

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES* KÜFÜNÜN
BİYOTRANSFORMASYON VE BİYOSORPSİYON
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet Can TOPCU

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

TEMMUZ 2025

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES* KÜFÜNÜN
BİYOTRANSFORMASYON VE BİYOSORPSİYON
ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet Can TOPCU

Kimya Anabilim Dalı

Biyokimya Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Semra YILMAZER KESKİN

TEMMUZ 2025

Mehmet Can TOPCU tarafından hazırlanan “*CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES* KÜFÜNÜN BİYOTRANSFORMASYON VE BİYOSORPSİYON ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması 18.07.2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Biyokimya Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Jüri Başkanı :

Jüri Üyesi :

Jüri Üyesi :



ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “**CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES KÜFÜNÜN BİYOTRANSFORMASYON VE BİYOSORPSİYON ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**” başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergeye uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığını, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

(18/07/2025)

Mehmet Can TOPCU





Sevgili Aileme...



TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın ortaya çıkmasında emeği geçen herkese en içten teşekkürlerimi sunarım. Özellikle, çalışmamı büyük bir özveriyle yöneten,engin bilgi birikimi ve deneyimleriyle bana yol gösteren değerli hocam Sayın Doç. Dr. Semra YILMAZER KESKİN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca gösterdiği ilgi, yoğun desteği ve değerli fikirleriyle bana yardımcı olan Sayın Doç. Dr. Can Serkan KESKİN'e de teşekkürü bir borç bilirim. Bilgi ve birikimlerinden faydalandığım değerli hocam Sayın Prof. Dr. Kudret YILDIRIM'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma süresince NMR ölçümlerinin alınmasında yardımını esirgemeyen Sayın Arş.Gör.Dr. Yavuz DERİN'e minnettarlarımı sunarım. Değerli katkıları ve deneysel çalışmalardaki yardımları için değerli laboratuvar arkadaşım Nursena DEMİR'e teşekkür ederim.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No:2024-26-62-18) teşekkür ederim.

Son olarak, akademik hayatımın başından beri bana maddi ve manevi desteklerini sunan, kıymetli aileme ve arkadaşlarıma en derin sevgilerimle teşekkür ederim.

Mehmet Can TOPCU



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SİMGELER	xv
TABLO LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
ÖZET	xxi
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı	5
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Biyotransformasyon	7
2.1.1. Geçmişten günümüze biyotransformasyon	7
2.1.2. Mikrobiyal Biyotransformasyon	8
2.1.3. Mikrobiyal biyotransformasyonlarda kullanılan mikroorganizmalar	10
2.1.4. Mikrobiyal biyotransformasyon reaksiyon çeşitleri	10
2.1.5. Mikrobiyal biyotransformasyonlarda kullanılan sekonder metabolitler ..	11
2.1.5.1. Flavonoidler	11
2.1.5.2. Şalkonlar	12
2.1.6. Biyotransformasyonların avantajları	13
2.2. Adsorpsiyon	14
2.3. Biyosorpsiyon	16
2.3.1. Biyosorpsiyonu etkileyen etmenler	19
2.3.1.1. pH	19
2.3.1.2. Zaman	20
2.3.1.3. Sıcaklık	20
2.3.1.4. Biyokütle miktarı	20
2.3.1.5. Konsantrasyon	21
2.3.1.6. Biyosorbent tanecik boyutu	21
2.3.1.7. Karıştırma hızı	21
2.4. Literatürde Tekstil Boyar Maddelerin Biyosorpsiyonları	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1. Kullanılan Araç Gereçler ve Sarf Malzemeler	25
3.2. Taze Yatık Agar Kültürlerinin Hazırlanması	25
3.3. <i>C. cladosporioides</i> Küf Kültürlerinin Tazelenmesi	26
3.4. Küflere Ait Besiyerlerinin Hazırlanması	26
3.5. Biyotransformasyonu Gerçekleştirilecek Substratın İlavesi	26
3.6. Bileşiklerin Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması	26
3.7. Biyotransformasyon Çalışmalarının Kontrolü	27

3.8. Biyosorpsiyon Çalışmasında Çözeltilerin Hazırlanması ve Metot Geliştirilmesi	27
3.9. <i>C. cladosporioides</i> 'in Biyosorbent Olarak Hazırlanması.....	28
3.10. Ön Deneme Çalışmaları	29
3.11. Deneysel Parametrelerin İncelenmesi	29
3.11.1. pH'ın biyosorpsiyon üzerine etkisi	29
3.11.2. Zaman'ın biyosorpsiyon üzerine etkisi	30
3.11.3. Karıştırma hızı'nın biyosorpsiyon üzerine etkisi	30
3.11.4. Sıcaklığın biyosorpsiyon üzerine etkisi.....	30
3.11.5. Konsantrasyon'un biyosorpsiyon üzerine etkisi	30
3.11.6. Biyokütle miktarının biyosorpsiyon üzerine etkisi	31
3.11.7. İnaktif <i>C. cladosporioides</i> küfünün tekrar kullanılabilirliği	31
3.11.8. <i>C. cladosporioides</i> küfünün biyosorpsiyon öncesi ve sonrası görüntülenmesi.....	31
3.11.9. <i>C. cladosporioides</i> küfünün partikül dağılımı	31
3.11.10. Kinetik çalışmaları	32
3.11.11. İzoterm çalışmaları.....	32
3.11.12. FTIR çalışmaları.....	33
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	35
4.1. <i>C.cladosporioides</i> Küfü ile Biyotransformasyonlar.....	35
4.1.1. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on Şalkonunun <i>Cladosporium cladosporioides</i> MRC 72584 ile biyotransformasyonu	35
4.1.2. (E)-1-fenil-3-(p-tolil) prop-2-en-1-on Şalkonunun <i>Cladosporium cladosporioides</i> MRC 72584 ile biyotransformasyonu	37
4.1.3. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on Şalkonunun <i>Cladosporium cladosporioides</i> MRC 72584 ile biyotransformasyonu	39
4.2. <i>C. cladosporioides</i> Küfü ile Biyosorpsiyon Çalışmaları.....	41
4.2.1. Metot geliştirilmesi ve analitik parametreler	41
4.2.2. pH'ın biyosorpsiyon üzerine etkisinin incelenmesi	44
4.2.3. Zamanın biyosorpsiyon üzerine etkisi.....	46
4.2.4. Karıştırma hızının biyosorpsiyon üzerine etkisi.....	47
4.2.5. Sıcaklığın biyosorpsiyon üzerine etkisi	48
4.2.6. Konsantrasyonun biyosorpsiyon üzerine etkisi.....	49
4.2.7. Biyokütle miktarının biyosorpsiyon üzerine etkisi	50
4.2.8. İnaktif <i>C. cladosporioides</i> küfünün tekrar kullanılabilirliğinin incelenmesi	51
4.2.9. <i>C. cladosporioides</i> küfünün biyosorpsiyon öncesi ve sonrası görüntülerinin incelenmesi.....	53
4.2.10. <i>C. cladosporioides</i> küfünün partikül dağılımının incelenmesi	53
4.2.11. Kinetik çalışmaları	54
4.2.12. İzoterm	55
4.2.13. FTIR	55
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR.....	59
KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	71

KISALTMALAR

%R	: Yüzde Geri Kazanım
%RSD	: Yüzde Bağlı Standart Sapma
¹³C NMR	: Karbon-13 Nükleer Manyetik Rezonans
¹H NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
AV90	: Acid Violet 90
BOİ	: Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı
DHEA	: Dehidroizoandrosteron
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
H₂S	: Hidrojen sülfür
HCl	: Hidroklorik asit
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
KNO₃	: Potasyum nitrat
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
LOD	: Tespit Limiti (Limit of Detection)
LOQ	: Tayin veya Ölçüm Limiti (Limit of Quantification)
NAD(P)H	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit (Fosfat)
NaOH	: Sodyum hidroksit
PDA	: Potato Dekstroz Agar
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
RY145	: Reactive Yellow 145
UV-Vis	: Ultraviyole-Görünür Bölge



SİMGELER

°C	: Santigrat derece
µL	: Mikrolitre
D- / L-	: Enantiyomerleri belirtmek için kullanılan ön ekler
dk	: dakika
g	: gram
L	: Litre
M	: Molarite
mg	: Miligram
MHz	: Megahertz
mL	: Mililitre
nm	: nanometre
pH	: Tayin edilebilen H ₃ O ⁺ konsantrasyonunun eksi logaritması



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Acid Violet 90 boyasının kimyasal özellikleri (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi, 2024).	18
Tablo 2.2. Reactive Yellow 145 boyasının kimyasal özellikleri (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi, 2024).	18
Tablo 4.1. Yöntemin istatistiksel parametreleri.	43
Tablo 4.2 Sentetik karışım konsantrasyonları, hesaplanan %R ve %RSD değerleri.	44
Tablo 4.3. Tekrar kullanılan biyokütle miktarları.	52
Tablo 4.4. Kinetik parametreler.....	54
Tablo 4.5. Hesaplanan izoterm sabitleri	55



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Progesteronun mikrobiyal biyotransformasyonu.....	8
Şekil 2.2. Acid Violet 90 boyasının açık yapısı.....	18
Şekil 2.3. Reactive Yellow 145 boyasının açık yapısı.....	18
Şekil 4.1. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin <i>C. cladosporioides</i> MRC 72584 ile biyotransformasyonu.....	35
Şekil 4.2. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.	36
Şekil 4.3. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin <i>C. cladosporioides</i> MRC 72584 küfü ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-ol bileşiğine ait ¹ H NMR spektrumu.....	36
Şekil 4.4. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin <i>C. cladosporioides</i> MRC 72584 küfü ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-ol bileşiğine ait ¹³ C NMR spektrumu.....	37
Şekil 4.5. (E)-1-fenil-3-(p-tolil) prop-2-en-1-on bileşiğinin <i>C. cladosporioides</i> MRC 72584 ile biyotransformasyonu.....	38
Şekil 4.6. (E)-1-fenil-3-(p-tolil) prop-2-en-1-on bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	38
Şekil 4.7. 1-fenil-3-(p-tolil)propan-1-on bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (Kisets ve ark., 2021)	38
Şekil 4.8. 1-fenil-3-(p-tolil) propan-1-on bileşiğinin <i>C. cladosporioides</i> MRC 72584 küfü ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen kalıntıya ait ¹ H NMR spektrumu.....	39
Şekil 4.9. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin <i>C. cladosporioides</i> MRC 72584 ile biyotransformasyonu.....	39
Şekil 4.10. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu.....	40
Şekil 4.11. 3-(4-metoksifenil)-1-fenilpropan-1-on bileşiğinin ¹ H NMR spektrumu (Kisets ve ark., 2021).	40
Şekil 4.12. 3-(4-metoksifenil)-1-fenilpropan-1-on bileşiğinin <i>C. cladosporioides</i> MRC 72584 küfü ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen kalıntıya ait ¹ H NMR spektrumu.	41
Şekil 4.13. AV90 RY145 boyalarının absorpsiyon spektrumu.	42
Şekil 4.14. AV90 RY145 boyalarının birinci mertebe spektrumları.	42
Şekil 4.15. AV90 boyasının kalibrasyon grafiği.....	43
Şekil 4.16. AV90 boyasının kalibrasyon grafiği.....	43
Şekil 4.17. AV90 ve RY145 boyalarının <i>C. cladosporioides</i> biyokütlesi ile gideriminde başlangıç pH'nın etkisi (50 mg/L boyarmaddeler, 60 dk, 0,1 g biyokütle, 100 rpm karıştırma hızı), point of zero change (sıfır yük noktası grafiği).....	46
Şekil 4.18. AV90 ve RY145 boyalarının <i>C. cladosporioides</i> biyokütlesi ile gideriminde zamanın etkisi (pH 4, 50 mg/L boyar maddeler, 0,10 ve 0,25 g biyokütle, 100 rpm karıştırma hızı).....	47

Şekil 4.19. AV90 ve RY145 boyaalarının <i>C. cladosporioides</i> biyokütlesi ile gideriminde karıştırma hızının etkisi (pH 4, 50 mg/L boyarmaddeler, 60 dk., 0.1 g biyokütle).	48
Şekil 4.20. AV90 ve RY145 boyaalarının <i>C. cladosporioides</i> biyokütlesi ile gideriminde sıcaklığın etkisi (pH 4, 50 mg/L boyarmaddeler, 60 dk., 0.1 g biyokütle, 100 rpm çalkalama hızı).	49
Şekil 4.21. AV90 ve RY145 boyaalarının <i>C. cladosporioides</i> biyokütlesi ile gideriminde konsantrasyon etkisi (pH 4, 60 dk., 0.10 ve 0.25 g biyokütle, 150 rpm çalkalama hızı).	50
Şekil 4.22. AV90 ve RY145 boyaalarının <i>C. cladosporioides</i> biyokütlesi ile gideriminde biyokütle miktarının etkisi (pH 4, 50 ve 100 mg/L boyarmaddeler, 60 dk., 150 rpm çalkalama hızı).	51
Şekil 4.23. Adsorpsiyon- tekrar kullanılabilirlik döngülerinin giderim yüzdeleri.....	52
Şekil 4.24. Canlı (a, b ve c) ve ölü biyokütlenin biyosorpsiyon öncesi (d) ve sonrası (e ve f) görüntüleri.....	53
Şekil 4.25. Biyokütlenin partikül dağılımı.	54
Şekil 4.26. RY145, AV90, biyokütle ve işlem görmüş biyokütlenin FTIR spektrumları	57

CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES KÜFÜNÜN BİYOTRANSFORMASYONU VE BİYOSORPSİYON ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

ÖZET

Şalkonlar, alfa, beta-doymamış keton yapısına sahip organik bileşikler olup bitkilerde çeşitli metabolik görevler üstlenir. Flavonoid sınıfına dahil olan bu bileşikler; antioksidan, antimikrobiyal ve antitümör gibi çok yönlü biyolojik etkileri sayesinde ilaç araştırmalarında yoğun ilgi görmektedir. Doğal olarak izole edilebilen veya sentetik olarak üretilebilen şalkon türevleri, yeni terapötik ajanların tasarımında değerli araçlardır. Enzimler veya enzimleri içeren biyolojik sistemlerin kendilerine yabancı olan maddeler üzerinde gerçekleştirdikleri kimyasal değişiklere biyotransformasyonlar adı verilir. Bu süreçte şalkon yapısına eklenen yeni gruplar, farklı biyolojik yeteneklere sahip yeni metabolitler oluşturur. Bu yöntem; yeni ilaç adayları üretimi, bileşik modifikasyonu, biyoteknoloji ve biyoremediasyon gibi alanlarda bilimsel ve endüstriyel inovasyon için büyük potansiyel sunar.

Çalışmada, farklı şalkon bileşiklerinin biyotransformasyonunun incelenmesi, şalkon hidrojenasyonlarının farklı verimlerle gerçekleştiği gösterilmiştir. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin *C. cladosporioides* MRC 72584 küfö ile inkübasyonu sonucunda 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-ol bileşiğı, (E)-1-fenil-3-(p-tolil) prop-2-en-1-on bileşiğinin *Cladosporium cladosporioides* MRC 72584 küfö ile inkübasyonu sonucunda 1-fenil-3-(p-tolil) propan-1-on bileşiğı, (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin *Cladosporium cladosporioides* MRC 72584 küfö ile inkübasyonu sonucunda 3-(4-metoksifenil)-1-fenilpropan-1-on bileşiğı elde edildi.

Endüstriyel üretim kaynaklı çevre kirliliğı, Türkiye'de tekstil sektörünün yol açtığı yüksek konsantrasyonlu boyarmadde içeren atık sularla önemli bir boyuttur. Bu suların arıtılması zorunlu olmakla birlikte, mevcut tesislerin yüksek maliyetleri, daha ekonomik ve yenilikçi teknolojileri gerekli kılmaktadır. Atık su arıtımında kullanılan elektrokimyasal yöntemler maliyetli, fiziksel filtrasyon ise verimsiz olabilmektedir. Bu nedenle düşük maliyeti ve yüksek verimiyle adsorpsiyon, pratik bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. İdeal adsorbent kriterlerinin çoğunu karşılayan fungal biyokütle (küf mantarları), bu amaçla kullanılan potansiyel bir biyomateryaldir. "Biyosorpsiyon" olarak adlandırılan bu süreçte arıtım, inaktif hücre duvarındaki fonksiyonel grupların boyarmaddeyi bağlamasıyla gerçekleşir. Tekstil atık sularındaki kompleks boya karışımlarını standart spektrofotometre ile analiz etmek, spektrumların çakışması nedeniyle zordur. Bu sorunu çözen türev spektrofotometri, ham spektrumun matematiksel türevlerini alarak bileşenlerin spektral girişim olmadan eş zamanlı analizine olanak tanır. Yöntem, bir bileşenin türev sinyalinin sıfırlandığı "sıfır geçiş" noktalarında diğer bileşenin ölçülmesine dayanır.

Asit Menekşe 90 (Acid Violet 90) ve Reaktif Sarı 145 (Reactive Yellow 145) sentetik boya karışımı, ölü *Cladosporium cladosporioides* biyokütlesi ile muamele edildi. Bireysel konsantrasyonlar, birinci mertebeden türev spektrofotometrik yöntem ile

hesaplandı. Kalibrasyon eğrileri, türev spektrumunda sırasıyla Asit Menekşe 90 için 578,4 nm ve Reaktif Sarı 145 için 318,2 nm dalga boylarında çizildi. Hesaplanan tayin sınırı (LOQ) değeri Asit Menekşe 90 için yaklaşık 2,5 mg/L ve Reaktif Sarı 145 için yaklaşık 1,5 mg/L'dir. Elde edilen ortalama geri kazanım yüzdesi değerleri %100 civarındadır. En yüksek giderim verimi (%100), pH 4'te, 0,25 g biyokütle ve her bir boyadan 50 mg/L konsantrasyon kullanılarak, 150 rpm çalkalama hızı ile 60 dakikalık reaksiyon süresinde her iki boya için elde edildi. Biyokütle rejenerasyonu (yenilenmesi) için hidroklorik asit çözeltisi kullanıldı ve üçüncü döngüde giderim verimlilikleri Asit Menekşe 90 için %99 ve Reaktif Sarı 145 için %89 seviyesinde tespit edildi.



INVESTIGATION OF THE BIOTRANSFORMATION AND BIOSORPTION PROPERTIES OF *CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES*

SUMMARY

Chalcones possess an organic structure and are chemically characterized by a distinctive alpha, beta-unsaturated ketone backbone, and phenyl rings appended to this chain. Frequently encountered in the plant kingdom, these structures undertake diverse essential roles in their host plants' vital chemical processes (metabolism) and ecological interactions. As members of the flavonoid class, chalcones are renowned for exhibiting various biological activities, including antioxidant, antimicrobial, antitumor, and anti-inflammatory properties. Owing to these biological effects, they are subjects of intense scientific interest regarding their potential positive impacts on human health and their prospective applications in the pharmaceutical industry. Furthermore, they are involved in vital plant functions, such as forming pigments and defense mechanisms against diseases, and predominantly accumulate in the flowers, fruits, and leaves. These compounds can be obtained naturally, through direct isolation from plants, or synthesized artificially in the laboratory via chemical reactions. Specifically, synthesized chalcone derivatives offer valuable tools for drug development initiatives and fundamental scientific research to elucidate the structure-activity relationships, reveal mechanisms of action, and design novel therapeutic agents.

Consequently, employing the metabolic power of microorganisms to improve or diversify the structure and function of natural substances is regarded as a pathway with significant potential for both scientific advancement and industrial innovation.

Environmental pollution remains a globally significant and prioritized issue. The increase in the world's population, coupled with escalating consumption demands, has accelerated industrial production processes. In the context of Turkey, the textile industry constitutes one of the principal industrial sectors underpinning the national economy, exhibiting a notable concentration, particularly in the Marmara Region. Foremost among the environmental impacts of this sector is the industrial wastewater generated as a consequence of production processes, which contain high concentrations of dyestuffs. Treating such wastewater through appropriate purification processes before its discharge into receiving water bodies is a legal and environmental imperative. Nevertheless, the substantial investment and operational costs associated with industrial wastewater treatment plants lead many enterprises to operate these systems below full capacity or to take them out of service. This situation underscores the necessity for developing innovative and economically efficient treatment technologies to optimize treatment costs.

Among the principal technologies currently applied for treating dye-containing wastewater are electrochemical methods, adsorption processes, and various physical filtration techniques. While electrochemical treatment offers high efficiency, it represents a comparatively costly alternative due to its energy consumption. Physical filtration applications may not always ensure the targeted level of purification.

Adsorption processes are widely favored and stand out as a practical approach due to several advantages, such as the generally low cost of adsorbent materials, high process efficiency, operational simplicity, and the potential for integration with other techniques (e.g., filtration). In adsorption processes, alongside naturally available adsorbents like clay minerals, materials endowed with adsorbent properties through various physicochemical treatments can also be utilized. The selection of an ideal adsorbent for a given process is based on criteria such as low cost, ready availability, high adsorption capacity, physical and chemical stability under process conditions, avoidance of secondary pollution through dissolution during treatment, and the potential for reuse after regeneration.

In this framework, fungal biomass (particularly molds) emerges as a potential biomaterial that fulfills a significant portion of the specified adsorbent criteria. The ability to regenerate them from spores stored under suitable conditions post-isolation constitutes a considerable advantage that reduces biomass production costs. Additionally, obtaining large quantities of biomass through the rapid and straightforward proliferation of fungal spores in specific nutrient media is feasible. The treatment process employing fungal biomass as an adsorbent is defined in the literature as "biosorption," owing to a biologically derived material. To explain the removal processes conducted with fungal biomass through adsorptive mechanisms, the biomass is generally subjected to inactivation following its proliferation phase. Various functional groups in inactive fungal cell walls, such as carboxyl, amine, and phosphate groups, assume a central role in the adsorption process. These groups can undergo ionization depending on the pH conditions of the medium and facilitate the binding of dye molecules to the biomass surface by forming electrostatic attractions, hydrogen bonds, or other weak interactions with complementary or oppositely charged functional groups present in the dye molecules within the wastewater.

Wastewaters from the textile industry typically contain a complex composition of dyes belonging to different chemical classes rather than a single type of dyestuff. This heterogeneous chemical nature of wastewater presents technical difficulties in determining the concentration of each dye component. However, conducting these individual analyses is critically necessary to accurately evaluate the performance of the applied treatment process and the removal efficiency specific to each dyestuff. While chromatographic methods (e.g., HPLC) can be employed to separate and analyze components in such complex mixtures, these techniques generally necessitate high-cost instrumentation, specialized consumables, and relatively long analysis times. A more practical and common method, standard spectrophotometric analysis, allows for determining the concentration of pure dye solutions by measuring their absorbance values at characteristic wavelengths. However, in dye mixtures, the overlap of the absorbance spectra of different components renders the direct application of this standard method and the acquisition of accurate results impossible.

Derivative spectrophotometry techniques have been developed to overcome the problem of spectral interference. This approach is based on calculating the first, second, or higher-order mathematical derivatives of the experimentally obtained raw absorbance spectrum. On the calculated derivative spectra, the objective is to identify specific wavelengths, termed 'zero-crossing points,' where the derivative signal of one component in the mixture is nullified (or approaches zero very closely), while other components exhibit a significant derivative signal. Suppose such suitable zero-crossing points exist for all components intended for analysis in the mixture. In that case, the concentration of each component in the mixture can be quantitatively

determined without interference from the spectral contributions of other components using calibration equations established at these specific wavelengths. When the first-order derivative spectrum does not provide sufficient resolution, the analytical potential can be assessed by examining second or higher-order derivative spectra. Consequently, derivative spectrophotometry is an effective analytical method that enables the simultaneous and individual quantification of components in complex dyestuff mixtures, even utilizing conventional ultraviolet-visible (UV-Vis) spectrophotometers that are commonly available in laboratories and are relatively low-cost.

A synthetic dye mixture of Acid Violet 90 (AV 90) and Reactive Yellow 145 (RY 145) was treated with non-viable *Cladosporium cladosporioides* biomass. Individual concentrations were calculated using a first-order derivative spectrophotometric method. Calibration curves were plotted at wavelengths of 578.4 nm for Acid Violet 90 and 318.2 nm for Reactive Yellow 145 in the derivative spectrum, respectively. The calculated limit of quantification (LOQ) values were approximately 2.5 mg/L for Acid Violet 90 and approximately 1.5 mg/L for Reactive Yellow 145. The mean percentage recovery values obtained were around 100%. The highest removal efficiency (100%) for both dyes was achieved at pH 4, using 0.25 g of biomass and an initial concentration of 50 mg/L for each dye, with a shaking speed of 150 rpm over a 60-minute reaction period. Hydrochloric acid solution was utilized for biomass regeneration, and in the third cycle, removal efficiencies remained at 99% for Acid Violet 90 and 89% for Reactive Yellow 145.



1. GİRİŞ

Tarih boyunca insanlık için kritik dönüm noktalarının şekillenmesinde teknoloji sıklıkla merkezi bir rol oynamıştır. Örneğin, 20. yüzyıl büyük ölçüde petrokimya, ilaç ve gübre endüstrileri ile lazer ve mikroçip gibi buluşlarla tanımlanan, endüstriyel kimya ve fizik odaklı bir dönem olarak görülmektedir. Bununla birlikte, daha sonraki dönemlerde biyolojiyle ilişkili teknolojik alanlardaki ilerlemelerin hızlanması, biyoteknolojinin giderek daha baskın bir konuma gelmesini sağlamıştır (Smith ve ark., 2009; Mehta ve Gair, 2001). Yapılan güncel araştırmalar, artan dünya nüfusuyla birlikte hammadde ihtiyacının da sürekli büyüdüğünü ortaya koymaktadır. Bu gereksinimlerin doğal yollarla karşılanmasında ortaya çıkan güçlüklerle yanıt olarak bilim insanlarının geliştirdiği yaklaşımlardan biri de biyoteknolojik bir süreç olan biyotransformasyon uygulamalarıdır (Yılmaz Keskin, 2010).

Biyotransformasyon, canlı sistemlerin bir kimyasal maddeyi farklı bir yapıya dönüştürme sürecini ifade eder. Bu değişim, enzimatik tepkimeler aracılığıyla bileşiğin atomik veya moleküler düzeydeki yapısının modifikasyonudur. Organik reaksiyonlarda biyolojik katalizör işlevi gören tam hücreler ya da enzimler kullanılabilir. Bu biyokatalizörler serbest formda olabileceği gibi, immobilize edilmiş, sulu veya iki fazlı ortamlarda bulunan ya da çapraz bağlı kristaller halinde olabilirler. Enzimlerin biyokatalizör olarak kullanılmasının, özellikle regioselektif ve stereoselektif tepkimelerin gerçekleştirilmesinde ve geleneksel sentez yöntemleriyle başarılması güç veya olanaksız olan kiralitenin moleküllere kazandırılmasında değerli olduğu belirtilir (Sanjukta, 2007).

Birbiri ardına gerçekleşen biyotransformasyon tepkimeleri dizisi, bir biyokimyasal yolak meydana getirir. Bu süreçte tek bir biyotransformasyon adımı veya birbirini takip eden birkaç adım sonucunda yeni ürünler sentezlenebilir, ilgili bileşik canlı sistem tarafından zararsız hale getirilebilir veya metabolize edilebilir. Bu dönüşümler sonucunda ortaya çıkan maddeler, organizmadaki metabolik bir sürecin ara basamak ürünleri veya son ürünleri olabilir (Sanjukta, 2007).

Biyoteknolojinin ilerleyen bir dalı olan biyotransformasyon hem enzimler hem de mikroorganizmalar aracılığıyla gerçekleştirilen biyokatalizasyonu içerir. Bu alandaki temel itici güçler konusunda önemli gelişmeler arasında mikropların ve enzimlerin ayrıştırılması, taranması ve özelliklerinin belirlenmesi, biyokatalizörlerin zorlu koşullarda kullanılabilmesi, metabolik yolların yönlendirilmesi, modifiye edilmesi veya güçlendirilmesi ve yeni bileşikler oluşturmak amacıyla kombinatoryal biyosentez ile biyokatalizör yöntemlerinin uygulanması yer almaktadır (Sanjukta, 2007).

Biyoloji ile kimya disiplinlerinin entegrasyonu hem doğal yollarla elde edilen hem de mühendislik yöntemleriyle geliştirilen ve çevre dostu endüstriyel işlemlere uyarlanabilen biyokatalizör çeşitliliğinin olması biyotransformasyonların endüstriyel alanda pek çok yeni olanak yaratmasına zemin hazırlamıştır. Biyotransformasyon yöntemleri, hammaddeleri etkin bir şekilde kullanarak var olan ürünlerin daha ekonomik üretilmesini mümkün kılma potansiyeli sayesinde genellikle daha az başlangıç yatırımı gerektirmesi, daha düşük enerji ihtiyacı duyması ve tehlikeli salınımların azalması sayesinde atık bertaraf maliyetlerinin düşmesi gibi avantajlar sunar. Bununla birlikte, biyotransformasyon tamamen yeni ürünlerin ve sistemsel çözümlerin geliştirilmesine olanak tanıyabilir ve birçok alanda geleneksel kimyasal üretim metotlarının yerini alma potansiyeli göstermektedir. Etanol, glutamik asit, antibiyotikler, vitaminler, akrilamid ve izoglikoz şurubu gibi kayda değer ürünler biyotransformasyon aracılığıyla üretilmektedir. Çeşitli kimyasal maddelerin üretiminde biyotransformasyon işlemlerinin payının 2010 yılı itibarıyla %5 civarında olduğu tahmin edilirken, bu oranın aynı yıl %20'ye çıkabileceği öngörülmüştür. Kimya endüstrisinde yalnızca biyotransformasyonla elde edilen ürünlerin yaratacağı potansiyel katma değer 2010 yılı itibarıyla dünya genelinde yıllık 11 ila 22 milyar euro seviyesine ulaşması bekleniyor (Pacl ve ark., 2004).

