

# TEKSTİL ENDÜSTRİSİNDE KULLANILAN EVERZOL BRILLIANT BLUE R/SP BOYARMADDESİNİN FUNALIA TROGİİ KÜLTÜR FILTRATI İLE RENGİNİN GİDERİLMESİ

## DECOLORIZING DYESTUFF EVERZOL BRILLIANT BLUE R/SP USED IN THE TEXTILE INDUSTRY BY FUNALIA TROGII CULTURE FILTRATE

Kuddis BÜYÜKAKILLI

Mersin Üniversitesi, Tarsus Meslek  
Yüksekokulu, Tekstil Bölümü, Mersin

Ali ÜNYAYAR

Mersin Üniversitesi, Tarsus Meslek  
Yüksekokulu, Tekstil Bölümü, Mersin

Mehmet Ali MAZMANCI

Mersin Üniversitesi, Mühendislik  
Fakültesi, Çevre Mühendisliği AB, Mersin

It was investigated that kinetic parameters, effects on the decolorization with Everzol Brilliant Blue R/SP by the culture filtrate from *Funalia trogii* produced solid state fermentation by incubating 10 days at 30°C and pH 5. Maximum decolorization rate occurs with 75 mg/L dye and 150 µL culture filtrate at incubation conditions are pH 3 and 40°C.

### 1. GİRİŞ

Boyarmaddeler medeniyetimizin gereklili bir parçasıdır, fakat bu endüstrinin atıklarıyla çevresel kirlenmeye de neden olurlar (1). Tekstil endüstrisi atık suyu bir çok kirletici madde içeren kompleks bir karışımındır. Bu kirletici maddelerin bir kısmı, organikler esaslı pestisitler, ağır metaller ve boyarmaddelerdir (2). Renk genellikle atık suda farkedilen ilk kirlilikdir. Sudaki çok küçük miktarındaki boyarmadde (10-50 mg/L) hemen fakedilir ve estetik duyguları, su geçirgenliğini ve gaz çözünürlüğünü etkiler. Azo, antrakinon ve indigo kimyasal yapılarındaki boyarmaddeler ticari olarak en çok rastlanan renk verici kimyasal gruplardır (3).

Basidiomycetes grubundan beyaz çürükçül fungusun lignini tamamen parçalayan ve mineralize eden tek mikroorganizma grubu olduğu bilinmektedir (4). Bunlar doğaya yabancı maddelerin oksidasyonunda hızlı değildir (5). Beyaz çürükçül fungusun ligninsel kültürlerinin çeşitli kombinasyonlarda mangen peroksidaz (MnP), lignin peroksidaz (LiP), lakkaz ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşturan enzimler salgıladığı bilinmektedir (6).

Saflaştırılmış MnP ve LiP in vitro olarak ligninin kısmi depolimerizasyonunu katalizleme yeteneğine sahiptir. Bu enzimatik aktiviteler aynı zamanda çeşitli doğaya dirençli sentetik bileşiklerin parçalanmasında da etkilidir (7).

Azo boyarmaddelere benzeyen fakat onlardan farklı yapıdaki, doğaya yabancı kimyasal maddeler olan antrakinon boyarmaddelerin enzimatik yıkım çalışmaları az sayıda yapılmıştır. *Geotrichum candidum* Dec 1, azo ve antrakinon yapıdaki boyarmaddelerin rengini giderebilmektedir. Bu mikroorganizma türünün hücre dışı peroksidaz tipi enzimleri renk giderme olayına karışmaktadır (8).

Bir *Pycnoporus cinnabarinus* türü, endüstriyel atık suyun ve endüstriyel vinil sülfon boyarmaddesi RBBR'nin rengini giderir. Bir biyoreaktörde 25 gün süreyle *P. cinnabarinus* tarafından lakkaz salgılanması önemli ölçüde gerçekleştirilmiş ve bu enzim Chicago Sky Blue (CSB) kromoforanın ilk yıkımında kullanılmıştır (9). Bir azo boyarmadde olan Congo Red'in LiP'in bir substrati olduğu gösterilmiştir. Ortamda ham LiP karışımı ve hidrojen peroksit bulun-

duğunda Congo Red boyasının % 54 oranında renginin giderildiği saptanmıştır (10).

