



## Removal of metal-complex dye with *Candida tropicalis* from aqueous solutions : Growth and inhibition kinetics

Müjgan Okur<sup>1\*</sup>, Nurdan Saraçoğlu<sup>1</sup>, Zümriye Aksu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemical Engineering, Gazi University, Maltepe, Ankara 06570, Turkey

<sup>2</sup>Department of Chemical Engineering, Hacettepe University, Beytepe, Ankara 06532, Turkey

### Highlights:

- Bioaccumulation of dye with *C. tropicalis*
- Growth and Inhibition Kinetics of *C. tropicalis*
- Effect of pH and sugar concentration on growth and dye bioaccumulation of *C. tropicalis*

### Keywords:

- Bioaccumulation
- *C. tropicalis*
- growth and inhibition kinetics
- metal-complex dye

### Graphical/Tabular Abstract

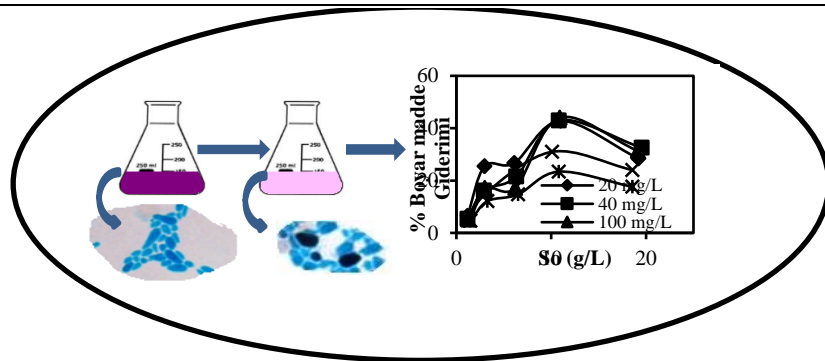


Figure A. The removal of metal-complex dye with *Candida tropicalis*

### Article Info:

Research Article

Received: 03.10.2018

Accepted: 01.02.2020

### DOI:

10.17341/gazimmfd.467099

### Acknowledgement:

The financial support provided by Gazi University Scientific Research Projects Unit (BAP-06/2007-56) is gratefully acknowledged.

### Correspondence:

Author: Müjgan Okur  
e-mail: mtelli@gazi.edu.tr  
phone: +90 312 582 3514

**Purpose:** In the present study, we investigated the bioaccumulation of C.I. Acid Violet 90 1:2 metal complex dye (AV90) with *Candida tropicalis* in a batch system. Molasses was chosen as a source of carbon for the yeast. The effects of pH, the dye concentration and the total sugar concentration on dye bioaccumulation and yeast growth were analyzed. In order to describe the inhibitory effect of AV90 dye on growth and bioaccumulation properties, the linear mixed-type inhibition kinetic model was used.

### Theory and Methods:

During dyeing process, nearly 10-15% of the dyes and other chemicals are released into the environment. Physical, chemical, and biological treatment processes are involved in dye wastewater treatment. For bioremediation of dyes, several studies have focused on a wide variety of microorganisms which are capable of decolorizing a wide range of dyes. Yeasts, which is a low-cost and convenient source of microorganisms, have long been known to be capable of bioaccumulation of dyes under a wide range of external conditions. Dye bioaccumulation experiments with *C. tropicalis* were carried out in a 250 mL volumetric flask at a working volume of 150 mL at 30 °C in a shaking bath for 15 days (140 rpm) with dye adapted yeast.

### Results:

The effect of pH on bioaccumulation was investigated at different initial pH values (3-6). The maximum specific growth rate of *C. tropicalis* and bioaccumulation percent of dye were obtained as 0.22 1/h and 50.3% at pH 5. Dye bioaccumulation and specific growth rates were found to be strongly depend on both initial total sugar and AV90 concentration. Monod equation was used to determine the relationship between growth and substrate (reducing sugar concentration) in the bioaccumulation of AV90 with *C. tropicalis*. It is observed that the inhibition of AV90 dye is a mixed type inhibition which is defined as a mixture of partial competitive and non-competitive inhibition. The Monod saturation constant ( $K_s$ , g/L) and maximum specific growth rate ( $\mu_m$ , 1/h) of control medium without dye were obtained as 1.21 g/L and 0.267 1/h for *C. tropicalis*. The maximum growth rate  $\mu_{mi}$  decreased from 0.267 to 0.227 1/h while the  $K_s$  Monod saturation constant values increased from 1.21 to 1.68 g/L ( $K_s$ ) for the increasing AV90 concentration from 0 to 400 mg/L. The inhibition constant,  $K_i$  was obtained as 1008 mg/L from linear mixed type equation.

### Conclusion:

In this study, the removal of metal-complex azo dye (AV90) from aqueous solutions was investigated by using *C. tropicalis*. In the process of AV90 removal, the effect of pH, initial dye concentration and reducing sugar concentration on yeast growth and dye bioaccumulation were investigated, and it was observed that these parameters affect both yeast growth and the bioaccumulation of dyes. As a result, the experimental results show that *C. tropicalis* can be used to remove AV90 dye from water.



## *Candida tropicalis* ile sulu çözeltilerden metal-kompleks boyar madde giderimi : Üreme ve inhibisyon kinetiği

Müjgan Okur<sup>1\*</sup>, Nurdan Saraçoğlu<sup>1</sup>, Zümriye Aksu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Maltepe, Ankara 06570, Türkiye

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Beytepe, Ankara 06532, Türkiye

### Ö N E Ç İ K A N L A R

- *C. tropicalis* ile boyar madde biyobirikimi
- *C. tropicalis*'in üreme ve inhibisyon kinetiği
- pH ve şeker derişiminin *C. tropicalis*'in üreme ve boyar madde biyobirikimine etkisi

#### Makale Bilgileri

Araştırma Makalesi  
Geliş: 03.10.2018  
Kabul: 01.02.2020

#### DOI:

10.17341/gazimmfd.467099

#### Anahtar Kelimeler:

Biyobirikim,  
*C. tropicalis*,  
üreme ve inhibisyon kinetiği,  
metal-kompleks boyar  
madde

#### ÖZET

Bu çalışmada Acid Violet 90 Cr-kompleks boyar maddesinin sulu ortamlardan giderimi için *Candida tropicalis* mayası kullanılmıştır. Boyar madde giderimine başlangıç pH (3-6), indirgen şeker derişimi (1-20 g/L) ve boyar madde derişiminin (20-400 mg/L) etkisi araştırılmıştır. En yüksek biyobirikim pH 5'te, başlangıç boyar madde derişimi 50 mg/L iken %50,3 olarak elde edilmiştir. Boyar madde içermeyen kontrol ortamında Monod doyunluk sabiti ve maksimum özgül üreme hızı 1,21 mg/L ve 0,267 1/h olarak bulunmuştur. AV90'nın *C. tropicalis* üremesine inhibisyonunu belirlemek için Lineer-karma tip inhibisyon modeli kullanılmıştır. AV90'nın inhibisyon sabiti ( $K_I$ ) 1008 mg/L olarak elde edilmiştir. Deneysel sonuçlar ve kinetik modelden elde edilen  $K_I$  değerinin yüksek olması *C. tropicalis*'in azo boyar maddeye karşı dirençli olduğunu ve azo boyar maddeleri içeren endüstriyel atıksuların biyolojik arıtımında kullanılabileceğini göstermektedir.