Endüstriyel açıdan değerli bileşiklerin üretimi için kimyasal tepkimelerin canlı sistemler veya enzimler kullanılarak yürütülmesi biyotransformasyon olarak tanımlanır. Günümüzde bu yöntem ilaç aktif bileşenleri, gıda katkıları, enerji eldesi, antibiyotik sentezi ve amino asit üretimi dahil olmak üzere geniş bir yelpazede uygulama alanı bulmaktadır. Ayrıca, zehirli endüstriyel atıkların biyolojik olarak parçalanması, atık suların arıtılması ve geri kazanımı gibi çevresel problemlerin çözümünde de biyotransformasyondan yararlanılmaktadır (Onat ve ark., 2006).

Biyotransformasyon uygulamalarının kökenleri geçmişe uzanmaktadır. Pasteur'ün *Penicillium glaucum* bakterisi kullanarak DL-amonyum tartarati L-amonyuma çevirmesi ve *Acetobacter aceti* aracılığıyla etanolü asetik aside okside etmesi, bu alandaki ilk pratik uygulamalardan sayılır ve literatürdeki öncü çalışmalardır. Takip eden dönemlerde, özellikle mikroorganizmaların katalitik yeteneklerinden faydalanılarak çok sayıda biyotransformasyon gerçekleştirilmiştir. Steroid yapılı hormonların mikroorganizmalar aracılığıyla dönüştürülmesi, günümüzdeki modern biyotransformasyon uygulamalarının geliştirilmesinde kritik bir rol oynamıştır. Dehidroizoandrosteronun testosterona çevrilmesi gibi tepkimeler bu alandaki önemli dönüm noktalarındandır (Hanson, 1995; Onat ve ark., 2006; Tamer, 2005).

Biyotransformasyonun, başlıca avantajları arasında enzimlerin yüksek reaksiyon hızı, geniş substrat yelpazesiyile çalışabilme ve aynı zamanda spesifik fonksiyonel gruplara karşı yüksek seçicilik gösterme yeteneği bulunur (Hanson, 1995; Onat ve ark., 2006). Reaksiyonların genellikle enerji tasarrufu sağlayan ve yan ürün oluşumunu azaltan ılımlı koşullarda gerçekleşmesi, biyotransformasyonu ekonomik ve çevre dostu bir seçenek yapar (Terada ve ark., 1997). Bu reaksiyonların verimliliği; besiyeri bileşimi, substrat toksisitesi, yoğunluğu, sıcaklık, karıştırma hızı, süre, oksijen, pH ve mikroorganizma kökeni gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. İzole enzimler kullanıldığında enzimin dayanıklılığı ve ortam koşulları da önem kazanır. Endüstriyel açıdan değerli olan biyotransformasyon, ilaç, parfüm, gıda katkı maddesi, enerji, antibiyotik ve amino asit üretimi gibi birçok alanda kullanılır. Örneğin, steroid hormonları androstenedion gibi öncüllerin mikrobiyal dönüşümüyle elde edilebilir. İlaç sanayinde ise, özellikle moleküllerin sadece belirli bir enantiyomer formunda aktif veya güvenli olması gerektiğinde biyotransformasyon kritik rol oynar (Onat ve ark., 2006).

Türkiye ekonomisi için 1980'li yıllardan itibaren önemli bir güç olan ve gelişimini sürdüren tekstil sektörü, ülkenin dış ticaretinde de önemli bir paya sahiptir. 2000'li yılların ortalarında dışsatımın %34'ünü, dışalımın ise %8'ini oluşturarak otomotiv sektörünün ardından ekonomide ikinci sırada yer almıştır (Özgür, 2006). Ancak bu sektör, birçok diğer endüstri gibi, üretim süreçlerinde yoğun miktarda su ve kimyasal madde kullanımını gerektirir. Özellikle su ve boyar madde tüketimi açısından tekstil endüstrisi öne çıkmaktadır. Bu boyar maddeler, genellikle benzen, naftalin gibi aromatik hidrokarbonlardan düşük maliyetle sentezlenen ve kimyasal olarak oldukça kararlı (stabil) yapıya sahip bileşiklerdir; bu özellikleri nedeniyle tekstil başta olmak

üzere gıda, ilaç gibi farklı endüstrilerde kullanımları yaygındır. Tekstil endüstrisinden kaynaklanan atık sular, sadece yüksek biyokimyasal oksijen ihtiyacı (BOİ), kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ve toksik etkileriyle değil, aynı zamanda içerdikleri yoğun renk nedeniyle de arıtılması gereken ciddi çevresel sorunlar yaratmaktadır (Aksu, 2005).

Tekstil üretiminden kaynaklanan ve arıtılmadan alıcı ortamlara deşarj edilen kimyasal içerikli atık sular hem çevre hem de toplum sağlığı üzerinde olumsuz etkilere yol açmaktadır. Özellikle sentetik tekstil boyaları, karmaşık ve dayanıklı kimyasal yapıları nedeniyle sucul ekosistemlere karıştığında, canlıların metabolik süreçlerini bozarak biyoçeşitliliğin azalmasına neden olabilir (Santos, 2005). Bu boyaların çoğu sentetik kökenli, kompleks yapılı, biyolojik olarak zor parçalanabilen ve sucul organizmalar için toksik tehdit oluşturabilmeleri nedenleri ile endüstriyel atık sulardan etkin bir şekilde uzaklaştırılması büyük önem taşımaktadır (Aksu, 2005).

Boyar madde içeren atık suların arıtılması için çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar arasında kimyasal çöktürme, ters osmoz gibi membran ayırma teknikleri, iyon değişimi, adsorpsiyon (yüzeyde tutma) ve biyosorpsiyon gibi yaklaşımlar bulunmaktadır (Sarıkçı, 2013).

Son yıllarda, atık sulardaki boyar maddelerin giderimi amacıyla biyolojik yöntemlere olan ilgi artmıştır; bu kapsamda, boyaları biyolojik olarak parçalayabilen (biyodegradasyon) veya kendi bünyelerinde biriktirebilen (biyobirikim) mikroorganizmalar üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bakteriler, mantarlar ve algler gibi çeşitli mikroorganizma grupları bu tür arıtma süreçlerinde kullanılmaktadır. Kaynaklarda, mikroorganizmalarla boya giderimi için temelde canlı hücrelerin kullanımı ve ölü (inaktif) hücrelerin kullanımı olmak üzere iki farklı yaklaşım benimsendiği görülmektedir. Canlı hücreler, boyar maddeyi metabolik yollarla parçalayabilirler; ancak bu yöntemin bazı kısıtlamaları vardır. Canlılığın sürdürülebilmesi için sürekli besin ortamı gereksinimi, yüksek boya konsantrasyonlarında mikroorganizma üremesinin veya aktivitesinin engellenmesi (inhibisyon) ve sürecin genellikle yavaş ilerlemesi bu sınırlamalara örnektir. İnaktif (ölü) hücrelerin kullanıldığı ve biyosorpsiyon olarak adlandırılan yöntemde ise, boyar maddeler hücre yüzeyine veya içine fizikokimyasal mekanizmalarla tutunur. Ölü hücrelerle çalışmak, canlılık için özel koşullar gerektirmediğinden ve genellikle daha yüksek konsantrasyonlara dayanıklı olduğundan, çoğu zaman daha verimli ve pratik boya giderimi sağlayabilmektedir (Aksu, 2005).

1.1. Tezin Amacı

Çalışmanın birincil amacı, seçilen şalkon bileşiklerinin *C. cladosporioides* MRC 72584 küfı kullanarak gerçekleştirilecek biyotransformasyon süreçlerini detaylı bir şekilde incelemektir. Bu kapsamda, *C. cladosporioides*'in şalkonlar üzerindeki metabolik aktivitesi araştırılacak, biyotransformasyon sonucunda oluşabilecek potansiyel yeni türev bileşiklerin (metabolitler) yapıları aydınlatılacaktır. Bu çalışma ile şalkon bileşiklerinin mikrobiyal metabolizma yolları hakkında daha detaylı bilgi edinilmesi ve potansiyel olarak farmasötik veya diğer biyolojik uygulamalar için değerli olabilecek yeni ve biyoaktif moleküllerin keşfine zemin hazırlanması beklenmektedir. Bu sayede, *C. cladosporioides*'in şalkonları dönüştürme kapasitesi anlaşarak, bu tür doğal ürünlerin mikrobiyal metabolizmasına dair bilimsel bilgi birikimine önemli bir katkı sağlanması amaçlanmaktadır.

Tezin ikincil amacı, çevresel bir sorun teşkil eden sentetik azo boyar maddelerin sulu çözeltilerden giderilmesinde *C. cladosporioides* küfının biyosorbent olarak potansiyelini ve temel mekanizmalarını incelemektir. Çalışma kapsamında, *C. cladosporioides* biyokütlesinin seçilen azo boyaları için sorpsiyon kapasitesi belirlenecektir. Ayrıca, pH, sıcaklık, konsantrasyon ve temas süresi gibi temel parametrelerin giderim verimliliğine etkileri araştırılacaktır. Biyosorpsiyon sürecinin hızı ve denge durumuna uygun kinetik ve izoterm modelleri kullanılarak tanımlanacak ve potansiyel tutunma mekanizmalarının aydınlatılmasına çalışılacaktır. Ana hedef, *C. cladosporioides*'in azo boya (Acid Violet 90 ve Reactive Yellow 145) içeren atık suların arıtımı için etkili, düşük maliyetli ve çevre dostu bir biyosorbent olarak uygulanabilirliğini incelemektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Biyotransformasyon

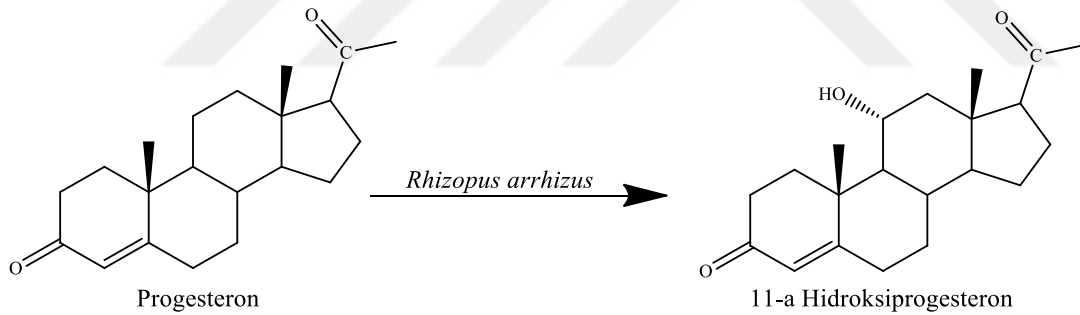
2.1.1. Geçmişten günümüze biyotransformasyon

Biyoteknoloji ve biyotransformasyonun kökleri, M.Ö. 3000'li yıllara, ilk ekmek mayasının kullanıldığı, alkolik fermantasyonun ve sirke yapımının keşfedildiği zamanlara kadar uzanır. Bu süreçler o dönemde bilinçli olarak yönetilmese de, insanlığın fermantasyon olgusunu ilk kez deneyimlemesini sağlamıştır. Tarihsel süreçteki diğer önemli kilometre taşları arasında Mezopotamya'da şarap üretiminin başlaması (M.Ö. 2000), bira üretiminin yaygınlaşması (M.Ö. 300), damıtık etanol eldesi (1150), sirkenin endüstriyel ölçekte üretimi (14. yy), kültür mantarı yetiştiriciliği (1650) ve mayaların fermantasyondaki rolünün bilimsel olarak anlaşılması (1818) sayılabilir (Roberts, 1992; Telefoncu, 1995; Hanson, 1995).

Bilimsel anlamda ilk biyotransformasyon uygulaması olarak kabul edilen çalışma, Louis Pasteur tarafından 1858'de gerçekleştirilmiştir; bu çalışmada *Penicillium glaucum* mantar kültürü kullanılarak DL-amonyum tartarat karışımındaki D-enantiyomer seçici olarak parçalanmış ve L-amonyum elde edilmiştir. Pasteur ayrıca, 1864'te etanolün *Acetobacter aceti* bakterisi aracılığıyla asetik aside dönüştürüldüğünü gösteren ve biyotransformasyon alanında literatüre giren ilk yayını yapmıştır. Bu temel çalışmalar, 1886'da Brown tarafından *Bacterium aceti* kullanılarak propanolün propiyonik aside yükseltgenmesiyle genişletilmiştir. Ondokuzuncu yüzyıldaki diğer önemli bulgular arasında, Dumas'ın 1874'te *Saccharomyces cerevisiae* (ekmek mayası) ile kükürtün hidrojen sülfüre (H₂S) indirgendiğini bildirmesi ve 1898'de Windisch'in furfuralın furfuril alkole indirgenebileceğini açıklaması yer alır. Yirminci yüzyılın başlarında, özellikle *S. cerevisiae* kullanılarak çok sayıda biyotransformasyon çalışması yürütülmüştür. Liebig ve Neuberg gibi bilim insanlarının öncülük ettiği bu çalışmalardan bazıları, I. Dünya Savaşı sırasında aseton, gliserol ve bütanol gibi stratejik öneme sahip kimyasalların mikrobiyal yollarla üretilmesine odaklanmıştır. Neuberg, 1921'de maya kullanarak kiral özellikte asetoin kondenzasyonunu geliştirmiş; fermantasyon ortamına benzaldehit ekleyerek asetaldehit ile

kondenzasyonunu sağlamış ve sonuçta bir ketol oluşturmuştur. Bu reaksiyon, 1934'te bir alkaloid olan efedrinin ticari sentezinin temelini atmıştır. 1930'larda C vitamininin endüstriyel ölçekte sentezlenebilmesi de biyotransformasyonun önemli erken başarılarındandır.

Modern biyotransformasyon uygulamalarının geliştirilmesinde ise steroid hormonlarının mikrobiyal dönüşümleri kritik bir dönüm noktası olmuştur. Bu alandaki öncü örneklerden biri, 1937'de dehidroizoandrosteronun (DHEA) testosterona *S. cerevisiae* ile dönüştürülmesidir; bu dönüşüm iki aşamada gerçekleşir: önce DHEA androsterondiona oksitlenir, ardından C-17 pozisyonundaki keto grubu seçici ve stereospesifik olarak testosteron vermek üzere alkole indirgenir (Hanson, 1995; Roberts, 1995; Dixan, 1999; Faber, 2004). Steroid kimyasındaki bir diğer çığır açıcı gelişme ise, 1952'de Murray ve Peterson tarafından gerçekleştirilmiştir; *Rhizopus arrhizus* mantar kültürü kullanılarak progesteron molekülünün 11. pozisyonuna α -konumunda stereospesifik olarak bir hidroksil grubu eklenmiş ve önemli bir ilaç öncülü olan 11 α -hidroksiprogesteron sentezlenmiştir (Şekil 2.1) (Murray ve Peterson, 1952).



Şekil 2.1. Progesteronun mikrobiyal biyotransformasyonu

2.1.2. Mikrobiyal Biyotransformasyon

Canlı organizmalar, yaşamları süresince karşılaştıkları ve kendilerine ait olmayan yabancı kimyasal maddelerle (ksenobiyotikler) etkileşime girerler. Biyotransformasyon, mikroorganizmalar, sporlar, hücreler, doku kültürleri gibi biyolojik sistemlerin, sahip oldukları enzimler aracılığıyla bu ksenobiyotikler üzerinde kimyasal değişiklikler yapma sürecini tanımlar. Mikroorganizmaların bu doğal dönüştürme yeteneklerinin bilimsel olarak keşfedilmesi ve spesifik kimyasal modifikasyonlar için kullanılmasına ise mikrobiyal biyotransformasyon adı verilir (Akar, 2015).

Mikrobiyal biyotransformasyon süreçlerinde, küfler, mayalar, bakteriler ve mikrobiyal algler gibi çeşitli mikroorganizmalar serbest halde veya uygun bir yüzeye sabitlenmiş (immobilize edilmiş) olarak kullanılabilir (Türkoğlu ve ark., 2011). Bu yöntem, geleneksel kimyasal sentezlere kıyasla sunduğu üstünlükler nedeniyle, özellikle son yıllarda biyoteknolojinin temel taşlarından biri haline gelmiştir (Faber, 2003). Mikroorganizmaların genetik olarak kolayca değiştirilebilmesi, biyoteknolojik çalışmalarda kullanım potansiyellerini sürekli arttırmaktadır (Demain, 2000). Biyoteknolojik üretimde mikroorganizmaların yanı sıra izole enzimler, bitki hücre ve doku kültürleri de yer alır. Mikroorganizma temelli teknikler temel olarak ikiye ayrılır: Birincisi, fermantasyon yoluyla basit besinlerden (şeker, amino asit vb.) başlayarak ürün eldesidir; ikincisi ise, ortama eklenen belirli bir substratın mikrobiyal biyotransformasyonudur. Fermantasyon genellikle karbon ve azot kaynaklarına ihtiyaç duyarken, biyotransformasyon için uygun substratın varlığı yeterlidir (Yılmaztekin ve ark., 2008).

Mikrobiyal ve enzimatik biyotransformasyonların kimyasal senteze göre birçok avantajı bulunmaktadır. Biyokatalizörler (mikroorganizmalar veya enzimler), genellikle oldukça ılımlı koşullarda (nötüre yakın pH, 20-40 °C) çalışarak enerji maliyetlerini düşürür ve yüksek sıcaklık/basınç gibi zorlu koşulların gerektirdiği özel ekipman ihtiyacını azaltmaktadır (Qin ve ark., 2023; Al-Samarrai, 2024). Bu ılımlı şartlar, aynı zamanda kimyasal sentezlerde sıkça rastlanan rasemizasyon, bozunma veya izomerleşme gibi istenmeyen yan reaksiyonları en aza indirerek daha saf ürünlerin elde edilmesini sağlar (Al-Samarrai, 2024). Biyokatalizörlerin en dikkat çekici özelliklerinden biri yüksek reaksiyon hızlarıdır; enzimli reaksiyonlar, enzimli olmayan reaksiyonlara göre 10^8 - 10^{10} kat daha hızlı gerçekleşebilir (Al-Samarrai, 2024). Ayrıca, yüksek özgüllük (kemo-, regio- ve enantioseçicilik) sayesinde, karmaşık moleküller üzerinde hedeflenen değişiklikler hassasiyetle yapılabilir, bu da özellikle farmasötik üretimde kritik olan tek bir enantiyomerin sentezini mümkün kılmaktadır (Qin ve ark., 2023; De Matos ve ark., 2023). Bu seçicilik, kimyasal sentezde genellikle gerekli olan karmaşık koruma/koruma kaldırma ve saflaştırma adımlarına ihtiyaç duymayabilir veya basitleştirebilir (Qin ve ark., 2023; Turner, 1998). Protein yapılı enzimlerin biyolojik olarak parçalanabilir olması ve ağır metal içermemesi, onları çevre dostu katalizörler yapmaktadır (Al-Samarrai, 2024). Mikroorganizmaların uygun beslenme koşullarında çok çeşitli enzimler üretebilmesi

ve spesifik olmayan enzim sistemleri sayesinde geniş bir substrat yelpazesini dönüştürebilmesi, bu yöntemlerin esnekliğini artırır (Turner, 1998; Qin ve ark., 2023). Tüm bu faktörler, mikrobiyal biyotransformasyonları genellikle daha hızlı, maliyet etkin ve sürdürülebilir bir üretim aracı haline getirmektedir (Turner, 1998).

2.1.3. Mikrobiyal biyotransformasyonlarda kullanılan mikroorganizmalar

Mikroorganizma hücreleri, biyotransformasyon süreçleri için oldukça elverişli adaylar olarak kabul edilir ve bunun altında yatan pek çok önemli faktör bulunmaktadır. Öncelikle, bu hücrelerin sahip olduğu yüksek yüzey alanı/hacim oranı, reaksiyonlar için geniş bir etkileşim alanı sunar. İkinci olarak, mikroorganizmaların hızlı üreme kapasiteleri, substratların istenen ürünlere dönüştürülmesi için gereken toplam süreyi belirgin şekilde azaltır. Üçüncü olarak, yoğun metabolik faaliyetleri sayesinde, substratların verimli ve süratli bir şekilde işlenmesi mümkün hale gelir. Son olarak, mikroorganizmalarla yürütülen biyotransformasyon işlemlerinde steril çalışma koşullarının oluşturulması ve sürdürülmesi, diğer sistemlere kıyasla daha kolaydır. Bu özellikler bir araya geldiğinde, mikroorganizmalar biyoteknolojik dönüşüm uygulamaları için güçlü birer araç haline gelir (Smitha ve ark., 2017).

2.1.4. Mikrobiyal biyotransformasyon reaksiyon çeşitleri

Mikroorganizmalar, çeşitli kimyasal reaksiyonları katalizleyerek molekülleri dönüştürme yeteneğine sahiptir. Biyotransformasyonlar arasında, bir moleküle oksijen eklenmesi veya hidrojen çıkarılmasıyla gerçekleşen oksidasyon (yükseltgenme) öne çıkar; alkollerin ketonlara, aldehytlerin asitlere dönüşümü ve hidroksilasyon bu türün örnekleridir. Oksidasyonun tersi olan redüksiyon (indirgenme), moleküle hidrojen eklenmesi veya oksijen çıkarılmasıyla ketonların alkollere indirgenmesi gibi süreçleri kapsar. Hidroliz, su molekülü aracılığıyla ester, amid ve glikozidik bağların kırılarak moleküllerin küçülmesini sağlarken, izomerizasyon aynı formüle sahip bir molekülün atomlarının yer değiştirerek farklı bir izomere dönüşmesidir. Ayrıca, kondenzasyon reaksiyonları iki veya daha fazla molekülü birleştirirken, mikroorganizmalar yeni karbon bağları oluşturarak molekül iskeletini de büyütebilirler. Moleküllere hidroksil, glikozil, metil veya asetil gibi fonksiyonel grupların eklenmesi veya mevcutların değiştirilmesi de mikroorganizmaların gerçekleştirebildiği önemli dönüşümlerdendir (Pervaiz ve ark., 2012).

2.1.5. Mikrobiyal biyotransformasyonlarda kullanılan sekonder metabolitler

2.1.5.1. Flavonoidler

Fenolik bileşikler içinde yer alan flavonoidler, özellikle meyve ve sebzelerde bol miktarda bulunan polifenolik yapıdaki önemli bir bileşik grubudur. Doğada sıklıkla sarı ve beyaz bitki pigmentleri olarak karşımıza çıkan flavonoidlerin bugüne kadar 4000'den fazla farklı türü tanımlanmış olup, bunların yaklaşık 500 kadarının serbest (aglikon) formda bulunduğu bilinmektedir (Kesarkar ve ark., 2009).

Kimyasal olarak flavonoidler, yeşil bitkilerde yaygın olarak sentezlenen, oksijen atomu içeren heterosiklik halka yapısına sahip doğal ürünlerdir. Bu bileşikler, bitkilerin normal büyüme ve gelişme süreçlerinde görev almakla kalmaz, aynı zamanda onları mikroorganizma saldırılarına ve çeşitli çevresel zararlılara karşı koruyan savunma mekanizmalarında da önemli roller üstlenirler (Alarcón ve ark., 2013). Bitkiler alemi içinde flavonoidler oldukça geniş bir dağılım gösterir; meyvelerden sebzelere, tahıllardan ağaç kabuklarına, köklerden gövdelere ve çiçeklere kadar bitkinin hemen her kısmında bulunabilirler (De Matos ve ark., 2020). Bitkilerdeki temel işlevleri arasında, çiçek, yaprak ve meyvelere canlı ve çekici renklerini vermek (pigment görevi) ve patojenlere karşı koruma sağlamak yer alır (De Matos ve ark., 2020). Bitki hücrelerinde, özellikle çiçeklerin, yaprakların, tohumların, gövdelerin veya köklerin vakuollerinde (hücre boşlukları) genellikle şekerlere bağlı glikozit formunda depolanırlar (Das ve ark., 2006).

Bitkilerdeki fizyolojik rollerinin ötesinde, flavonoidler insan beslenmesi ve sağlığı açısından da büyük önem taşımaktadır. Son yıllarda yoğun bilimsel ve terapötik ilginin odağı haline gelmişlerdir (Havsteen, 2002). İnsan diyetindeki temel rollerinden biri, güçlü antioksidan özellikler göstererek vücuttaki zararlı serbest radikalleri temizleyebilmeleridir (Alarcón ve ark., 2013). Yapılan çok sayıda araştırma, flavonoidler açısından zengin bir beslenme biçiminin, yaşlanma süreciyle ilişkili dejeneratif durumların yanı sıra kanser, diyabet, osteoporoz, kardiyovasküler hastalıklar ve nörodejeneratif bozukluklar gibi birçok kronik hastalığın gelişim riskini azaltmaya yardımcı olabileceğini öne sürmektedir (De Matos ve ark., 2020). Flavonoidlerin incelenen biyolojik ve farmakolojik aktiviteleri oldukça çeşitlidir; antioksidan etkilerine ek olarak antibakteriyel, antifungal, antiviral, anti-alerjik, anti-inflamatuar (iltihap karşıtı), antitümör, antiplatelet (pıhtılaşma önleyici), anti-iskemik ve östrojenik etkiler gibi pek çok faydalı özellik sergiledikleri rapor edilmiştir (De

Matos ve ark., 2020; Wang ve ark., 2010). Bu geniş spektrumlu biyoaktiviteler ve kronik hastalıkların riskini azaltma potansiyelleri, bilim dünyasını bu doğal bileşik sınıfına ait yeni türevlerin sentezlenmesi ve terapötik potansiyellerinin daha derinlemesine araştırılması yönünde motive etmektedir (De Matos ve ark., 2020). Flavonoidlerin sahip olduğu bu sayısız özellik ve potansiyel uygulama alanı, onlara olan ilgiyi giderek artırmaktadır (Wang ve ark., 2010).

Flavonoidler, şalkonlar, flavanonlar, flavonlar, flavonoller, flavan-3-oller, antosiyanidinler, antosiyaninler ve izoflavonoidler olmak üzere sınıflara ayrılmaktadır. Şalkonlar başlıca flavonoid biyosentezinde merkezi öncül moleküldür.

2.1.5.2. Şalkonlar

Kimyasal sınıflandırmada şalkonlar, polifenolik flavonoidler grubuna ait α , β -doymamış ketonlar olarak tanımlanır (Kozłowska ve ark., 2020). Karakteristik yapıları, bir karbonil grubu ile bir C=C çift bağı (α , β -doymamış sistem) içeren üç karbonlu bir köprü vasıtasıyla birbirine bağlanmış iki aromatik halkadan meydana gelir. Bu yapı, halka kapanmamış bir flavanon iskeleti olarak da düşünülebilir (De Matos ve ark., 2020; Kozłowska ve ark., 2020). Doğal şalkonlar genellikle aromatik halkalarında hidroksil grupları bulundursa da, bu temel iskelet yapısı kimyasal veya biyotransformasyon reaksiyonları yoluyla modifikasyona oldukça açıktır. Bu sayede, yapıya farklı fonksiyonel gruplar eklenerek çok sayıda şalkon türevi sentezlenebilmektedir; bu da onların kimyasal ve biyolojik özelliklerinin çeşitlendirilmesine olanak tanır (De Matos ve ark., 2020).

Şalkonlar, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan ve flavonoid ailesine mensup önemli sekonder metabolitlerdir. Özellikle insanlar tarafından tüketilen birçok bitkide bol miktarda bulunurlar (Rudrapal ve ark., 2021). Kimyasal yapıları itibarıyla, doğada sıklıkla birden fazla hidroksil grubu (-OH) taşıyan polihidroksillenmiş aromatik bileşiklerdir. Biyosentetik açıdan da kritik bir role sahiptirler; flavanonlar ve flavanoller gibi diğer önemli flavonoid sınıflarının sentezinde başlangıç molekülü, yani biyoöncül olarak işlev görürler (Rudrapal ve ark., 2021; De Matos ve ark., 2020). Yapılarındaki fenolik gruplar, onlara güçlü serbest radikal süpürme yeteneği kazandırır; bu antioksidan potansiyel, terapötik açıdan değerli bileşik arayışındaki araştırmacıların dikkatini şalkon açısından zengin bitki kaynaklarına çekmiştir. Şalkonların çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanımı geleneksel tıpta uzun bir

geçmişe sahiptir ve günümüzde de biyolojik aktivitesi kanıtlanmış pek çok şalkon, şifalı bitkilerden izole edilmeye devam etmektedir (Rudrapal ve ark., 2021).