Kahverengi çürükçül fungus *Polyporus ostreiformis* Congo Red boyarmaddesinin rengini % 99 oranında gidermektedir. Bu mikroorganizma MnP, asid protoza, α-amilaz ve LiP üretir. Beyaz çürükçül fungus ve kahverengi çürükçül fungus kültürleri karışımı biyolojik renk giderme için verimli bir şekilde kullanılabilir. Çünkü kahverengi çürükçül fungusun zincir koparma, demetilasyon ve demetoksilasyon yetenekleri beyaz çürükçül fungusun halka kırma yeteneğini tamamlayabilir ve böylece daha hızlı bir renk giderimi sağlanabilir (11).

Enzimlerle boyarmaddelerin renginin giderilmesinde, başlangıç renk giderme hızları, boyarmaddelerin fenolik halkalarındaki gruplara bağlıdır (12). Spektral değişimlerindeki farklılıklar temelinde farklı kimyasal yapılardaki boyarmaddeler gayet benzer kinetik eğriler gösterir (13). Katalizleme reaksiyonu, substrattan bir elektron çekilmesi olayından ibaret olduğu için oksitlenen grubun elektron yoğunluğu sevi-

yesi substratın oksidasyon hızını belirlemeye anahtar bir rol oynar (14).

Renk giderme çalışmaları boyarmaddenin sadece kromofor grubunun transformasyonunu ifade eder; mineralizasyon ise, boyarmaddenin karbon dioksitle dönüşümü anlamına gelir (15). Enzimler protein yapısında olduklarından pH amino asidlerin iyonizasyon durumunu etkilemeye ve bütün aktiviteyi kontrol etmektedir (16).

Genel bir kural olarak, boyarmaddelerin LiP ile renginin giderilmesi, her sınıfa uygulanabilir. *Phanerchaete chrysosporium* tarafından salgılanan LiP, elektrik yükü ile ilintisiz olarak farklı kimyasal yapı ve sınıflardaki boyarmaddelerin rengini giderir. Bunlar aynı zamanda tekstil endüstrisinde kullanılan ve gayet kararlı olan bir çok antrakinon ve ftalosianin boyarmaddenin rengini gidermeye muktedirdir (13).

Lakkaz katalizörüğünde boyarmadde dekompozisyon mekanizması, kimyasal yapıya bağlıdır ve çok karmaşıktır. Antrasen boyarmaddeler lakkaz ile doğrudan doğruya okside edilen bir enzim substratıdır. Azo ve indigo boyarmaddelerinin renginin giderilmesi ise küçük moleküllere bölünmesi olayıdır. Bunlar lakkazın substratları değiştirmeye boyarmadde ve enzim arasındaki küçük ara moleküllerden oluşmuş metabolitlerdir. Substrat olmayan boyarmaddelerin renk giderme hızı, solüsyonlardaki lakkaz aktivitesinden çok ortamda bileşiklerin konsantrasyonları ile sınırlıdır. 2,2'-azinobis (3-etil-tiazolin-6-sülfonat) (ABTS) ve antrakinon gibi bazı sentetik boyarmaddeler, azo ve indigo boyarmaddelerin renk giderimine aracılık edebilir (17).

Bu çalışmada, antrakinon bir boyarmadde olan ve tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılan Everzol Brilliant Blue R/SP (EBBRSP)'nin *Funalia trogii* nin kültür filtratı ile renginin giderilmesi işlemleri yapılmıştır.

## MATERIAL VE METOD

### Materyal

Renk gideriminde, antrakinon kimyasal yapıdaki Everzol B. Blue R/SP (Re-

aktive Blue 19) boyarmaddesi kullanılmıştır

### *Funalia trogii* Kültür Özütünün Elde Edilmesi

Besiyerinde substrat olarak buğday kepeği (900 g/kg) ve soya küpsesi (100 g/kg) kullanılmış ve katı faz fermentasyon ortamında pH 5'de 30°C'de 10 günlük inkübasyon sonunda erlenlerde üretilmiş kültürler 45°C'de etüvde 24 saat bekletilerek besiyerinin nemini kaybederek kurutulması sağlanmıştır. Kurulan materyal 2 dak. süreyle değirmende öğütülerek toz haline getirilmiş ve buzdolabında (+4°C) saklanmıştır (18).