## Removal of metal-complex dye with *Candida tropicalis* from aqueous solutions : growth and inhibition kinetics

### H I G H L I G H T S

- Bioaccumulation of dye with *C. tropicalis*
- Growth and Inhibition Kinetics of *C. tropicalis*
- Effect of pH and sugar concentration on growth and dye bioaccumulation of *C. tropicalis*

#### Article Info

Research Article  
Received: 03.10.2018  
Accepted: 01.02.2020

#### DOI:

10.17341/gazimmfd.467099

#### Keywords:

Bioaccumulation,  
*C. tropicalis*,  
growth and inhibition  
kinetics,  
metal-complex dye

#### ABSTRACT

In this study *Candida tropicalis* was used to removal of the Acid Violet 90 Cr-complex dye from aqueous solutions. The effect of initial pH (3-6), reducing sugar (1-20 g/L) and dye concentrations (20-400 mg/L) on dye removal was examined. The highest bioaccumulations were obtained as 50.3% at 50 mg/L initial dye concentration at pH 5.0. Monod saturation constant ( $K_s$ ) and maximum specific growth rate ( $\mu_m$ ) obtained in the control medium containing no dye were found as 1.21 mg/L and 0.267 1/h. The linear mixed-type inhibition model was used to describe the inhibition of AV90 dye on the growth of *C. tropicalis*. The inhibition constant ( $K_I$ ) of AV90 was determined as 1008 mg/L. Experimental results and high  $K_I$  value obtained from kinetic model show that *C. tropicalis* was resistant to azo dye and this yeast may be used for biological treatment of industrial wastewaters containing azo dyes.

## 1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Sentetik boyarmaddeler tekstil, deri, kağıt, kozmetik gibi pek çok endüstri dalında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [1-3]. Tekstil endüstrileri dokuma ve boyama süreçlerinde çok miktarda su ve kimyasal tüketmektedirler ve çok büyük miktarlarda inorganik ve organik yükü olan atık su üretmektedirler [4]. Tekstil sektöründe yaklaşık 10.000'den fazla boyarmadde türü kullanılmakta ve yıllık dünya çapında 280.000 tondan fazla boya üretilmektedir [5]. Tekstil boyama prosesleri sırasında bu boyar maddelerin ve diğer kimyasalların yaklaşık %10-15 kadarı atık sulara karışmaktadır [6, 7]. Bu renkli atık sular alıcı ortamlara karıştıkları zaman suyun ışık geçirgenliğini engelleyerek, fotosentetik aktiviteyi etkilemektedirler. Ayrıca renkli atık sularda bulunabilecek aromatik bileşikler, ağır metaller, boyar maddeler ve diğer kimyasallar sudaki canlılar için toksik etkiye sahip olabilmektedirler [7, 8].

Boyar maddelerin çoğu sentetik kökenlidir ve karmaşık aromatik moleküler yapılara sahiptirler. Bu boyar maddelerin yapısal olarak kararlı olmaları nedeniyle biyo-parçalanmaları oldukça zordur [9-11]. Tekstil atık sularının arıtımında kimyasal koagülasyon/çöktürme, adsorpsiyon, elektrokimyasal oksidasyon, kimyasal oksidasyon, anaerobik/aerobik arıtım gibi fiziksel, kimyasal ve biyolojik metotlar uygulanmaktadır [5, 12]. Bu yöntemlerin bazıları maliyeti yüksek olmaları ve ikincil kirliliklere yol açmaları nedeni ile uygulamaları zor olmaktadır [13-16]. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, atık sulardaki bir çok boyar madde türünü biyobirikim yapabilen yada parçalayabilen mikroorganizma (bakteri, maya ve alg türleri) türlerinin olduğunu göstermektedirler [8, 17]. Bakteriler ile hızlı ve verimli mikrobiyal boyar madde giderimi elde edilmektedir. Bakteriler aynı zamanda boyar madde yapısındaki azo bağlarına etki ederek parçalanmalarına neden olmaktadır. Ancak, saf bakteri kültürlerinin bazı azo boyar maddeleri tamamen parçalayamaması ve oluşan aromatik aminlerin çevre ve bakteriler için oldukça toksik olması nedeni ile uygulamaları kısıtlı olmaktadır [18, 19]. Algler çevresel uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Ancak CO<sub>2</sub> derişimi ve ışık şiddeti gibi bir çok çevresel faktörler alglerin üremesini etkilediğinden, azo boyar maddelerin gideriminde daha az kullanılmalarına sebep olmaktadır [19]. Maya türleri ise birçok farklı yapıdaki boyar maddeyi ve ağır metalleri biyobirikim yapabilen, düşük maliyetli mikroorganizma türüdür. Mayaların üremeleri bakteriler kadar hızlı olmasada filamentli mantarların çoğundan daha hızlı üreyebilirler ve elverişsiz ortamlara direnme kabiliyetine sahiptirler. Ayrıca yüksek kirletici oranlarına sahip ortamlara, farklı pH ve sıcaklıklara sahip değişik koşullara kolayca adapte olabilir ve üreyebilirler [20, 21]. Yapılan çalışmalarda *Candida tropicalis* [8, 19-24], *Candida utilis* [25], *Saccharomyces cerevisiae* [26, 27], *Trichosporon akiyoshidainum* [28], *Magnusiomyces ingens* LH-F1 [29], *Pichia fermentans* MTCC 189 [30], izole *Pichia sp.* TCL [21], izole *Pichia occidentalis* 61 [31], izole *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF1 [7], *Pichia kudriavzevii* CR-Y103 [16],

*Rhodotorula glutinis* [32], *Trichosporon beigeli* NCIM-3326 [1], *Candida zeylanoides* [33], *Kluyveromyces marxianus* IMBB [34] mayaları azo yapılı reaktif ve asit boyar maddelerin gideriminde kullanılmışlardır. Metal-kompleks boyar maddelerin gideriminde ise *Cladosporium cladosporioides* [35], *Trametes versicolor* [36], *Funalia trogii* [37], *Penicillium oxalicum* [38], *Shewanella* strain J18 143 [6], *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus tamaris* [39,40] ve *Irpex lacteus* [41] gibi fungus ve bakteri kültürleri kullanılmıştır. Metal kompleks boyar maddelerin gideriminde mayaların kullanımı ile ilgili çok az bilgi bulunmaktadır.

Bu çalışmada C.I. Acid Violet 90 1:2 Cr-kompleks (AV90) boyarmaddesinin sulu ortamlardan giderimi için *C. tropicalis* mayası kullanılmıştır. *C. tropicalis* mayasının üremesi için karbon kaynağı olarak şeker pancarı melası kullanılmıştır. Melas yüksek derişimde sakkaroz, mikro elementler, vitaminler ve bazı amino asitleri içeren, ucuz, kolay ve bol bulunabilen önemli bir hammaddedir. *C. tropicalis* mayası boyar madde giderimi deneylerinde kullanılmadan önce AV90'a adapte edilmiştir. Başlangıç pH'ı, boyar madde derişimi, indirgen şeker derişimi gibi parametrelerin *C. tropicalis* ile AV90 biyobirikimi çalışmalarında AV90 giderimine etkisi incelenmiştir. *C. tropicalis*'in mikrobiyal üreme kinetiği inhibitörsüz ve inhibitörlü ortamda (AV90 varlığında) incelenmiştir.