Bitkilerde şalkonlar, çevresel stres faktörlerine, mikroorganizma saldırılarına veya böcek/hayvan zararlarına karşı koruyucu bir bariyer oluşturmada rol oynayan biyoaktif ikincil metabolitlerdir (Kozłowska ve ark., 2020). Sahip oldukları bu doğal fonksiyonların yanı sıra, gösterdikleri geniş biyolojik aktivite spektrumu nedeniyle farmakolojik açıdan da büyük ilgi görmektedirler. Yapısal çeşitliliklerine bağlı olarak antikanser, antibakteriyel, antifungal, antioksidan, anti-inflamatuar ve antimalaryal gibi pek çok farklı etki rapor edilmiştir (Kozłowska ve ark., 2020; Rudrapal ve ark., 2021). Özellikle hidroksi (-OH) grubu içeren şalkon türevleri (hidroksikalkonlar), bu grupların proteinler ve enzimlerin aktif bölgelerindeki amino asit kalıntılarıyla hidrojen bağı kurma eğilimi göstermesi nedeniyle, potansiyel ilaç hedefi etkileşimleri açısından bilim camiasında özel bir ilgiye mazhar olmuştur (Kozłowska ve ark., 2020). Bahsedilen bu sebeplerden dolayı şalkonların hem doğal kaynaklardan elde edilebilirliği hem de yapısal olarak modifikasyona uygunluğu, onları çeşitli biyolojik aktivitelere sahip yeni bileşiklerin geliştirilmesi için değerli bir temel yapı haline getirmektedir (De Matos ve ark., 2020).

2.1.6. Biyotransformasyonların avantajları

Biyotransformasyon süreçleri, geleneksel kimyasal sentez yöntemlerine kıyasla bir dizi önemli üstünlük sunmaktadır. Bu süreçler, genellikle "Yeşil Teknoloji" prensipleriyle uyumlu olup çevre dostu bir yaklaşım sergilerler ve daha temiz atık akımları oluştururlar. Reaksiyon verimlilikleri ve toplam ürün dönüşüm oranları sıklıkla daha yüksektir, bu da daha etkin bir hammadde kullanımı anlamına gelir. Özellikle kiral moleküllerin sentezinde, biyotransformasyonlar üstün enantiyomer seçiciliği sağlayarak istenen tek bir enantiyomerin hedeflenerek üretilmesine veya rasemik karışımların etkin bir şekilde ayrıştırılmasına olanak tanır; bu sayede değerli kiral ara ürünler elde edilebilir ve asimetric sentez yöntemleri geliştirilebilir. Biyotransformasyonlar ayrıca, daha az istenmeyen yan ürün oluşumuyla sonuçlanabilir ve potansiyel olarak üretim rotalarını kısaltabilir. Proses ekonomisi açısından da avantajlı olabilen bu yöntemler, en önemlisi, kimyasal sentezlerde sıklıkla ihtiyaç duyulan ağır metal katalizörler, yüksek sıcaklık, yüksek basınç veya aşırı pH gibi zorlu ve tehlikeli reaksiyon koşullarına olan gereksinimi ortadan kaldırır;

bunun yerine genellikle nötre yakın, ılımlı Şartlarda çalışırlar ve biyolojik, doğal bir işleme karakteri taşırlar (Sanjukta, 2007).

2.2. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon, bir maddenin başka bir katı maddenin yüzeyinde, yüzeydeki çekim kuvvetleri etkisiyle tutunması veya bir arayüzeyde konsantrasyonunun artması olarak tanımlanan bir yüzey olgusudur. Bu süreçte yüzeyde tutunan maddeye adsorplanan, tutunmayı sağlayan katı maddeye ise adsorban adı verilir (Pekin, 1985; Dabrowski, 2001). Adsorpsiyon proseslerinin temelini ve adsorban ile adsorbat arasındaki etkileşimlerin nasıl Őekillendięini kavramak açısından büyük önem taşıyan adsorpsiyon izotermi, bir adsorbanın sabit bir sıcaklıkta adsorbatı ne ölçüde tutabildiğini gösteren matematiksel bir model olarak tanımlanır (Doğan ve ark., 2007). Söz konusu adsorplama kapasitesinin tayin edilmesinde ise yaygın olarak Langmuir ve Freundlich gibi izoterm modelleriyle birlikte adsorpsiyon kinetiği parametrelerinden faydalanılır.

Langmuir izoterm modeli, adsorban malzemenin (sorbent) yüzeyinde adsorpsiyon için uygun, belirli "aktif bölgeler"ın var olduğu temel kabulüne dayanır. Bu model çerçevesinde, yüzeydeki her bir aktif bölgenin kapasitesinin yalnızca tek bir molekülü tutmakla sınırlı olduğu düşünülür. Bu nedenle Langmuir yaklaşımı, yüzeyde yalnızca tek bir molekül katmanının oluştuğu, yani "tek tabakalı" (monolayer) bir fiziksel adsorpsiyon sürecini tanımlar. Başka bir ifadeyle, adsorpsiyon işlemi sonucunda yüzeyde meydana gelen kaplamanın kalınlığı bir molekül kadardır. Modelin getirdiği diğer önemli varsayımlar arasında, yüzeydeki tüm aktif adsorpsiyon noktalarının, adsorplanacak moleküllere karşı tamamen aynı çekim gücüne sahip olması yer alır. Ayrıca, bir bölgeye adsorplanmış olan bir molekülün, hemen yanındaki komşu bölgelere tutunmuş diğer moleküllerle herhangi bir etkileşim içine girmediği kabul edilir. Bu izoterm modelinin, katı bir yüzey üzerindeki aktif noktalarda gerçekleşen tutunma olayının fiziksel mi yoksa kimyasal adsorpsiyon mu olduğunu belirlemede diğer modellere kıyasla daha güçlü bir açıklama sunduğu belirtilmiştir (Langmuir, 1918).

Langmuir izoterm modeline göre, çözeltideki veya gaz fazındaki adsorplanacak maddenin başlangıç konsantrasyonu arttıa, yzeeye tutunan madde miktarı da artış gösterir. Ancak, yüzeydeki tüm aktif bölgeler tek bir molekül tabakasıyla tamamen

kaplandığında, sistem maksimum doygunluk noktasına ulaşır. Bu noktadan sonra, başlangıç konsantrasyonu artsa bile yüzeye adsorbe edilen madde miktarı daha fazla artmaz ve sabit bir değerde kalır (Eşitlik 1) (Langmuir, 1918).

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_m K_L} + \frac{C_e}{q_m} \quad \text{Eşitlik (1)}$$

Burada (Eşitlik 1) q_m maksimum tek tabaka adsorpsiyon kapasitesidir (mol g^{-1}), K_L Langmuir sabitidir (L mol^{-1}), q_e adsorpsiyon kapasitesidir (mol g^{-1}) ve C_e denge konsantrasyonudur (mol L^{-1}). C_e/q_e 'yi C_e 'ye göre çizmek (Eşitlik (1)) eğimi $1/q_m$ ve kesişimi $1/K_L q_m$ olan düz bir çizgiyle sonuçlanmaktadır (Piccin, 2011).

Heterojen, yani tekdüze olmayan yüzeylerde meydana gelen adsorpsiyon süreçlerini açıklamak için kullanılan deneysel bir yaklaşım ise Freundlich izotermi'dir. Bu izoterm, adsorpsiyonun çoklu katmanlar halinde gerçekleşebileceği ve adsorban yüzeyinin farklı enerji seviyelerine sahip olabileceği varsayımını temel alır. Matematiksel ifadesi, adsorbe edilen miktar ile çözeltideki konsantrasyon arasındaki ilişkiyi doğrusal olmayan bir denklemle ortaya koyar. Özellikle su ve atık su arıtma uygulamalarında, adsorban yüzeyindeki enerji çeşitliliğinin (heterojenliğinin) incelenmesi ve değerlendirilmesi amacıyla Freundlich izotermi sıkça tercih edilen bir modeldir (Eşitlik 2) (Doğan ve ark., 2007).

$$\log q_e = \log K_f + \frac{1}{n} \log C_e \quad \text{Eşitlik (2)}$$

Freundlich izoterm modeliyle ilişkili sabitler sorpsiyon kapasitesi (K_f) ve sorpsiyon yoğunluğudur ($1/n$). Ayrıca, $1/n$, adsorban/adsorbat sisteminin uygunluğu ve kapasitesi hakkında bir gösterge sağlar. $\log q_e$ 'yi $\log C_e$ 'ye göre çizmek (Eşitlik (2)), eğimi $1/n$ ve kesişimi $\log K_f$ olan düz bir çizgiyle sonuçlanır (Piccin, 2011).

Adsorpsiyon proseslerinin hangi hızda ve hangi mekanizmalar üzerinden ilerlediğini inceleyen adsorpsiyon kinetiği, atık su iyileştirme, renk giderme işlemleri ve çeşitli endüstriyel süreçler için önemli bir gösterge olarak kabul edilir. Bu kinetik çalışmalar; adsorplanacak maddenin (adsorbant) adsorban yüzeyine varış hızını, moleküllerin yüzeyle temas ve etkileşim süresini ve sistemin adsorpsiyon dengesine erişme zamanını kapsar. Genel bir yaklaşımla, adsorpsiyon kinetiği sıklıkla yalancı birinci derece ve yalancı ikinci derece olmak üzere iki ana model kullanılarak tanımlanır. Yalancı birinci derece model, adsorpsiyon hızının çözelti içindeki adsorbant

konsantrasyonu ile orantılı olduğunu öne sürerken, yalancı ikinci derece model adsorpsiyon hızının daha çok yüzeydeki aktif bağlanma noktalarının doluluk durumuyla bağlantılı olduğunu belirtir (Ho ve ark., 1998).

2.3. Biyosorpsiyon

Biyosorpsiyon, adsorban olarak biyolojik kökenli materyallerin kullanıldığı özel bir adsorpsiyon türüdür. Temel mekanizması sorpsiyona dayanan bu süreç, sulu çözeltilerdeki metaller veya boyar maddeler gibi çeşitli kirleticilerin, canlı veya inaktif biyokütleler ya da bunlardan türetilmiş materyaller aracılığıyla uzaklaştırılması işlemidir (Volesky, 1990; Fu ve Viraraghavan, 2000; Maurya, 2006).

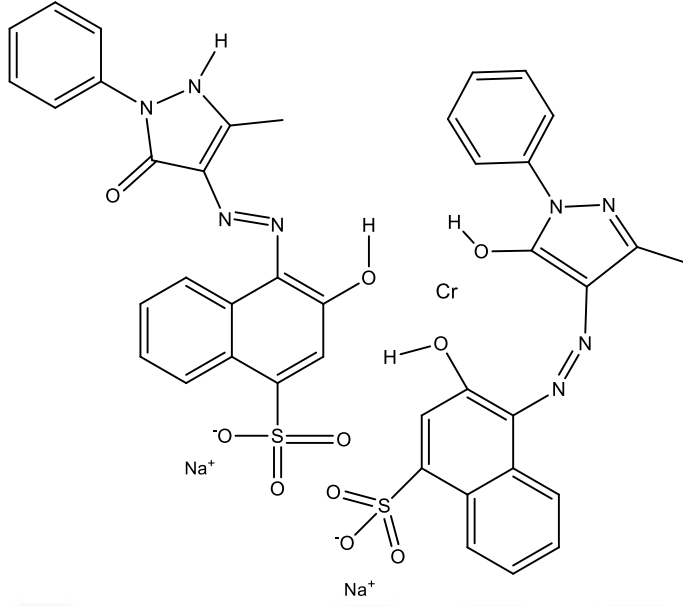
Son yıllarda yapılan araştırmalar, bakteri, fungus ve alg gibi mikroorganizmaların (Fu ve Viraraghavan, 2002; Arıca, 2005) yanı sıra, portakal kabuğu, pirinç kabuğu, ağaç kabukları, mısır koçanı gibi tarımsal veya endüstriyel atık niteliğindeki, ucuz ve yapılarında boya bağlayıcı fonksiyonel gruplar içeren biyokütlelerin alternatif biyosorbentler olarak kullanılması üzerinde yoğunlaşmıştır (Waranusantigul, 2003). Biyosorpsiyon olarak adlandırılan bu yöntemin etkinliği, kullanılan biyokütlenin yüzey özellikleriyle yakından ilişkilidir. Ağır metaller veya boyalar gibi kirleticilerin biyosorpsiyonu, temel olarak bu maddelerin, biyokütlenin hücre duvarında bulunan ve başlıca polisakkaritler, proteinler ve lipidlerden oluşan yapıların yüzeyindeki fonksiyonel gruplar (örneğin, karboksil, hidroksil, amin grupları) ile etkileşime girmesine dayanır (Gadd ve White, 1985). Bu etkileşimler, hücre metabolizmasından bağımsız, fizikokimyasal bir süreçtir ve fiziksel/kimyasal adsorpsiyon, elektrostatik çekim, iyon değişimi, kompleksleşme, şelat oluşumu veya mikropresipitasyon (yüzeyde çökelme) gibi çeşitli mekanizmaları içerebilir. Biyosorpsiyon uygulamalarında hem canlı hem de cansız biyokütleler kullanılabilir de, cansız biyokütle kullanımı bazı önemli avantajları nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedir (Liu, 2003; Aksu, 2005). Canlı hücrelerin biyosorpsiyon sırasında canlılıklarını sürdürebilmeleri için uygun besin ortamına ihtiyaç duymaları ve ortamdaki toksik maddelerden korunmalarının gerekmesi gibi zorluklar vardır. Oysa cansız biyokütlelerin kullanılması bu tür gereklilikleri ortadan kaldırır, toksisiteye daha dayanıklıdır ve genellikle daha öngörülebilir ve verimli bir sorpsiyon süreci sunar (Aksu, 2005).

Endüstriyel boyalar, genellikle sentetik olarak üretilen, azo grupları veya antrakinin tipi kromoforlar gibi renk veren yapılar içeren kompleks aromatik bileşiklerdir (Fu ve Viraraghavan, 2001; Aksu ve Tezer, 2005). Bu boyar maddeler, tekstil, deri, gıda, kauçuk, kozmetik, ilaç, kağıt ve baskı gibi çok sayıda endüstriyel alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Gong, 2005). Ancak, bu endüstrilerden kaynaklanan ve boyar maddelerle kirlenmiş atık suların arıtılmadan doğal su kaynaklarına karışması, ciddi bir çevre sorununa yol açmaktadır (Aksu ve Dönmez, 2003). Boyar maddeler, suya renk vererek ışık geçirgenliğini azaltır ve bu durum sucul ekosistemlerdeki fotosentezi ve dolayısıyla yaşamı olumsuz etkiler. Ayrıca, bazı boyar maddelerin veya yıkım ürünlerinin (örneğin toksik aminler) kanserojenik, mutajenik etkileri olabileceği ve çeşitli organlarda (akciğer, böbrek, beyin, merkezi sinir sistemi, üreme sistemi) tahribata yol açarak önemli sağlık sorunlarına neden olabileceği bildirilmektedir (Mahony, 2002; Aksu, 2005).

Boyar maddeler, çeşitli malzemelere renk kazandırmak amacıyla kullanılan, organik ya da inorganik yapıda olabilen kimyasal bileşiklerdir. Genellikle çözelti veya süspansiyon formunda tatbik edilerek kalıcı bir renk oluşturan bu maddeler, yüksek renklendirme gücü, ışığa ve yıkamaya karşı dayanıklılık gibi temel niteliklere sahip olmalıdır. Bu özellikleri sayesinde tekstil, kağıt, plastik, gıda ve kozmetik gibi farklı endüstriyel alanlarda yaygın bir kullanım alanı bulurlar (Zollinger, 2003).

Boyar maddelerin renklendirme yeteneği, genellikle aromatik halkalar içeren kimyasal yapılarının, ışığın belirli dalga boylarını soğurma (absorbe etme) özelliğinden kaynaklanır. Bu sayede renkli görünürler ve bu karakteristik renk özellikleri, moleküllerinde yer alan kromofor ve oksokrom olarak bilinen özel işlevsel gruplar tarafından belirlenir (Christie, 2014). Bu grupların yapılarında kromofor sınıfında azo grubu ($-N=N-$), karbonil grubu ($=C=O$), etilen grubu ($=C=C=$), nitro grubu ($-NO_2$), karboamino grubu ($=C=NH$), tiyokarbonil grubu ($=C=S$), nitrozo grubu ($-N=O$); oksokrom sınıfında ise fenolik grup ($-O-C_6H_5$), hidroksil grup ($-OH$), tiyohidroksi grup ($-SH$), metoksi grup ($-OCH_3$), sülfonik asit grubu ($-SO_3H$), amino grupları ($-NH_2$, $-NHR$, $-NR_2$) bulunmaktadır (Christie, 2014).

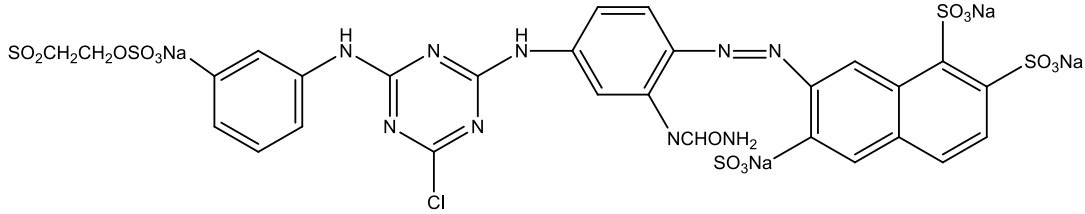
Bu tez çalışmasında kullanılan boyalardan olan azo boyar maddelerden Acid Violet 90 (AV90) boyasının molekül yapısı ve kimyasal özellikleri sırasıyla Şekil 2.2’de ve Tablo 2.1’de, Reactive Yellow 145 (RY145) boyasının molekül yapısı ve kimyasal özellikleri Şekil 2.3’de ve Tablo 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2.2. Acid Violet 90 boyasının açık yapısı

Tablo 2.1. Acid Violet 90 boyasının kimyasal özellikleri (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi, 2024).

Moleküler Formül	IUPAC Adı	M _A (g/mol)
C ₄₀ H ₃₀ CrN ₈ Na ₂ O ₁₀ S ₂	disodyum;krom;3-hidroksi-4-[(5-hidroksi-3-metil-1-fenilpirazol-4-il)diazenil]naftalin-1-sülfonat;3-hidroksi-4-[(5-metil-3-okso-2-fenil-1 <i>H</i> -pirazol-4-il)diazenil]naftalin-1-sülfonat	944,8 g/mol



Şekil 2.3. Reactive Yellow 145 boyasının açık yapısı

Tablo 2.2. Reactive Yellow 145 boyasının kimyasal özellikleri (Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi, 2024).

Moleküler Formül	IUPAC Adı	M _A (g/mol)
C ₂₈ H ₂₀ ClN ₉ Na ₄ O ₁₆ S ₅	tetrasodyum;7-[[2-(karbamoilamino)-4-[[4-kloro-6-[3-(2-sülfonatoksietilsülfonil)anilino]-1,3,5-triazin-2-il]amino]fenil]diazenil]naftalen-1,3,6-trisülfonat	1026,3 g/mol

Endüstriyel atık sulardan boyaların uzaklaştırılması, çevresel önemi yüksek bir araştırma alanı olmakla birlikte zorlu bir süreçtir (Özcan ve Özcan, 2004). Bunun temel nedeni, boyaların genellikle kimyasallara, oksitleyici ajanlara, ısıya ve biyolojik parçalanmaya karşı oldukça dirençli ve moleküler yapıları sahip olmasıdır (Kargi ve

Ozmihci, 2004). Geleneksel olarak boya giderimi için flokülasyon, koagülasyon, kimyasal çöktürme, ters osmoz, ultrafiltrasyon, kimyasal oksidasyon ve adsorpsiyon gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılmaktadır (Ong, 2005). Bu yöntemler arasında adsorpsiyon, etkinliği nedeniyle önemli bir alternatif olarak öne çıkar. Aktif karbon, yüksek gözenekliliği, geniş yüzey alanı, iyi adsorpsiyon kapasitesi ve yüzey reaktivitesi sayesinde bu amaçla en yaygın kullanılan adsorban malzemedir. Ancak, aktif karbonun üretim maliyetinin yüksek olması ve özellikle büyük ölçekli uygulamalarda rejenerasyon zorlukları, kullanımını zaman zaman ekonomik ve teknik açıdan kısıtlamaktadır. Bu nedenle, atık sulardan boyar madde giderimi için aktif karbona alternatif olabilecek (bataklık kömürü, bentonit kili, uçucu kül gibi malzemeler), daha ucuz, kolay temin edilebilir ve etkili adsorpsiyon materyalleri geliştirme çalışmaları sürmektedir (Liversidge, 1997; Mahony, 2002; Özcan ve Özcan, 2004). Verimli, ekonomik ve kolay bulunabilen yeni adsorbanlara olan ihtiyaç devam etmektedir (Fu ve Viraraghavan, 2001).

2.3.1. Biyosorpsiyonu etkileyen etmenler

Bir biyokütlenin belirli bir kirleticiyi biyosorpsiyon kapasitesi, kullanılan biyolojik materyalin türü, hedef kirleticinin kimyasal doğası, biyokütlenin nasıl hazırlandığı ve yüzeyinin sahip olduğu özellikler gibi çeşitli etkenlerden etkilenir. Bunlara ek olarak, biyosorpsiyon işleminin gerçekleştiği ortamdaki diğer maddelerin varlığı, sıcaklık, pH, kirletici konsantrasyonu gibi fizikokimyasal koşullar da biyokütlenin sorpsiyon yeteneğini belirleyen önemli faktörlerdendir (Aksu, 2005; Maurya, 2006).

2.3.1.1. pH

Biyosorpsiyon süreçlerinin etkinliğini doğrudan etkileyen temel faktörlerden biri ortamın pH değeridir. Çözeltinin pH seviyesi, hem biyosorbent materyallerin yüzeyindeki işlevsel grupların iyonlaşma durumunu hem de çözeltideki kirletici maddelerin kimyasal yapılarını değiştirebilme kapasitesine sahiptir (Volesky ve Holan, 1995).

Düşük pH değerlerinde, biyosorbent yüzeyi genellikle protonasyon yoluyla pozitif yük kazanma eğilimi gösterir. Bu durum, anyonik (negatif yüklü) iyonların bağlanmasını teşvik ederken, katyonik (pozitif yüklü) maddelerin biyosorpsiyon kapasitesini azaltır (Aksu, 2005). Buna karşılık, pH seviyesi arttıkça, biyosorbent yüzeyindeki fonksiyonel gruplar deprotonize olarak negatif bir yük kazanır. Bu değişim, katyonik

ve yüksüz (nötr) kirletici türlerin biyosorbent tarafından tutulmasını kolaylaştırıcı bir etki yaratır (Wang ve Chen, 2009).

2.3.1.2. Zaman

Zaman faktörü, biyosorpsiyon süreçlerinin genel performansını doğrudan belirleyen kritik bir unsurdur. Genellikle, biyosorbent ile hedef kirletici arasındaki temas süresi arttıkça, adsorbe edilen madde miktarının da arttığı veya sistemin bir denge noktasına ulaştığı gözlemlenir. Özellikle tekstil endüstrisi atık sularındaki kirleticilerin adsorpsiyonunda, yeterli temas süresinin ardından biyosorbent malzemenin doyma noktasına ulaşması ve buna bağlı olarak adsorpsiyon kapasitesinde bir azalma meydana gelmesi olasıdır (Çolak ve Kılınç, 2017). Bu nedenle, atık su arıtma uygulamalarının verimliliğini en üst düzeye çıkarmak için, biyosorpsiyon için gereken sürenin ideal şekilde optimize edilmesi büyük önem taşımaktadır.

2.3.1.3. Sıcaklık

Sıcaklık, biyosorpsiyon sürecindeki hem fizikokimyasal hem de biyokimyasal mekanizmalar üzerinde belirleyici bir etkiye sahiptir. Genellikle, sıcaklık artışı biyosorpsiyon kinetiğini hızlandırarak metal iyonlarının veya organik kirleticilerin biyosorbent yüzeyine bağlanma oranını yükseltebilir (Gupta ve Rastogi, 2008). Ancak, sıcaklığın aşırı derecede yükselmesi durumunda, biyosorbent malzemenin yapısındaki bağlanmada kilit rol oynayan fonksiyonel gruplar bozulmaya uğrayabilir. Bu durum, biyosorpsiyon kapasitesinde olumsuz bir değişikliğe yol açabilir (Veglio ve Beolchini, 1997). Bu sebeple, biyosorpsiyon işleminin en verimli (optimum) sıcaklık koşullarında gerçekleştirilebilmesi için, sistematik olarak planlanmış sıcaklık testlerinin yapılması büyük önem taşır.

2.3.1.4. Biyokütle miktarı

Çözelti ortamındaki kirletici maddelerin uzaklaştırılma etkinliğini doğrudan etkileyen bir diğer önemli faktör, kullanılan biyosorbent miktarıdır. Genel bir ilke olarak, sisteme eklenen biyokütle miktarındaki artış, daha fazla sayıda aktif bağlanma noktasının mevcut olması anlamına gelir ve bu durum biyosorpsiyon kapasitesinin artmasıyla sonuçlanır (Bai ve Abraham, 2003). Bununla birlikte, biyokütle miktarının belirli bir düzeyin üzerine çıkarılması halinde, sistemin doygunluğa erişmesi nedeniyle biyosorpsiyon oranında ilave bir yükselme gözlemlenmeyebilir (Fourest ve Roux,

1992). Bu durum, optimum biyosorbent miktarının belirlenmesinin önemini ortaya koyar.

2.3.1.5. Konsantrasyon

Konsantrasyon parametresi, biyosorpsiyonun ne denli etkili olacağını belirlemede kilit bir rol oynar. Düşük kirletici konsantrasyonlarında, biyosorbent materyalin yüzeyindeki aktif bağlanma bölgelerinin önemli bir kısmı kullanılmamış (boş) durumdadır. Çözeltideki kirletici konsantrasyonu arttıkça, bu bağlanma noktaları giderek daha fazla dolar ve bunun sonucunda biyosorpsiyon kapasitesi de bir yükseliş gösterir. Ancak, konsantrasyon belirli bir eşik seviyesini aştığında, biyosorbent yüzeyindeki tüm bağlanma bölgeleri tamamen dolacağı için biyosorpsiyon kapasitesi artık doygunluk noktasına ulaşır ve bu seviyede sabitlenir (Aksu, 2005).

2.3.1.6. Biyosorbent tanecik boyutu

Biyosorbent malzemenin fiziksel özellikleri ve yüzey alanının büyüklüğü, biyosorpsiyon kapasitesini belirleyen önemli faktörlerdendir. Genel olarak, daha küçük partikül boyutlarına sahip biyosorbentler, daha geniş bir toplam yüzey alanı sunarlar. Bu durum, kirletici maddelerle daha fazla temas noktası yaratarak biyosorpsiyon verimini artırır (Bishnoi ve Garima, 2005). Ancak, tanecik boyutunun aşırı derecede küçük olması halinde, bu çok ince biyosorbent partiküllerinin çözelti içerisinde bir araya gelerek topaklaşmaya (flokülasyona) yol açması mümkündür. Bu durum, biyosorpsiyon sürecinin etkinliğini olumsuz yönde etkileyebilir (Akar ve ark., 2009). Bu sebeple, optimum partikül boyutu seçimi büyük önem taşır.

2.3.1.7. Karıştırma hızı

Biyosorpsiyon sürecinde karıştırma hızı, biyosorbent malzemenin etrafındaki kütle transferi üzerinde etkili olan önemli bir parametredir. Karıştırma hızının artırılması, çözelti içerisinde bulunan kirletici moleküllerin biyosorbent yüzeyine daha süratli bir şekilde ulaşmasını sağlayarak biyosorpsiyon kapasitesinin yükselmesine olanak tanıyabilir. Literatürdeki çalışmalar, çalkalama hızının, biyosorpsiyon işleminde kütle transfer hızını belirleyen ve dolayısıyla süreci sınırlayabilen bir faktör olduğunu vurgulamaktadır (Volesky, 2007; Wang ve Chen, 2009). Bu nedenle, verimli bir biyosorpsiyon için optimum karıştırma hızı önemlidir.

