of Textile-Dye Containing Effluents”, Bioresource Technology, 58: 217-227 (1996).

[5] Kocaer, F.O. ve Alkan, U., “Boyar Madde İçeren Tekstil Atıksularının Arıtım Alternatifleri, Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi”, Cilt 7, Sayı 1: 47-55 (2002).

[6] Fu, Y. and Viraraghavan, T., “Fungal Decolorization of Dye Wastewaters”, Bioresource Technology, 79: 251-262 (2001).

[7] Axelsson, J., Nilsson, U., Terrazas, E., Aliaga, T.A. and Welander, U., “Decolorization of the textile dyes Reactive Red 2 and Reactive Blue 4 using *Bjerkandera* sp. Strain BOL 13 in a continuous rotating biological contactor reactor”, Enzyme and Microbial Technology, 39: 32–37 (2006).

[8] Revankar, M.S. and Lele, S.S., “Synthetic dye decolorization by white rot fungus, *Ganoderma* sp. WR-1”, Bioresource Technology, 98: 775–780 (2007).

[9] Hou, H., Zhou, J., Wang, J., Du, C. and Yan, B., “Enhancement of laccase production by *Pleurotus ostreatus* and its use for the decolorization of anthraquinone dye”, Process Biochemistry, 39: 1415–1419 (2004).

[10] Maalej-Kammoun, M., Zouari-Mechichi, H., Belbahri, L., Woodward, S. and Mechichi, T., “Malachite green decolorization and detoxification by the laccase from a newly isolated strain of *Trametes* sp.”, International Biodeterioration and Biodegradation, 63: 600–606 (2009).

[11] Srinivasan, S.V. and Murthy, D.V.S., “Statistical optimization for decolorization of

textile dyes using *Trametes versicolor*”, Journal of Hazardous Materials, 165: 909–914 (2009).

[12] Kiiskinen L., Ratto L. and Kruus M.K., “Screening for novel laccase producing microbes”, Journal Applied Microbiology, 97: 640-646 (2004).

[13] Eichlerova, I., Homolka, L. and Nerud, F., “Ability of industrial dyes decolorization and ligninolytic enzymes production by different *Pleurotus* species with special attention on *Pleurotus calypratus*, strain CCBAS 461”, Process Biochemistry, 41: 941-946 (2006).

[14] Hernandez, M., Rodriguez, J., Soliveri, J., Copa, J. L., Perez, M. I. and Arias, M. E., “Paper Mill Decolorization by Fifty Streptomyces Strains, Applied and Environmental Microbiology”, 60: 3909-3913 (1994).

[15] Tien, M. and Kirk, T.K., “Lignin Peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*”, Methods in enzymology, 161: 238-249 (1988).

[16] Verma, P. and Madamwar, D., “Decolorization of azo dyes using Basidiomycete strain PV 002”, World Journal of Microbiology and Biotechnology, 21: 481–485 (2005).

[17] Erkurt, E.A., Unyayar, A. and Kumbur, H., “Decolorization of synthetic dyes by white rot fungi, involving laccase enzyme in the process”, Process Biochemistry 42: 1429–1435 (2007).

[18] Nyanhongo, G.S., Gomes, J., Gubitza, G.M., Zvauya, R., Read, J. and Steiner, W., “Decolorization of textile dyes by laccases from a newly isolated strain of *Trametes modesta*”, Water Research, 36: 1449–1456 (2002).

[19] Fu, Y. and Viraraghavan, T., “Removal of Congo Red from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger*, Advances in Environmental Research”, 7: 239-247 (2002).

[20] Bains, J., Capalash, N. and Sharma, P., “Laccase from a non melanogenic, alkotolerant γ -proteobacterium JB isolated from industrial wastewater drained soil”, Biotechnology Letters, 25: 1155-1159 (2003).

[21] Dhoulib, A., Hamza, M., Zouari, H., Mechichi, T., H'midi, R., Labat, M., Martinez, M.J., and Sayadi, S., “Autochthonous fungal strains with high ligninolytic activities from Tunisian biotopes”, African Journal of Biotechnology, 4: 431-436 (2005).

[22] Revankar, M. S., and Lele, S.S., “Enhanced production of laccase using a new isolate of white rot fungus WR-1”, Process Biochemistry, 41: 581–588 (2006).

- [23] Bora, P., “Production of laccase by the phytopathogenic fungus *Rhizoctonia solani*”, PhD Thesis, 176p. (2003)
- [24] Chagas, E.P. and Durrant, L.R., “Decolorization of azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus sajorcaju*”, Enzyme and Microbial Technology, 29: 473–477 (2001).
- [25] Eichlerova, I., Homolka, L. and Nerud, F., “Decolorization of high concentrations of synthetic dyes by the white rot fungus *Bjerkandera adusta* strain CCBAS 232”, Dyes and Pigments, 75: 38-44 (2007).
- [26] Park, C., Lee, M., Lee, B., Kim, S.W., Chase, H.A., Lee, J. and Kim, S., “Biodegradation and biosorption for decolorization of synthetic dyes by *Funalia trogii*”, Biochemical Engineering Journal, 36: 59-65 (2007).
- [27] Radha, K.V., Regupathi, I., Arunagiri, A. and Murugesan, T., “Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics”, Process Biochemistry, 40: 3337–3345 (2005).
- [28] Mechichi, T., Mhiri, N. and Sayadi, S., “Remazol Brilliant Blue R decolourization by the laccase from *Trametes trogii*”, Chemosphere, 64: 998-1005 (2006).
- [29] Zeng, X., Cai, Y., Liao, X., Zeng, X., Li, W. and Zhang, D., “Decolorization of synthetic dyes by crude laccase from a newly isolated *Trametes trogii* strain cultivated on solid agro-industrial residue”, Journal of Hazardous Materials, 187: 517-525 (2011).
- [30] Tatarko, M. and Bumpus, J.A., “Biodegradation of Congo Red by *Phanerochaete chrysosporium*”, Water Research, 32 (5): 1713-1717 (1998).
- [31] Wong, Y. and Yu, J., “Laccase-Catalyzed Decolorization of Synthetic dyes”, Water Research, 33 (16): 3512-3520 (1999).

Geliş Tarihi: 16/03/2011

Kabul Tarihi: 21/09/2011