## 2. DENEYSEL METOT (EXPERIMENTAL METHOD)

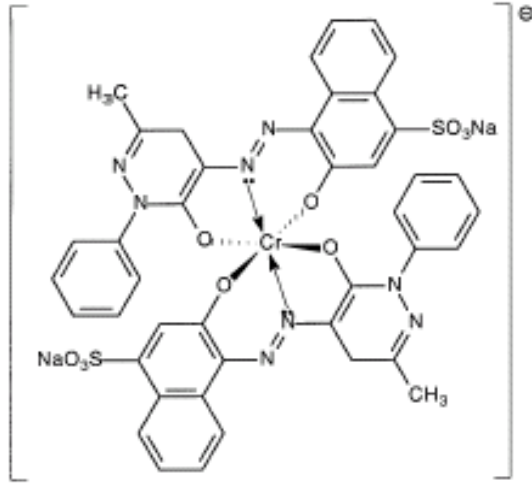
### 2.1 Mikroorganizma ve Üreme Koşulları (Microorganisms and growth conditions)

Deneylerde kullanılan *C. tropicalis* mayası, bileşimi 3 g/L maya özütü, 3 g/L malt özütü, 5 g/L pepton, 10 g/L glikoz ve 20 g/L agar olan agar besiyeri ortamında, +4°C olan ortamda korunmuştur. Mikroorganizmalar biyobirikim deneylerinde kullanılmadan önce eğik agardan üreme ortamına aktararak çoğalmaları sağlanmıştır. Üreme ortamı 10 g/L indirgen şeker, 1 g/L potasyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) ve 1 g/L amonyum sülfat ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) içermektedir. Üreme ortamının pH'ı 4'e 1 M'lık H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve 1 M'lık NaOH çözeltileri kullanılarak ayarlanmıştır. Hazırlanan 100 ml üreme ortamı 250 mL'lik erlende ağzı pamuk tıkaçla kapatılarak 121°C de 30 dakika süre ile steril edilmiştir. Eğik agardan, 100 mL çalışma hacmindeki üreme ortamına mikroorganizma aşılansarak 30°C sıcaklıkta 220 rpm karıştırma hızında manyetik karıştırıcıda mikroorganizmanın üremesi için bekletilmiştir.

Deneylerde karbon kaynağı olarak şeker pancarı melası kullanılmıştır. Şeker pancarı melası Ankara Şeker Fabrikaları'ndan temin edilmiştir. Melas deneylerde kullanılmadan önce seyreltik çözeltisi hazırlanmış ve pH'ı 2'ye getirilerek 90°C sıcaklıkta 5 dakika boyunca asidik hidrolize tabi tutulmuştur. Hidroliz sonrası santrifüj edilerek pH'ı 6'ya ayarlanmış ve +4°C'de buzdolabında korunmuştur.

## 2.2 Biyobirikim Deneyleri (Bioaccumulation Assay)

Biyobirikim deneylerinde kullanılan AV90 boyar maddesi yerel bir tekstil firmasında (ERSA COLOR) temin edilmiştir. AV90 boyarmaddesinin kimyasal yapısı Şekil 1’de verilmiştir [42]. Biyobirikim deneyleri, 150 mL çalışma hacmine sahip 250 mL’lik erlenlerde, 30°C sıcaklıkta, 140 rpm karıştırma hızında, çalkalamalı su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Biyobirikim deneylerinin gerçekleştirildiği ortamın kimyasal bileşimi üreme ortamı ile aynıdır. Deneylerde *C. tropicalis* mayası biyobirikim deneylerinden önce boyarmadde içeren ortama adapte edilmiştir. Deneyler sırasında ortam başlangıç pH’ı (3-6), başlangıç boyarmadde derişimi (20-400 mg/L) ve indirgen şeker derişiminin (3-20 g/L) boyar madde giderimine ve *C. tropicalis* üremesine etkisi incelenmiştir. Boyar madde giderimi deneyleri en az üç kez tekrarlanmıştır.



Şekil 1. AV 90’nın kimyasal yapısı  
(Chemical structure of AV90)

Boyar madde biyobirikim kapasitesi ( $q_m$ ; mg kuru *C. tropicalis* başına adsorplanan AV90 miktarı) ve biyobirikim yüzdesi ve özgül üreme hızı ( $\mu$ ) Eş. 1, Eş. 2 ve Eş. 3’den hesaplanmıştır.

$$q_m = \left( \frac{C_0 - C_f}{X_m} \right) \quad (1)$$

Biyobirikim Yüzdesi =

$$\left( \frac{C_0 - C_f}{C_0} \right) * 100 \quad (2)$$

$C_0$  : Başlangıç boyar madde derişimi (mg/L),

$C_f$  : Adsorpsiyon sonunda çözeltide kalan boyar madde derişimi (mg/L),

$X_m$  : Üremenin sonunda elde edilen en yüksek maya derişimi (kuru ağırlık) (g/L).

$$\mu * t = \ln \frac{X}{X_0} \quad (3)$$

1402

Bu eşitlikte  $X_0$  ve  $X$  üremenin başlangıcında ve  $t$  anındaki maya derişimidir (kuru ağırlık) (g/L). Özgül üreme hızı ( $\mu$ ),  $t$ ’ye karşı  $\ln(X/X_0)$  grafiğinin eğiminden hesaplanmıştır.

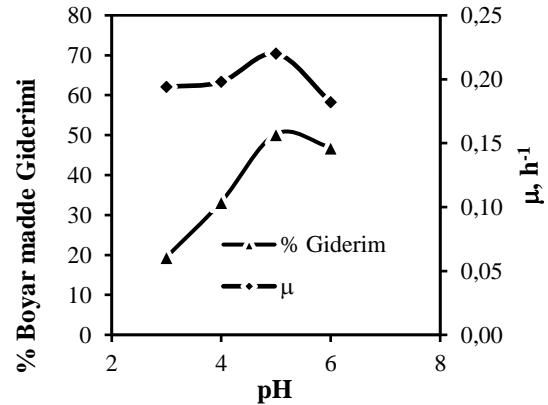
## 2.3 Analitik Yöntem (Analytical Methods)

Deneyler sırasında belirli zaman aralıklarında 3 mL örnek alınmış ve 3700 rpm’de 10 dakika süre ile santrifüjlenmiştir. Tüpte üstte kalan kısım boyar madde ve indirgen şeker analizinde, dipte kalan kısım ise maya derişiminin belirlenmesinde kullanılmıştır. Maya derişimi UV spektrometrede 600 nm’de absorbansı okunarak belirlenmiştir. Deney ortamının indirgen şeker analizi DNS yöntemiyle, glikozun dinitrosalisilik asitle yaptığı turuncu renkli kompleks yardımıyla tayin edilmiştir [43]. Boyarmadde derişimi ise UV spektrometrede 523 nm dalga boyunda belirlenmiştir.