2.4. Literatürde Tekstil Boyar Maddelerin Biyosorpsiyonları

Tekstil boya atıklarının deşarj edilmeden önce arıtılması, doğal su kaynaklarının korunmasını sağlar. Renk giderimi için çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılabilmektedir. En yaygın kullanılan arıtma prosesleri bakteriyel bozunma, fotokatalitik yöntemler ve adsorpsiyondur. Biyosorpsiyon da sorbentlerin (adsorplayıcıların) biyokütle üzerine yüklendiği bir adsorpsiyon türüdür. Organik maddelerin biyokütle üzerindeki adsorpsiyonu; elektrostatik etkileşim, kompleksleşme, iyon değişimi gibi birçok yolla gerçekleşebilir. Mikroorganizma hücre duvarında bulunan lipitler ve polisakkaritler gibi biyolojik moleküllerin fonksiyonel grupları biyosorpsiyonda rol almaktadır (Danouche ve ark., 2021). Biyosorpsiyon ile atık sulardan hem metalik (Heidarzadeh-Samani ve ark., 2023) hem de organik kirleticiler (Lima ve ark., 2023) giderilebilmektedir. Literatürde biyokütller, tekstil boya atıklarının rengini gidermek için de sıklıkla kullanılmaktadır. Bir çalışmada, *Aspergillus parasiticus* ile katyonik ve anyonik boyaların giderilmesi (Bouras ve ark., 2021), *Aspergillus carbonarius* ve *Penicillium glabrum* ile metilen mavisi giderimi (Bouras ve ark., 2021) ve *Fusarium oxysporum* ile Kongo kırmızısı ve bazik fuksin giderimi rapor edilmiştir (Batana ve ark., 2022).

Acid Violet 90 (AV 90) ve Reactive Yellow 145 (RY145), aromatik azo yapısına sahip tekstil boyalarıdır. Bu boyalar, azo boyaları olarak sınıflandırılır ve genellikle diazenil gruplarına ek olarak suda çözünebilen kısımlara sahiptir (Benkhaya ve ark., 2020). Parçalanmış ve parçalanmamış azo boyaları, insanlar ve hayvanlar için kanserojen olabilmektedir. Aromatik aminler, azo boyalarının parçalanmasıyla oluşan ve tümörlere neden olabilen, aynı zamanda alerjen olarak etki edebilen ürünlerdir (Chung, 2016). Literatürdeki bazı çalışmalar, asit viyole ve reaktif sarı boyaların biyosorpsiyon yoluyla giderilmesini incelemiştir. İki çalışmada, AV90'ın biyosorpsiyonu için *Zingiber officinale* (zencefil) ve *Psidium guajava* L. (guava) tozları kullanılmıştır (Hashem ve ark., 2023). Her iki çalışmada da maksimum giderim, 0,2 g/L biyosorbent kullanılarak pH 2'de elde edilmiştir. Caner ve ark. (2011), kurutulmuş *Penicillium restrictum* kullanarak RY145'in biyosorpsiyonunu araştırmıştır. Bildirilen optimum giderim pH'ı 1,0, biyokütle dozu 0,4 mg/L ve çalkalama süresi 75 dakikadır. Krishnasamy ve ark. (2022), RY145'in rengini gidermek için yer fıstığı kabuğu bazlı biyokömür (biochar) kullanmıştır. Dengeye, 1,0 g/L biyokütle kullanılarak pH 2'de ulaşılmıştır. Kifetew ve ark. (2023), RY145'i

gidermek için teff samanı bazlı aktif karbon hazırlamıştır. Bildirilen optimum giderim parametreleri pH 2, 0,3 g/L biyokütle dozu ve 120 dakikalık temas süresidir. Zhang ve ark. (2003), RY145'in biyosorpsiyonu için *Penicillium oxalicum*'dan elde edilen misel peletlerini kullanmıştır. Maksimum giderim yüzdeleri pH 2'de elde edilmiştir. Benkaddour ve ark. (2018), 1,0 g biyokütle kullanarak 30 dakika boyunca pH 3'te RY145'i gidermek için karpuz çekirdeklerini hekzan ile muamele etmiştir.

Literatürde, *Cladosporium cladosporioides* kullanılarak AV90 ve RY145'in tek tek veya karışım halinde giderilmesine yönelik herhangi bir biyosorpsiyon çalışmasına rastlanmamıştır. Ancak, bu fungus ile metal iyonu biyosorpsiyonu çalışmaları mevcuttur (Pethkar ve ark., 2001). Fungus sporları katı besiyerinde saklanabilir ve zamanla çoğaltılabilir. Yeniden izolasyon veya satın alma gerektirmedikleri için ekonomiktirler. Fungus biyokütlesi, gerektiğinde kolayca büyük miktarlarda üretilir. Ayrıca, tekstil boyalarını arıtmak için endüstriyel ölçekte de kullanılmaktadırlar (Chicatto ve ark., 2018).

Organik maddeler karışım halinde bulunduğunda, absorpsiyon spektrumları aracılığıyla tek tek organik madde konsantrasyonlarını hesaplamak sorunlu hale gelir. Türev spektrofotometrik yöntemler, bu sorunu çözmenin kolay bir yoludur. Bu yöntem, türev spektrumundaki diğer maddelerin sıfır geçiş noktasını kullanarak bir bileşiğin kalibrasyon eğrisini oluşturmaya dayanır (Keskin ve ark., 2011).

Bu çalışmada, bir fungus olan *Cladosporium cladosporioides*, AV90 ve RY145 karışımını eş zamanlı olarak gidermek için bir biyosorbent olarak kullanılmıştır. Giderimi etkileyen pH, çalkalama süresi ve hızı, ortam sıcaklığı, boya konsantrasyonları ve biyokütle dozu gibi operasyonel parametreler incelenmiştir. Sulu boya karışımındaki boya konsantrasyonlarını analiz etmek için birinci mertebeden türev yöntemi geliştirilmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç Gereçler ve Sarf Malzemeler

Deneylerde kullanılan cam ekipmanlar ile besiyerleri, Nüve OT 020 marka otoklav cihazında 121 °C sıcaklıkta 20 dakika boyunca sterilize edilmiştir. Küflerin büyütülmesi ve biyotransformasyon çalışmaları, çalkalamalı inkübatör cihazı olan IKA KS 4000 ile gerçekleştirilmiştir. ¹H NMR ve ¹³C NMR spektrumları, Varian Mercury 300 NMR spektrometresinde, tetrametilsilan standardı kullanılarak döterokloroform içinde 300 MHz frekansında elde edilmiştir.

Deneyisel araştırmalarda kullanılan küf kültürleri, TÜBİTAK MAM Kurumu'ndan biyotransformasyon çalışmalarında kullanılmak üzere yatık agar kültürü şeklinde temin edilmiştir. Bu kültürlerin tazelenmesi ve çoğaltılması, PDA içeren yatık agar besiyerinde yapılarak 4 °C altında saklanmıştır. Tüm kimyasallar Merck firmasından sağlanmıştır.

Biyosorpsiyonda kullanılan cihazlar; Sigma 3K30 santrifüj aleti, Shimadzu (Varian 300) UV-2401 PC UV-Vis Spektrofotometresi, XB220A hassas terazi, pH metre (EZDO 5011), Nüve EN 500 Etüv, ISOLAB ayarlanabilir otomatik pipet 0,5- 10 µL, DRVAC 300 vakum pompası ile de filtrasyon işlemi yapılmıştır. Karakterizasyon, Perkin Elmer (Spectrum Two) Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektrometresi ile yapılmıştır. Ölü küf resimleri mikroskop altında (Lecia DM500) çekilmiştir. Biyokütlenin partikül boyut dağılımı, bir NanoPlus zeta/nanopartikül analizörü kullanılarak ölçülmüştür.

3.2. Taze Yatık Agar Kültürlerinin Hazırlanması

Yatık agar çözeltisini hazırlarken, agar (1,20 g) ve PDA (patates dekstroza agar) (5,85 g) karışımına 150 mL'ye kadar saf su eklenip ardından kaynatarak hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri soğumadan önce 30 adet 22 mL'lik patolojik cam tüpün yarısına gelecek şekilde ilave edilmiş ardından otoklavda 121 °C'de 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Sterilize edilmiş şişelerdeki agarlar yaklaşık 45° bir eğimle soğumasına izin verilmiştir.

3.3. *C. cladosporioides* Küf Kültürlerinin Tazelenmesi

Yatık agarda hazırlanmış olan besiyerlere steril koşullarda aktarılan *C. cladosporioides* MRC 72584 oda sıcaklığında 7-10 gün boyunca çoğalmak üzere bırakılmıştır. Hazırlanan yatık agarlardaki kültürlerden en iyi gelişim göstermiş olan *C. cladosporioides* MRC 72584 küfü iki haftada bir steril koşullarda hazırlanan yeni yatık agarlara aktararak en iyi gelişmiş ve taze küf kültürü biyotransformasyon işlemi için kullanılmıştır.

3.4. Küflere Ait Besiyerlerinin Hazırlanması

Cladosporium cladosporioides MRC 70282 küfüne ait besiyerini hazırlamak için glukoz (20 g), pepton (5 g) ve maya ekstraktı (5 g) 1 L distile su içerisinde çözülerek karıştırılmıştır. Hazırlanan 1 L besiyeri çözeltileri 10 adet 250 mL erlene paylaştırılarak otoklavda sterilize edilmiştir.

3.5. Biyotransformasyonu Gerçekleştirilecek Substratın İlavesi

Biyotransformasyonun yapılacağı her 500 mg şalkon ((E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on, (E)-1-fenil-3-(p-tolil) prop-2-en-1-on, (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on), 10 mL etanol içinde çözündürüldükten sonra, ikinci gün steril koşullarda küf içeren erlenlere eşit hacimlerde eklenmiş ve bu erlenler 28 °C'de çalkalanarak 5 gün boyunca inkübasyona alınmıştır.

3.6. Bileşiklerin Ekstraksiyonu ve Saflaştırılması

Biyotransformasyon sonucunda, besiyerinden *Cladosporium cladosporioides* MRC 70282 küf kültürüne ait miseller, bir Buchner hunisi kullanılarak süzülerek ayrılmıştır. Buchner hunisinde kalan miseller, etil asetat ile yıkanarak temizlenmiştir. Süzüntüde bulunan bileşikler, her biri (500 mL) etil asetat kullanılarak üç kez ekstrakte edilmiştir. Daha sonra ekstraktlara suyun uzaklaştırılması için susuz sodyum sülfat eklenerek süzülmüştür. Etil asetatın evaporatörde uzaklaştırılmasından sonra bir kalıntı elde edilmiştir. Her bir biyotransformasyon çalışması için, başlangıç maddesi ve her bir kalıntıyı karşılaştırmak amacıyla ince tabaka kromatografisi (İTK) çalışması yapılmıştır.

3.7. Biyotransformasyon Çalışmalarının Kontrolü

Yapılan her bir biyotransformasyon deneyi, üç farklı kontrol erleniyle izlenmiştir. İlk kontrol erleninde yalnızca besiyerine yer verilirken, ikinci kontrol erlenine besiyeri ve bir substrat eklenmiştir. Üçüncü kontrol erlenine besiyerleri ve mikroorganizmalar eklenmiştir. Her bir kontrol erleni için, biyotransformasyon çalışmalarındaki tüm adımlar özenle uygulanmıştır. Kontrol erlenlerinden kalan kalıntılar, ^1H NMR analiziyle incelenerek, ana deneylerde oluşan metabolitlerin asıl biyotransformasyon ürünleri olup olmadığı doğrulanmıştır.

3.8. Biyosorpsiyon Çalışmasında Çözeltilerin Hazırlanması ve Metot Geliştirilmesi

Bu çalışmada boyar madde gideriminde kullanılan Acid Violet 90 ve Reactive Yellow 145 tekstil boya ları, yerel bir tekstil fabrikasından temin edilmiştir. Boyar maddelerin absorbans değerleri, spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Her bir boya için 1000 mg/L konsantrasyona sahip stok çözeltiler ayrı ayrı hazırlanmıştır. Biyosorpsiyon sonrasında çözeltide kalan boya konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla birinci türev yöntemi kullanılmıştır. Bunun için 5–50 mg/L konsantrasyon aralığında boyalar hazırlanmış, bu çözeltilerin absorbansları 200–800 nm dalga boyu aralığında 0,1 nm aralıklarla ölçülmüştür. Elde edilen spektrumların birinci türevleri ($dA/d\lambda$) hesaplanarak, EXCEL programı yardımıyla 6 nm dalga boyu farkları arasındaki absorbans değişimleri belirlenmiştir. Birinci türev spektrumları çizildiğinde, seçilen dalga boylarında bir boyanın sinyalinin sıfır veya sıfıra yakın olduğu, diğer boyanın sinyalinin ise sıfırdan farklı (mümkünse maksimum) olduğu noktalar tespit edilmiştir. Bu dalga boylarında kalibrasyon eğrileri oluşturularak, konsantrasyonu bilinmeyen numunelerdeki boya miktarları hesaplanmıştır.

LOD ve LOQ değerlerinin belirlenebilmesi amacıyla, 0,1 mg/L konsantrasyona sahip boya çözeltileri kör çözelti olarak kullanılmıştır. Her iki boya için hazırlanan 10 farklı absorbans ölçümleri 200–800 nm dalga boyu aralığında gerçekleştirilmiştir.

Tespit limiti (LOD) ve miktar belirleme limiti (LOQ) değerleri aşağıdaki eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır:

$$LOD = 3 \times \frac{S_{k\ddot{o}r}}{m} \quad \text{Eşitlik (3)}$$

$$LOQ = 10 \times \frac{S_{k\ddot{o}r}}{m} \quad \text{Eşitlik (4)}$$

Formüllerde yer alan $S_{k\ddot{o}r}$, kör çözelti sinyallerinin standart sapmasını, m ise kalibrasyon eğrisinin eğimini ifade etmektedir.

Geliştirilen yöntemin doğruluğunu değerlendirmek amacıyla, yüzde geri kazanım (%R) değerleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\%R = \frac{C_{bul}}{C_{ekl}} \times 100 \quad \text{Eşitlik (5)}$$

3.9. *C. cladosporioides*'in Biyosorbent Olarak Hazırlanması

Cladosporium cladosporioides küf, yatık agar stok kültüründen elde edilerek tazelenmesi ve çoğaltılması amacıyla yatık agar besiyeri, 5,85 g PDA (patates dekstroz agar) ve 1,20 g agar kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım, 150 mL ultra saf suda çözülerek kaynatılmış ve 10 ar mL 15 adet 22 mL'lik Universal marka patolojik cam tüplerine aktarılmıştır. Yatık agar besiyerleri, 121 °C'de 20 dakika boyunca otoklavda sterilize edilmiştir. Sterilizasyon sonrası, tüpler yaklaşık 45° eğim verilerek soğutulmuş ve yatık agar besiyerleri oluşturulmuştur. Küf kültürleri, ortalama 7-10 gün boyunca çoğalmaları için bırakılmış ve hazırlanan yatık agar besiyerlerine steril koşullarda aktarılmıştır. Bu aktarma işlemleri, biyosorpsiyon çalışmaları tamamlanana kadar düzenli olarak tazelenerek gerçekleştirilmiştir.

Cladosporium cladosporioides küf için, 20 g glukoz, 5 g pepton ve 5 g maya ekstratı 1 L saf su içerisinde çözülerek sulu besiyeri 10 adet 250 mL'lik erlenlere paylaştırılmış ve 121 °C'de 20 dk otoklavda sterilize edilmiştir. Steril koşullar altında, yatık agar besiyerinden en taze kültür seçilerek sıvı besiyeri içeren erlenlere steril koşullarda aktarılmıştır. Sıvı besiyerine alınan *Cladosporium cladosporioides* küfünün çoğalması için 28 °C ve 160 rpm'de çalkalamalı inkübatörde üç gün süreyle büyümeye bırakılmıştır.

İnaktif biyokütle elde etmek amacıyla yeterli büyüklüğe ulaşan küf kültürleri 121 °C'de 20 dk boyunca otoklavlanarak nuçe erleninde süzölmüş ve etil alkol-ultra saf su

ile yıkanmıştır. İnaktif biyokütle, etüvde 50 °C’de 24 saat boyunca kurutulduktan sonra pirinç havanda, ardından agat havanda öğütülen küf biyokütlesi, 500 mm çapında çelik elekten geçirilerek biyosorpsiyon deneylerinde kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir.

3.10. Ön Deneme Çalışmaları

Hazırlanan küf biyokütlesi ile etkin boya giderimi sağlanabilmesi için boyalarla test edilmiştir. Literatürdeki çalışmalardan faydalanılarak, her biri 100 mg/L konsantrasyona sahip boyalar hazırlanmış ve 0,1 g küf biyokütlesi ile 100 rpm hızında, 1 saat boyunca, çözeltinin doğal pH ve sıcaklığında çalkalanmıştır. 10 mL karışım tüplere alınarak 3 kere 4500 rpm hızında 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınmış ve 200-800 nm aralığında UV-Vis ölçümü yapılmıştır.

Çalışmalarda, boyar madde giderim oranı yüzde (%) cinsinden hesaplanmış olup, bu hesaplama aşağıdaki formüle göre gerçekleştirilmiştir.

$$\%Giderim = \frac{(C_i - C_s)}{C_i} \times 100 \quad \text{Eşitlik (6)}$$

Formülde C_i , boyaların başlangıç konsantrasyonunu, C_s ise çözelti ortamında kalan son boya konsantrasyonunu belirtmektedir.

3.11. DeneySEL Parametrelerin İncelenmesi

3.11.1. pH’ın biyosorpsiyon üzerine etkisi

Boya çözeltilerinin pH değerleri, HCl (Merck) ve NaOH (Merck) kullanılarak ayarlanmıştır. Bu amaçla, 1,00 M, 0,10 M ve 0,01 M konsantrasyonlarında üç farklı asit ve baz çözeltileri hazırlanmıştır. Biyosorpsiyonun optimum pH değerini belirlemek için 100 mg/L’lik boyaların pH değerleri sırasıyla 2, 4, 6, 8, 10 ve 12’ye ayarlanmıştır. 0,1 g ölü küf, çözeltilere eklenmiş ve çalkalamalı karıştırıcıda 100 rpm hızında 25 °C’de 60 dk boyunca biyosorpsiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. 10 mL karışım tüplere alınarak 3 kere 4500 rpm hızında 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınmış ve 200-800 nm aralığında UV-Vis ölçümü yapılmıştır. Küfün asidik ve bazik pH’larda yüklenme durumu, sıfır yük noktası analizi ile belirlenmiştir. Bu analiz için 0,1 M KNO₃ çözeltisi hazırlanmış ve pH değerleri sırasıyla 2, 4, 6, 8, 10 ve 12’ye ayarlanmıştır. Hazırlanan çözeltilere 0,1 g ölü küf eklenip, 24 saat boyunca

çalkalanmaya bırakılmıştır. Sonrasında, ilk pH değerleri ile son pH değerleri arasındaki farklar ($\Delta_{pH} = pH_{ilk} - pH_{son}$) grafikte gösterilmiş ve sıfır yük noktası tespit edilmiştir.

3.11.2. Zaman'ın biyosorpsiyon üzerine etkisi

Optimum pH'a ayarlanan 100 mg/L ve 100 mL karışım boya çözeltisine 0,1 g küf kullanılarak ilave edilmiştir. Optimum zamanın belirlenmesi amacıyla 15, 30, 45, 60, 90 ve 120'nci dakikalarda numuneler alınarak AV90 ve RY145 boya için sırasıyla 200-800 nm aralığında UV-Vis ölçümü yapılmıştır.

3.11.3. Karıştırma hızı'nın biyosorpsiyon üzerine etkisi

Optimum pH ve zaman değerinde, farklı karıştırma hızlarında denemeler yapılmıştır. Bu amaçla hazırlanan boya çözeltilerinin (100 mg/L) optimum pH'ları ayarlandıktan sonra 0,1 g küf ilave edilerek 50, 100, 150, 200 ve 250 rpm çalkalama hızlarında 25 °C'de, önceki denemelerden belirlenen karıştırma sürelerinde işlemler gerçekleştirilmiştir. 10 mL karışım tüplere alınarak 3 kere 4500 rpm hızında 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınmış ve 200-800 nm aralığında UV-Vis ölçümü yapılmıştır.

3.11.4. Sıcaklığın biyosorpsiyon üzerine etkisi

Sıcaklık denemesi, çalkalamalı karıştırıcının sıcaklığı 18 °C, oda sıcaklığı (25 °C), 30 °C, 40 °C ve 50 °C'de olmak üzere belirlenen pH, süre ve karıştırma hızında yapılmıştır. Bu denemelerde, 100 mg/L boya ve 0,1 g ölü küf kullanılmıştır. 10 mL karışım tüplere alınarak 3 kere 4500 rpm hızında 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınmış ve 200-800 nm aralığında UV-Vis ölçümü yapılmıştır.

3.11.5. Konsantrasyon'un biyosorpsiyon üzerine etkisi

Konsantrasyonları 25, 50, 100, 150 ve 200 mg/L olan boya çözeltileri hazırlanmıştır. Daha önce belirlenen optimum pH, süre, karıştırma hızı ve sıcaklık koşullarında, 0,1 g ölü küf kullanılarak biyosorpsiyon denemeleri yapılmıştır. 10 mL karışım tüplere alınarak 3 kere 4500 rpm hızında 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınmış ve 200-800 nm aralığında UV-Vis ölçümü yapılmıştır.

3.11.6. Biyokütle miktarının biyosorpsiyon üzerine etkisi

Belirlenen optimum pH, süre, karıştırma hızı, sıcaklık ve konsantrasyon koşullarında, 0,05; 0,10; 0,25; ve 0,50g ölü küf kullanılarak biyosorpsiyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. 10 mL karışım tüplere alınarak 3 kere 4500 rpm hızında 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınmış ve 200-800 nm aralığında UV-Vis ölçümü yapılmıştır.

3.11.7. İnaktif *C. cladosporioides* küfünün tekrar kullanılabilirliği

Tekrar kullanılabilirlik deneyleri için optimum koşullarda biyosorpsiyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen boya tutmuş küfler, 1,00 M HCl, 1,00 M NaOH ve %90 metanol çözeltileri ile 60 dakika boyunca 200 rpm hızda çalkalanmıştır. 10 mL karışım tüplere alınarak 3 kere 4500 rpm hızında 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınmış ve 200-800 nm aralığında UV-Vis ölçümü yapılmıştır. Tekrar kullanılabilirliğini incelemek amacıyla, küfler tekrar kullanılabilirlik işlemleri sonrasında 3 kez kullanılmıştır. Her işlemden sonra küfler tekrar santrifüj edilip, 50 °C'de 24 saat boyunca kurutulmuştur. Ayrıca, her işlemden önce ve sonra küf miktarları tartılmıştır.

3.11.8. *C. cladosporioides* küfünün biyosorpsiyon öncesi ve sonrası görüntülenmesi

Cladosporium cladosporioides küfünün canlı, biyosorpsiyon işlemi öncesi ve sonrası morfolojik değişimleri, ışık mikroskobu kullanılarak titizlikle incelenmiştir. Bu inceleme, 4X ve 40X büyütme oranlarındaki objektifler aracılığıyla gerçekleştirilerek, biyomaddenin yüzey yapısındaki ve genel formundaki olası değişikliklerin detaylı bir şekilde gözlemlenmesini sağlamıştır.

3.11.9. *C. cladosporioides* küfünün partikül dağılımı

Biyokütlenin partikül boyutu dağılımı bir NanoPlus zeta/nanopartikül analizörü kullanılarak ölçülmüştür. Biyokütle ölçümünden önce ultrasonik bir sonikatör ile ultra saf suda dağıtılmıştır. Yığın yoğunluğu, ölü biyokütlenin ağırlığının hacme bölünmesiyle hesaplanmıştır. Biyokütle, ağırlığını ve hacmini bulmak için belirli aralıklarla silindire doldurulmuştur. Dolu ve boş silindirler arasındaki fark, biyokütlenin ağırlığını vermiştir.

3.11.10. Kinetik çalışmaları

Yalancı birinci dereceden ve yalancı ikinci dereceden kinetik modeller, aşağıdaki denklemler doğrultusunda değerlendirilmiştir. Bu modellerde, C_e (mg/L) dengedeki çözeltide kalan boya konsantrasyonunu, Q_0 (mg/g) maksimum biyosorpsiyon kapasitesini, b (L/mg) biyosorpsiyon enerjisini, K_f (mg/g) biyosorpsiyon kapasitesine ilişkin Freundlich sabitini ve n ise biyosorpsiyonun yoğunluğunu göstermektedir. Langmuir (Eşitlik (7)) izoterm parametrelerinin belirlenmesi amacıyla, yatay eksen C_e , dikey eksen C_e/q_e değerlerinin yer aldığı bir grafik oluşturulmuştur. Bu doğrultuda elde edilen doğrunun eğimi $1/Q_0$, y-eksenini kestiği nokta ise $1/(Q_0b)$ değerine karşılık gelmektedir. Freundlich (Eşitlik (8)) izoterm parametrelerinin hesaplanmasında ise, logaritmik dönüşüm uygulanarak yatay eksen $\log C_e$, dikey eksen $\log q_e$ değerlerinin kullanıldığı bir grafik çizilmiştir. Bu grafikten elde edilen doğrunun eğimi $1/n$, y-eksenini kestiği nokta ise $\log K_f$ değerini vermektedir.

$$\ln(q_e - q_t) = \ln q_e - k_1 t \quad \text{Eşitlik (7)}$$

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{1}{q_e} t \quad \text{Eşitlik (8)}$$

3.11.11. İzoterm çalışmaları

Langmuir (Eşitlik (9)) ve Freundlich (Eşitlik (10)) izotermelerinin değerlendirilmesinde belirli matematiksel modeller temel alınmıştır. Bu modellerde kullanılan formüllerde; C_e (mg/L) çözeltide denge durumunda kalan boya konsantrasyonunu, Q_0 (mg/g) maksimum biyosorpsiyon kapasitesini, b (L/mg) biyosorpsiyon sürecinin enerji düzeyini, K_f (mg/g) Freundlich izoterm sabitini ve n parametresi ise biyosorpsiyon yoğunluğunu temsil etmektedir.

Langmuir izoterm modeline ait parametrelerin hesaplanabilmesi için C_e/q_e değerlerinin dikey eksen, C_e değerlerinin ise yatay eksen C_e değerlerinin yer aldığı bir grafik çizilmiştir. Bu grafikten elde edilen doğrunun eğimi $1/Q_0$, y-eksenini kestiği nokta ise $1/(Q_0b)$ ifadesi ile tanımlanmaktadır.

Freundlich izoterminin analizinde ise, $\log q_e$ dikey eksen, $\log C_e$ ise yatay eksen olacak şekilde grafik oluşturulmuştur. Doğrusal denklem üzerinden yapılan değerlendirmede, eğim değeri $1/n$, y-kesişim noktası ise $\log K_f$ olarak belirlenmiştir.

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{Q_0 b} + \frac{C_e}{Q_0} \quad \text{Eşitlik (9)}$$

$$\log q_e = \log K_f + \frac{1}{n} \log C_e \quad \text{Eşitlik (10)}$$

3.11.12. FTIR çalışmaları

Boyar maddelerin (AV90 ve RY145), *C. cladosporioides* küfünün ve biyosorpsiyon sonrası *C. cladosporioides* küfünün 4000-400 cm⁻¹ spektrumları taranarak yapılarındaki fonksiyonel gruplara ait spesifik pikler gözlemlenmiştir.