*Funalia trogii*'nin katı substrat üzerinde üremiş kültüründen, 2 g alınmış 20 mL pH 6 fosfat tamponu eklenerken oda sıcaklığında 15 dakika karıştırılmış ve çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra santrifüj edilerek (15 dakika 5000 rpm; Nüve santrifüj ile) süpernatan (dökelti) çalışmada enzim kaynağı olarak (kültür özütü) kullanılmıştır.

### Renk Giderimi

Renk gideriminde pH'nın, sıcaklığın, özüt miktarı ve boyarmadde konsantrasyonundaki artışın etkisi araştırılmıştır. Boyarmaddenin renginin giderilmesi, maksimum absorbans göstergesi dalga boyunda (591 nm) izlenmiştir. Spektrofotometrede absorbans okumaları 5 dakikalık inkübasyon süresince her 10 saniyede bir ölçüm yapılarak kaydedilmiştir. Çalışmalar iki bölüm halinde yapılmıştır:

### Renk Gideriminde pH ve Sıcaklığın Etkisi

Optimum pH ve sıcaklığın bulunabilmesi için 5 farklı pH'da (2,5; 3,0; 4,0; 5,0 ve 6,0) ve 3 farklı sıcaklıkta (30, 40 ve 50°C) çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmada özüt ve boyarmadde konsantrasyonu (100 mg/L boyaya ve 100 µL özüt) sabit tutulmuştur. Elde edilen renk giderim oranlarından, optimum pH ve sıcaklık tesbit edilmiştir. pH 2,5 için, 0,1 M sodyum tartarat tamponu; pH 3-6 için, 0,1 M potasyum fosfat tamponu kullanılmıştır.

### Özüt ve Boyarmadde Konsantrasyonunun Etkisi

Bu çalışmada optimum özüt miktarının ve boyarmadde konsantrasyonunun bulunabilmesi için, 4 farklı özüt miktarı (50, 100, 150, 200 µL) ve 3 farklı boyarmadde konsantrasyonu (50, 75, 100 mg/L) ile çalışılmıştır. Deneylerde 5 dakikalık inkübasyon süresi boyunca her 10 saniyede bir absorbans düşmesi kaydedilmiştir. Özüt miktarlarının ve boyarmadde konsantrasyonlarının, renk giderilmesine etkisi araştırılırken pH ve sıcaklık sabit tutulmuştur. Böylece optimum pH ve sıcaklıkta en uygun boyarmadde konsantrasyonu ve özüt miktarı ile maksimum renk gideriminin sağlandığı koşullar belirlenmiştir.

### KOI Değişimi

Bulunmuş olan optimum koşullarda (pH, sıcaklık, boyarmadde konsantrasyonu ve özüt miktarı) 5 dakikalık inkübasyon süresi başında ve sonunda kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ölçümleri yapılmıştır. KOİ analizleri Hack KOİ kitleri (0-15.000 aralığında, Cat: 24.159-25) kullanılarak Hack DR 2010 spektrofotometre ile spektrofotometrik olarak ölçülererek yapılmıştır.

## BULGULAR

### pH ve Sıcaklığın Etkisi

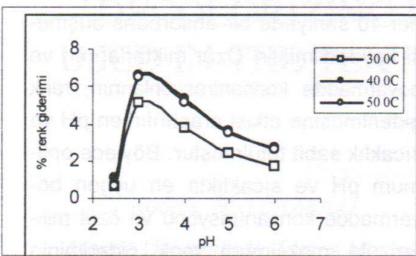
Tablo 1'de görüldüğü gibi pH 2,5'da en düşük düzeyde aktivite, yani ihmali edilebilir renk giderimi gözlenmiştir. pH 3'de ise maksimum renk giderimine ulaşılmıştır. pH 4,0; 5,0 ve 6,0'da renk giderim oranlarında gittikçe azalan değerler gözlenmiştir.