## 3. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR (RESULTS AND DISCUSSIONS)

### 3.1 pH’in Etkisi (Effect of pH)

pH boyar madde giderimi çalışmalarında oldukça önemli parametrelerden birisidir. pH hem *C. tropicalis*’in üreme hızını hem de boyar madde biyobirikimini etkileyen bir parametredir. AV90 boyar maddesinin *C. tropicalis* ile gideriminde ortam pH’ı 3-6 aralığında değiştirilmiş ve en yüksek giderim pH 5’te elde edilmiştir. Bu pH’ta boyar madde giderimi %50,3 ve özgül üreme hızı 0,22 h<sup>-1</sup> olarak elde edilmiştir (Şekil 2). Das vd., [20] Acid Blue 93, Basic Violet, and Direct Red 28 boyar maddelerinin *Pichia fermentans* ile en yüksek biyobirikiminin, Tan vd., [29] yaptıkları çalışmada Acid Red B’nin *Magnusiomyces ingens* LH-F1 ile en yüksek gideriminin pH 5’te olduğunu göstermişlerdir. Tan vd., [7]’da yaptıkları çalışmada Acid Scarlet 3R’nin *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF1 ile en yüksek gideriminin pH 5’te olduğunu bulmuşlardır. Sonuç olarak anyonik bir boyar madde olan AV90’ın hafif asidik koşullarda *C. tropicalis* ile etkileşimi daha kuvvetli olmuştur.



Şekil 2. pH’in boyar madde giderimine ve özgül üreme hızına etkisi (10g/L indirgen şeker, 50 mg/L AV90, 30°C)  
(The effect of pH on dye removal and specific growth rate, (10g/L reducing sugar, 50 mg/L AV90, 30°C))

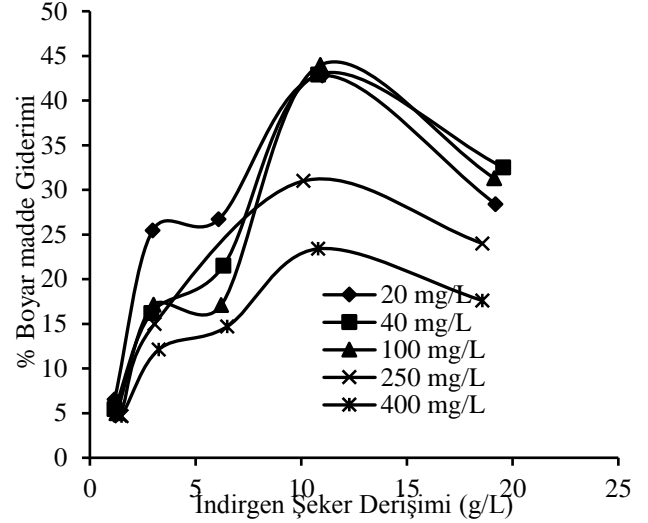
### 3.2 Başlangıç boyar madde ve indirge şeker derişiminin boyar madde biyobirikimine etkisi

(Effects of initial dye and reducing sugar concentration on dye bioaccumulation)

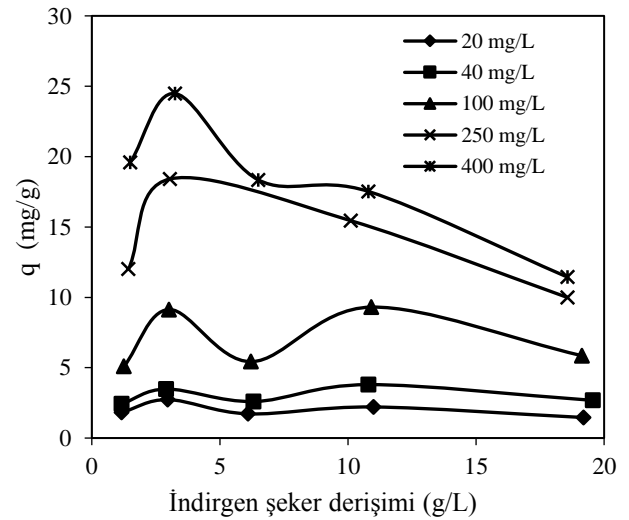
Başlangıç boyar madde (20-400 mg/L) ve indirgen şeker (1-20 g/L) derişiminin boyar madde giderimine etkisi pH 5'te incelenmiştir. Başlangıç boyar madde ve indirgen şeker derişiminin AV90 giderim yüzdesine etkisi Şekil 3'te, biyobirikim kapasitesine etkisi ise Şekil 4'te verilmiştir. Çalışılan bütün AV90 derişimlerinde, AV90 giderim yüzdesi, indirgen şeker derişiminin 10 g/L'ye artması ile artmış ancak bu derişimden sonra azalmıştır. En yüksek boyar madde biyobirikimi 10 g/L indirgen şeker ve 100 mg/L boyar madde derişiminde %44 giderim olarak elde edilmiştir. Diğer yandan yüksek boyar madde derişimlerinde, indirgen şeker derişimi 3 g/L'nin üzerine çıkarıldığında biyobirikim kapasitesi azalma eğilimi göstermiştir. İndirgen şeker derişiminin 1 g/L'den 20 g/L'ye artması ile, ortamda erişilen en yüksek *C. tropicalis* derişimi artmıştır (Şekil 5). Artan şeker derişimine bağlı olarak mikroorganizma tarafından tutulan boyar madde miktarı artmasına rağmen biyobirikim kapasitesi azalmıştır. Benzer şekilde, Taşkın ve Erdal [44] *Aspergillus niger* ile reaktif boyar madde biyobirikiminin, melas sakkarozu derişiminin 10 g/L'ye artmasıyla attığını, melas derişimi 10 g/L'nin üzerine çıkarıldığında ise mikroorganizma üremesinin artmasına rağmen azaldığını gözlemlemişlerdir. Bazı araştırmacılar mikroorganizma hücrelerinin, boya molekülleri yerine glukoz kullanmayı tercih etmesi nedeniyle boyar madde gideriminin artan şeker derişimi ile azaldığını belirtmişlerdir [5, 15, 21, 29]. Bu çalışmada ise indirgen şeker derişimi artışı ile biyobirikimin azalmasının diğer bir nedeninin melasın kompleks yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Melas içeriğindeki indirgen şekerlere ilaveten azotlu bileşikler, ağır metalleri, organik ve inorganik bileşikler de içermektedir. Ortam başlangıç indirgen şeker derişiminin artmasına bağlı olarak melas ortamındaki diğer bileşenlerinde miktarlarında artış olmaktadır. Bu durumda *C. tropicalis* mayası boyar madde ile birlikte şeker dışı bu bileşikler ve ağır metalleri biyobirikim yapmış olabilmektedir (Şekil 3). Yapılan deneylerde en yüksek boyar madde biyobirikim kapasitesi 24,5 mg/g olarak 416,5 mg/L boyar madde ve 3,3 g/L indirgen şeker derişiminde elde edilmiştir. Benzer şekilde Aksu ve Dönmez [8] başlangıç sakkaroz derişiminin artmasının biyobirikim kapasitesini azalttığını, Chen vd. [45] yüksek glikoz derişimlerinde biyobirikimin azaldığını belirtmişlerdir. Bunların aksine bazı çalışmalarda şeker derişimi artışının mikroorganizma üremesi yanında boyar madde giderimini arttırdığı belirtilmektedir [20]. Şeker derişiminin boyar madde gideriminde sebep olduğu bu farklılık mikrobiyal kültürlerin farklı olmasından, boyar madde yapısının ve üreme ortamı bileşiminin farklı olmasından kaynaklanabilmektedir.