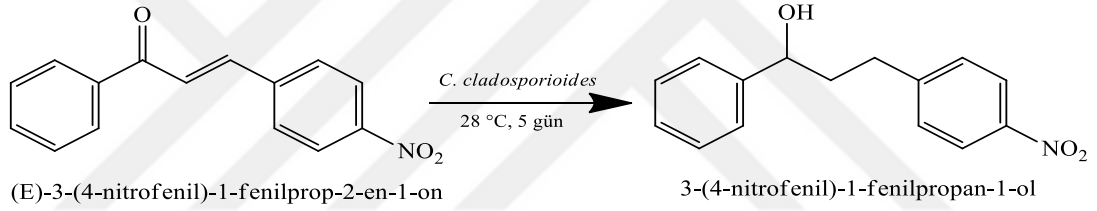


4. ARAŞTIRMA BULGULARI

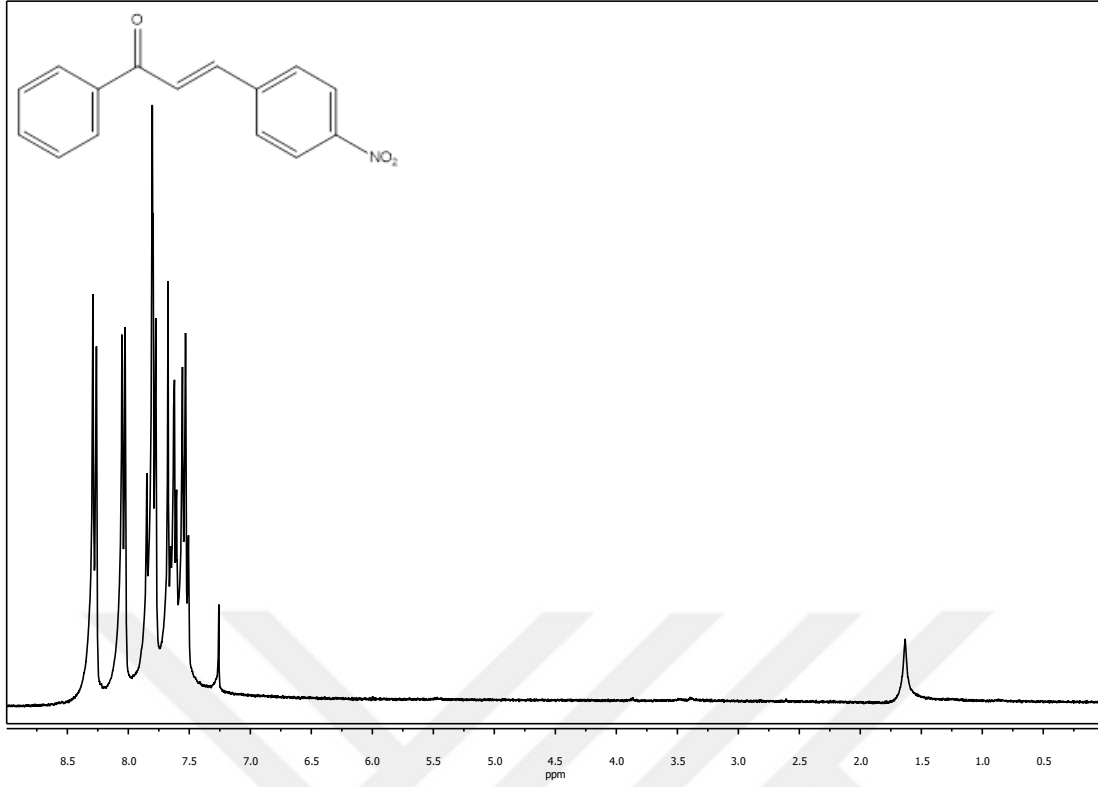
4.1. *C.cladosporioides* Küfü ile Biyotransformasyonlar

4.1.1. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on Şalkonunun *Cladosporium cladosporioides* MRC 72584 ile biyotransformasyonu

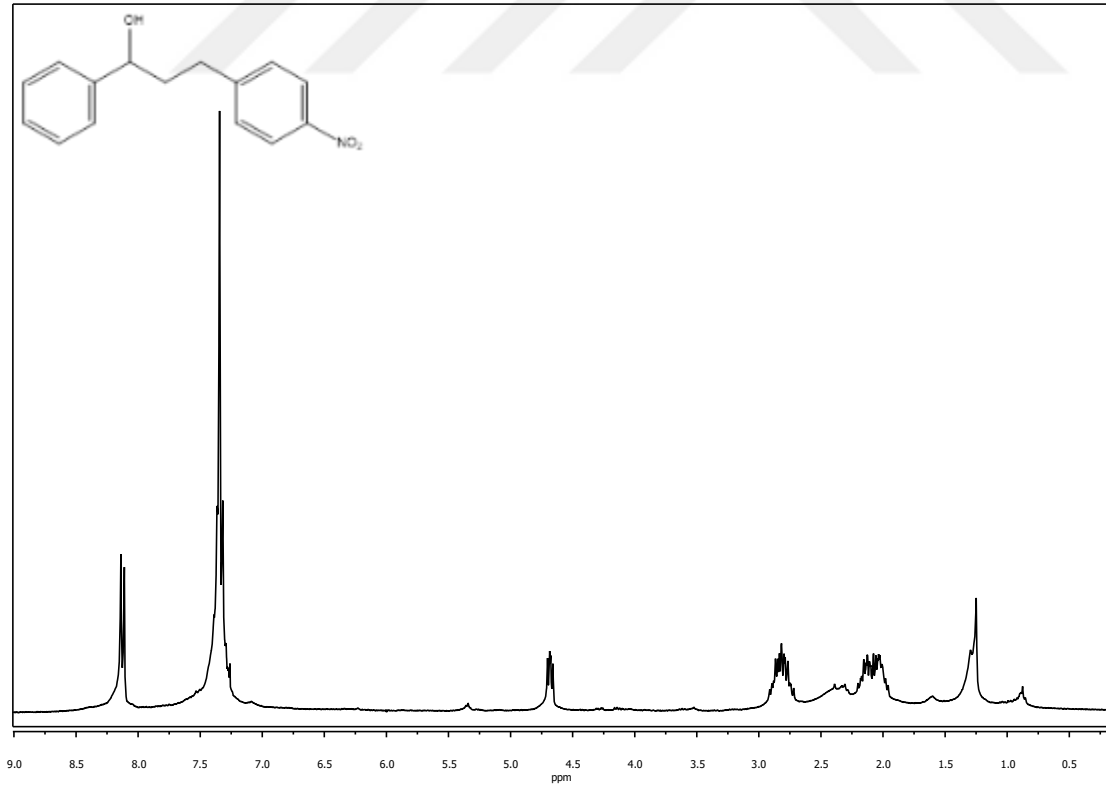
Şekil 4.1'de gösterilen (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin *Cladosporium cladosporioides* MRC 72584 küfü ile 5 gün boyunca 25 °C inkübasyonu sonucunda 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-ol ile yapısı aydınlatamayan birtakım safsızlıklar da elde edilmiştir. Şekil 4.2'de başlangıç maddesinin ¹H NMR spektrumu, Şekil 4.3'te biyotransformasyon reaksiyonu neticesinde elde edilen ürünün ¹H NMR spektrumu ve Şekil 4.4'te ise ¹³C NMR spektrumu verilmiştir.



Şekil 4.1. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin *C. cladosporioides* MRC 72584 ile biyotransformasyonu.

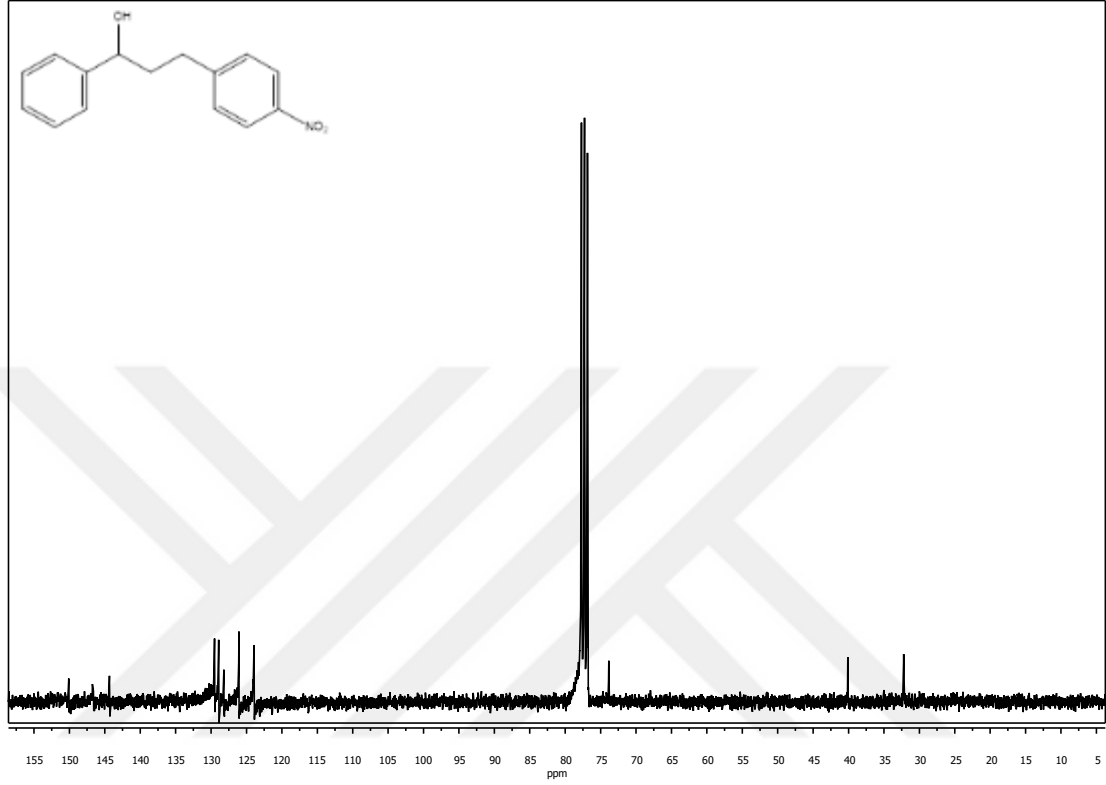


Şekil 4.2. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin ^1H NMR spektrumu.



Şekil 4.3. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin *C. cladosporioides* MRC 72584 küfö ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-ol bileşiğine ait ^1H NMR spektrumu.

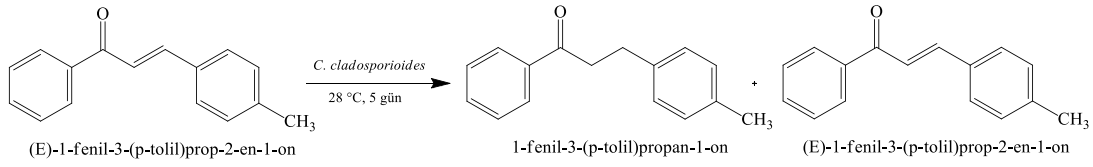
Bushby ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sentezledikleri (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-ol bileşiğinin ^1H NMR'ı ile (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin *C. cladosporioides* ile biyotransformasyon sonucu inkübasyonundan elde edilen kalıntının ^1H NMR'ı ile uyumludur (Bushby ve ark., 1976).



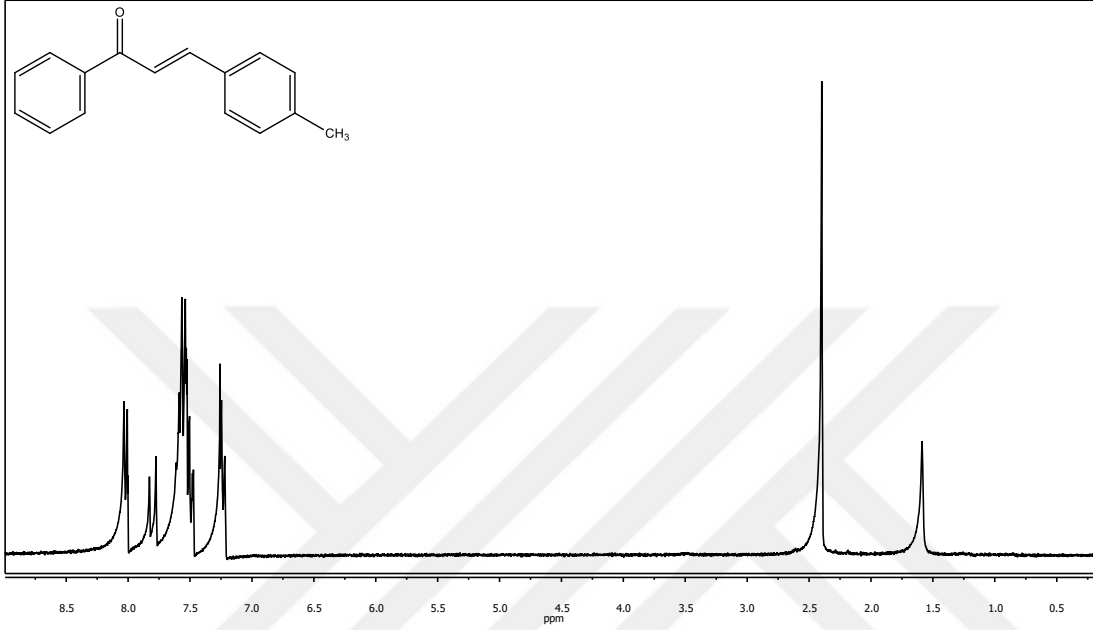
Şekil 4.4. (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin *C. cladosporioides* MRC 72584 küfö ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-ol bileşiğine ait ^{13}C NMR spektrumu.

4.1.2. (E)-1-fenil-3-(p-tolil) prop-2-en-1-on Şalkonunun *Cladosporium cladosporioides* MRC 72584 ile biyotransformasyonu

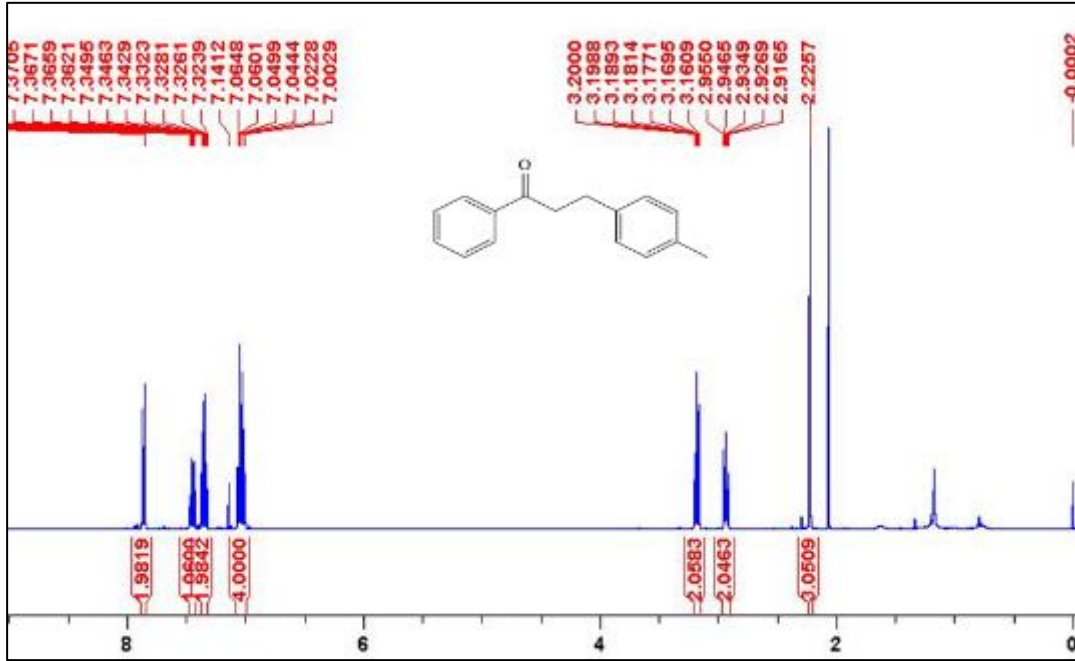
Şekil 4.5'te gösterilen (E)-1-fenil-3-(p-tolil) prop-2-en-1-on bileşiğinin *Cladosporium cladosporioides* MRC 72584 küfö ile 5 gün boyunca 25 °C inkübasyonu sonucunda 1-fenil-3-(p-tolil) propan-1-on ile yapısı aydınlatamayan birtakım safsızlıklar da elde edilmiştir. Şekil 4.6'de başlangıç maddesinin, Şekil 4.8'da biyotransformasyon reaksiyonu neticesinde elde edilen ürünün ^1H NMR spektrumu verilmiştir.



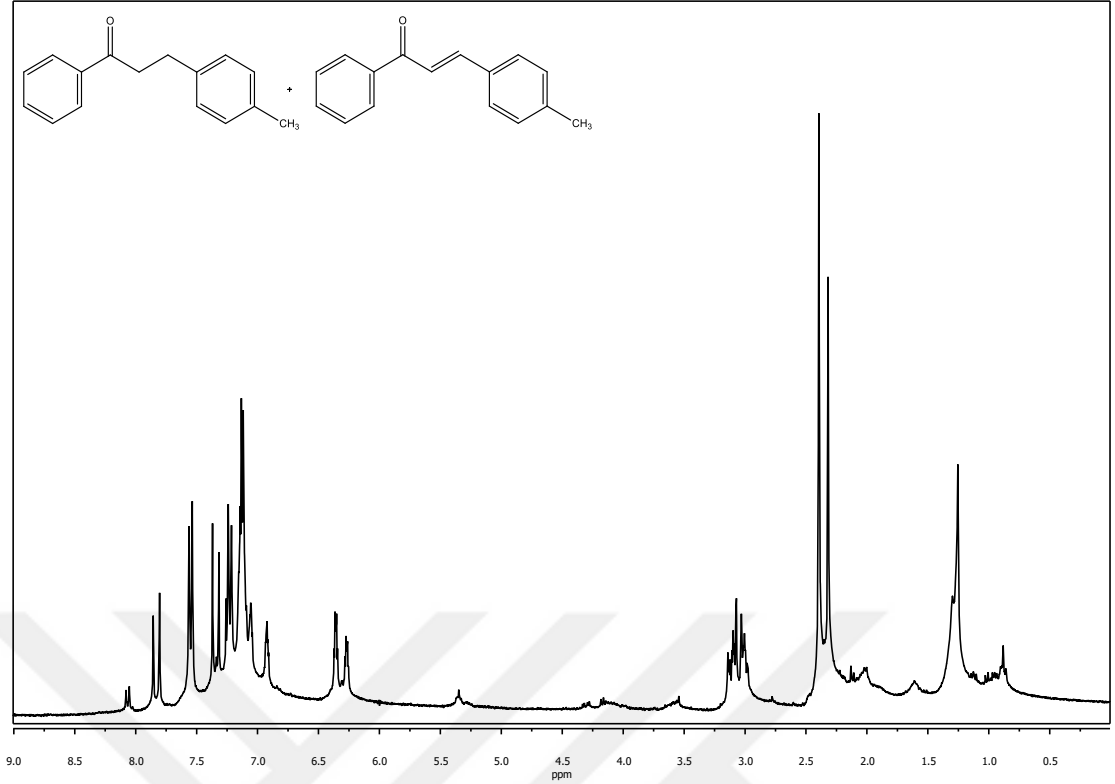
Şekil 4.5. (E)-1-fenil-3-(p-tolil) prop-2-en-1-on bileşiğinin *C. cladosporioides* MRC 72584 ile biyotransformasyonu.



Şekil 4.6. (E)-1-fenil-3-(p-tolil) prop-2-en-1-on bileşiğinin ¹H NMR spektrumu.



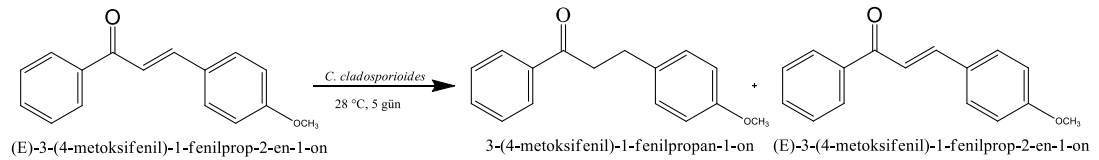
Şekil 4.7. 1-fenil-3-(p-tolil)propan-1-on bileşiğinin ¹H NMR spektrumu (Kisets ve ark., 2021)



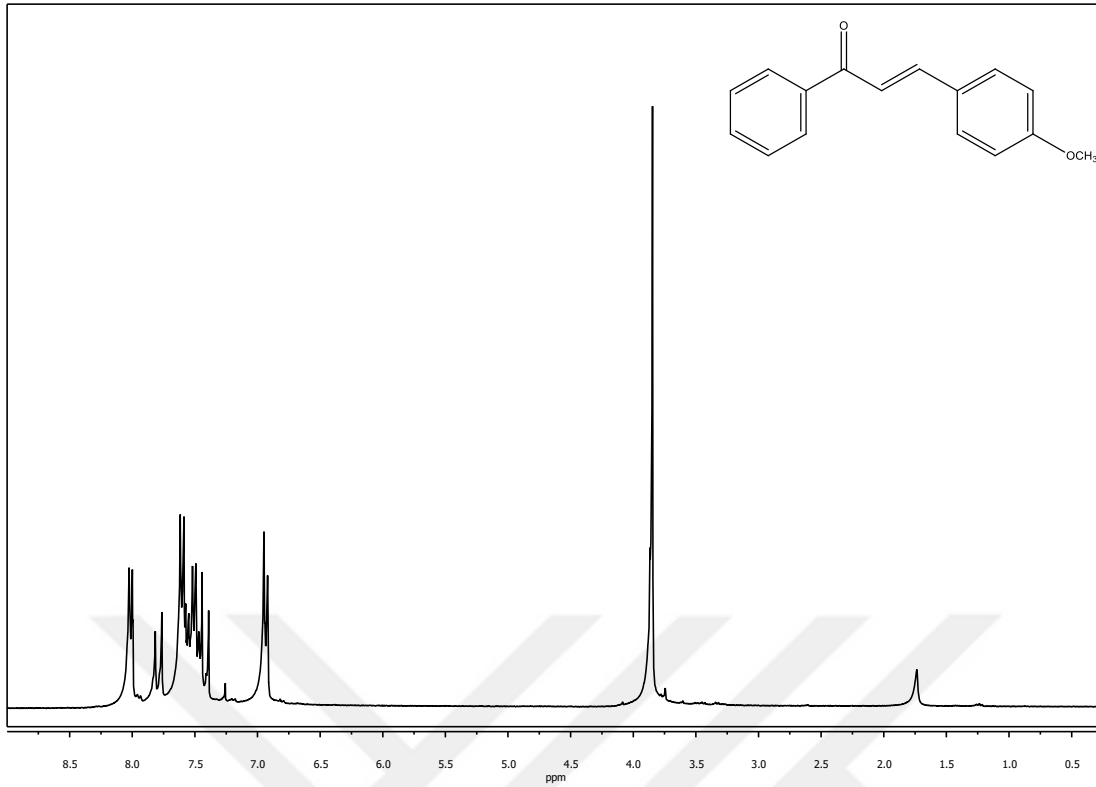
Şekil 4.8. 1-fenil-3-(p-tolil) propan-1-on bileşiğinin *C. cladosporioides* MRC 72584 küfö ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen kalıntıya ait ¹H NMR spektrumu.

4.1.3. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on Şalkonunun *Cladosporium cladosporioides* MRC 72584 ile biyotransformasyonu

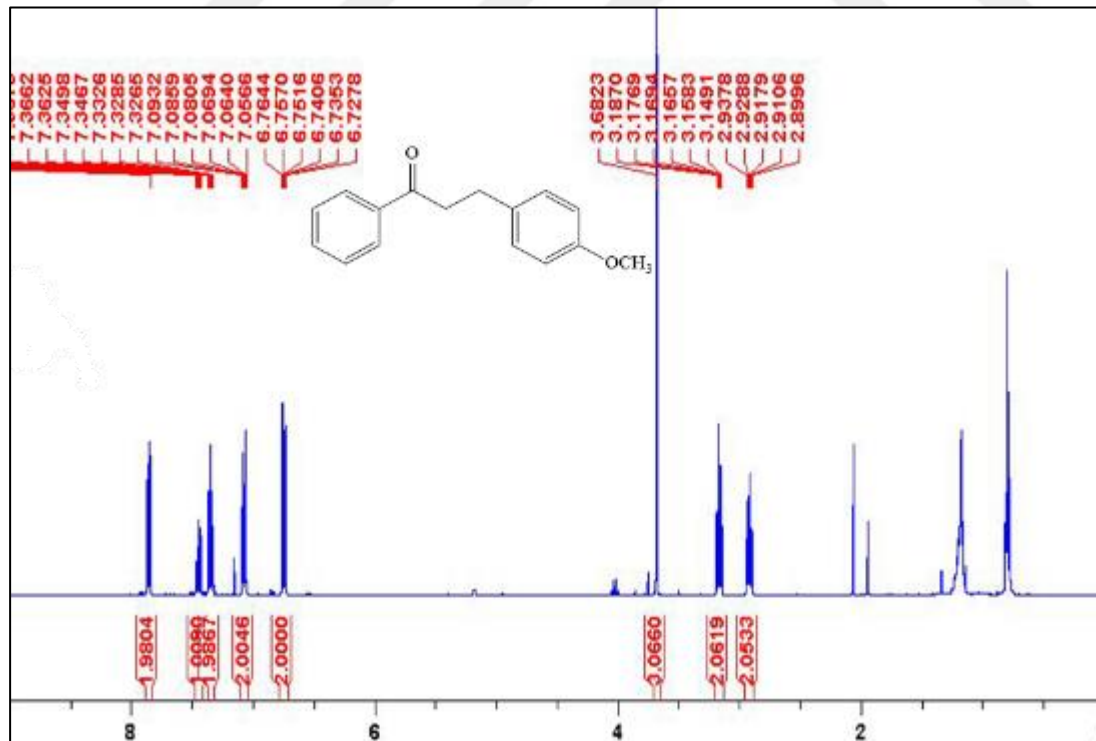
Şekil 4.9'da gösterilen (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin *Cladosporium cladosporioides* MRC 72584 küfö ile 5 gün boyunca 25 °C inkübasyonu sonucunda 3-(4-metoksifenil)-1-fenilpropan-1-on ile yapısı aydınlatamayan birtakım safsızlıklar da elde edilmiştir. Şekil 4.10'de başlangıç maddesinin, Şekil 4.12'te biyotransformasyon reaksiyonu neticesinde elde edilen ürünün ¹H NMR spektrumu verilmiştir.



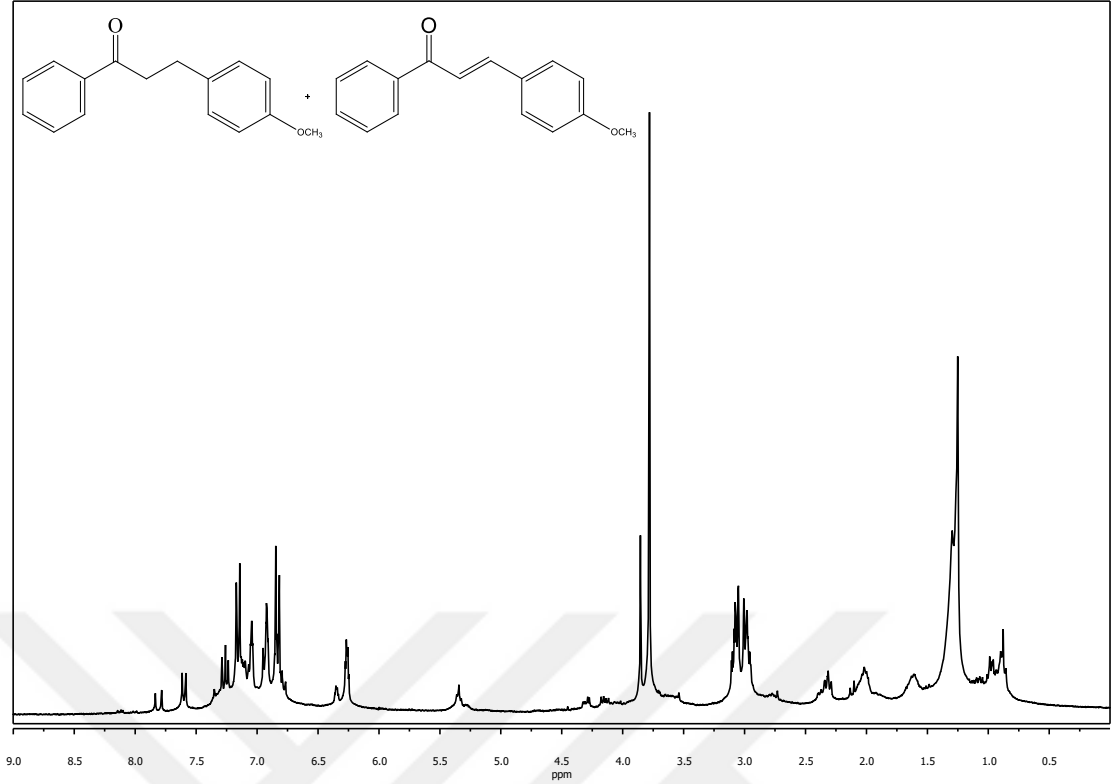
Şekil 4.9. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin *C. cladosporioides* MRC 72584 ile biyotransformasyonu.



Şekil 4.10. (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiğinin ^1H NMR spektrumu.



Şekil 4.11. 3-(4-metoksifenil)-1-fenilpropan-1-on bileşiğinin ^1H NMR spektrumu (Kisets ve ark., 2021).

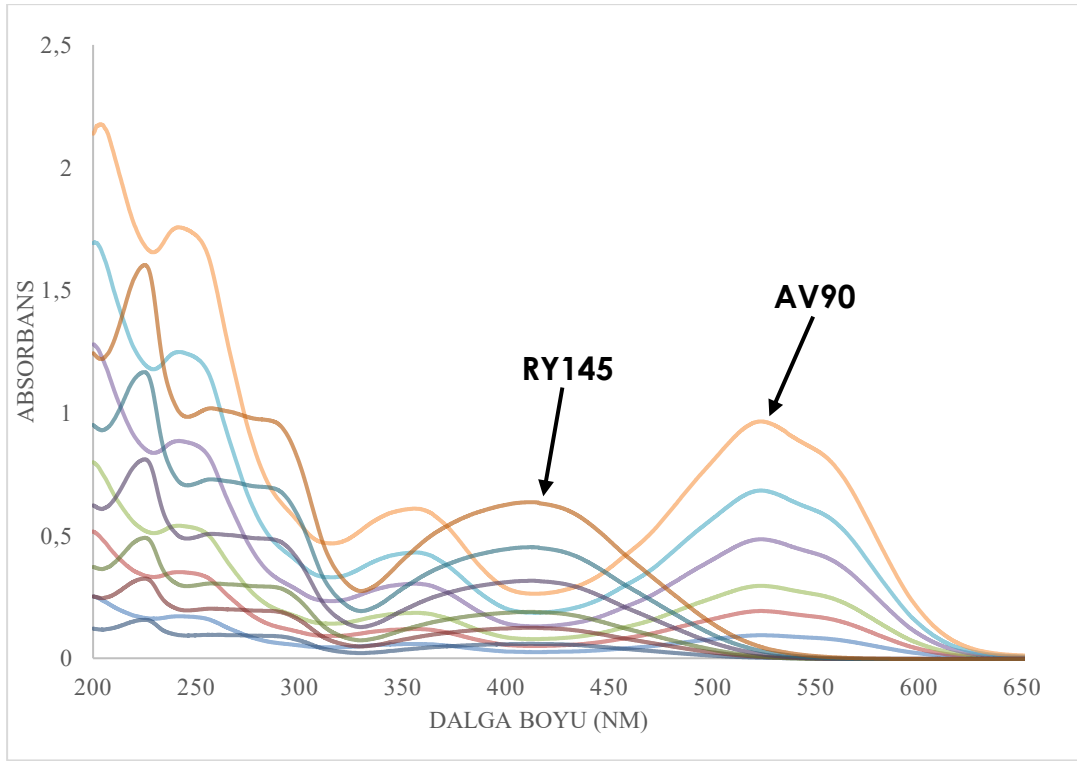


Şekil 4.12. 3-(4-metoksifenil)-1-fenilpropan-1-on bileşiğinin *C. cladosporioides* MRC 72584 küfö ile 5 gün süren inkübasyonu sonucunda elde edilen kalıntıya ait ¹H NMR spektrumu.