**Tablo 1.** Renk gideriminde pH ve sıcaklığın etkisi (100 mg/L boyarmadde ve 100 µL özüt)

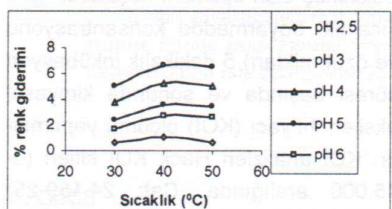
pH	Renk Giderim Oranı (%)		
	30°C	40°C	50°C
2,5	0,6	1,1	0,6
3,0	5,1	6,6	6,5
4,0	3,8	5,3	5,1
5,0	2,4	3,6	3,5
6,0	1,7	2,7	2,6

EBBRSP boyarmaddesinin renginin giderilmesi için yapılan bu çalışmada, maksimum enzim aktivitesi sağlamak

amaç ile optimum sıcaklık testibinde, 40°C'de en yüksek oranda renk giderdiği saptanmıştır. Tablo 1'de görüldüğü gibi 30°C ve 50°C sıcaklıklarda daha düşük oranda bir renk giderimi elde edilmiştir. EBBRSP'nin *Funalia trogii* özütü ile renginin giderilmesine, pH'nın ve sıcaklığın etkisi, grafik olarak Şekil 1 ve Şekil 2'de görülmektedir.



Şekil 1. Sıcaklık ve pH'nın etkisinin grafiksel olarak gösterimi (100 mg/L boyarmadde, 100 μL özüt)



Şekil 2. pH ve sıcaklığın etkisinin grafiksel olarak gösterimi (100 mg/L boyarmadde, 100 mL kültür filtratı)

#### Özüt Boyarmadde Konsantrasyonunun Etkisi

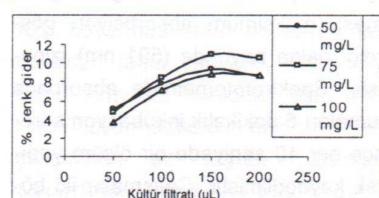
Tablo 2'de, renk giderimine özüt miktarı ve boyarmadde derişiminin etkisi görülmektedir. En yüksek renk giderim oranına (%10.9), 75 mg/L EBBRSP konsantrasyonu ve 150 μL kültür özütü miktarı ile yapılan çalışma ile ulaşılmıştır. Elde edilen sonuçlardan, enzim substrat oranının da renk giderim oranı üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. Çünkü aynı konsantrasyondaki boyarmadde ve 50 μL, 100 μL ve 200 μL özüt ile yapılan inkübasyon çalışmalarında, daha düşük oranlarda renk giderimi elde edildiği görülmüştür. Genel olarak özüt miktarı 150 μL'de doygunluğa ulaşmaktadır EBBRSP'nin renk giderme oranı, özüt miktarının artması ile orantılı olarak artmaktadır fakat, her boyaya derişiminde, 150 μL seviyesinde bir maksimumulaşmaktadır. Aynı mik-

tardaki özüt, 50 mg/L ve 100 mg/L boyarmadde konsantrasyonlarında daha düşük oranlarda rek giderimi sağlanmıştır. Özüt dozajında, genellikle 150 μL seviyesinde maksimum renk giderimine ulaşılmış ve daha fazla özüt verilmesinin renk giderimini etkilemediği görülmüştür.

Tablo 2. Renk giderimine özüt miktarı ve boyarmadde derişiminin etkisi ve ilk hız değişimi (40°C ve pH 3)

Boyarmadde derişimi (mg/L)	Kültür Filtratı (μL)	Yıkılan Boyarmadde (%)	İlk Hız (mg/Ls)
50	50	5.2	-
	100	7.8	-
	150	9.4	0,0188
	200	8.6	-
75	50	4.8	-
	100	8.5	-
	150	10.9	0,0334
	200	10.5	-
100	50	3.7	-
	100	7.1	-
	150	8.8	0,0396
	200	8.7	-

Şekil 3'de, 40°C'de ve pH 3'de EBBRSP' nin renk gideriminde, sub-strat konsantrasyonunun ve özüt miktarının boyarmadde yıkımı üzerindeki etkisi, 5 dakikalık inkübasyon süresi sonunda bulunan konsantrasyonu değişimleri ile, grafik olarak gösterilmiştir.