Sabit indirgen şeker derişiminde, başlangıç boyar madde derişiminin 20 mg/L'den 400 mg/L'ye artışıyla AV90 giderim yüzdesi azalmış, buna karşılık biyobirikim kapasitesi artış göstermiştir (Şekil 3-4). Farklı boyar madde

derişimleri (20-400 mg/L) için en yüksek boyar madde giderim yüzdesi, 10 g/L indirgen şeker derişiminde %23,4-44 arasında elde edilmiştir. Bu şeker derişiminde 1,7-17,5 mg/g biyobirikim kapasiteleri elde edilmiştir. Deneyler sırasında 3 g/L indirgen şeker içeren ortamda elde edilen en yüksek biyobirikim kapasiteleri 2,73-24,5 mg/g olarak elde edilmiştir.



Şekil 3. Başlangıç boyar madde ve indirge şeker derişiminin AV90 biyobirikimine etkisi (Effects of initial dye and reducing sugar concentration on AV90 bioaccumulation)



Şekil 4. Başlangıç boyar madde ve indirge şeker derişiminin *C. tropicalis*'in özgül üreme hızına etkisi (Effects of initial dye and reducing sugar concentration on specific growth rate of *C. tropicalis*)

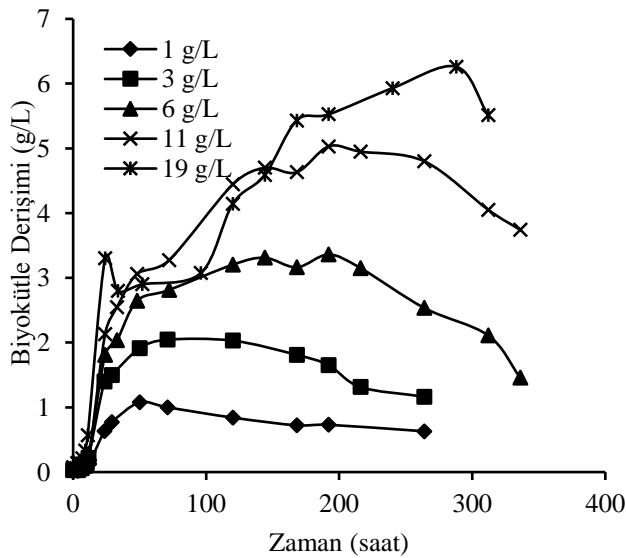
### 3.3 Başlangıç boyar madde ve indirge şeker derişiminin üremeye etkisi

(Effects of initial dye and reducing sugar concentration on growth)

İndirgen şeker derişimi ve AV90 derişiminin *C. tropicalis* mayasının üreme ve üreme hızına etkisi hem boyarmadde içeren hem de boyarmadde içermeyen kontrol ortamlarında

incelenmiştir. Hem bu kontrol deneylerinde (Şekil verilmemiştir) hem de ortamda boyarmadde içeren deneylerde indirgen şeker derişimi arttıkça artan şeker miktarına bağlı olarak *C.tropicalis* mayasının üremesinde belirgin bir artış olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5). Ayrıca Şekil 5'ten düşük indirgen şeker derişimlerinde üremenin tamamlanma süresinin kısa olduğu, ortamdaki başlangıç indirgen şeker derişimi arttırıldıkça üremenin tamamlanması için geçen sürenin uzadığı görülmüştür. Bununla birlikte elde edilen en yüksek derişiminin şeker derişimi ile arttığı gözlenmiştir.

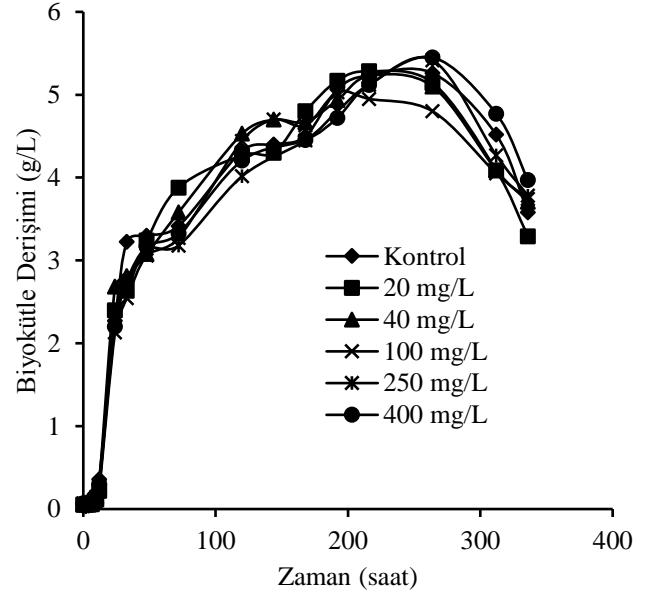
Şekil 6 10 g/L indirgen şeker içeren ortamda, farklı başlangıç AV90 derişimlerinde *C. tropicalis* üreme eğrilerini göstermektedir. Farklı boyar madde derişimlerinde elde edilen üreme eğrilerinde lag fazının gözlenmemesinin, mayanın boyar maddeye adaptasyonu sonucu olduğu düşünülmektedir. Farklı boyar madde derişimlerine sahip üreme eğrilerinin birbirine oldukça yakın olduğu, ancak boyar madde derişiminin artışına bağlı olarak erişilen en yüksek *C. tropicalis* derişiminin azda olsa azaldığı görülmektedir (Şekil 6). Bu durum çalışılan bütün indirgen şeker derişimlerinde gözlenmiştir. Bu durum boyar maddenin *C. tropicalis*'in üremesini azda olsa engellediğini, maya üzerinde toksik bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Saratale vd. [1] boyanın maya hücrelerine toksik etki yaptığı ve hücre derişimindeki azalmanın boyar madde biyobirikiminde azalmaya yol açtığını, Das vd. [30] boyar madde içeren ortamda boyar maddenin maya hücrelerinin biyobirikimini engellediğini gözlemlemişlerdir.



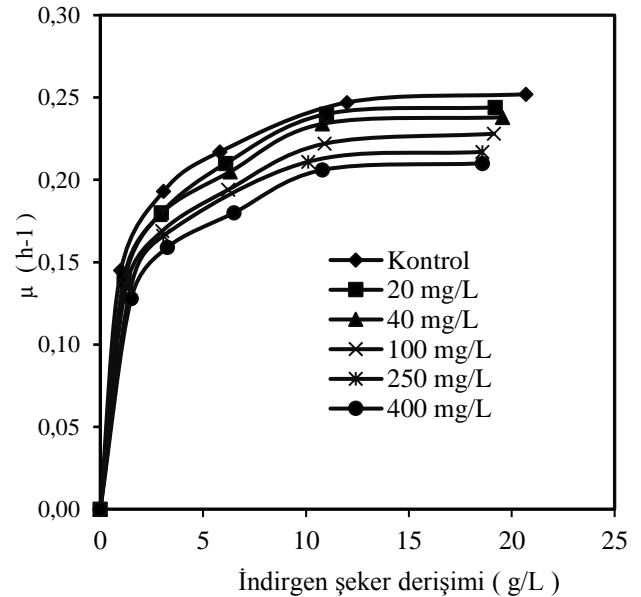
**Şekil 5.** İndirgen şeker derişiminin *C. tropicalis* üremesine etkisi (100 mg/L AV90, pH 5)  
(Effect of reducing sugar concentration on growth of *C. tropicalis* (100 mg/L AV90, pH 5))

İndirgen şeker derişimi ve AV90 derişiminin *C. tropicalis* mayasının özgül üreme hızına etkisi Şekil 7'de verilmiştir. En yüksek özgül üreme hızları boyar madde içermeyen kontrol ortamlarında elde edilmiştir. Çalışılan indirgen şeker derişimi aralığında (1-20 g/L), kontrol ortamlarında 0,145-1404

0,252 h<sup>-1</sup> özgül üreme hızları elde edilmiştir. Boyar madde içeren ortamlarda ise ortamdaki boyar madde derişimi arttıkça özgül üreme hızları azalma eğilimi göstermiştir. 20 mg/L AV90 derişimde 0,142-0,244 h<sup>-1</sup> ve 400 mg/L AV90 derişimde 0,128-0,210 h<sup>-1</sup> özgül üreme hızları elde edilmiştir.