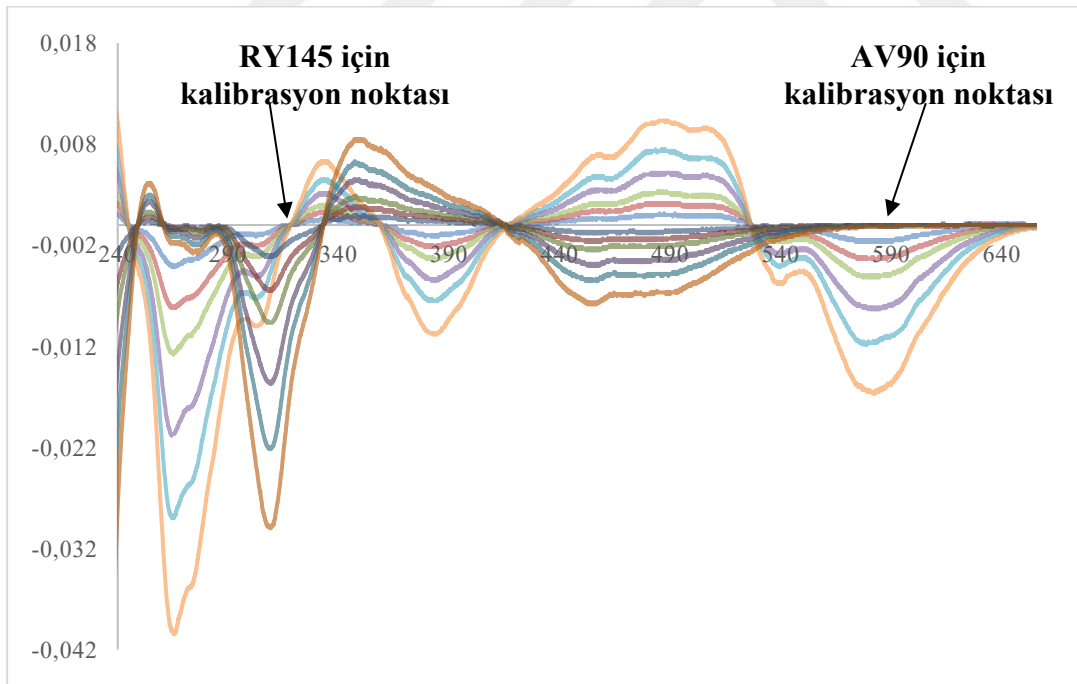
4.2. *C. cladosporioides* Küfö ile Biyosorpsiyon Çalışmaları

4.2.1. Metot geliştirilmesi ve analitik parametreler

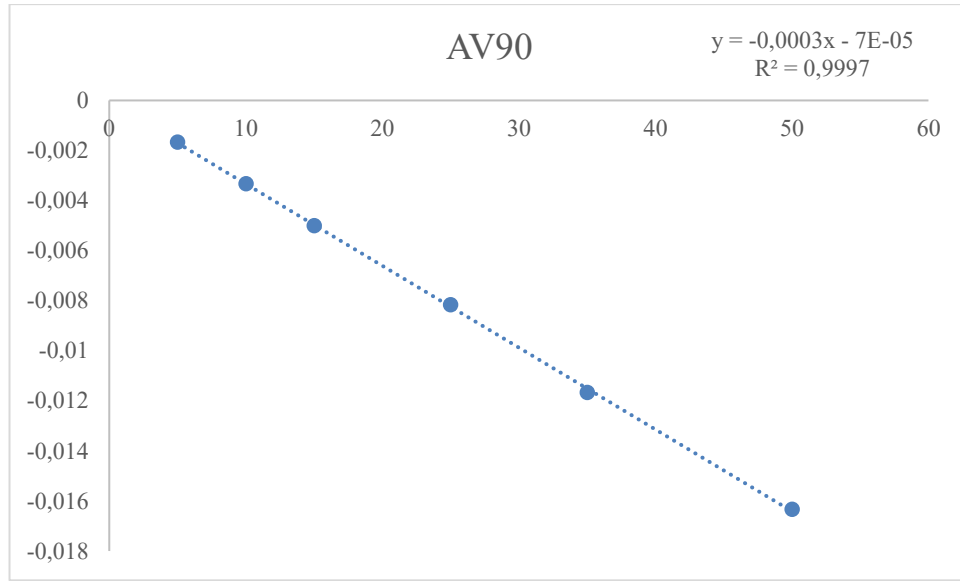
Şekil 4.13 ve 4.14'te AV90 ve RY145 boyalarının 200- 800 nm dalga boyları arasında ölçölen absorpsiyon spektrumları görölmektedir.



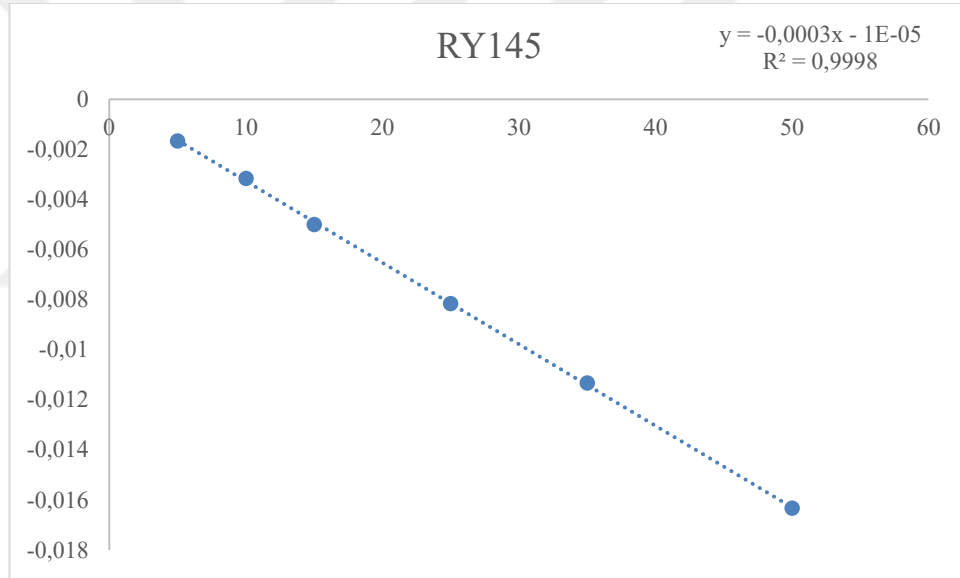
Şekil 4.13. AV90 RY145 boyalarının absorpsiyon spektrumu.



Şekil 4.14. AV90 RY145 boyalarının birinci mertebe spektrumları.



Şekil 4.15. AV90 boyasının kalibrasyon grafiği



Şekil 4.16. RY145 boyasının kalibrasyon grafiği

Tablo 4.1. Yöntemin istatistiksel parametreleri.

Boya	λ (nm)	Kalibrasyon denklemleri	R^2	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
RY145	318,2	$A = -0.00033C_{RY145} - 9.7 \times 10^{-6}$	0,9998	0,4546	1,5152
AV90	578,4	$A = -0.00033C_{AV90} - 6.6 \times 10^{-5}$	0,9997	0,7423	2,4742

Tablo 4.2 Sentetik karışım konsantrasyonları, hesaplanan %R ve %RSD değerleri.

	KarışımEklenen (mg/L) RY145		Bulunan (mg/L) RY145		Geri kazanım (%)	
	AV90		AV90		AV90	RY145
1	5,0	5,0	4,9	5,1	97,9	101,7
2	10,0	10,0	10,0	10,2	99,9	102,0
3	15,0	15,0	15,6	14,8	104,0	98,7
4	25,0	25,0	24,8	25,6	99,1	102,2
5	35,0	35,0	35,0	35,8	99,9	102,2
6	50,0	50,0	51,3	51,1	102,6	102,3
7	5,0	50,0	4,9	50,6	97,9	101,2
8	10,0	35,0	10,0	35,8	99,9	102,2
9	15,0	25,0	15,1	25,0	100,6	100,2
10	25,0	15,0	24,8	15,3	99,1	102,1
11	35,0	10,0	35,0	10,2	99,9	102,0
12	50,0	5,0	50,8	5,1	101,6	101,7
13	35,0	5,0	35,0	5,1	99,9	101,7
14	25,0	50,0	25,3	51,1	101,1	102,3
15	10,0	35,0	10,0	36,3	99,9	103,7
				Ortalama	100,2	101,8
				SS	1,6	1,1
				BSS%	1,5	1,1

AV90 ve RY145 boyaalarının absorpsiyon ve birinci merteye türev spektrumları Şekil 4.14'te gösterilmiştir. Boyaların absorpsiyon bantları birbirleriyle örtüşmektedir; bu nedenle, karışım içinde bu boyaaların eş zamanlı olarak doğrudan konsantrasyon tayini yapılması imkansızdır. Birinci merteye türev spektrumları, AV90 için 578,4 nm ve RY145 için 318,2 nm dalga boylarında kalibrasyon eğrileri hazırlamak için kullanılabilecek sıfır geçiş noktalarına sahiptir. Geliştirilen yöntemeye ait hesaplanmış kalibrasyon denklemleri, belirleme katsayıları (R^2), tespit sınırı (LOD) ve ölçüm sınırı (LOQ) değerleri Tablo 4.1'de sunulmuştur. Yöntemin doğruluğu ve kesinliği, hazırlanan 15 farklı sentetik karışım kullanılarak hesaplanmıştır. Bu karışımların konsantrasyonları, geri kazanım yüzdeleri (%R) ve bağıl standart sapma (%RSD) değerleri Tablo 4.2'de gösterilmektedir. Hesaplanan ortalama %R değerleri AV90 için %100,2 ve RY145 için %101,8 olarak bulunmuştur. %RSD değerleri ise AV90 için %1,5 ve RY145 için %1,1'dir. Elde edilen bu sonuçlar, geliştirilen yöntemin, söz konusu iki boyanın karışım analizleri için yeterli olduğunu göstermiştir.

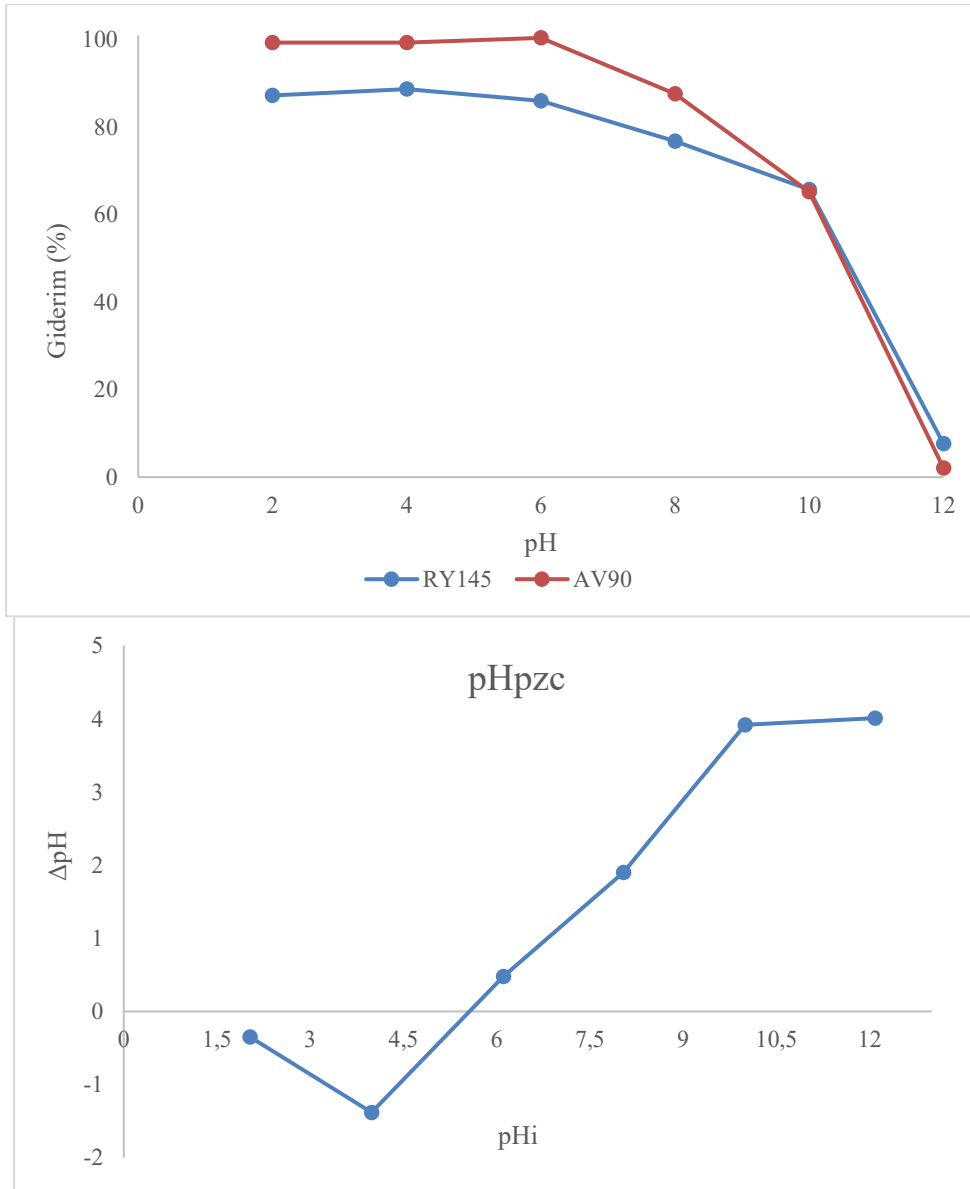
4.2.2. pH'ın biyosorpsiyon üzerine etkisinin incelenmesi

Çalışmada incelenen ilk parametre pH'dır. pH, adsorpsiyon çalışmaları için en kritik faktördür. Biyosorpsiyon, cansız biyokütlenin hücre duvarı üzerinde bulunan

fonksiyonel gruplar aracılığıyla meydana gelir. Bu fonksiyonel gruplar, içinde bulundukları çözeltinin pH değerine bağlı olarak iyonlaşabilir veya tam tersi bir durum sergileyebilir (Pace ve ark., 2009). Şekil 4.17’de, her bir boya için 50 mg/L başlangıç konsantrasyonu ve 0,1 g biyokütle kullanılarak, farklı pH değerlerindeki çözeltilerde AV90 ve RY145 boyaalarının giderim yüzdeleri (%) gösterilmektedir. Biyosorpsiyon derecelerinin, artan pH değerleri ile azaldığı gözlemlenmiştir.

Giderim yüzdeleri, düşük pH değerlerinde daha belirgin elektrostatik etkileşimler ve oluşan hidrojen bağları nedeniyle asidik pH değerlerinde daha yüksektir (Özacar ve Şengil, 2004). Biyokütle üzerindeki gruplar, asidik pH değerlerinde protonasyon yoluyla pozitif yüklenir. Belirlenen pH_{pzc} (Sıfır Yük Noktası) değeri 5,5’tir (Şekil 4.17). Bu pH’ın altında, biyokütle yüzeyindeki pozitif yüklü grupların miktarı, negatif yüklü grupların sayısından daha fazladır. Tersine, eğer pH 5,5’in üzerindeyse, negatif yüklü grupların miktarı, pozitif yüklü gruplarınkinden daha fazla olacaktır (Srivastava ve Hasan, 2011).

Her iki boya da moleküler yapılarında sülfonat grupları ($-SO_3Na$) içerir ve bunlar asidik pH değerlerinde etkin bir şekilde iyonlaşarak negatif yüklenir. Ek olarak, AV90 üzerinde protonlanabilir bir amid grubu bulunmaktadır. Bu nedenle, AV90’ın yapısı daha düşük pH değerlerinde hem pozitif hem de negatif yüklü hale gelir. Bu zwitter iyonik form, biyokütle ve boya arasında daha fazla etkileşim sağlayarak AV90 için daha yüksek giderim yüzdeleriyle sonuçlanmıştır. Giderim yüzdeleri her iki boya için de asidik pH bölgesinde birbirine yakındı. Optimum pH, biraz daha yüksek olduğu için 4 olarak seçilmiştir. Bu pH’ta biyokütle yüzeyindeki pozitif yüklü grupların daha yüksek miktarda olması nedeniyle, boyaaların negatif yüklü grupları daha fazla çekilmiştir. Yapılan ölçümler sonucunda doğal pH değeri AV’nin 5,90, RY’nin 4,73 olarak belirlenmiştir.

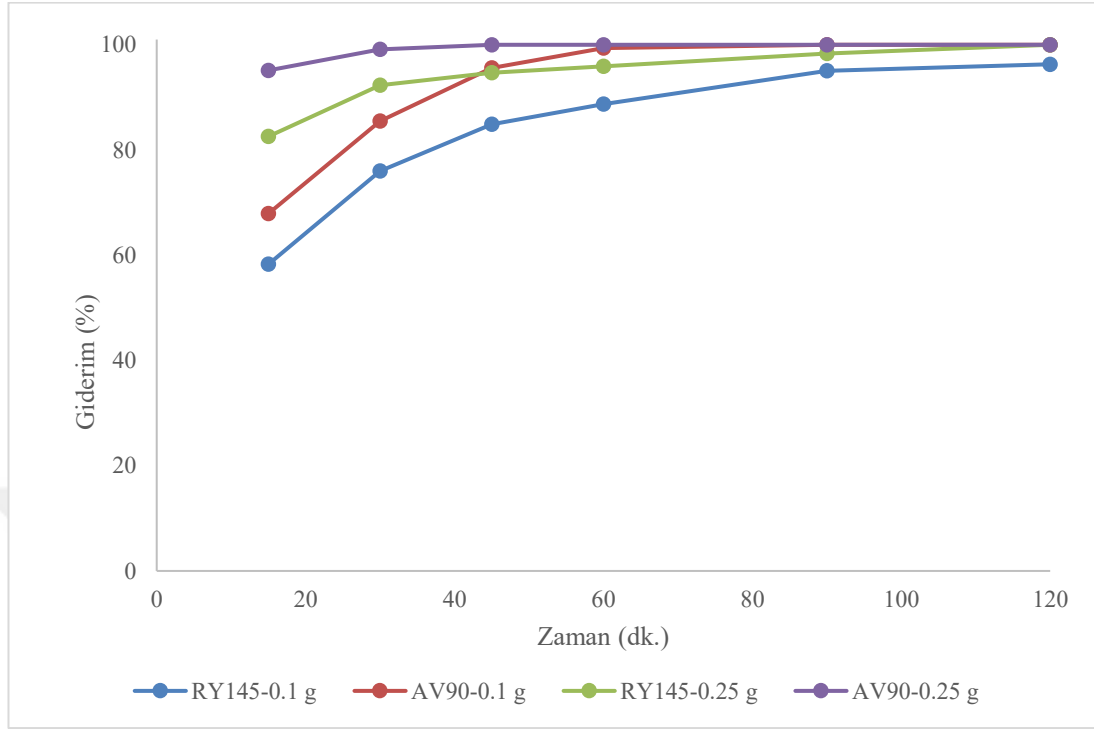


Şekil 4.17. AV90 ve RY145 boyalarının *C. cladosporioides* biyokütlesi ile gideriminde başlangıç pH'nın etkisi (50 mg/L boyarmaddeler, 60 dk, 0,1 g biyokütle, 100 rpm karıştırma hızı), point of zero change (sıfır yük noktası grafiği).

4.2.3. Zamanın biyosorpsiyon üzerine etkisi

Giderimin denge süresi, 0,10 ve 0,25 g biyokütle kullanılarak farklı sürelerde biyosorpsiyon gerçekleştirilerek incelenmiştir (Şekil 4.18). 0,25 g biyokütle kullanıldığında, giderim %100'e daha kısa sürede (RY145 için 60 dk ve AV90 için 30 dk) ulaşılmıştır. Zamanın etkisi, 0,10 g biyokütle kullanıldığında daha net görülmüştür. 0,10 g biyokütle kullanıldığında maksimum biyosorpsiyon yüzdeleri sırasıyla 90 ve 120 dakikada RY145 için %96'ya ve AV90 için %100'e ulaşmıştır. Biyosorpsiyon süreci için optimum süre 60 dakika olarak seçilmiştir. Dengeden sonra

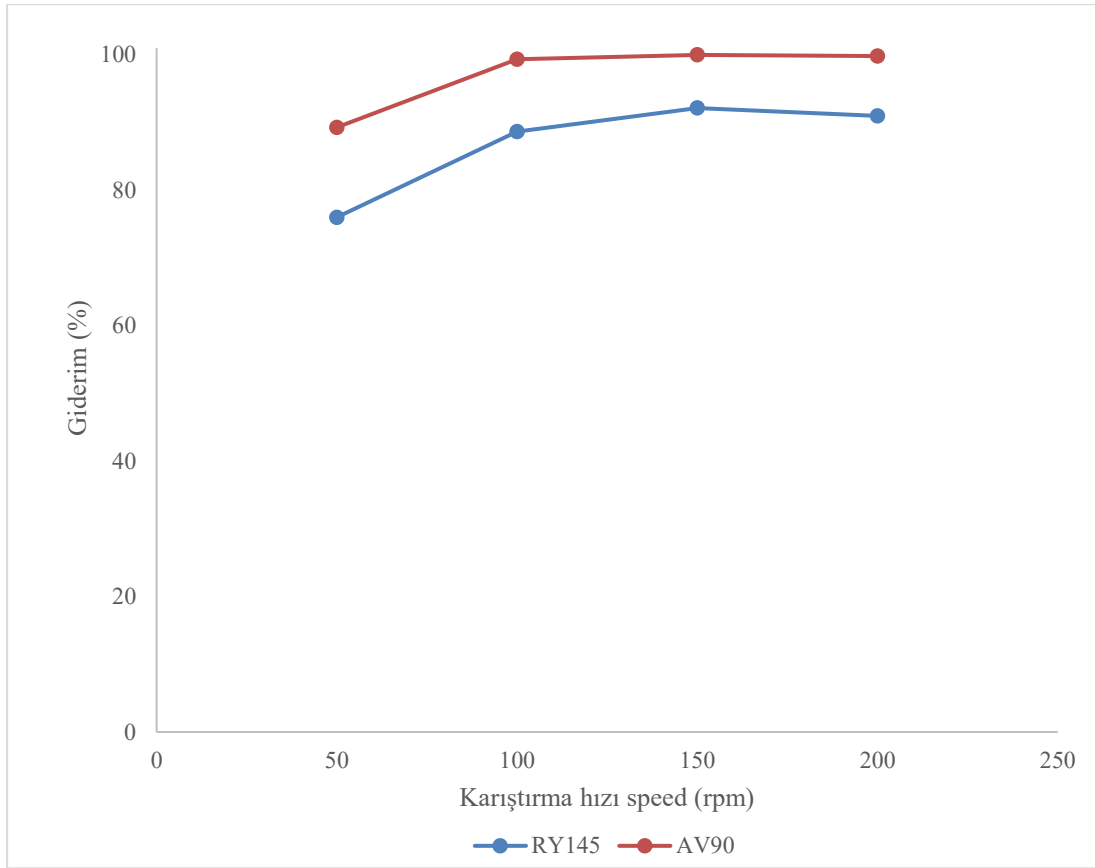
aktif biyokütle bölgelerinin tamamen kaplanması nedeniyle giderim verimliliği önemli ölçüde değişmemiştir.



Şekil 4.18. AV90 ve RY145 boyaalarının *C. cladosporioides* biyokütlesi ile gideriminde zamanın etkisi (pH 4, 50 mg/L boyar maddeler, 0,10 ve 0,25 g biyokütle, 100 rpm karıştırma hızı).

4.2.4. Karıştırma hızının biyosorpsiyon üzerine etkisi

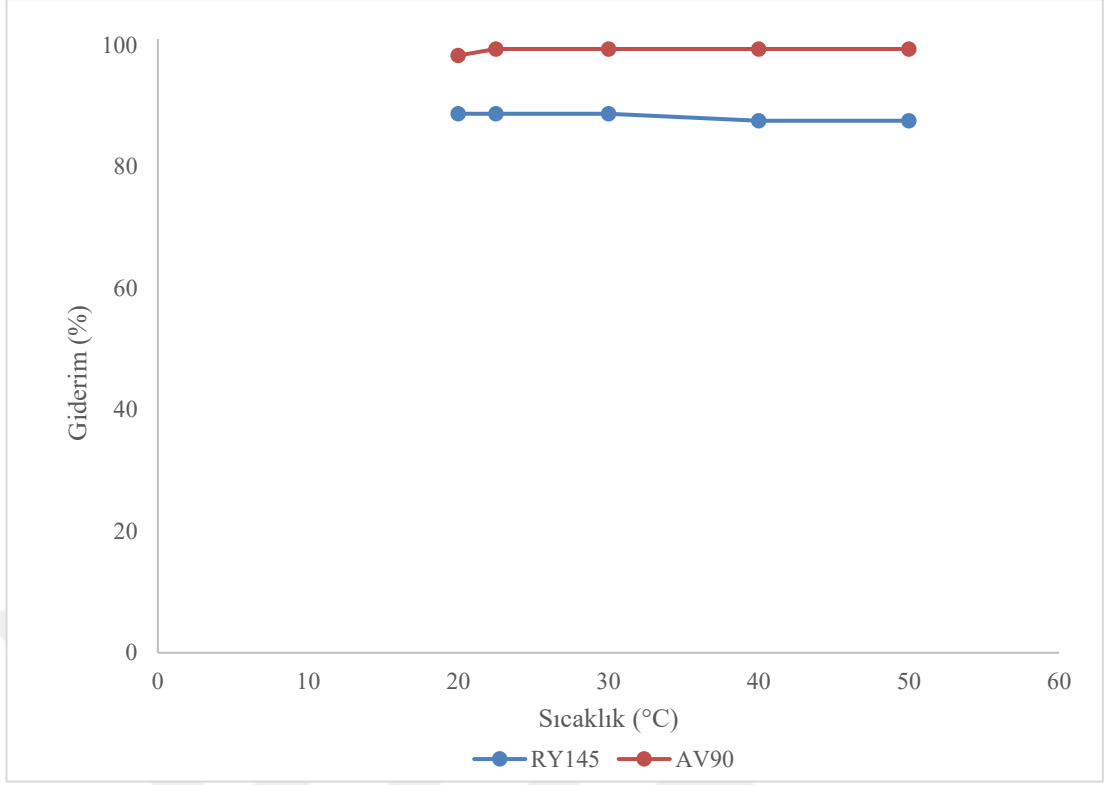
Aktif biyokütle bölgelerinin tamamen kaplanması nedeniyle, dengeye ulaşıldıktan sonra giderim verimi önemli ölçüde değişmemiştir. Çalkalama hızı, biyokütle etrafındaki sıvı film kalınlığını değiştirmesi nedeniyle biyosorpsiyon verimini etkiler (Şahin ve ark., 2013). Düşük çalkalama hızları daha yüksek film kalınlığına yol açmış ve giderim yüzdeleri daha düşük olmuştur (50 rpm'de RY145 için %76 ve AV90 için %89). Yüksek çalkalama hızlarında film direnci aşılmış ve giderim oranı 150 rpm'de RY145 için %92'ye ve AV90 için %100'e yükselmiştir (Şekil. 4.19). Daha da yüksek çalkalama hızlarında ise biyokütle-adsorbat etkileşim olasılığının (veya süresinin) azalması nedeniyle giderim düşebilmektedir.



Şekil 4.19. AV90 ve RY145 boyaalarının *C. cladosporioides* biyokütlesi ile gideriminde karırtırma hızının etkisi (pH 4, 50 mg/L boyarmaddeler, 60 dk., 0.1 g biyokütle).