Şekil 3. Derişim ve özüt miktarının etkisi (40°C ve pH 3)

#### Kinetik Parametreler

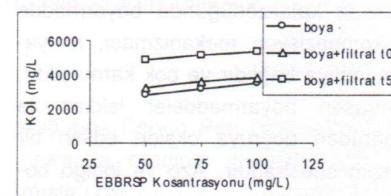
Tablo 2'de görüldüğü gibi reaksiyon başlangıç hızı substrat konsantrasyonu ile artmaktadır, fakat 100 mg/L boyarmadde derişiminde maksimumulaşmaktadır (9). EBBRSP konsantrasyonu 50 mg/L için ilk hız  $0,0188 \text{ mgL}^{-1}\text{s}^{-1}$  iken 75 mg/L konsantrasyonda  $0,0334 \text{ mgL}^{-1}\text{s}^{-1}$  değerine çıkmaktır ve 100 mg/L konsantrasyonda ise  $0,0396 \text{ mgL}^{-1}\text{s}^{-1}$  değerinde bir maksimumulaşmaktadır.

#### KOI Değişimi

Farklı konsantrasyonlarda EBBRSP boyarmaddesi (50, 75 ve 100 mg/L) 150 μL özüt ile muamele edildiğinde, 5 dakikalık inkübasyon süresi sonundaki KOI değerleri ( $t_5$ ), başlangıçta ölçülen KOI değerlerinden ( $t_0$ ) daha yüksek çıkmıştır (Tablo 3). Bunun nedeni, boyarmaddenin kimyasal yapısındaki yan grupların kopması ve açık uçların meydana gelmesi, yani boyarmaddenin kısmen yıkılmasıdır.

Tablo 3. Enzimatik renk gideriminde, KOI değişimi (40°C ve pH 3; özüt 150 μL)

Boyarmadde (mg/L)	KOI (mg/L)		
	Boyarmadde (mg/L)	Boyarmadde + Özüt ( $t_0$ )	Boyarmadde + Özüt ( $t_5$ )
50	2770	3220	4890
75	3120	3560	5140
100	3470	3800	5390



Şekil 4. KOI değişimi grafiksel gösterimi (40°C ve pH 3)

#### TARTIŞMA

Boyarmaddelerin renk giderimini katalizleyen enzimler lakkaz ve peroksidazlardır (1, 19, 12). Maksimum renk giderim hızının saptandığı pH 3'de renk gideriminden sorumlu olan enzimler lakkaz, LiP ve MnP'dır (20).

*Pleurotus ostreatus* fungusunun kültür özütünden elde edilen ve RBBR yıkımından sorumlu olan peroksidaz enzime sıcaklığın etkisi araştırılmış ve 30°C'nin üzerine çıktığında aktivite kaybı olduğu görülmüştür (21).

*Geotrichum candidum*'dan saflaştırılmış peroksidaz enzimi RBBR yıkımında kullanılmış ve optimum renk giderim sıcaklığı belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada 30°C'de aktivite kaybının % 90'a ulaştığı gözlenmiştir (8).

Optimum enzimatik yıkım pH'sı, kullanılan substrata ve enzim kaynağına göre değişmektedir. Lakkaz enzimi çeşitli substratlarla pH 3-7,5 aralığında maksimum aktivite göstermektedir (22, 23).

Heinfling ve ark. (1998) renk gideriminde LiP kullanmış ve renk giderime boyarmadde derişiminin etkisini araştırmışlardır. Reactive Violet 5, 5  $\mu$ M; Reactive Black 5, 4  $\mu$ M ve Reactive Blue 38, 10  $\mu$ M konsantrasyon üzerinde kullanıldığında, doygunluğa ulaşmıştır (24).

RBBR'nin enzimatik renk gideriminde, renk giderim oranı, enzim miktarının artması ile orantılı olarak artmaya ve renk giderme aktivitesi Michael kinetiklerini sergilemektedir. RBBR renk giderme oranı 75-100,5  $\mu$ M'a kadar boyaya konsantrasyonu ile artmaktadır; konsantrasyonun daha fazla artırılmasının renk giderme oranı üzerine etkisi olmamaktadır (1).