**Şekil 6.** AV90 derişiminin *C. tropicalis* üremesine etkisi (10 g/L indirgen şeker, pH 5)  
(Effect of AV90 concentration on growth of *C. tropicalis* (10 g/L reducing sugar, pH 5))



**Şekil 7.** Farklı AV90 derişimleri için özgül üreme hızı ile indirgen şeker derişimi arasındaki ilişki  
(Relationship between specific growth rate and reducing sugar concentration for different AV90 concentrations)

*C. tropicalis* mayası ile AV90 biyobirikimi çalışmalarında, özgül üreme hızı ile substrat (indirgen şeker derişimi) arasındaki ilişkiyi belirleyebilmek için Monod denklemi

kullanılmıştır. İnhibitör içermeyen ortamda Monod denklemi [46]: (Eş. 4)

$$\mu = \frac{\mu_m S_o}{K_S + S_o} \quad (4)$$

Bu eşitlikte  $S_o$ : başlangıç indirgen şeker derişimi (g/L),  $\mu$  ve  $\mu_m$ : özgül üreme hızı ve maksimum özgül üreme hızı ( $h^{-1}$ ), ve  $K_S$ : Monod doygunluk sabitini (g/L) göstermektedir. Monod eşitliğinin doğrusal formu Eş. 5 ile verilmiştir.

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_m} + \frac{K_S}{\mu_m} \frac{1}{S_o} \quad (5)$$

Boyar madde içermeyen inhibitörsüz ortamda (kontrol ortamı)  $K_S$  ve  $\mu_m$  sabitlerini hesaplayabilmek için  $1/S_o$ 'a karşı  $1/\mu$  grafiğı çizilmiştir (Şekil 8). Özgül üreme hızı ( $\mu$ ) Bölüm 2.2'deki Eş. 3 yardımı ile hesaplanmıştır. Kontrol ortamı (en alttaki eğri) için bu doğrunun y eksenini kestiğı noktadan  $\mu_m$  sabiti  $0,267 h^{-1}$  olarak ve Monod doygunluk sabiti  $K_S$   $1,21 g/L$  olarak hesaplanmıştır.  $K_S$  değerinin düşük olması, mikroorganizmanın düşük şeker derişimlerinde hızlı ürediğini göstermektedir.

Özgül üreme hızı ortamda boyarmadde gibi inhibitörler varlığında inhibitör derişimine bağı olarak değışebilmektedir. İnhibitör olarak ortamda bulunan boyar maddenin *C. tropicalis*'in özgül üreme hızı üzerinde gösterdiği inhibisyon etkisi yarışmalı, yarışmasız ve kısmi yarışmalı inhibisyon olmak üzere sınıflandırılmaktadır. *C. tropicalis* mayasının boyarmadde biyobirikimi için, Şekil 8'de farklı boyar madde derişimleri için çizilen doğrular birbirini, y eksenini üzerinde veya x eksenini üzerinde değıilde ara bir noktada kesmektedir. Şekil 8'e göre boyar maddeden kaynaklanan inhibisyonun, kısmi yarışmalı ve yarışmasız

inhibisyonun karışımı olarak nitelendirilen lineer karma tip inhibisyon (mixed type inhibition) [47] olduğu görülmektedir.

Lineer karma tip inhibisyon modelinden elde edilen hız eşitliğı Eş. 6 ile verilmiştir.

$$\mu = \frac{\mu_m S / (1 + I / (\alpha K_I))}{K_S \left( \frac{1 + I / (\alpha K_I)}{1 + I / (\alpha K_I)} \right) + S} \quad (6)$$

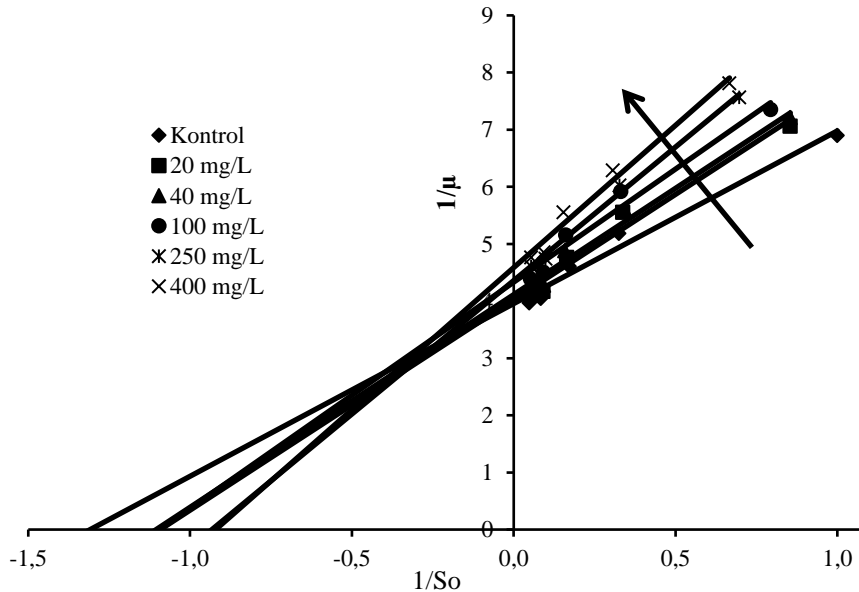
Bu eşitliğin doğrusallaştırılmış hali Eş. 7'da, bu eşitlikteki  $K_S^1$  ve  $\mu_{m1}$  ifadeleri Eş. 8 ve Eş. 9'de verilmiştir.