4.2.5. Sıcaklığın biyosorpsiyon üzerine etkisi

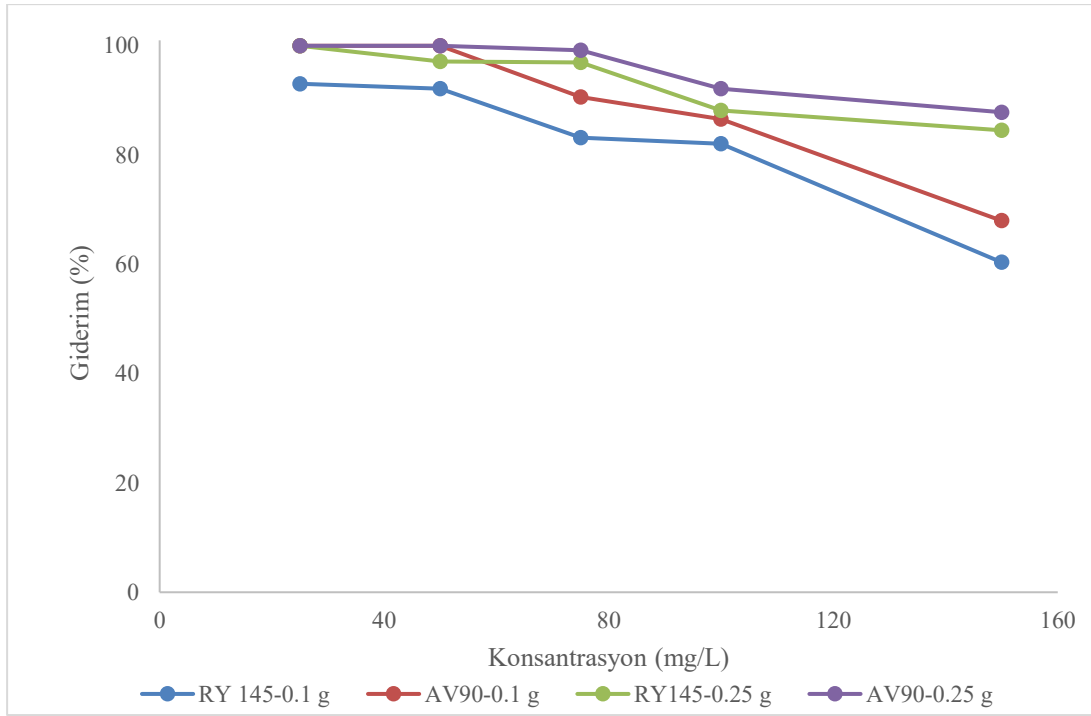
Sıcaklık biyosorpsiyon sürecini etkilememiş ve giderim yüzdeleri neredeyse sabit kalmıştır (Şekil 4.20)



Şekil 4.20. AV90 ve RY145 boylarının *C. cladosporioides* biyokütlesi ile gideriminde sıcaklığın etkisi (pH 4, 50 mg/L boyarmaddeler, 60 dk., 0.1 g biyokütle, 100 rpm çalkalama hızı).

4.2.6. Konsantrasyonun biyosorpsiyon üzerine etkisi

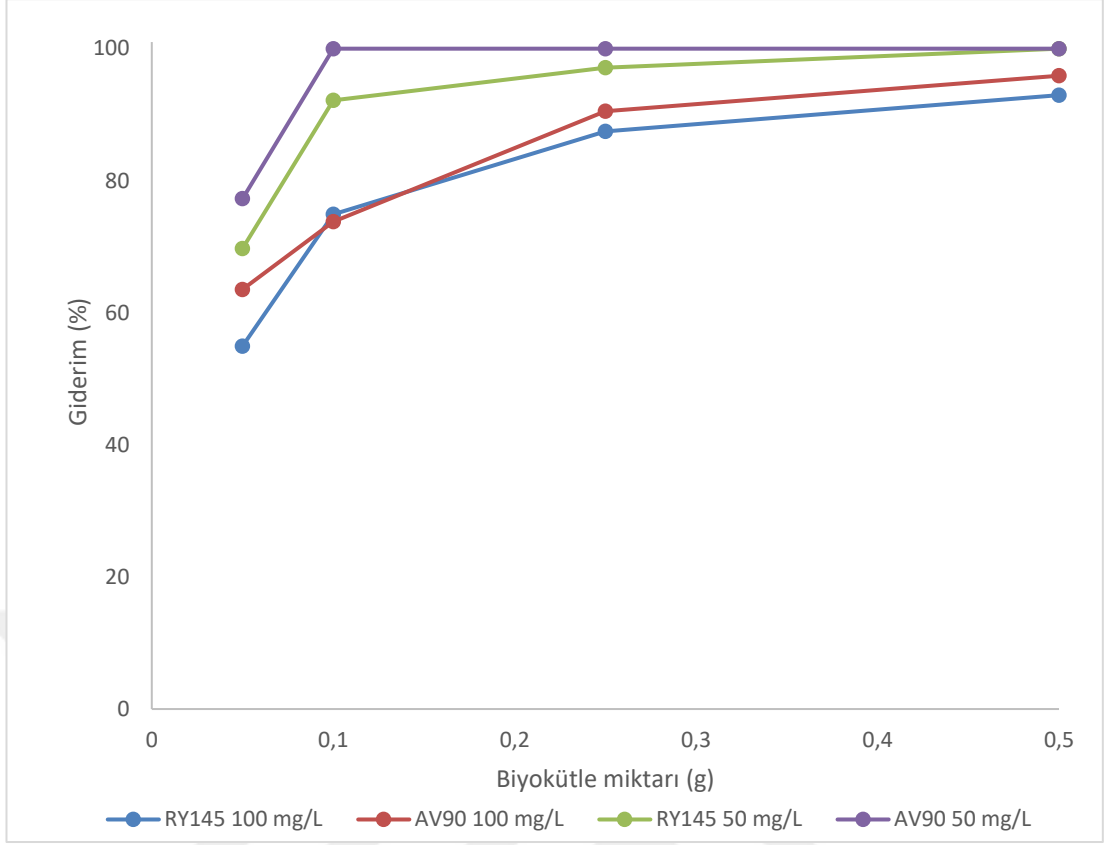
Başlangıç boyarmadde derişiminin etkisi, 0,10 g ve 0,25 g biyokütle kullanılarak her bir boyarmaddenin 25–150 mg/L derişim aralığında değerlendirilmiştir (Şekil 4.21). Boyarmadde derişimlerinin artmasıyla, etkileşime girmemiş (veya boşta kalan) biyokütle bölgelerinin azalması nedeniyle giderim yüzdeleri düşmüştür. Bununla birlikte, 0,25 g biyokütle ve 150 mg/L boyarmadde kullanıldığında RY145 için %84 ve AV90 için %87 giderim verimleri elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, AV90'ın RY145'e göre anlamlı derecede daha fazla biyosorblandığı, ancak yüksek derişimlerde giderim yüzdelerinin birbirine yaklaştığı sonucuna varılmıştır. Bu durum, yüksek boyarmadde derişimlerinde biyokütle üzerindeki etkileşim bölgelerinin sayısının yetersiz kaldığı açıklamasıyla uyumludur.



Şekil 4.21. AV90 ve RY145 boyalarının *C. cladosporioides* biyokütlesi ile gideriminde konsantrasyon etkisi (pH 4, 60 dk., 0.10 ve 0.25 g biyokütle, 150 rpm çalkalama hızı).

4.2.7. Biyokütle miktarının biyosorpsiyon üzerine etkisi

Biyokütle miktarının etkisi, her bir boyarmaddenin 50 ve 100 mg/L derişimlerinde olduğu karışım çözeltilerinde incelenmiştir (Şekil 4.22). Kütle etkisi (biyokütle miktarının etkisi), daha yüksek boyarmadde derişimleri kullanılarak daha net bir şekilde tartışılabilir. 60 dakikada 50 mg/L boyarmadde kullanıldığında, RY145 için 0,50 g ve AV90 için 0,10 g biyokütle ile verim %100'e ulaşmıştır. 100 mg/L boyarmadde kullanılarak biyokütle miktarı 0,05 g'dan 0,50 g'a çıkarıldığında, RY145 için giderim yüzdeleri %55'ten %93'e ve AV90 için %64'ten %96'ya yükselmiştir. Biyokütle miktarının artmasıyla, biyokütlerdeki biyosorpsiyondan sorumlu bölgelerin sayısı artmış ve daha belirgin biyokütle-boyarmadde etkileşimleri meydana gelmiştir.



Şekil 4.22. AV90 ve RY145 boyaalarının *C. cladosporioides* biyokütlesi ile gideriminde biyokütle miktarının etkisi (pH 4, 50 ve 100 mg/L boyarmaddeler, 60 dk., 150 rpm çalkalama hızı).

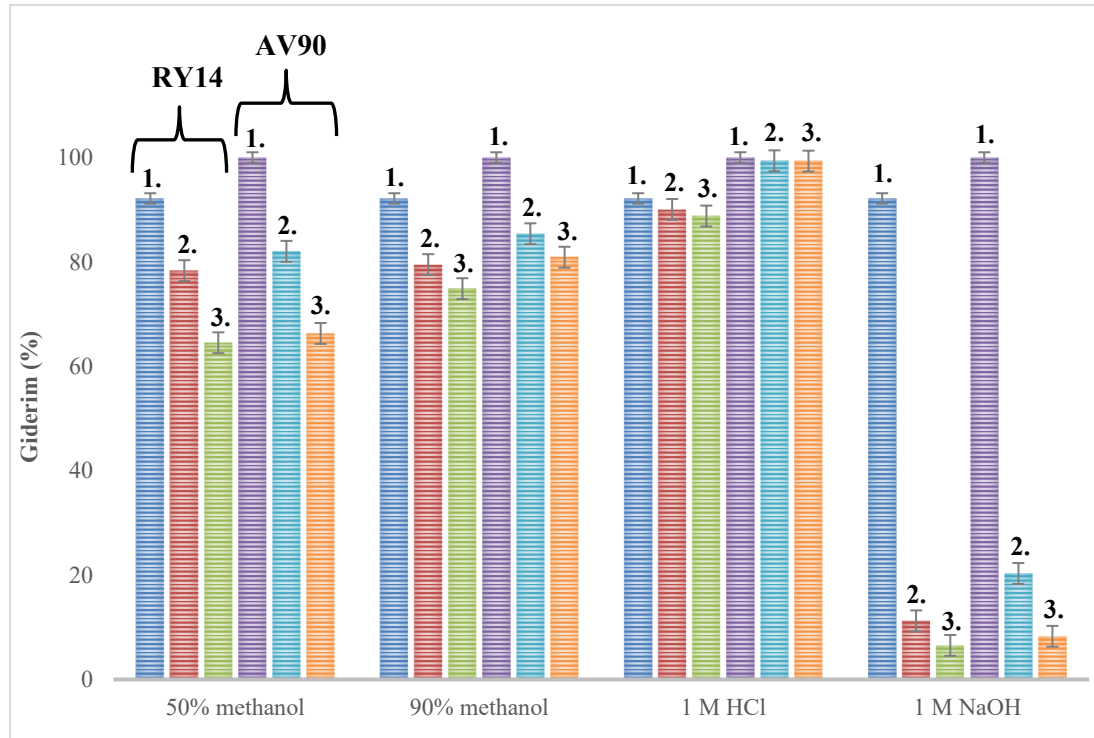
4.2.8. İnaktif *C. cladosporioides* küfünün tekrar kullanılabilirliğinin incelenmesi

Biyokütlenin tekrar kullanılabilirliğini değerlendirmek amacıyla, %50 ve %90'lık metanol, 1,0 M HCl ve 1,0 M NaOH çözeltileri kullanılarak tekrar kullanılabilirlik deneyleri yürütülmüştür (Şekil 4.23). Elde edilen sonuçlar, tekrar kullanılabilirlik ajanı olarak en zayıf performansı NaOH'in, en iyi performansı ise HCl'nin gösterdiğini, metanolün ise orta düzeyde bir etkinlik sergilediğini ortaya koymuştur. NaOH ile rejenere edilen biyokütlenin boya giderme kapasitesinde dramatik bir düşüş gözlenmiş; örneğin RY145 boyası için giderim verimi ikinci kullanımda %92'den %11'e düşerken, AV90 boyası için bu düşüş %100'den %20'ye olmuştur. Metanol ile yapılan rejenerasyonda da giderim yüzdeleri azalmakla birlikte, düşüş daha kontrollü kalmıştır. %90'lık metanolün %50'lik versiyonuna göre daha etkili olmasına rağmen, üçüncü kullanım sonunda ortalama giderim verimleri her iki boya için de %70-75 aralığında benzer kalmıştır ki bu durum, toplam boya gideriminde fiziksel etkileşimlerin payının yüksek olduğuna işaret etmektedir. En başarılı sonuçlar ise HCl ile muamele edilen biyokütlerde elde edilmiş ve bu biyokütle, üçüncü kullanımda bile

RY145 için %89 ve AV90 için %99 gibi yüksek giderim yüzdelerini korumuştur. Bu üstün performans, hem kimyasal bağlanma ile tutulan boya miktarının önemli olduğunu göstermiş hem de HCl'nin fiziksel ve kimyasal olarak bağlanmış boyaları etkin bir şekilde uzaklaştırıp biyokütle yüzeyini rejenere etme kabiliyeti sayesinde en uygun desorpsiyon çözeltisi olarak seçilmesini sağlamıştır. Ayrıca, her döngüde biyokütle miktarında yaşanan küçük kayıpların da (Tablo 4.3) giderim yüzdelerindeki genel düşüşte etkili olduğu dikkate alınmalıdır.

Tablo 4.3. Tekrar kullanılan biyokütle miktarları.

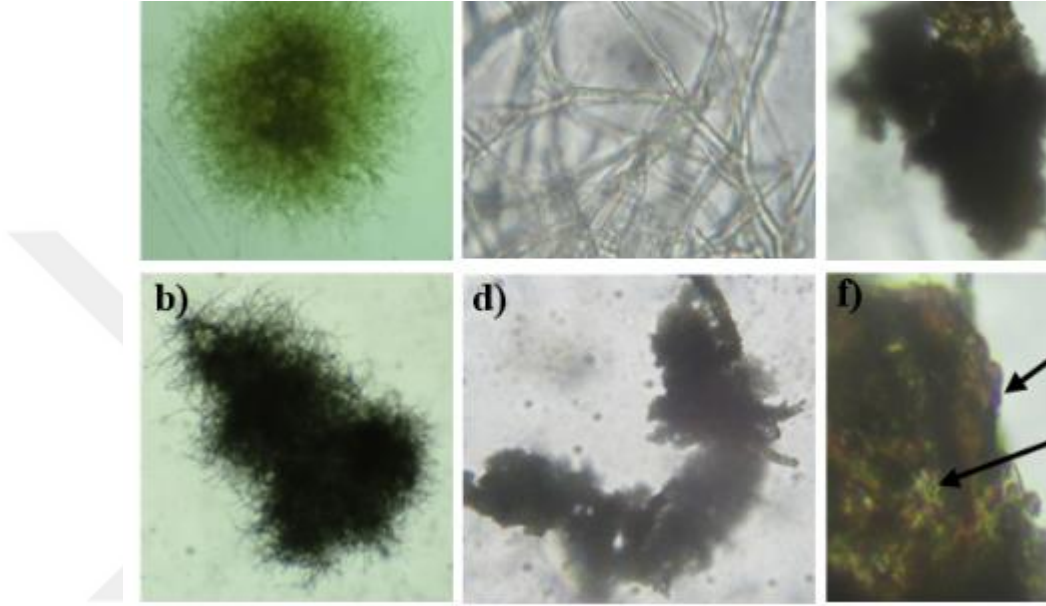
Solüsyon	1. (g)	2. (g)	3. (g)	4. (g)
%50 Metanol	0,1018	0,0912	0,0845	0,0816
%90 Metanol	0,1013	0,0858	0,0833	0,0793
1,0 M HCl	0,1016	0,0908	0,0834	0,0766
1,0 M NaOH	0,1009	0,0800	0,0719	0,0628



Şekil 4.23. Adsorpsiyon- tekrar kullanılabilirlik döngülerinin giderim yüzdeleri.

4.2.9. *C. cladosporioides* küfünün biyosorpsiyon öncesi ve sonrası görüntülerinin incelenmesi

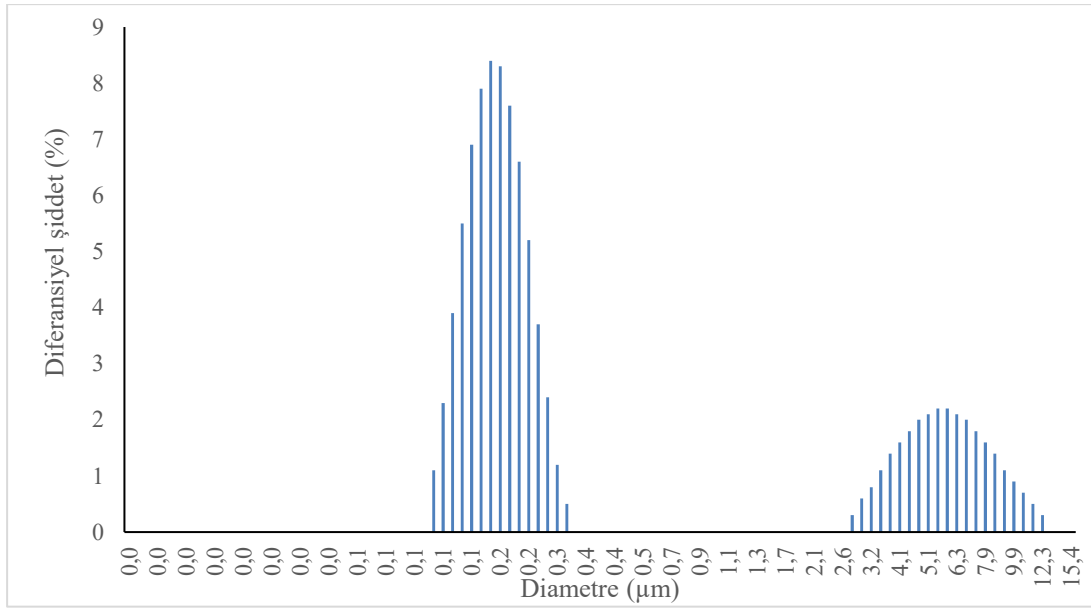
Cladosporium cladosporioides küfünün biyosorpsiyon işlemi öncesi ve sonrası morfolojik değişimleri, ışık mikroskobu kullanılarak titizlikle incelenmiştir. Canlı ve ölü *C. cladosporioides*'in mikroskop altındaki görüntüleri Şekil 4.24'te gösterilmiştir. Ölü biyokütle görüntüleri biyosorpsiyondan önce ve sonra çekilmiştir. Ölü biyokütle üzerine biyosorbe edilmiş boyalar görüntülerde görülebilmektedir.



Şekil 4.24. Canlı (a, b ve c) ve ölü biyokütlenin biyosorpsiyon öncesi (d) ve sonrası (e ve f) görüntüleri.

4.2.10. *C. cladosporioides* küfünün partikül dağılımının incelenmesi

Biyokütlenin partikül boyutu dağılımı bir NanoPlus zeta/nanopartikül analizörü kullanılarak ölçülmüştür. Ölü biyokütlenin partikül boyutu dağılımı Şekil 4.25'te gösterilmiştir. Partiküller 0,1 ila 12,3 μm arasında değişen boyutlara tekdüze bir şekilde sahiptir ve hesaplanan yığın yoğunluğu 0,44 g/mL'dir.



Şekil 4.25. Biyokütlenin partikül dağılımı

4.2.11. Kinetik çalışmaları

Biyosorpsiyonun kinetik parametreleri olan q_e (mg/g), k_1 (1/dk) ve k_2 (g/mg dk), yalancı-birinci-derece (1) ve yalancı-ikinci-derece (2) denklemleri kullanılarak hesaplanmıştır (Ho ve McKay 1998). Burada q_e ve q_t , dengede ve herhangi bir t anında giderilen boya miktarını, k_1 ve k_2 ise hız sabitlerini temsil eder. Hesaplanan sonuçlar Tablo 4.4'te gösterilmektedir. Her iki kinetik modelin R^2 değerleri de yüksektir. Giderim süreci yalancı-ikinci-derece modele daha iyi uymaktadır ve hesaplanan q_e değeri, yalancı-birinci-derece kinetik modelinden daha yüksektir. Bu durumdan, biyosorpsiyonun kemisorpsiyon (hız belirleyici basamak) yoluyla, ancak aynı zamanda arayüz boyunca difüzyon ile de gerçekleştiği sonucuna varılabilir (Sahoo ve Prelot 2020). Bu, desorpsiyon deneylerinin sonuçlarıyla tutarlıdır. Sadece çözücü (metanol) kullanılarak verimli bir desorpsiyon elde edilememiştir. Kemisorpsiyonu ortadan kaldırmak için asit rejenerasyonu gerekmiştir.

Tablo 4.4. Kinetik parametreler

Yalancı birinci derece			
Boya	q_e (mg/g)	k_1 (1/min)	R^2
RY145	7,0682	0,0172	0,9977
AV90	7,3181	0,0177	0,9979
Yalancı ikinci derece			
Boya	q_e (mg/g)	k_2 (g/mg min)	R^2
RY145	24,2017	0,0058	0,9995
AV90	18,7863	0,0051	0,9994

4.2.12. İzoterm

Langmuir, Freundlich, Sips, Dubinin–Radushkevich ve Temkin adsorpsiyon izotermelerinin lineer modelleri de incelenmiştir (Tablo 4.5). Sabitler, (3), (4), (5), (6) ve (7) denklemleriyle hesaplanmıştır (Popoola 2019). Burada Q_0 (mg/g) biyokütlenin adsorpsiyon kapasitesi, C_e boyanın artık denge derişimi, b (L/mg) adsorpsiyon enerjisi, K_f (mg/g) biyosorpsiyon kapasitesi, n biyosorpsiyon yoğunluğu, q_m (mg/g) maksimum adsorpsiyon kapasitesi, b_s Sips izoterm sabiti, B_D (mol²/kJ²) Dubinin–Radushkevich izoterm sabiti, ϵ Polanyi potansiyeli, A_T (L/mg) denge bağlanma sabiti, b_T (J/mol) Temkin sabitidir. Her iki boya için de Langmuir izoterminin R^2 değerleri diğer izotermelerden daha yüksektir. Biyosorpsiyon Langmuir izotermine daha iyi uymaktadır ve adsorpsiyon kapasitesi (Q_0) diğer izotermelerden hesaplanan değerden daha yüksektir. Giderimin tek tabakalı bir şekilde gerçekleştiği, dolayısıyla biyokütlenin aktif bölgelerinin sadece bir boya molekülü ile etkileşime girebildiği sonucuna varılabilir (Kalam vd. 2021). Bu, artan biyosorbent miktarı ile giderim yüzdesinin arttığı deneysel sonuçlarla uyumludur. Sıcaklık biyosorpsiyonu etkilemediği için adsorpsiyon termodinamiği parametreleri incelenmemiştir.

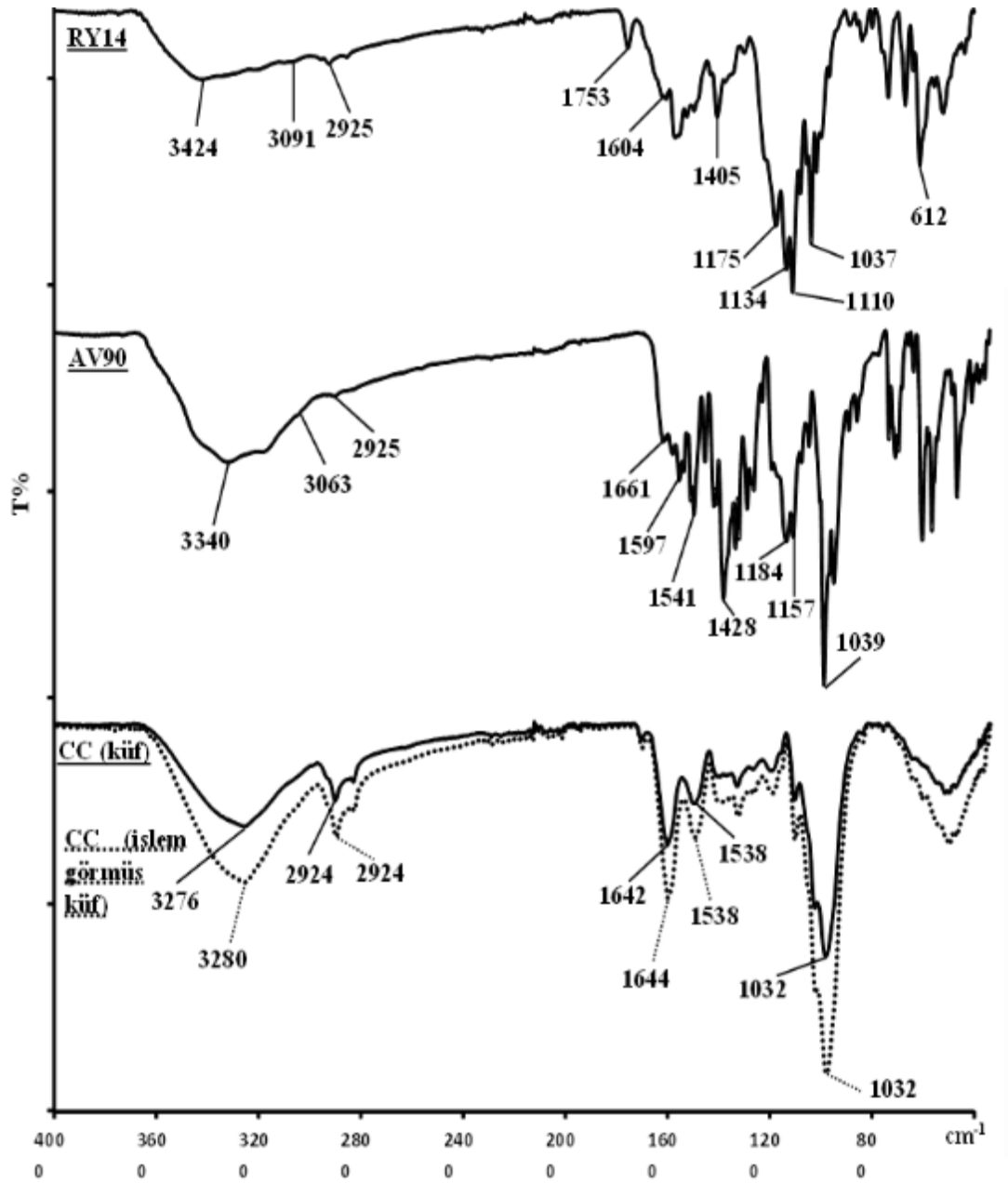
Tablo 4.5. Hesaplanan izoterm sabitleri

İzoterm	Parametreler	RY145	AV90
Langmuir	Q_0 (mg/g)	24,9607	27,0738
	b (L/mg)	0,1746	0,654
	R^2	0,9972	0,9902
Freundlich	K_f (mg/g)	5,9518	16,2050
	n	2,7714	9,1131
	R^2	0,9034	0,8298
Sips	b_s (L/g)	0,2090	2,7182
	n	0,9020	2,8409
	R^2	0,9835	0,6927
Dubinin-Radushkevich	B_D (mol ² /kJ ²)	0,9522	0,0047
	q_m (mg/g)	18,9807	21,9295
	R^2	0,9307	0,8418
Temkin	b_T (kJ/mol)	4,7487	1,5615
	A_T (L/mg)	2,5080	9,5003
	R^2	0,9793	0,8591

4.2.13. FTIR

Boyaların ve ölü biyokütlenin (biyosorpsiyondan önce ve sonra) FTIR analizleri de yapılmıştır (Şekil 4.26). RY145'in FTIR spektrumunda, N–H ve O–H (SO₃Na'nın iyonlaşmasından dolayı) gerilme titreşim bantları 3424 cm⁻¹'de üst üste binmiştir

(Singh vd. 2022). 3091 cm^{-1} ve 2925 cm^{-1} pikleri aromatik ve alifatik C–H gerilme titreşimleridir. RY145 yapısında bir karbonil diamid grubu içerir, bu nedenle karbonil grubu gerilme titreşim piki (1753 cm^{-1}) amid grubunun normal dalga sayısından daha yüksekte görünür. 1604 cm^{-1} 'deki pik C=N titreşimi nedeniyle ortaya çıkmıştır. N=N ve C=C titreşim pikleri 1569 cm^{-1} 'de üst üste binmiştir. 1405 cm^{-1} 'deki pik aromatik halkaya aittir. C–N titreşim pikleri 1174 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. 1134 cm^{-1} ve 1110 cm^{-1} 'deki pikler SO_3 gruplarından kaynaklanmıştır. C–O ve C–Cl titreşim pikleri 1037 cm^{-1} ve 610 cm^{-1} 'de görülmüştür. AV90'ın FTIR spektrumunda, ~3340 cm^{-1} 'deki geniş pik, N–H ve O–H gerilme titreşimlerinin üst üste binen bantlarına aittir. Aromatik ve alifatik C–H gerilme titreşimleri 3063 cm^{-1} ve 2925 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. 1661 cm^{-1} ve 1597 cm^{-1} pikleri C=O ve C=N titreşimlerine aittir. N=N ve C=C gruplarının üst üste binen bantları 1541 cm^{-1} 'de görülmüştür. Aromatik halka piki 1428 cm^{-1} 'dedir. 1184 cm^{-1} ve 1157 cm^{-1} 'deki pikler SO_3 grubuna aittir. C–O titreşim piki 1039 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. Mantarın hücre duvarı genellikle aromatik halkalara ve farklı karbonil gruplarına sahip proteinler ve karbonhidratlar içerir (Gubbins ve Anaissie 2009). Biyokütle ve muamele edilmiş biyokütlenin FTIR spektrumları, küçük kaymalar dışında benzerdir. 2924 cm^{-1} , 1538 cm^{-1} ve 1032 cm^{-1} pikleri alifatik C–H, aromatik C=C ve C–O grubu titreşimlerine aittir. Biyokütle ve muamele edilmiş biyokütlenin FTIR spektrumunda O–H ve N–H titreşim bantları 3276 cm^{-1} ve 3280 cm^{-1} 'de üst üste binmiştir. Biyokütle ve muamele edilmiş biyokütlerdeki 1642 cm^{-1} ve 1644 cm^{-1} pikleri amidin C=O grubuna aittir. Çoğu boya piki üst üste binmiş ve mantar piklerinin yanında görülememiştir. Ancak, boyaların eklenen fonksiyonel grupları nedeniyle tüm pik şiddetleri artmaktadır.



Şekil 4.26. RY145, AV90, biyokütle ve işlem görmüş biyokütlenin FTIR spektrumları



5. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR

Bu tez çalışması kapsamında, farklı özelliklere sahip sübstitüentler taşıyan üç adet şalkon türevi bileşiğin, potansiyel bir biyokatalizör olarak *Cladosporium cladosporioides* MRC 72584 fungal suşu ile biyotransformasyonu incelenmiştir. Yapılan inkübasyon deneyleri sonucunda, para pozisyonunda elektron çekici nitro grubu taşıyan (E)-3-(4-nitrofenil)-1-fenilprop-2-en-1-on ve zayıf elektron itici metil grubu taşıyan (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on substratlarının, yüksek bir regioselektivite ile sadece α,β -doymamış karbon-karbon çift bağlarından indirgendığı saptanmıştır. Ek olarak (E)-1-fenil-3-(p-tolil)prop-2-en-1-on' un karbonil grubu tam indirgenmiştir. Bu seçici reaksiyonlar neticesinde, sırasıyla değerli birer sentetik ara ürün olan 3-(4-nitrofenil)-1-fenilpropan-1-ol ve 1-fenil-3-(p-tolil) propan-1-on dihidroşalkonları ana ürünler olarak elde edilmiştir. 1-fenil-3-(p-tolil) propan-1-on ana ürününün yanında başlangıç maddesinde elde edilmiştir. Buna karşın, para pozisyonunda güçlü elektron itici metoksi grubu bulunan (E)-3-(4-metoksifenil)-1-fenilprop-2-en-1-on bileşiği ile yürütülen biyotransformasyon reaksiyonunda ise mikroorganizmanın farklı bir metabolik yolak izlediği gözlemlenmiştir. Bu reaksiyonda enoik çift bağın tam indirgenmesiyle 3-(4-metoksifenil)-1-fenilpropan-1-on yapısı oluşmuştur ve başlangıç maddesinde elde edilmiştir. Tüm ürünlerin yapısal teşhisi, başlangıç ve ürün maddelerine ait ^1H ve ^{13}C NMR spektrumlarının, özellikle vinilik ve karbonil bölgelerindeki değişimlerin dikkatli bir şekilde karşılaştırmalı analizi ile literatürle karşılaştırarak doğrulanmıştır. Bu bulgular bütüncül olarak ele alındığında, *C. cladosporioides* suşunun, genellikle kofaktör olarak NAD(P)H'ye bağımlı olan ve konjuge sistemlerin C=C çift bağlarını doyurmaktan sorumlu enoat redüktaz enzimlerini etkin bir şekilde eksprese ettiğini ortaya koymaktadır. Sonuç olarak, bu çalışma *C. cladosporioides*'in, şalkonların kimyasal yapısına bağlı olarak yüksek seçicilikle değerli dihidroşalkonlar veya doymuş alkoller sentezleyebilen çok yönlü ve potansiyel bir biyokatalizör olduğunu kanıtlarken, ana ürünlerin yanı sıra oluşan ve yapıları aydınlatılamayan minör safsızlıkların tespiti, bu metabolik yolakların daha da aydınlatılması için gelecekteki çalışmalara bir hedef sunmaktadır.

Tekstil endüstrisi atık sularının arıtımında karşılaşılan en büyük zorluklardan biri olan çok bileşenli boya karışımlarının giderimi için, bu çalışmada hem etkin bir arıtma stratejisi hem de güvenilir bir analiz yöntemi geliştirilmiştir. Bu kapsamda, metabolik aktivitesi bulunmayan ve bu sayede toksisite etkilerinden ve besin gereksinimlerinden bağımsız, tamamen yüzey kimyası özelliklerine dayalı bir adsorpsiyon sağlayan inaktif *Cladosporium cladosporioides* cinsi fungal biyokütle, potansiyel bir biyosorbent olarak incelenmiştir. Acid Violet 90 (AV90) ve Reactive Yellow 145 (RY145) boyalarının ikili karışımını içeren çözeltilerde, üst üste binen spektral bantların yarattığı analitik girişimi ortadan kaldırmak amacıyla birinci mertebeden türev spektrofotometrik yöntem başarıyla uygulanmıştır. Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda, pH 4, 150 rpm çalkalama hızı ve 60 dakika temas süresi gibi ideal koşullar altında, 50 mg/L başlangıç derişimine sahip her iki boyanın da 0,25 g biyokütle ile neredeyse kantitatif (%100'e yakın) bir şekilde giderildiği saptanmıştır. Bu şartlarda biyokütlenin hesaplanan maksimum adsorpsiyon kapasiteleri, RY145 için ~24 mg/g ve AV90 için ~27 mg/g gibi rekabetçi değerlere ulaşmıştır. Adsorpsiyon sürecinin altında yatan mekanizmayı aydınlatmak amacıyla yapılan modelleme çalışmaları, verilerin yalancı ikinci derece kinetik modele ve Langmuir adsorpsiyon izotermine mükemmel uyum sağladığını ortaya koymuştur. Kinetik modelin uyumu, sürecin hız belirleyici basamağının, biyokütle yüzeyindeki amin, karboksil ve hidroksil gibi aktif bölgeler ile boya molekülleri arasında elektron paylaşımı veya zayıf kimyasal bağların kurulduğu kemisorpsiyon olduğunu göstermektedir. Langmuir modeli ise, biyosorbent yüzeyinin adsorpsiyon için enerjetik olarak homojen olduğunu ve boya moleküllerinin yüzeye tek tabakalı (monolayer) bir şekilde bağlandığını doğrulamaktadır. Bu mekanistik bulguları destekler nitelikte, FTIR analizleri de biyosorpsiyon sonrası biyokütlenin yüzeyindeki fonksiyonel grupların titreşim frekanslarında gözlemlenen kaymalarla bu kimyasal etkileşimleri teyit etmiştir. Biyosorbentin ekonomik sürdürülebilirliği açısından kritik olan rejenerasyon potansiyeli, HCl ile muamele edildikten sonra dahi giderim veriminin RY145 için %89 ve AV90 için %99 gibi yüksek seviyelerde korunmasıyla kanıtlanmış, bu da biyokütlenin yapısal kararlılığını ve endüstriyel döngülerde tekrar kullanılabilirlik potansiyelini göstermiştir. Sonuç olarak, literatürdeki tekil boya çalışmalarının ötesine geçen bu araştırma, hem gerçek atık su koşullarını daha iyi simüle eden çok bileşenli sistemlerin arıtımı için düşük maliyetli ve verimli bir biyosorbent sunmakta hem de bu sistemlerin takibi için pratik bir analitik yöntem ortaya koymaktadır. Bu entegre

yaklaşımın, gelecekte farklı endüstriyel atık su matrisleri üzerindeki etkinliğinin araştırılması ve endüstriyel ölçekte validasyonunun yapılması için sağlam bir temel oluşturduğu sonucuna varılmıştır.





KAYNAKLAR

- Akar, S. T., Akar, T., Akar, N. E., Gedik, S. A., & Çabuk, A. (2009). Removal of textile dyes from aqueous solutions by a non-conventional bio-adsorbent, *Aspergillus versicolor*. *Desalination*, 249(3), 1076–1081.
- Akar, T. (2015). Furanosterod yapıları bazı bileşiklerin antifungal etkinliğinin ve *Neurospora crassa* fungal kültürünün biyotransformasyon ve biyosorpsiyon özelliklerinin incelenmesi [Doktora tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi].
- Aksu, Z. (2005). Application of biosorption for the removal of organic pollutants: A review. *Process Biochemistry*, 40(3-4), 997–1026.
- Aksu, Z., & Donmez, G. (2003). A comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye. *Chemosphere*, 50(8), 1075–1083.
- Aksu, Z., & Tezer, S. (2005). Biosorption of cadmium (II) from aqueous solutions by pretreated biomass of marine algae *Durvillaea potatorum*. *Process Biochemistry*, 40(4), 1347–1361. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.06.007>
- Alarcón-Salas, P., Rivera, J., Zúñiga, M., & Ochoa, N. (2013). Electrochemical and theoretical studies on the corrosion inhibition of mild steel by a new Schiff base in 1 M HCl. *International Journal of Electrochemical Science*, 8, 8062–8077.
- Al-Samarrai, A. (2024). Pregnenolonun *Penicillium olsoni* ile biyotransformasyonu [Yüksek lisans tezi, Sakarya Üniversitesi].
- Arıca, M. Y., Altıntaş, B., & Bayramoğlu, G. (2005). Covalent immobilization of glucoamylase onto magnetic poly(glycidyl methacrylate) beads: Properties and application in a continuous flow reactor. *Biochemical Engineering Journal*, 24(1), 47–55.
- Bai, R. S., & Abraham, E. (2003). Studies on chromium (VI) adsorption-desorption using immobilized fungal biomass. *Bioresource Technology*, 87(1), 17–26. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00222-5](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00222-5)
- Batana, F. Z., Bouras, H. D., & Aouissi, H. (2022). Biosorption of Congo red and basic fuchsin using micro fungi *Fusarium oxysporum* F. Sp. Pisi as a biosorbent: Modeling optimization and kinetics study. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(8), 225–235. <https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2022.113994.5188>
- Benkaddour, S., Slimani, R., Hiyane, H., Ouahabi, I. E., Hachoumi, I., Antri, S. E., & Lazar, S. (2018). Removal of Reactive Yellow 145 by adsorption onto treated watermelon seeds: Kinetic and isotherm studies. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 10, 16–21. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2018.08.003>
- Benkhaya, S., Rabet, S., & El Harfi, A. (2020). A review on classifications, recent synthesis and applications of textile dyes. *Inorganic Chemistry Communications*, 115, 107891. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2020.107891>

- Bishnoi, N. R., & Garima. (2005). Fungus, an alternative for bioremediation of heavy metal containing wastewater: A review. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 64, 93–100.
- Bordwell, F. G., Pavlíková, L., Pacl, P., & Zhang, S. (2004). The N–H bond dissociation enthalpies and the one-electron oxidation potentials of aniline, diphenylamine, and carbazole derivatives. *The Journal of Organic Chemistry*, 69(17), 5819–5825.
- Bouras, H. D., Isik, Z., Arikan, E. B., Yeddou, A. R., Bouras, N., Chergui, A., Favier, L., Amrane, A., & Dizge, N. (2021). Biosorption characteristics of methylene blue dye by two fungal biomasses. *International Journal of Environmental Studies*, 78(3), 365–381.
- Bushby, R. J., & Ferber, G. J. (1976). Organic Anions. Part I Equilibration of 1,3-Diarylpropenes. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (11), 1683–1688.
- Caner, N., Kıran, İ., İlhan, S., Pınarbaşı, A., & İçsen, C. F. (2011). Biosorption of Reactive Yellow 145 dye by dried *Penicillium restrictum*: Isotherm, kinetic, and thermodynamic studies. *Separation Science and Technology*, 46(14), 2283–2290. <https://doi.org/10.1080/01496395.2011.585211>
- Chicatto, J. A., Gonçalves, M. J., Altmajer-Vaz, D., & Tavares, L. B. B. (2018). Treatment of the textile wastewater through fungi: A sustainable alternative. *Sustentabilidade Em Debate*, 9(1), 198–213. <https://doi.org/10.18472/SustDeb.v9n1.2018.26460>
- Christie, R. (2014). *Colour chemistry*. Royal Society of Chemistry.
- Chung, K. T. (2016). Azo dyes and human health: A review. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 34(4), 233–261. <https://doi.org/10.1080/10590501.2016.1236602>
- Çolak, M., & Kılınç, C. (2017). Tekstil atık sularında biyosorpsiyon süreçlerinin analizi. *Environmental Science and Technology*, 21(2), 345–352.
- Dabrowski, A. (2001). Adsorption—from theory to practice. *Advances in Colloid and Interface Science*, 93(1-3), 135–224. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(00\)00082-8](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(00)00082-8)
- Danouche, M., El Arroussi, H., Bahafid, W., & El Ghachtouli, N. (2021). An overview of the biosorption mechanism for the bioremediation of synthetic dyes using yeast cells. *Environmental Technology Reviews*, 10(1), 58–76. <https://doi.org/10.1080/21622515.2020.1869839>
- Das, S., & Rosazza, J. P. (2006). Microbial and enzymatic transformations of flavonoids. *Journal of Natural Products*, 69(3), 499–508.
- De Matos, I. L., Nitschke, M., & Porto, A. L. M. (2023). Regioselective and chemoselective biotransformation of 2'-hydroxychalcone derivatives by marine-derived fungi. *Biocatalysis and Biotransformation*, 41(1), 46–56.
- De Matos, I. L., Nitschke, M., da Fonseca, L. J. P., & Porto, A. L. M. (2020). Biotransformation of flavonoids by terrestrial and marine microorganisms. In S. Kim (Ed.), *Encyclopedia of marine biotechnology* (Vol. 3, pp. 1979–2000). Wiley.

- Demain, A. L. (2000). Small bugs, big business: The economic power of the microbe. *Biotechnology Advances*, 18(6), 499–514.
- Doğan, H., İkbal, M., & Pirim, İ. (2007). G6PD enziminin hemolitik anemideki yeri. Atatürk Üniversitesi.
- Faber, K. (2003). *Biotransformations in organic chemistry* (5th ed.). Springer-Verlag.
- Fourest, E., & Roux, J. C. (1992). Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products: Mechanisms and influence of pH. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 37(3), 399–403. <https://doi.org/10.1007/BF00211001>
- Fu, Y., & Viraraghavan, T. (2000). Removal of a dye from an aqueous solution by fungus *Aspergillus niger*. *Water Quality Research Journal*, 35(1), 95–111.
- Fu, Y., & Viraraghavan, T. (2001). Fungal decolorization of dye wastewaters: A review. *Bioresource Technology*, 79(3), 251–262.
- Fu, Y., & Viraraghavan, T. (2002). Dye biosorption sites in *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology*, 82(2), 139–145.
- Gadd, G. M., & White, C. (1985). Copper uptake by *Penicillium ochro-chloron*: Influence of pH on toxicity and demonstration of energy-dependent copper influx using protoplasts. *Journal of General Microbiology*, 131(8), 1875–1879.
- Gong, R., Sun, Y., & Chen, J. (2005). Effect of chemical modification on dye adsorption capacity of peanut hull. *Dyes and Pigments*, 67(3), 175–181. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2004.12.003>
- Gubbins, P. O., & Anaissie, E. J. (2009). Antifungal therapy. In E. J. Anaissie, M. R. McGinnis, & M. A. Pfaller (Eds.), *Clinical mycology* (pp. 161–195). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-5680-5.X0001-1>
- Gupta, V. K., & Rastogi, A. (2008). Biosorption of lead from aqueous solutions by green alga *Spirogyra* species: Kinetics and equilibrium studies. *Journal of Hazardous Materials*, 152(1), 407–414.
- Hanson, J. R. (1995). *An introduction to biotransformations in organic chemistry*. W. H. Freeman Spektrum.
- Hashem, A., Aniagor, C. O., Farag, S., & Aly, A. A. (2023). Adsorption of acid violet 90 dye onto activated carbon and guava seed powder adsorbents. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04758-w>
- Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96(2-3), 67–202.
- Heidarzadeh-Samani, M., Behzad, T., Mehrabani-Zeinabad, A., & Baghbadorani, N. B. (2023). Removal of chromium ions by a bionanocomposite hydrogel based on starch-g-poly (acrylic acid) reinforced by cellulose nanofibers through a fixed adsorption column. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 25, 1-2. <https://doi.org/10.1007/s10098-023-02623-y>
- Ho, Y. S., & McKay, G. (1998). The kinetics of sorption of basic dyes from aqueous solution by sphagnum moss peat. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 76(4), 822–827. <https://doi.org/10.1002/cjce.5450760419>

- Kargı, F., & Özmihi, S. (2004). Biosorption performance of powdered activated sludge for removal of different dyestuffs. *Enzyme and Microbial Technology*, 35(2-3), 267–271.
- Kesarkar, S., Bhandage, A., Deshmukh, S., Shevkar, K., & Abhyankar, M. (2009). Flavonoids: An overview. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 2(6), 1148–1154.
- Keskin, C. S., Özdemir, A., & Şengil, İ. A. (2011). Simultaneous decolorization of binary mixture of reactive yellow and acid violet from wastewaters by electrocoagulation. *Water Science and Technology*, 63(8), 1644–1650. <https://doi.org/10.2166/wst.2011.306>
- Kifetew, M., Fito, J., Alemayehu, E., Prabhu, S. V., & Worku, Z. (2023). Adsorptive removal of Reactive Yellow 145 dye from textile industry effluents using teff straw-activated carbon: Optimization using central composite design. *Water*, 15(7), 1281. <https://doi.org/10.3390/w15071281>
- Kisets, I., Zabelinskaya, S., & Gelman, D. (2022). Synthesis and catalytic properties of a carbometalated half-sandwich Ru(II) complex bearing a rigid polyaromatic tether. *Organometallics*, 41(1), 76–82.
- Kozłowska, J., Potaniec, B., & Anioł, M. (2020). Biotransformation of hydroxychalcones as a method of obtaining novel and unpredictable products using whole cells of bacteria. *Catalysts*, 10(10), 1167.
- Krishnasamy, S., Sai Atchyuth, B. A., Ravindiran, G., Subramaniyan, B., Ramalingam, M., Bhargava, J. U., & Razack, N. A. (2022). Effective removal of Reactive Yellow 145 (RY145) using biochar derived from groundnut shell. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2022, 8715669. <https://doi.org/10.1155/2022/8715669>
- Langmuir, I. (1918). The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *Journal of the American Chemical Society*, 40(9), 1361–1403.
- Lima, F. A., de Júnior, A. M. F., Sarrouh, B., & Lofrano, R. C. Z. (2023). Application of sugarcane bagasse and peanut shell in natura as bioadsorbents for vinasse treatment. *Clean Technologies and Environmental Policy*. <https://doi.org/10.1007/s10098-023-02650-9>
- Liu, R. H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78(3), 517S–520S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/78.3.517S>
- Liversidge, R. M., Lloyd, G. J., Wase, D. A. J., & Forster, C. F. (1997). Removal of Basic Blue 41 dye from aqueous solution by linseed cake. *Process Biochemistry*, 32(6), 473–477. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(96\)00107-0](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(96)00107-0)
- Mahoney, M. J. (2002). Constructivism and positive psychology. In C. R. Snyder & S. J. Lopez (Eds.), *Handbook of positive psychology* (pp. 745–750). Oxford University Press.
- Maurya, N. S., Mittal, A. K., Cornel, P., & Rother, E. (2006). Biosorption of dyes using dead macro fungi: Effect of dye structure, ionic strength and pH. *Bioresource Technology*, 97(3), 512–521. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.02.045>

- Mehta, M. D., & Gair, J. J. (2001). Social, political, legal and ethical areas of inquiry in biotechnology and genetic engineering. *Technology in Society*, 23(2), 241–264.
- Murray, H. C., & Peterson, D. H. (1952). Oxygenation of steroids by *Mucorales* fungi (U.S. Patent No. 2,602,769). U.S. Patent and Trademark Office.
- National Center for Biotechnology Information. (2024). PubChem compound summary for CID 5359423, C.I. Reactive Yellow 145. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/C.I.-Reactive-Yellow-145>
- Onat, T., Emerk, K., & Sözmen, E. Y. (2006). İnsan biyokimyası. Palme Yayıncılık.
- Ong, S. E., & Mann, M. (2005). Mass spectrometry–based proteomics turns quantitative. *Nature Chemical Biology*, 1, 252–262.
- Özacar, M., & Şengil, İ. A. (2004). Equilibrium data and process design for adsorption of disperse dyes onto alunite. *Environmental Geology*, 45, 762–768. <https://doi.org/10.1007/s00254-003-0936-5>
- Özcan, A. S., & Özcan, A. (2004). Adsorption of acid dyes from aqueous solutions onto acid-activated bentonite. *Journal of Colloid and Interface Science*, 276(1), 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.03.043>
- Özgür, İ. (2006). Türkiye'de tekstil ve konfeksiyon sektörünün durumu ve çıkış stratejileri [Yüksek lisans tezi, Kadir Has Üniversitesi].
- Pace, C. N., Grimsley, G. R., & Scholtz, J. M. (2009). Protein ionizable groups: pK values and their contribution to protein stability and solubility. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(20), 13285–13289. <https://doi.org/10.1074/jbc.R800080200>
- Patra, S. (2007). Studies on a new biopolymer from a bacterium for microbial enhanced oil recovery [Doktora tezi, National Institute of Technology, Rourkela].
- Pekin, B. (1985). Organik reaksiyon mekanizmaları. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları.
- Pervaiz, S., Ahmad, S., Madni, M. A., Ahmad, H., & Khaliq, F. H. (2013). Microbial biotransformation: A tool for drug designing. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 49(5), 437–450. <https://doi.org/10.1134/S0003683813050098>
- Pethkar, A. V., Kulkarni, S. K., & Paknikar, K. M. (2001). Comparative studies on metal biosorption by two strains of *Cladosporium cladosporioides*. *Bioresource Technology*, 80(3), 211–215. [https://doi.org/10.1016/s0960-8524\(01\)00080-3](https://doi.org/10.1016/s0960-8524(01)00080-3)
- Piccin, J. S., Dotto, G. L., & Pinto, L. A. A. (2011). Adsorption isotherms and thermochemical data of FD&C Red no. 40 binding by chitosan. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 28, 295–304. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322011000200014>
- Qin, D., & Dong, J. (2023). Multilevel optimization and strategies in microbial biotransformation of nature products. *Molecules*, 28(6), 2619.
- Roberts, R. W. (1992). Determinants of corporate social responsibility disclosure: An application of stakeholder theory. *Accounting, Organizations and Society*, 17(6), 595–612. [https://doi.org/10.1016/0361-3682\(92\)90015-K](https://doi.org/10.1016/0361-3682(92)90015-K)

- Rudrapal, M., Khan, J., Dukhyil, A. A. B., Alarousy, R. M. I. I., Attah, E. I., Sharma, T., Bendale, A. R., &... Celik, I. (2021). Chalcone scaffolds, bioprecursors of flavonoids: Chemistry, bioactivities, and pharmacokinetics. *Molecules*, 26(23), 7177.
- Sanjukta, S. A. (2007). Phylogenetic study of the evolution of PEP-carboxykinase. *Evolutionary Bioinformatics*, 3, 117-124.
- Santos, A. B. (2005). Reductive decolourisation of dyes by thermophilic anaerobic granular sludge [Doktora tezi, Wageningen University].
- Sarıkcı, Ö. (2013). Acid Red 97 ve nikel (II) iyonlarının tekli ve ikili karışımlarının *Padina pavonia*, *Dictyota dichotoma* ve *Sargassum acinarum*'a biyosorpsiyonu [Yüksek lisans tezi, Mersin Üniversitesi].
- Singh, A. L., Chaudhary, S., Kumar, S., Kumar, A., Singh, A., & Yadav, A. (2022). Biodegradation of Reactive Yellow-145 azo dye using bacterial consortium: A deterministic analysis based on degradable metabolite, phytotoxicity and genotoxicity study. *Chemosphere*, 300, 134504.
- Smith, J. E. (2009). *Biotechnology* (5th ed.). Cambridge University Press.
- Smitha, M. S., Singh, S., & Singh, R. (2017). Microbial biotransformation: A process for chemical alterations. *Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access*, 4(2), 85.
- Srivastava, P., & Hasan, S. H. (2011). Biomass of *Mucor hiemalis* for the biosorption of cadmium from aqueous solutions: Equilibrium and kinetic studies. *BioResources*, 6(4), 3656–3675.
- Şahin, İ., Keskin, S. Y., & Keskin, C. S. (2013). Biosorption of cadmium, manganese, nickel, lead, and zinc ions by *Aspergillus tamarii*. *Desalination and Water Treatment*, 51(22-24), 4524–4529.
- Telefoncu, A. (1995). *Biyoteknoloji*. Ege Üniversitesi Basımevi.
- Terada, L. S., Radisavljevic, Z., Mahr, N. N., & Jacobson, E. D. (1997). Xanthine oxidase decreases production of gut wall nitric oxide. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 216(3), 40–41.
- Turner, M. K. (1998). Perspectives in biotransformations. In H. J. Rehm & G. Reed (Eds.), *Biotechnology: Vol. 8a. Biotransformations I* (D. R. Kelly, Ed.; pp. 1–99). Wiley-VCH.
- Türkoğlu, E. A., & Çaktü Güler, K. (2011). Mikrobial culture collections, the essential resources for life. *Gazi University Journal of Science*, 24(2), 175–180.
- Veglio, F., & Beolchini, F. (1997). Removal of metals by biosorption: A review. *Hydrometallurgy*, 44(3), 301–316.
- Volesky, B. (1990). Removal and recovery of heavy metals. In B. Volesky (Ed.), *Biosorption of heavy metals* (p. 36). CRC Press.
- Volesky, B. (2007). Biosorption and me. *Water Research*, 41(18), 4017–4029.
- Volesky, B., & Holan, Z. R. (1995). Biosorption of heavy metals. *Biotechnology Progress*, 11(3), 235–250.

- Wang, A., Zhang, F., Huang, L., Yin, X., Li, H., Wang, Q., & Xie, T. (2010). New progress in biocatalysis and biotransformation of flavonoids. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(10), 847–856.
- Wang, J., & Chen, C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advances*, 27(2), 195–226.
- Waranusantigul, P., Pokethitiyook, P., Kruatrachue, M., & Upatham, E. S. (2003). Kinetics of basic dye (methylene blue) biosorption by giant duckweed (*Spirodela polyrrhiza*). *Environmental Pollution*, 125(3), 385–392. [https://doi.org/10.1016/s0269-7491\(03\)00107-6](https://doi.org/10.1016/s0269-7491(03)00107-6)
- Yılmaz, K. S. (2010). Bazı monoterpenoidlerin fungal biyotransformasyonunun incelenmesi [Doktora tezi, Sakarya Üniversitesi].
- Yılmaztekin, M., Cabaroğlu, T., & Erten, H. (2008). Biyoteknolojik yollarla aroma maddelerinin üretimi. *Gıda*, 33(1), 35–41.
- Zhang, S. J., Yang, M., Yang, Q. X., Zhang, Y., Xin, B. P., & Pan, F. (2003). Biosorption of reactive dyes by the mycelium pellets of a new isolate of *Penicillium oxalicum*. *Biotechnology Letters*, 25(17), 1479–1482. <https://doi.org/10.1023/a:1025036407588>
- Zheng, J., Wang, Q., Li, Y., Zheng, H., Hu, C., Hu, X., & Li, R. (2023). Palladium-catalyzed multicomponent cascade reaction of 3-hydroxypropionitrile: Synthesis of substituted dihydrochalcones. *The Journal of Organic Chemistry*, 88(13), 9187–9198.
- Zollinger, H. (2003). *Color chemistry: Syntheses, properties, and applications of organic dyes and pigments*. John Wiley & Sons.



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Mehmet Can TOPCU

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2022, Sakarya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
- **Yükseklisans** : 2022 Devam eden, Sakarya Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya

TEZDEN TÜRETİLEN ESERLER:

- C. S. KESKİN, M. C. TOPCU, and S. YILMAZER KESKİN, “Simultaneous Biosorption of Acid Violet And Reactive Yellow Dyes Onto Dead Biomass,” presented at the 12TH AEGEAN ANALYTICAL CHEMISTRY DAYS, İstanbul, 2023.
- C. S. KESKİN, S. YILMAZER KESKİN, and M. C. Topcu, “Simultaneous biosorption of acid violet and reactive yellow dyes by *Cladosporium cladosporioides*,” Clean Technologies and Environmental Policy, vol. 26, pp. 3469–3480, Oct. 2024.
- Semra YILMAZER KESKİN, Mehmet Can TOPCU - *Cladosporium cladosporioides* Küfünün Biyotransformasyonu ve Biyosorpsiyon Özelliklerinin İncelenmesi - 2024-26-62-18 - Başlangıç Tarihi: 03/01/2024 - Bitiş Tarihi: Ağustos 2025