En yüksek renk giderim oranı pH 3 değerinde sağlandığından, bu durum, lignin peroksidazın pH 3'ün altında kararlı olmaması ile açıklanabilir (25).

Boyarmaddelerin aynı enzimlerle farklı oranlarda renginin giderilmesi, kimyasal yapılarındaki farklılık nedeniyle açıklanmaktadır (26).

Genel olarak yüksek boyarmadde konsantrasyonu daha yavaş renk giderme hızına neden olmaktadır. Her boyarmadde molekülü, azo ve antrakinon gibi bir kromofora sahiptir ve sadece kromoforanın kimyasal yapısı bozulduğunda renk kaybolur. Bir boyarmadde

molekülünün kromoforanın kimyasal yapısını bozmak için, LiP radikallerinin pek çok sayıda atağına gereksinim olabilir. Yüksek konsantrasyon, her boyarmadde molekülüne, daha az sayıda LiP atağı demektir ve böylece daha yavaş renk giderme hızı gerçekleşir (27).

Gittikçe yükselen konsantrasyonlarda, substrat inhibisyonu olmakta ve derişim artırılmaya devam edildiğinde, reaksiyon başlangıç hızının bir maksimuma ulaşacağı ve sabit kalacağı veya düşeceğü bildirilmektedir (28).

Young ve Yu (1977) yaptıkları çalışmada LiP enzimini çeşitli boyarmaddelerin gideriminde kullanmış ve LiP miktarının artışına bağlı olarak reaksiyon başlangıç hızının arttığını saptamışlardır. Yazarlar LiP ile boyarmadde yıkımında, reaksiyon başlangıç hızına boyaya konsantrasyonunun etkisini araştırdıkları çalışmalarında kullanılan 8 farklı boyarmadde farklı konsantrasyonlarda doyuma ulaşmıştır. Örneğin Reaktive Black 5, 10 mg/L; Reaktive Black 15, 50 mg/L ve Asid Orange 74, 100 mg/L konsantrasyonlarda doyuma ulaşmıştır (28).

Endüstriyel uygulamalarda enzimin hızlı bir reaksiyon vermesi ve minimum miktar ile maksimum verim sağlanması önemli olduğundan ilimli substrat konsantrasyonu veya dönüştürülen substrat için düşük afiniteli enzimler tercih edilir (29).

Ekolojik açıdan endüstriyel proseslerden kaynaklanan bütün atık suların biyolojik yıkılabilirliğini tayin etmek gereklidir. Biyoyıkılabilirliğin tesbit edil-

mesinde kullanılan ölçütlerden birisi, atığın KOI değerlerinin ölçülmesidir (30). EBBRSP boyasının her konsantrasyonda 150  $\mu$ L özüt ile muamelesi sonunda KOI değerlerinin yükselmesi, boyarmaddeyi kimyasal yapısındaki yan grupların koptuğunu ve açık uçların meydana geldiğini göstermektedir. Bu sonuç boyanın yıkıldığı fikri vermektedir.

Yapılan bu çalışmada tekstil terbiye sektöründe yaygın olarak kullanılan antrakinon yapıdaki EBBRSP boyarmaddesinin *Funalia trogii* kültür filtratı ile renginin belirli bir oranda giderilebileceği saptanmış ve bu reaksiyonun optimum koşulları belirlenmiştir.

Çözeltilde birden fazla boyarmadde bulunması durumunda, meydana gelecek enzim aktivitesi ve bunun kinetiğinin bulunması çalışmaları, uygulamada daha yararlı olacak ve gerçek bir endüstriyel atık sudaki renk giderimi sağlanacaktır. Çünkü bir tekstil terbiye işletmesi aynı anda çok sayıda değişik kimyasal yapılara sahip boyarmaddeleri kullanmakta ve atık suya vermektedir.