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_S^1}{\mu_m} \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{m1}} \quad (7)$$

$$K_S^1 = K_S \left( 1 + \frac{I}{K_I} \right) \quad (8)$$

$$\mu_{m1} = \frac{\mu_m}{\left( 1 + \frac{I}{\alpha K_I} \right)} \quad (9)$$

Bu eşitliklerde  $I$ : inhibitör (AV90) derişimi ve  $K_I$ : inhibisyon sabitidir. (mg/L). Her bir boyarmadde derişimi için, çizilen  $1/S_o$ 'a karşı  $1/\mu$  grafiğinden ve Eş. 8 ve Eş. 9 kullanılarak  $K_I$   $1008 mg/L$  ve  $\alpha$  faktörü  $2,06$  olarak hesaplanmıştır. İnhibisyon sabitinin ( $K_I$ ) yüksek olması, yüksek derişimlerdeki boyar maddenin mikroorganizmanın üremesi üzerindeki inhibisyon etkisinin düşük olduğunu göstermektedir. Diğer yandan düşük inhibisyon sabiti, boyar maddenin mikroorganizma üremesine inhibisyon etkisinin yüksek olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, çalışılan boyar madde derişimi aralığında, AV90'nın *C.tropicalis* üremesine inhibisyon etkisinin düşük olduğu söylenebilir. Das vd. [20] yaptıkları çalışmada inhibitör olarak Basic



Şekil 8. Lineweaver-Burk grafiğı (Lineweaver-Burk plot)

Violet 3, Direct Red 28 ve Acid Blue 93 bulunan ortamda  $K_1$  değerini yarışmasız inhibisyon kinetiği ile sırası ile 137,2 mg/L, 142,3 mg/L, and 195,18 mg/L olarak elde etmişlerdir. Benzer şekilde Sponza ve Işık [48] anaerobik kültür ile Direct Brown 2 and Reactive Black 5 giderimi için yaptıkları çalışmada inhibisyon sabitini 322 mg/L ve 2865 mg/L olarak bulmuşlardır.

#### 4. SONUÇLAR (CONCLUSIONS)

Bu çalışmada sulu ortamlarda bulunan azo boyar maddenin giderimi için *C. tropicalis* mayası kullanılmıştır. AV90 giderimi prosesinde, pH, başlangıç boyar madde derişimi ve indirgen şeker derişiminin maya üremesine ve boyar madde birikimine etkisi incelenmiş ve bu parametrelerin biyobirikim prosesinde hem maya üremesini etkilediği hemde boyar madde biyobirikimini etkilediği gözlemlenmiştir. pH etkisinin incelendiği deneylerde en yüksek boyar madde biyobirikimi pH 5'te elde edilmiştir. Çalışılan bütün AV90 derişimlerinde, AV90 giderim yüzdesi, indirgen şeker derişiminin 10 g/L'ye artması ile artmış ancak bu derişimden sonra azalmıştır. Diğer yandan AV90 boyar maddesi *C. tropicalis* mayasının üremesi üzerinde inhibisyon etkisine sahip olup bu inhibisyon biyobirikimi de etkilemektedir. Özgül üreme hızı ile substrat arasındaki ilişkiyi belirleyebilmek için Monod denkleminde yararlanılmıştır. İnhibitörsüz ortamda bu eşitliklerden elde edilen  $\mu_m$  0,267 h<sup>-1</sup> ve Monod doyunluk sabiti  $K_S$  1,21 g/L olarak bulunmuştur. Boyar maddenin *C. tropicalis*'in özgül üreme hızı üzerindeki inhibisyon etkisi deney sonuçları ile çizilen grafiklerden lineer karma tip inhibisyon ile ifade edilmiş, inhibisyon sabiti  $K_I$  1008 mg/L olarak belirlenmiştir. İnhibisyon sabitinin bu değerine göre, çalışılan boyar madde derişimi aralığında, AV90'nın *C. tropicalis* üremesine inhibisyon etkisinin düşük olduğu düşünülmektedir. Sonuç olarak, bu araştırmaya göre *C. tropicalis* mayasının AV90 boyar maddesinin sulardan gideriminde kullanılabileceği görülmüştür.

#### TEŞEKKÜR (ACKNOWLEDGMENT)

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesindeki katkılarından dolayı Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (BAP-06 / 2007-56) teşekkür ederiz.

#### KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Saratale R.G., Saratale G.D., Chang J.S., Govindwar S.P., Decolorization and biodegradation of textile dye Navy blue HER by *Trichosporon beigeli* NCIM-3326, *J. Hazard. Mater.*, 166, 1421-1428, 2009.
2. Liu W., Liu L., Liu C., Hao Y., Yang H., Yuan B., Jiang J., Methylene blue enhances the anaerobic decolorization and detoxication of azo dye by *Shewanella onediensis* MR-1, *Biochem. Eng. J.*, 110, 115-124, 2016.
3. Gajera H.P., Bambharolia R.P., Hirpara D.G., Patel S.V., Golakiya B.A., Molecular identification and characterization of novel *Hypocrea koningii* associated with azo dyes decolorization and biodegradation of

- textile dye effluents, *Process Safety and Environmental Protection*, 98, 406-416, 2015.
4. Xu F., Mou Z., Geng J., Zhang X., Li C., Azo dye decolorization by a halotolerant exoelectrogenic decolorizer isolated from marine sediment, *Chemosphere* 158, 30-36, 2016.
5. Meerbergen K., Crauwels S., Willems K.A., Dewil R., Impe J.V., Appels L., Lievens B., Decolorization of reactive azo dyes using a sequential chemical and activated sludge treatment, *J. Biosci. Bioeng.*, 124 (6), 668-673, 2017.
6. Li T., Guthrie J.T., Colour removal from aqueous solutions of metal-complex azo dyes using bacterial cells of *Shewanella* strain J18 143, *Bioresour. Technol.*, 101, 4291-4295, 2010.
7. Tan L., He M., Song L., Fu X., Shi S., Aerobic decolorization, degradation and detoxification of azo dyes by a newly isolated salt-tolerant yeast *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF1, *Bioresour. Technol.*, 203, 287-294, 2016.
8. Aksu Z., Dönmez G., Combined effects of molasses sucrose and reactive dye on the growth and dye bioaccumulation properties of *Candida tropicalis*, *Process Biochem.*, 40, 2443-2454, 2005.
9. Fu Y., Viraraghavan T., Fungal decolorization of dye wastewaters: a review. *Bioresour. Technol.*, 79, 251-262, 2001.
10. Sharma S.C.D., Sun Q., Li J., Wang Y., Suanon F., Yang J., Yu C.P., Decolorization of azo dye methyl red by suspended and co-immobilized bacterial cells with mediators anthraquinone-2,6-disulfonate and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 112, 88-97, 2016.
11. Tuttolomondo M.V., Alvarez G.S., Desimone M.F., Diaz L.E., Removal of azo dyes from water by sol-gel immobilized *Pseudomonas* sp., *J. Environ. Chem. Eng.*, 2, 131-136, 2014.
12. Przystas W., Zabłocka-Godlewska E., Grabinska-Sota E., Efficiency of decolorization of different dyes using fungal biomass immobilized on different solid supports, *Brazilian Journal of Microbiology*, 49, 285-295, 2018.
13. Erdem F., Tosun A., Ergun M., Biosorption of Remazol Yellow (RR) by *Saccharomyces cerevisiae* in a batch system, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University* 31 (4), 971-978, 2016.
14. Martorell M.M., Pajot H.F., Figueroa L.I.C., Dye-decolourizing yeasts isolated from Las Yungas rainforest. Dye assimilation and removal used as selection criteria, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 66, 25-32, 2012.
15. Hameed B.B., Ismail, Z.Z., Decolorization, biodegradation and detoxification of reactive red azo dye using non-adapted immobilized mixed cells, *Biochemical Engineering Journal*, 137, 71-77, 2018.
16. Rosu C.M., Avadanei M., Gherghel D., Mihasan M., Mihai C., Trifan A., Miron A., Vochita G., Biodegradation and Detoxification Efficiency of Azo-Dye Reactive Orange 16 by *Pichia kudriavzevii* CR-Y103, *Water Air Soil Pollut.*, 229 (15), 1-18, 2018.



17. Hadibarata T., Syafiuddin A., Al- Dhabaan F.A., Elshikh M.S., Rubiyatno, Biodegradation of Mordant orange-1 using newly isolated strain *Trichoderma harzianum* RY44 and its metabolite appraisal, *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 41, 621–632, 2018.
18. Saroj S., Kumar K., Pareek N., Prasad R., Singh R.P., Biodegradation of azo dyes Acid Red 183, Direct Blue 15 and Direct Red 75 by the isolate *Penicillium oxalicum* SAR-3, *Chemosphere*, 107, 240–248, 2014.
19. Tan L., Ning S., Zhang X., Shi S., Aerobic decolorization and degradation of azo dyes by growing cells of a newly isolated yeast *Candida tropicalis* TL-F1, *Bioresour. Technol.*, 138, 307–313, 2013.
20. Das D., Charumathi D., Das N., Combined effects of sugarcane bagasse extract and synthetic dyes on the growth and bioaccumulation properties of *Pichia fermentans* MTCC 189, *J. Hazard. Mater.*, 183, 497–505, 2010.
21. Qu Y., Cao X., Ma Q., Shi S., Tan L., Li X., Zhou H., Zhang X., Zhou J., Aerobic decolorization and degradation of Acid Red B by a newly isolated *Pichia* sp. TCL, *J. Hazard. Mater.*, 223–224, 31–38, 2012.
22. Das D., Charumathi D., Das N., Bioaccumulation of the synthetic dye Basic Violet 3 and heavy metals in single and binary systems by *Candida tropicalis* grown in a sugarcane bagasse extract medium: Modelling optimal conditions using response surface methodology (RSM) and inhibition kinetics, *J. Hazard. Mater.*, 186, 1541–1552, 2011.
23. Dönmez G., Bioaccumulation of the reactive textile dyes by *Candida tropicalis* growing in molasses medium, *Enzyme and Microb. Technol.*, 30, 363–366, 2002.
24. Arora S., Saini H.S., Singh K., Decolorisation of a monoazo disperse dye with *Candida tropicalis*, *Color. Technol.*, 121, 298–303, 2005.
25. Gönen F., Aksu Z., Predictive expressions of growth and Remazol Turquoise Blue-G reactive dye bioaccumulation properties of *Candida utilis*, *Enzyme and Microb. Technol.*, 45, 15–21, 2009.
26. Aksu Z. Reactive dye bioaccumulation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochem.*, 38, 1437–1444, 2003.
27. Jadhav J.P., Parshetti G.K., Kalme S.D., Govindwar S.P., Decolorization of azo dye methyl red by *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 463, *Chemosphere*, 68, 394–400, 2007.
28. Pajot H.F., Farina J.I., Figueroa L.I.C., Evidence on manganese peroxidase and tyrosinase expression during decolorization of textile industry dyes by *Trichosporon akiyoshidainum*, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 65(8), 1199–1207, 2011.
29. Tan L., Li H., Ning S., Xu B., Aerobic decolorization and degradation of azo dyes by suspended growing cells and immobilized cells of a newly isolated yeast *Magnusiomyces ingens* LH-F1, *Bioresour. Technol.* 158, 321–328, 2014.
30. Charumathi D., Das N., Bioaccumulation of Synthetic Dyes by *Candida tropicalis* Growing in Sugarcane Bagasse Extract Medium, *Advances in Biological Research*, 4 (4), 233–240, 2010.
31. Song L., Shao Y., Ning S., Tan L., Performance of a newly isolated salt-tolerant yeast strain *Pichia occidentalis* G1 for degrading and detoxifying azo dyes, *Bioresour. Technol.*, 233, 21–29, 2017.
32. Saravanan P., Sivakumar P., Suganya T., Nagendra Gandhi N., Renganathan S., Bioaccumulation of reactive red 11 using live yeast *Rhodotorula glutinis*, *Indian Journal of Environmental Protection* 32 (3), 249–255, 2012.
33. Ramalho P.A., Scholze H., Helena Cardoso M., Teresa Ramalho M., Oliveira-Campos A.M., Improved conditions for the aerobic reductive decolourisation of azo dyes by *Candida zeylanoides*, *Enzyme and Microb. Technol.*, 31, 848–854, 2002.
34. Meehan C., Banat I., McMullan G., Nigam P., Smyth F., Marchant R., Decolorization of Remazol Black-B using a thermotolerant yeast, *Kluyveromyces marxianus* IMB3. *Environ. Int.*, 26, 75–79, 2000.
35. Vijaykumar M., Veeranagouda Y., Neelakanteshwar K., Karegoudar T., Decolorization of 1: 2 metal complex dye Acid blue 193 by a newly isolated fungus, *Cladosporium cladosporioides*, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 22, 157–162, 2006.
36. Blánquez P., Caminal G., Sarrà M., Vicent T., The effect of HRT on the decolourisation of the Grey Lanaset G textile dye by *Trametes versicolor*, *Chem. Eng. J.*, 126, 163–169, 2007.
37. Park C., Lee M., Lee B., Kim S.W., Chase H.C., Lee J., Kim S., Biodegradation and biosorption for decolorization of synthetic dyes by *Funalia trogii*, *Biochem. Eng. J.*, 36, 59–65, 2007.
38. Xin B., Chen G., Zheng W., Bioaccumulation of Cu-complex reactive dye by growing pellets of *Penicillium oxalicum* and its mechanism, *Water Res.*, 44, 3565–3572, 2010.
39. Ghosh A., Ghosh Dastidar M., Ramaswamy Sreekrishnan T., Bioremediation of a Chromium Complex Dye Using *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*, *Chemical Engineering Technology*, 39 (9), 1636–1644, 2016.
40. Ghosh, A., Ghosh Dastidar, M., Ramaswamy Sreekrishnan, T., Bioremediation of chromium complex dyes and treatment of sludge generated during the process. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 119, 448–460, 2017.
41. Kalpana D., Shim J.H., Oh B.T., Senthil K., Lee Y.S., Bioremediation of the heavy metal complex dye Isolan Dark Blue 2SGL-01 by white rot fungus *Irpex lacteus*, *J. Hazard. Mater.*, 198, 198–205, 2011.
42. Blackburn R.S., Burkinshaw S.M., A greener approach to cotton dyeings. Part 2: application of 1:2 metal complex acid dyes. *Green Chemistry*, 4, 261–265, 2002.
43. Miller G.L., Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar, *Anal. Chem.*, 31, 426–428, 1959.
44. Taşkın M., Erdal S., Reactive dye bioaccumulation by fungus *Aspergillus niger* isolated from the effluent of sugar fabric-contaminated soil, *Toxicology and Industrial Health*, 26 (4), 239–247, 2010.

45. Chen K.C., Wu J. Y., Liou D.J., Hwang S.C.J., Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains. *J. Biotechnol.*, 101, 57-68, 2003.
46. Keklikciođlu akmak N., Aikel ., Study of lipase enzym activity with *Candida utilis* yeast in different media condition, *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 30 (3), 475-485, 2015.
47. Segel I. H., *Enzyme kinetics*, Wiley, New York, Rapid equilibrium partial and mixed-type inhibition, 161-226, 1975.
48. Sponza D.T., Işık M., Decolorization and inhibition kinetic of Direct Black 38 azo dye with granulated anaerobic sludge, *Enzyme Microb. Technol.*, 34, 147-158, 2004.