Enzimatik renk giderimi konusunda henüz teknolojik bir uygulama ve çalışma mevcut olmayıp bu konuda yapılan bilimsel araştırmalar gereklili bilgi birikimini sağlamaya yönelik durumdadır. Gelecekte önem kazanacak olan bu yeni uygulama yöntemi için gereken ilk bilgilerin küçük bir kısmının bu araştırma ile ortaya çıkarıldığını düşünmek umut verici bir gelişme olarak görülmeli ve daha ayrıntılı ve daha ileri çalışmalar ile desteklenerek yeni çevresel teknolojilerin gelişimi sağlanmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Vyas, B.R.M., Molitoris, H.P., "Involvement of an Extracellular  $H_2O_2$  Dependent Ligninolytic Activity of the White Rot fungus *Pleurotus ostreatus* in the Decolorization of Remazol Brilliant Blue R", Applied and Environmental Microbiology, 3919-3927, (1995).
2. Kirby, N., Merchant, R. Ve McMullan, G., "Decolourization of Synthetic Textile Dyes by *Phlebia tremellosa*.", FEMS Microbiology Letters, 188: 93-96, (2000).
3. Chung, K. T. ve Stevens, S. E. Jr., "Decolorization of Azo Dyes by Environmental Microorganisms and Helminths.", Environmental Toxicology and Chemistry, 12 (11): 2121-2132 (1993).
4. Eggert, C., Temp, U. ve Eriksson, K. E. L., "The Ligninolytic System of the White Rot Fungus *Pycnoporus cinnabarinus*: Purification and Characterization of the Laccase.", Applied and Environmental Microbiology, 62 (4) : 1151-1158, (1996).
5. Joshi, D. K. ve Gold, M. H., "Degradation of 2,4,5-Trichlorophenol by the Lignin-Degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*.", Applied and Environmental Microbiology, 59(6):1779-1785 , (1993).

6. Hammel, K. E., "Mechanism for Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Degradation by Ligninolytic Fungi.", Environmental Health Perspectives, 103:41-43, (1995).
7. Orth, A.B., Royse, D.J. ve Tien, M., "Ubiquity of Lignin Degrading Peroxidases Among Various Wood-Degrading Fungi.", Applied and Environmental Microbiology, 59:4017-4023, (1994).
8. Collins, P. J., Field, J. A., Teunissen, P. ve Dorson, A. D. W., "Stabilization of Lignin Peroxidases in White Rot Fungi by Tryptophan.", Applied and Environmental Microbiology, 63(7):2543-2548, (1997).
9. Kim, S. J. ve Shoda, M., "Purification and Characterization of a Novel Peroxidase from *Geotrichum candidum* Dec 1 Involved in Decolorization of Dyes.", Applied and Environmental Microbiology, 65 (3) : 1029-1035, (1999).
10. Chivukula, M. ve Renganathan, V., "Phenolic Azo Dye Oxidation by Laccase from *Pyricularia oryzae*.", Applied and Environmental Microbiology, 61(12):4374-4377, (1995).
11. Heinfling, A., Martinez, M. J., Martinez, A. T. , Bergbauer, M. Ve Szewzyk, U., "Transformation of Industrial Dyes by Manganese Peroxidases from *Bjerkandera adusta* ve *Pleurotus eryngii* in a Manganese-Independent Reaction.", Applied and Environmental Microbiology, 64(8): 2788-2793, (1998).
12. Call, H. P. ve Mücke, I., "History, Overview and Applications of Mediated Ligninolytic Systems, Especially Laccase-Mediator- Systems (Lignozym-Proses).", Journal of Biotechnology, 53 : 163-202, (1997).
13. Fullbrook, P. D., "Practical Applied Kinetics.", Godfrey, T. ve West, S., Industrial Enzymology, Second Edition, Stockton Press, New York, 483-500(1996).
14. Shin, K. S., Oh, I. K. ve Kim, C. J., "Production and Purification of Remazol Brilliant Blue R Decolorizing Peroxidase from the Culture filtrate of *Pleurotus ostreatus*.", Applied and Environmental Microbiology, 63(5): 1744-1748, (1997).
15. Garzillo, A. M. V., Colao, M. C., Caruso, C., Caporale, C., Celetti, D. ve Buonocore, V., "Laccase from the White Rot Fungus *Trametes trogii*.", Applied Microbiology and Biotechnology, 49 : 545-551, (1998).
16. Bollag, J. M. ve Leonowicz, A., "Comparative Studies of Extracellular Fungal Laccases.", Applied and Environmental Microbiology, 48 (4) : 849-854, (1984).
17. Abadulla, E., Tzanov, T., Costa, S., Robra, K. H., Paulo, A. C. Ve Gübitz, G. M., "Decolorization and Detoxification of Textile Dyes with Laccase from *Trametes hirsuta*.", Applied and Environmental Microbiology, 66 (8): 3357-3362, (2000).
18. Deveci, T., "Lakkaz, Peroksidaz ve Katalaz Enzimlerinin Katı Faz Fermantasyon Tekniği ile Beyaz Çürükçül Funguslar Tarafından Üretilmesinin Araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, Mersin Univ., Mersin, 112 sayfa, (2001).
19. Podgornik, H., Grgic, I. ve Perdih, A., "Decolorization Rate of Dyes Using Lignin Peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*.", Chemosphere, 38: 1353-1359, (1999).
20. Fullbrook, P. D., "Practical Limits and Prospects (Kinetics).", Godfrey, T. ve West, S., Industrial Enzymology, Second Edition, Stockton Press, New York, 483-500(1996).
21. Wong, Y. ve YU, J., "Laccase-Catalysed Decolorization of Synthetic Dyes.", Water Research, 33(16):3512-3520, (1999).
22. Schliephake, K., Mainwaring, D.E., Lonergan, G.T., Jones, I.K. ve Baker, W.L., "Transformation and Degradation of the Disazo Dye Chicago Sky Blue by Purified Laccase from *Pynoporus cinnabarinus*." Enzyme and Microbiol. Technology, 27: 100-107, (2000).
23. Tatarko, M. ve Bumpus, J. A., "Biodegradation of Congo Red by *Phanerochaete chrysosporium*.", Water Research, 32 (5) : 1713-1717, (1998).
24. Dey, S., Maiti, T. K. ve Bhattacharyya, B. C., "Production of Some Extracellular Enzymes by a Lignin Peroxidase-Producing Brown Rot Fungus *Polyporus ostreiformis*, and Its Comparative Abilities for Lignin Degradation and Dye Decolorization.", Applied and Environmental Microbiology, 60 (11) : 4216-4218, (1994).
25. Rogalski, J., Dawidowicz, A., Jozwik, E. ve Leonowicz, A., "Immobilization of Laccase from *Cerrene unicolor* on Controlled Porosity Glass.", Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 6 : 29-39, (1999).
26. Donagic, J. ve Yevec, J., "Comparison of Catalysed and Noncatalysed Oxidation of Azo Dye and Effect on Biodegradability.", Environmental Science & Technology, 31 (9) : 1294-1302, (1998).
27. Spadaro, J. T. ve Renganathan, V., "Peroxidase-Catalysed Oxidation of Azo Dyes: Mechanism of Disperse Yellow 3 Degradation.", Archives of Biochemistry and Biophysics, 312(1): 301-307, (1994).
28. Morgan, P., Lewis, S.T. ve Watkinson, R.J., "Comparison of Abilities of White Rot Fungi to Mineralize Selected Xenobiotics Compounds.", Applied Microbiology and Biotechnology, 34: 693-696, (1991).
29. Young, L., You, J., "Ligninase-Catalysed Decolorization of Synthetic Dyes." Water Res. 1187-1193, (1997).
30. Hoff, T., Liu, S. Y. Ve Bollag, j. M., "Transformation of Halogen-, Alkyl-, ve Alkoxsy- Substituted Anilines by a Laccase of *Trametes versicolor*.", Applied and Environmental Microbiology, 49 (5): 1040-1045, (1985)

Bu araştırma, Bilim Kurulumuz tarafından inceledikten sonra, oylama ile saptanan iki hakemin görüşüne sunulmuştur. Her iki hakem yaptıkları incelemeler sonucunda araştırmancının bilimselliği ve sunumu olarak "Hakem Onaylı Araştırma" vasfıyla yayımlanabileceğine karar vermişlerdir.

Ön i

DR. PE

Mehmet  
Haydar  
Şirinev

Tel: +9  
Fax: +9

web : v  
E-mail: