

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TERMOFİLİK VE MEZOFİLİK BAKTERİLERLE ÇEŞİTLİ BOYAR
MADDELERİN RENGİNİN GİDERİMİ**

BURAK GÜÇLÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

MALATYA
TEMMUZ 2019

Tezin Başlığı: Termofilik ve Mezofilik Bakterilerle Çeşitli Boyar Maddelerin Renginin Giderimi

Tezi Hazırlayan: Burak GÜÇLÜ

Sınav Tarihi: 16.07.2019

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jüri Üyeleri

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Emre BİRHANLI

: Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA

: Dr. Öğrt. Üyesi Miraç UÇKUN

İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Halil İbrahim ADIGÜZEL

Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “**Termofilik ve Mezofilik Bakterilerle Çeşitli Boyar Maddelerin Renginin Giderimi**” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Burak GÜÇLÜ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Termofilik ve Mezofilik Bakterilerle Çeşitli Boyar Maddelerin Renginin Giderimi

Burak GÜÇLÜ

İnönü Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

62 + xiii sayfa

2019

Danışman: Doç. Dr. Emre BİRHANLI

Bu çalışmada, çeşitli inkübasyon koşulları altında iki farklı tekstil boyası olan Foron Kahverengi ve Foron Siyahın termofilik *Anoxybacillus flavithermus* ve mezofilik *Bacillus megaterium* A1 ile renginin giderimi araştırılmıştır. Bu nedenle; yapılan 24 saatlik renk giderim çalışmalarında termofilik (40-55 °C inkübasyon sıcaklıkları, 50-250 ppm boya konsantrasyonları, 0-200 rpm çalkalama hızları ve pH 5.0-9.0) ve mezofilik (25-40 °C inkübasyon sıcaklıkları, 50-200 ppm boya konsantrasyonları, 0-200 rpm çalkalama hızları ve pH 5.0-9.0) bakteriyel izolatlar için çeşitli koşullarda renk giderimleri gerçekleştirilmiştir. Buna göre; *A. flavithermus* için optimum inkübasyon sıcaklık değeri 50 °C, boya konsantrasyonu 200 ppm, çalkalama hızı 50 rpm ve ortam pH' sı pH 5.0' dir. Diğer yandan, optimum inkübasyon sıcaklığı, boya konsantrasyonu, çalkalama hızı ve ortam pH' sı, *B. megaterium* A1 için sırasıyla 30 °C, 100 ppm, 150 rpm ve pH 7.0' dır. Optimum koşullar altında, Foron Kahverengi ve Foron Siyahın *B. megaterium* A1 tarafından renk giderimleri %79 ve %87 iken, Foron Kahverengi ve Foron Siyahın *A. flavithermus* tarafından renk giderimleri sırasıyla %72 ve %83 idi. Ayrıca; bu bakteriyel izolatların Foron Kahverengi ve Foron Siyah karışımlarına ve ayrıca sentetik atıksulara karşı renk giderim aktiviteleri belirlenen optimum koşullar altında ölçüldü ve 24 saat inkübasyondan sonra yüksek renk giderim değerleri elde edildi.

ANAHTAR KELİMELELER : *Bacillus megaterium* A1, *Anoxybacillus flavithermus*, Boya renk giderimi, Foron Kahverengi, Foron Siyah

ABSTRACT

Master Thesis

Decolorization of Various Dyes by Thermophilic and Mesophilic Bacteria

Burak GÜÇLÜ

Inonu University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

62 + xiii pages

2019

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Emre BİRHANLI

In this study, decolorization of two different textile dyes, Foron Brown and Foron Black by thermophilic *Anoxybacillus flavithermus* and mesophilic *Bacillus megaterium* A1 was investigated under various incubation conditions. Therefore; 24-hour color removal studies were performed under various conditions for the thermophilic (40-55 °C incubation temperatures, 50-250 ppm dye concentrations, 0-200 rpm shaking rates and pH 5.0-9.0) and the mesophilic (25-40 °C incubation temperatures, 50-200 ppm dye concentrations, 0-200 rpm shaking rates and pH 5.0-9.0) bacterial isolates. According to this; the optimum incubation temperature value for *A. flavithermus* is 50 °C, dye concentration is 200 ppm, shaking speed is 50 rpm and the medium pH is pH 5.0. On the other hand, the optimum incubation temperature, the dye concentration, the shaking speed and the medium pH are 30 °C, 100 ppm, 150 rpm and pH 7.0, respectively for *B. megaterium* A1. Under the optimum conditions, while the decolorizations of Foron Brown and Foron Black by *B. megaterium* A1 were 79% and 87%, the decolorizations of Foron Brown and Foron Black by *A. flavithermus* were 72% and 83%, respectively. Moreover; the decolorization activities of these bacterial isolates against the mixture of Foron Brown and Foron Black and also the synthetic wastewaters were measured under the optimum conditions detected and high decolorization values were obtained after 24 hours of incubation.

KEYWORDS: *Bacillus megaterium* A1, *Anoxybacillus flavithermus*, Decolorization of dye, Foron Brown, Foron Black

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın hem deneysel hem de teorik aşamasında değerli katkılarda bulunan, yardım, öneri ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Emre BİRHANLI'ya

Güler yüzlü ve paylaşımcı tavırlarıyla değerli vaktini ayırarak çalışmalarına fikir ve önerileriyle katkıda bulunan Prof. Dr. Özfer YEŞİLADA'ya

Çalışmalarım esnasında yardım ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda görev yapan tüm hocalarıma ve arkadaşlarıma

Bu tez çalışmasını, FYL-2018-1059 nolu proje ile maddi destek sağlayan İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Birimi'ne

Hayatım boyunca olduğu gibi tez çalışmalarım esnasında da manevi desteklerini hissettiğim aileme

Tez çalışmamın her aşamasında bana maddi ve manevi destek olan yüksek lisans arkadaşlarıma

çok teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Renk	3
1.2. Boyar Maddeler.....	3
1.3. Boyar Madde Üretiminin Tarihçesi	5
1.4. Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Boyar Maddelerin Özellikleri	6
1.5. Tekstil Atıksularının Özellikleri	7
1.6. Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Boyar Maddelerin Çevreye Etkisi.....	8
1.7. Renk Giderimi Çalışmalarında Biyolojik Yöntemlerin Önemi	9
1.8. Boyar Maddelerin Sınıflandırılması.....	9
1.8.1. Doğal kaynaklı boyalar	10
1.8.2. Sentetik boyar maddeler.....	10
1.9. Tekstil Atıksularının Arıtım Yöntemleri.....	11
1.9.1. Kimyasal Yöntemler	11
1.9.1.1. Oksidasyon.....	12
1.9.1.2. H_2O_2 - Fe^{+2} Tuzları (Fenton Ayıracı).....	12
1.9.1.3. Fotokimyasal Yöntem	12
1.9.1.4. Sodyum Hipoklorit ($NaClO$).....	12
1.9.1.5. Ozonlama	13
1.9.2. Fiziksel Yöntemler	13
1.9.2.1. Adsorpsiyon	13
1.9.2.2. İyon Değişimi.....	13
1.9.2.3. Membran Filtrasyonu	13
1.9.3. Biyolojik Yöntemler.....	14
1.9.3.1. Aerobik Boyar Madde Giderimi	14
1.9.3.2. Anaerobik Boyar Madde Giderimi.....	14

1.9.3.3.	Biyosorpsiyon	15
1.10.	Çalışmada Kullanılan Bakteriler	16
1.10.1.	<i>Bacillus megaterium</i>	16
1.10.2.	<i>Anoxybacillus flavithermus</i>	17
2.	KAYNAK ÖZETİ.....	19
3.	MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1.	Çalışmalarda Kullanılan Bakteriler	25
3.1.1.	<i>Bacillus megaterium</i>	25
3.1.2.	<i>Anoxybacillus flavithermus</i>	25
3.2.	Çalışmada Kullanılan Boyar Maddeler	26
3.3.	Bakteri Kültürlerinin Hazırlanışı.....	26
3.4.	Boyar Maddelerin Maksimum Işık Absorbladığı Dalga Boylarının Belirlenmesi	26
3.5.	Renk Giderim Çalışmaları	27
3.5.1.	<i>Bacillus megaterium</i> A1 ve <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile Renk Gideriminde Sıcaklık Optimizasyonu	27
3.5.2.	<i>Bacillus megaterium</i> A1 ve <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile Renk Gideriminde Optimum Boyar Madde Konsantrasyonunun Belirlenmesi ...	28
3.5.3.	<i>Bacillus megaterium</i> A1 ve <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile Renk Gideriminde Çalkalama Optimizasyonu	29
3.5.4.	<i>Bacillus megaterium</i> A1 ve <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile Renk Gideriminde pH Optimizasyonu	30
3.5.5.	<i>Bacillus megaterium</i> A1 ve <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah Boyalarının Karışımının Renginin Giderimi	30
3.5.6.	<i>Bacillus megaterium</i> A1 ve <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile Sentetik Atıksuyun Renginin Giderimi	31
3.6.	Lakkaz Enziminin Varlığının Araştırılması	31
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	33
4.1.	Farklı İnkübasyon Sıcaklıklarının <i>Bacillus megaterium</i> A1 ile Foron Kahverengi ve Foron Siyahın Renginin Giderimi Üzerine Etkisi.....	33

4.2.	Farklı İnkübasyon Sıcaklıklarının <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile Foron Kahverengi ve Foron Siyahın Renginin Giderimi Üzerine Etkisi.....	35
4.3.	Farklı Çalkalama Hızlarının <i>Bacillus megaterium</i> A1 ile Foron Kahverengi ve Foron Siyahın Renginin Giderimi Üzerine Etkisi.....	37
4.4.	Farklı Çalkalama Hızlarının <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile Foron Kahverengi ve Foron Siyahın Renginin Giderimi Üzerine Etkisi.....	39
4.5.	<i>Bacillus megaterium</i> A1 ile Foron Kahverengi ve Foron Siyahın Renginin Giderimi Üzerine Farklı Boyar Madde Konsantrasyonu Etkisi	40
4.6.	<i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile Foron Kahverengi ve Foron Siyahın Renginin Giderimi Üzerine Farklı Boyar Madde Konsantrasyonu Etkisi	42
4.7.	<i>Bacillus megaterium</i> A1 ile Foron Kahverengi ve Foron Siyahın Renginin Giderimi Üzerine Farklı Ortam pH'larının Etkisi	44
4.8.	<i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile Foron Kahverengi ve Foron Siyahın Renginin Giderimi Üzerine Farklı Ortam pH'larının Etkisi	46
4.9.	<i>Bacillus megaterium</i> A1 ve <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah Boyalarının Karışımının Renginin Giderimi	48
4.10.	Sentetik Atıksu Oluşturarak Atıksuların Renk Gideriminin Araştırılması	51
5.	SONUÇ VE ÖNERİ.....	54
6.	KAYNAKLAR	55
	ÖZGEÇMİŞ	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Renk üçgeni	3
Şekil 1.2.	Kromofor ve oksokrom gruplar.....	7
Şekil 1.3.	Kromojen ve oksokrom boyar maddeler.	7
Şekil 1.4.	Anaerobik koşullarda gerçekleşen azo boya reaksiyonunun hücre içerisindeki işleyişinin şeması.....	15
Şekil 1.5.	Biyosorpsiyon mekanizması (a) hücre metabolizmasına göre sınıflandırılmış (b) madde alımının gerçekleştiği bölgelere göre sınıflandırılması	16
Şekil 1.6.	<i>Bacillus megaterium</i> 'un mikroskopik görüntüsü.	17
Şekil 1.7.	<i>Anoxybacillus flavithermus</i> 'un mikroskopik görüntüsü	18
Şekil 4.1.	Farklı inkübasyon sıcaklıklarında 100 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının <i>Bacillus megaterium</i> A1 ile çalkalamalı koşullarda (150 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları	34
Şekil 4.2.	<i>Bacillus megaterium</i> A1 izolatu ile 100 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverenginin 25 °C (A), 30 °C (B), 35 °C (C) ve 40 °C (D)'de ve aynı konsantrasyondaki Foron Siyahın 25 °C (E), 30 °C (F), 35 °C (G) ve 40 °C (H)'de 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi.....	35
Şekil 4.3.	Farklı inkübasyon sıcaklıklarında 200 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile çalkalamalı koşullarda (50 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları	36
Şekil 4.4.	<i>Anoxybacillus flavithermus</i> izolatu ile 200 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverenginin 40 °C (A), 45 °C (B), 50 °C (C) ve 55 °C (D)'de ve aynı konsantrasyondaki Foron Siyahın 40 °C (E), 45 °C (F), 50 °C (G) ve 55 °C (H)' de 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi.....	37
Şekil 4.5.	Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının <i>Bacillus megaterium</i> A1 ile 30 °C'de farklı çalkalama hızlarında (0-200 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları	38
Şekil 4.6.	<i>Bacillus megaterium</i> A1 izolatu ile 100 ppm konsantrasyonda Foron Kahverenginin statik (A), 50 rpm (B), 100 rpm (C), 150 rpm (D) ve 200 rpm (E) ve aynı konsantrasyonda Foron Siyahın statik (F), 50 rpm (G), 100 rpm (H), 150 rpm (I) ve 200 rpm (J)'de 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi	38
Şekil 4.7.	Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının <i>Anoxybacillus flavithermus</i> 1 ile 50 °C'de farklı çalkalama hızlarında (0-200 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları.....	39
Şekil 4.8.	<i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile 200 ppm konsantrasyonda Foron Kahverenginin statik (A), 50 rpm (B), 100 rpm (C), 150 rpm (D) ve 200 rpm (E) ve aynı konsantrasyonda Foron Siyahın statik (F), 50 rpm (G), 100 rpm (H), 150 rpm (I) ve 200 rpm (J)'de 24 saat muamelesi sonucu	

gerçekleşen renk değişimi	40
Şekil 4.9. Çeşitli konsantrasyonlarda Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının <i>Bacillus megaterium</i> A1 ile 30 °C’de çalkalamalı koşullarda (150 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları	41
Şekil 4.10. <i>Bacillus megaterium</i> A1 ile 50 ppm (A), 100 ppm (B), 150 ppm (C), 200 ppm (D) konsantrasyondaki Foron Kahverengi ve 50 ppm (E), 100 ppm (F), 150 ppm (G), 200 ppm (H) konsantrasyondaki Foron Siyahın optimum sıcaklıkta (30 °C), çalkalamalı koşullarda (150 rpm) 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi	42
Şekil 4.11. Çeşitli konsantrasyonlarda Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile 50 °C’de çalkalamalı koşullarda (50 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları	43
Şekil 4.12. <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile 50 ppm (A), 100 ppm (B), 150 ppm (C), 200 ppm (D), 250 ppm (E) konsantrasyondaki Foron Kahverengi ve 50 ppm (F), 100 ppm (G), 150 ppm (H), 200 ppm (I), 250 ppm (J) konsantrasyondaki Foron Siyahın optimum sıcaklıkta (50 °C), çalkalamalı koşullarda (50 rpm) 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi	44
Şekil 4.13. Farklı pH’lardaki Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının <i>Bacillus megaterium</i> A1 ile 100 ppm konsantrasyonda, 30 °C’de çalkalamalı koşullarda (150 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları	45
Şekil 4.14. <i>Bacillus megaterium</i> A1 izolatu ile 100 ppm konsantrasyondaki pH 5.0 (A), pH 6.0 (B), pH 7.0 (C), pH 8.0 (D) ve pH 9.0 (E) olan Foron Kahverenginin ve aynı konsantrasyondaki pH 5.0 (F), pH 6.0 (G), pH 7.0 (H), pH 8.0 (I) ve pH 9.0 (J) olan Foron Siyahın 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi.	45
Şekil 4.15. <i>Bacillus megaterium</i> A1 izolatu ile 100 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverengi (A) ve Foron Siyahın (B) optimum koşullarda 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişiminin spektrofotometrik tarama ile gösterimi.....	46
Şekil 4.16. Farklı pH’larda, 200 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının <i>Anoxybacillus flavithermus</i> ile 50 °C ve 50 rpm’de 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları.	47
Şekil 4.17. <i>Anoxybacillus flavithermus</i> izolatu ile 200 ppm konsantrasyonda pH 5.0 (A), pH 6.0 (B), pH 7.0 (C), pH 8.0 (D) ve pH 9.0 (E) olan Foron Kahverenginin ve aynı konsantrasyonda pH 5.0 (F), pH 6.0 (G), pH 7.0 (H), pH 8.0 (I), ve pH 9.0 (J) olan Foron Siyahın 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi	47
Şekil 4.18. <i>Anoxybacillus flavithermus</i> izolatu ile 200 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverengi (A) ve Foron Siyahın (B) optimum koşullarda 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişiminin spektrofotometrik tarama ile gösterimi.....	48

- Şekil 4.19.** Farklı konsantrasyonlardaki Foron Kahverengi (50 ppm) ve Foron Siyah (50 ppm) boyalarının *Bacillus megaterium* A1 ile toplam 100 ppm konsantrasyonda ve Foron Kahverengi (100 ppm) ve Foron Siyah (100 ppm) boyalarının *Anoxybacillus flavithermus* ile toplamda 200 ppm konsantrasyonda optimum koşullarda 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları. 49
- Şekil 4.20.** *Bacillus megaterium* A1 ile 50 ppm Foron Kahverengi ve 50 ppm Foron Siyah (A) boyalarının karışımının optimum koşullarda (30 °C, 150 rpm ve pH 7.0), *Anoxybacillus flavithermus* ile 100 ppm Foron Kahverengi ve 100 ppm Foron Siyah (B) boyalarının karışımının optimum koşullarda (50 °C, 50 rpm ve pH 5.0) 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi. 50
- Şekil 4.21.** 50 ppm Foron Kahverengi ve 50 ppm Foron Siyah boyalarının karışımının *Bacillus megaterium* A1 (A) ve 100 ppm Foron Kahverengi ve 100 ppm Foron Siyah boyalarının karışımının *Anoxybacillus flavithermus* izolatu (B) ile optimum koşullarda 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk gideriminin spektrofotometrik tarama ile gösterimi..... 50
- Şekil 4.22.** *Bacillus megaterium* A1 ile 24 saatlik inkübasyon sonucunda farklı konsantrasyonlarda ve ayrı ayrı Foron Kahverengi (100 ppm), Foron Siyah (100 ppm) ve Foron Kahverengi (50 ppm) ile Foron Siyahın (50 ppm) karıştırılmasıyla oluşturulan sentetik atıksuların optimum koşullarda renginin giderimi. *Anoxybacillus flavithermus* ile 24 saatlik inkübasyon sonucunda farklı konsantrasyonlarda ve ayrı ayrı Foron Kahverengi (200 ppm), Foron Siyah (200 ppm) ve Foron Kahverengi (100 ppm) ile Foron Siyahın (100 ppm) karıştırılmasıyla oluşturulan sentetik atıksuların optimum koşullarda renginin giderimi..... 51
- Şekil 4.23.** Foron Kahverengi (200 ppm) ile hazırlanan sentetik atıksuyun *Anoxybacillus flavithermus* ile (A), Foron Kahverengi (100 ppm) ile hazırlanan sentetik atıksuyun *Bacillus megaterium* A1 ile (B), Foron Kahverengi (100 ppm) ve Foron Siyah (100 ppm) karıştırılarak hazırlanan sentetik atıksuyun *Anoxybacillus flavithermus* ile (C), Foron Siyah (200 ppm) ile hazırlanan sentetik atıksuyun *Anoxybacillus flavithermus* ile (D), Foron Siyah (100 ppm) ile hazırlanan sentetik atıksuyun *Bacillus megaterium* A1 ile (E) ve Foron Kahverengi (50 ppm) ve Foron Siyah (50 ppm) karıştırılarak hazırlanan sentetik atıksuyun *Bacillus megaterium* A1 ile renginin giderimi (F) 52
- Şekil 4.24.** *Bacillus megaterium* A1 ile Foron Kahverengi (50 ppm) ve Foron Siyah (50 ppm) boyalarının karıştırılmasıyla hazırlanan sentetik atıksuyun optimum koşullarda 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişiminin spektrofotometrik tarama ile gösterimi (A). *Anoxybacillus flavithermus* izolatu ile Foron Kahverengi (100 ppm) ve Foron Siyah boyalarının (100 ppm) karıştırılmasıyla hazırlanan sentetik atıksuyun optimum koşullarda 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişiminin spektrofotometrik tarama ile gösterimi (B) 53

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bağ Kuvvetlerinin Bağlı Karşılaştırılması	5
Çizelge 1.2. Sentetik Boyalar ve Kullanım Alanları.....	11
Çizelge 3.1. <i>Bacillus megaterium</i> 'un sistematik sınıflandırması.....	25
Çizelge 3.2. <i>Anoxybacillus flavithermus</i> 'un sistematik sınıflandırması	26



SİMGELER VE KISALTMALAR

KOİ	Kimyasal oksijen ihtiyacı
BOİ	Biyolojik oksijen ihtiyacı
ABTS	2,2'-Azino-bis (3-etilbenztiazolin-6-sülfonik asit)
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
mM	Milimolar
rpm	Dakikada dönme hızı
U/L	Ünite/Litre
Fe ₂ O ₃	Ferrik oksit
Cr ₂ O ₃	Krom oksit
Pb ₃ O ₄	Kurşun oksit
HgS	Civa sülfür
Na ₂ S ₂ O ₄	Sodyum ditiyonit
CO ₂	Karbondioksit
H ₂ O	Su
ETS	Elektron Taşıma Sistemi
DNA	Deoksiribo nükleik asit
FeCl ₃	Ferrik klorür
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
NA	Nütrient agar
NB	Nütrient broth
nm	Nanometre
NaOH	Sodyum hidroksit
HCl	Hidroklorik asit
C ₂ H ₃ NaO ₂	Sodyum asetat tamponu

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızlı bir şekilde artması ve buna bağlı olarak toplumsal ihtiyaçların her geçen gün daha da çoğalması ve çeşitlenmesi endüstriyel faaliyetlerin de artışına sebep olmaktadır. Artan talep doğrultusunda gelişen endüstriyel çalışma alanlarının su kullanımı ve doğal su kaynaklarının kirlenme olasılığı gittikçe yükselmektedir. Endüstriyel alanlardaki su kullanımının ve oluşan atıksuların çevreye boşaltılmasındaki ciddi artış günümüzde atıksuların arıtılması konusunda daha sıkı çevre mevzuatları uygulanmasını zorunlu kılmış ve hatta atıksuların tekrar kullanımı ve geri kazanımı çalışmalarının hız kazanmasına sebep olmuştur.

Suların kirlenmesi ve aşırı miktarda su tüketimi çevre sorunlarının artmasındaki temel nedenlerden biridir. Buna göre doğal su kaynaklarının varlığı canlılığın devamı ve canlıların yaşamsal faaliyetleri için yıllar geçtikçe daha fazla önem kazanmaktadır. Atıksularda herhangi bir arıtım uygulanmadan sucul ortama direkt olarak deşarj edilen koyu renkli atıksular yüzeyde renkli bir tabaka oluşturur. Bu durum güneş ışınlarının suya nüfuz etmesini engelleyerek sucul ortamda gerçekleşecek fotosentezi engellemektedir. Buna bağlı olarak hem suda çözünmüş oksijenin hızlı bir şekilde azalması hem de suda biriken kimyasal madde konsantrasyonunun artması sucul yaşamı olumsuz etkilemektedir (Aksu, 2005).

Renkli atıksular genel olarak endüstriyel faaliyetlerden kaynaklanmakta olup, deri, tekstil, gıda, kağıt üretimi gibi endüstriyel alanlar genelde renkli atıksuların oluşturulduğu ve çevreye boşaltıldığı sanayi dallarıdır. Bunlar arasında da tekstil endüstrileri yüksek miktarlarda su kullanan sanayi dallarının başında gelmektedir. Yüksek miktarlarda su kullanımına bağlı olarak oldukça fazla miktarda atıksu üretim kapasitesine sahip tekstil fabrikası atıksularının arıtımı da günümüzde son derece önemli bir durumdur. Atıksuların kirlilik yükünün göstergesi olarak kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) ve tekstil atıksularının renk içeriğinin saptanması ilk olarak akla gelen parametrelerdir. Çevreye verilen zararı minimize etmede yapılacak en mantıklı yaklaşımlardan biri öncelikli olarak atıksuyun renginin giderilmesidir (Borchert vd., 2001).

Tekstil endüstrilerinden alıcı ortama direkt olarak deşarj edilen atıksuların yüksek konsantrasyonlarda boya, BOİ, KOİ ve askıda katı madde içerdiği bilinmektedir. Yüksek KOİ ve renk içeren bu atıksuların deşarj edildiği sucul ortamların estetik açıdan bozulmasına neden olmanın yanı sıra çözünmüş oksijen

miktarını da azaltarak sucul yaşam için son derece olumsuz koşulların oluşumuna sebep olur. Boyama işlemi açısından bakıldığında oluşan atıksu özellikleri işlemin kimyasına, boyama işlemlerinin kesikli ve sürekli oluşuna göre farklılık göstermektedir (Namal, 2017).

Renkli organik bileşikler yapılarında bulunan kromoforlar sayesinde elektromanyetik spektrumun görünür bölgesindeki ışınları absorblayabilirler. Absorblanan ışığın dalga boyu, renkli organik bileşiğin yapısındaki kromofor ve oksokrom gruplarının bileşenlerine göre değişmektedir. Bir materyale kendiliğinden veya uygun reaksiyon maddeleri aracılığıyla renk veren maddelere boya adı verilir (McMullan vd., 2001).

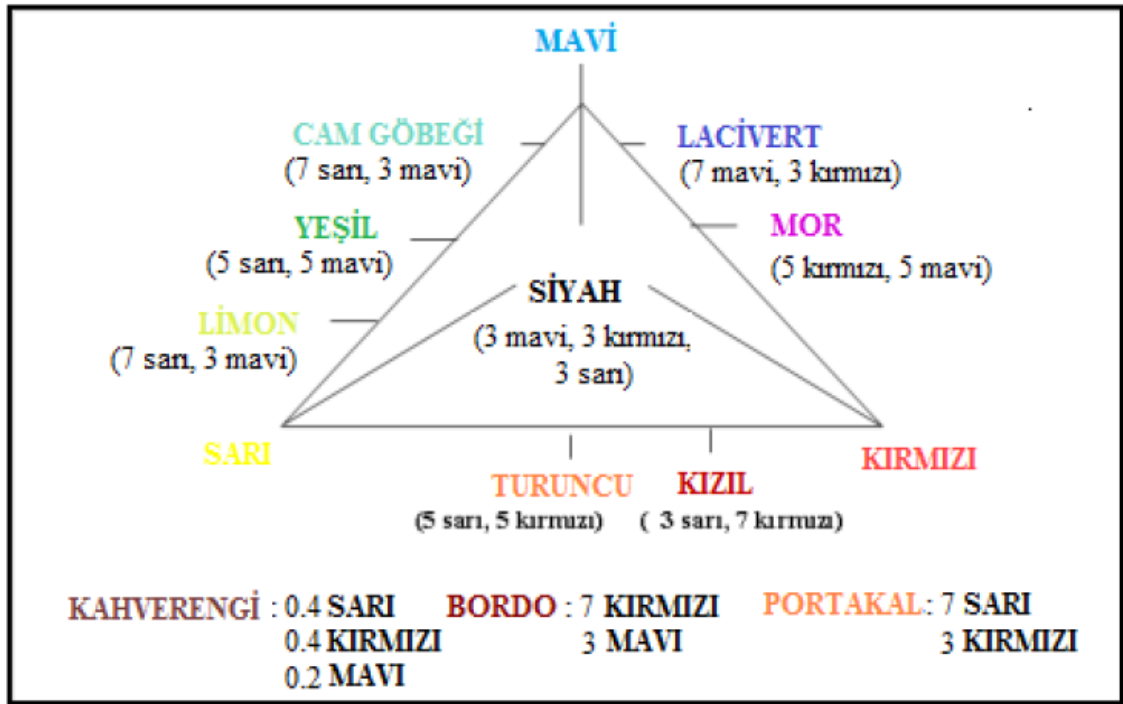
Tekstil ve diğer endüstriyel uygulamalarda ticari olarak temin edilebilen 10.000'den fazla sentetik boya kullanılmaktadır. Sentetik boyalar azo, antrakinon, heterosiklik polimerler ve trifenilmetan gibi çeşitli sınıflara ayrılabilir. Bu boyaların çoğu sıcaklığa, ışığa ve biyolojik bozulmalara karşı kararlı olup, çevreye salındıklarında kirletici bileşikler olarak birikmektedir (Vitor vd, 2008).

Boya Sanayicileri Derneği, BOSAD'ın araştırmalarına göre küresel boya pazarının büyüklüğü günümüzde 130 milyar dolar seviyelerine çıkmış olup dünya boya üretim kapasitesi 51 milyon ton civarındadır. Dünya çapında yılda üretilen 10.000 farklı boya ve pigmentin miktarı yaklaşık olarak 7×10^5 tondur (Chen vd., 2003). Üretilen boyaların üçte ikisi ise tekstil sektöründe kullanılmaktadır (Gnanadoss vd., 2015). Dünya boya pazarında Türkiye yaklaşık olarak %2'lik bir paya sahip olup, Avrupa'nın en büyük 5. boya üreticisi konumundadır. Türkiye 2014 yılında 903 bin ton boya ve ham madde üretmiştir (Boran, 2013).

Atıksu arıtımında fiziksel ve kimyasal yöntemler oldukça etkilidir, ancak hem işletme maliyetlerinin yüksek olması hem de zararlı yan ürünlerinin olması sebebiyle uygulanabilirliği sınırlıdır. Aynı zamanda atıksu arıtımında kullanılan abiyotik araçlar oldukça pahalı katalizörler ve reaktifler gerektirir (Manu vd., 2002). Yapılan araştırmalarda kirlilik kaynağına ekolojik olarak bakmanın daha faydalı olduğu düşünülmektedir. Ekolojik süreçlerde maliyeti oldukça düşük fizikokimyasal süreçlerle birlikte bakteri ve mantarların kullanımı, çevre kirliliğiyle mücadele etmede yeni biyoteknolojik yaklaşımlar geliştirilmesine katkı sağlamıştır (Şen vd., 2003).

1.1. Renk

Renk sadece ışık varlığında fark edilebilen ışığa bağlı bir kavramdır. Rengi ayırt edebilmek için; görünen ışık spektrumunda, cismin üzerine düşen ışığın bir kısmını absorbe etmesi, bir kısmını da yansıtması gerekmektedir. Bu şekilde cisimler renkli görünümünü elde edebilirler. Her cisim fiziksel ve kimyasal farklılıklarına bağlı olarak üzerine düşen belirli dalga boylarındaki ışığın bir kısmını absorbe eder ve geri kalan kısmını da geri yansıtır. Belirli dalga boylarında üzerine gelen ışığın yansıtılan kısmı cisimlerin hangi renkte görülebileceğini belirler. Şekil 1.1’de gösterildiği gibi ana renklerin belirli oranlardaki karışımından diğer ara renkler elde edilir (Seventekin, 1998).



Şekil 1.1. Renk üçgeni (Judd vd., 1975).

1.2. Boyar Maddeler

Boyar maddeler, genel olarak yapılarında kromofor ve oksokrom (fonksiyonel grup) olmak üzere iki temel bileşeni bulunan, uygulandığı yüzeyde tutunma eğilimi gösteren renkli maddeler olarak tanımlanabilir. Farklı kimyasal yapılara sahip olmalarından dolayı farklı tip ve karakterde çok sayıda boyar madde çeşidi bulunur.

Boyaya rengini veren doymamış yapıda bulunan kromofor bileşenidir. Sentetik boyalarda en fazla kullanılan kromofor grubu, azo grubudur. Azo grubundan başka kullanılan kromofor grupları ise; etilen, karboamino, indigo, tiyokarbonil, nitro ve nitrozo da boyar madde üretiminde kullanılmaktadır. Kromofor gruplarını içeren aromatik yapılar (kromojenler) normal koşullarda saman rengi görünümündedir. Oksokrom grupları bu aromatik yapılara bağlanarak elektronların aktif hale gelmesini sağlar ve böylelikle daha uzun dalga boyundaki ışınları soğurabilir. Bu sayede sarı, mavi, kırmızı renk görülür. Fonksiyonel grup aynı zamanda boyanın yüzeye tutunmasını ve suda çözünmesini sağlar. Boyanacak yüzey farkına göre fonksiyonel grubu farklı olan boyalar kullanılır. Kullanılan fonksiyonel gruplardan bazılarına örnek olarak; amin, amino, süstitüe amin, metoksi, sülfonik asit verilebilir (Shrveve vd., 1983).

Boyar maddeler 400 ile 700 nm arasındaki görünür ışığı absorbe edebilme yetenekleriyle karakterize edilirler ve ışığı absorbe ederek renkli görünürler. Tekstil endüstrisinde kullanılan boyar maddeler genel olarak organik yapıdadırlar. Bununla birlikte doğal boyalar olarak bilinen Fe_2O_3 , Cr_2O_3 , Pb_3O_4 , HgS ve grafit gibi boyalar anorganik kökenlidir (Başer vd., 1990; Langhals, 2004). Endüstriyel alanlarda daha çok sentetik boyalar kullanılmakta olup, bu boyalar tekstil sanayisinde yün, pamuk, ipek, deri vb. maddelerin boyanmasında kullanılır. Tekstil endüstrisi dışında sentetik boyalar; plastik materyaller, sentetik lifler, lastik sanayi, ağaç-selüloz sanayi gibi alanlarda da kullanılmaktadır (Seventekin, 1988).

Boyar madde tekstil endüstrisinde kullanılan liflere mekanik tutunma, kimyasal reaksiyon veya fiziksel adsorpsiyon ile bağlanır. Tekstil lifleri ile boyar maddeler arasında hidrojen bağı, iyonik bağı, Van der Waals bağı ve kovalent bağı oluşur. Aşağıdaki çizelgede tekstil lifleri ile boyar maddeler arasında oluşan bağı kuvvetlerinin bağıl dereceleri gösterilmiştir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Bağ kuvvetlerinin bağıl karşılaştırılması (Rodriquez vd., 1995)

Bağ Tipi	Bağıl Kuvvet
Van der waals bağı	1
Hidrojen bağı	3
İyonik bağı	7
Kovalent bağ	30

1.3. Boyar Madde Üretiminin Tarihçesi

Cisimleri renkli hale getirebilmek için kullanılan maddelere “boyar madde” adı verilir. Sentetik boyaların keşfedilmesiyle birlikte maddelerin kimyasal yapısı ve renkliliği arasındaki ilişki de araştırılmaya başlanmıştır. İlk defa Graebe ve Lieberman 1868’de, organik bileşiklerin kimyasal yapıları üzerinde çalışırken bir sonuç elde etmişlerdir. Graebe ve Lieberman organik bileşiklerin renkli olmalarını doymamış karakterde olan yapılarına bağlamışlardır. Yine bu araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda, renkli organik bileşiklere hidrojen katıldığında rengin kaybolduğunu, aynı bileşikten hidrojenin çıkarılması ile de rengin tekrar ortaya çıktığını gözlemlenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda ortaya konulan “rengin moleküldeki doymamışlıktan ileri geldiği” tezi bugün hala geçerliliğini korumaktadır (Duarte vd., 1990).

1896 yılında Witt tarafından yapılan bir çalışmada ise “kromofor gruplar” teorisi ileri sürülmüştür. Bu teoriye göre; bütün hidrokarbonların temel yapılarının renksiz oldukları ve bunlara kromofor gruplar bağlanarak renkli göründükleri belirtilmiştir. Hidrokarbonlara renkli özellik kazandıran kromofor gruplarının bağlanmasıyla oluşan organik bileşikler “kromojen” olarak adlandırılmaktadır. Fakat kromojenler boyar madde özelliği gösteremediklerinden “oksokrom” adı verilen ikinci seri grup moleküllerin kromojene bağlanması ile kromojenlerin boyar madde özelliği kazandıkları belirtilmiştir. Oksokrom gruplar sadece renk oluşumunda kromoforu tamamlamakla kalmayıp aynı zamanda molekülün suda çözünmesini ve life karşı belirli bir ilgiye sahip olmasını da sağlamaktadır. Bununla birlikte bu oksokrom gruplar kromojene bağlanarak oluşan molekülün renk şiddetini ve renk derinliğini de arttırmaktadır (Başer vd., 1990; Kurbanova vd., 1998). Witt’in bu teorisi, kromofor gruplar ile oksokrom gruplar arasındaki ilişkiyi tam olarak

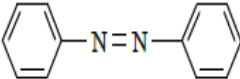
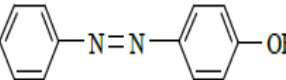
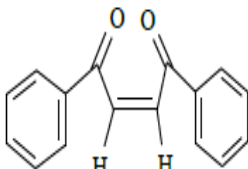
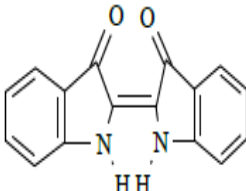
açıklayamamaktadır. Witt'den sonra bu alanda birçok çalışma yapılmıştır. Bugün hala geçerliliğini koruyan “ara-hal teorisi” Arnt tarafından 1931 yılında öne sürülmüştür. Bu teoriye göre; boyar maddeler elektron alan ve veren gruplar içermeleri nedeni ile mezomer sistemlerdir. Kromofor gruplar, genel olarak elektron alan (elektrofil), oksokrom gruplar ise yapılarındaki ortaklaşmamış elektron çifti içeren gruplar olduklarından elektron veren gruplardır.

1.4. Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Boyar Maddelerin Özellikleri

Boyalar farklı kimyasal yapılar içermektedirler (Talarposhti vd., 2001). Kromofor gruplar yapısına göre bir ya da birden fazla bağ içerebilirler. Değişken yapıda bulunan bu bağlar ışığın absorplanmasını sağlayarak boyanın parlak görünümünde etkili bir rol oynarlar. Boyaların çoğunda bulunan kromofor grupları azo grupları olarak öne çıkmaktadır. Azo gruplardan farklı olarak bir diğer önemli grup ise indigo ve sülfür içeren kromoforlardır. Boyar maddenin yapısında bulunan fonksiyonel grup boyaların rengini vereceği materyale bağlanmasını sağlayan yapılardır. Tekstil sanayisinde, farklı tiplerdeki maddelerin boyanmasını sağlamak için farklı tiplerde fonksiyonel gruplar kullanılmaktadır (Sarioğlu vd., 1998). Dünya genelinde yılda bir milyon ton kadar boya üretimi yapılmaktadır (Dos Santos vd., 2004). Boyar maddelerin yapısında bulunan çeşitli kromofor ve oksokrom gruplar Şekil 1.2’ de gösterilmiş olup, boyar maddenin yapısını oluşturan atomlara ait elektronlar sabit olmayıp sınır formüller arasında ara kademeler üzerinde yer değiştirirler. Böyle bir mekanizma ise polarize olabilen gruplar (çift bağ yapısında) sayesinde mümkündür. Bu nedenle organik bir bileşiğin renkli olması ve boyar madde olarak kullanılması için kromofor ve oksokrom grupların yanında polarize olabilen grupların da olması gerekmektedir (Şekil 1.3) (Başer vd., 1990; Kurbanova vd., 1998.).

Kromofor Gruplar		Oksokrom Gruplar	
>N=N<	Azo	-HN_2	Amino
>C=O	Karbonil	-NHR -NR_2 }	Substitue amino
$\text{-N} \begin{array}{l} \text{O}^- \\ \text{O}^- \end{array}$	Nitro	-OH	Hidroksil
>C=C<	Etilen	-SH	Tiyoalkol
>C=NH	Karbamino	-OCH_3	Metoksi
>C=S	Tiyokarbonil	$\text{-SO}_3\text{H}$	Sulfonik asid
-N=O	Nitrozo	$\text{-O-C}_6\text{H}_5$	Fenolik

Şekil 1.2. Kromofor ve oksokrom gruplar (Başer vd., 1990)

Kromojen	Oksokrom	Boyarmadde
 Azobenzen	-OH	 <i>p</i>-hidroksi-azobenzen
 Dibenzoil-etilen	H -N-	 Indigo

Şekil 1.3. Bazı kromojen ve oksokrom gruplarının birleşimi ile boyar maddelerin oluşumu (Kurbanova, vd., 1998.)

1.5. Tekstil Atıksularının Özellikleri

Tekstil sanayilerinin boyama işlemleri sonrasında meydana gelen atıksuların ana kaynağı, doğal liflerin yıkanması, ağartılması ve boyanması işlem basamaklarıdır. Bu basamaklarla birlikte, içerdikleri nişasta yüzünden haşılama ve haşıl sökme işlemleri atıksularda yüksek miktarlarda KOİ oluşmasına sebep olmaktadır. Boyama işlemlerinde kullanılan liflerin, işlem sırasında kullanılan kimyasalların, boyar

maddelerin ve son ürünlerin farklı olması sebebiyle ortaya çıkan atıksular farklı içerik ve kimyasal kompleksliğe sahiptir. Bundan dolayı böyle kompleks ve farklı içerikteki atıksular sıradan arıtım tesisleriyle yeteri kadar arıtılmadan kalmaktadır (Donlon vd., 1997; Pagga vd., 1986; Rajaguru vd., 2000).

Tekstil sanayisinde kullanılan boyar maddelerin sahip olması gereken dört özellik şöyledir;

- ✓ Suda çözünebilir olması,
- ✓ Boyar madde ile yüzey arasında affinite yani ilgi (substantivite) olması,
- ✓ Boyama sonrasında yüzey üzerinde renk oluşması,
- ✓ Yüzey üzerine tutunan boyar maddenin dış etkenlere karşı dirençli olması gerekmektedir. (Boustanabad, 2014)

1.6. Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Boyar Maddelerin Çevreye Etkisi

Tekstil endüstrisinde kullanılan boyalar estetik problemlere neden olduğu gibi bu boyalar ışığa, sıcaklığa, oksidasyona ve biyolojik girişimlere de dayanma gücü gösterirler. Atıksu arıtma tesisleri genellikle ticari boyarmaddeleri tamamen gideremez ve bu nedenle sulu habitatların kirlenmesine sebep olur (Sam vd., 2001). Biyolojik yıkıma karşı dirençli olmaları ve canlılar üzerinde mutajenik, toksik ve karsinojenik etki oluşturmaları nedeniyle boyar maddeler çevre açısından ciddi problemler oluşturmaktadır (Işık vd., 2005; Manu vd., 2002; Şen vd., 2003; Talarposhti vd., 2001; Kapdan vd., 2003; Seesuriyachan vd., 2007). Klasik boya teknelerinin içerisindeki sıvıda yaklaşık olarak 1000 mg/L konsantrasyonda boya bulunur. Hidrolizi kolay olan reaktif boyaların dezavantajı kumaşa tutunamayan miktarının çok fazla olmasıdır. Boya miktarının %40'ı başlangıç aşamasında kumaşa fikse olmadan atıksuyun içerisinde kalmaktadır (Manu vd., 2002; Şen vd., 2003).

Türkiye'de mevcut arıtma prosesleri istenilen KOİ ve renk giderimindeki dengeyi sağlayamadığından tekstil sanayileri tarafından alıcı ortamlara deşarj edilen atıksuların KOİ ve renk değerleri normal koşulların oldukça üzerindedir. Ayrıca su kirliliği kontrol yönetmeliğinde herhangi bir renk standardı bulunmadığından alıcı ortamlara direkt deşarj edilen tesis çıkış suları ortam kalite ve görüntüsünü hem estetik açıdan bozmakta hem de ortamdaki çözünmüş oksijenin yeterliliğini engellemektedir (Sponza vd., 2000).

1.7. Renk Giderimi Çalışmalarında Biyolojik Yöntemlerin Önemi

Modern tekstil boyaları renklerini ve yapılarını bozacak etkenlere karşı yüksek derecede fotolitik ve kimyasal kararlılığa sahiptir. Bu nedenle boyalar genelde sabun, deterjan, su ve güneş ile yıkıma karşı direnç gösterecek yapılara sahiptir. Atıksu arıtım yöntemi belirlenirken atıksu arıtım yöntemini etkilediğinden dolayı kullanılan yardımcı kimyasalların ve boyar maddelerin yapısal özelliklerinin ve de oluşan atıksu miktarının bilinmesi son derece önemlidir.

Bazı boyalar içerdikleri azo bağları sayesinde parçalanmaya karşı dayanıklı olduğundan çevrede yüksek miktarda birikime sebep olur. Bunların asidik ve alkali koşullarda kararlı yapıda bulunmaları, aerobik yıkıma, ısı ve ışığa karşı dirençli olmaları klasik arıtma metotlarıyla arıtılmalarını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle bazı durumlarda bazı reaktif boyaların %90 gibi yüksek bir oranda arıtılmadan sistemden çıktığı bilinmektedir (Lucas vd., 2006a). Bu nedenle bu tür boyaların yıkımında flokleştirme, çöktürme gibi kimyasal ve fiziksel yöntemlerle birleştirilen biyolojik arıtma yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak bazı durumlarda ters osmoz, ozonlama ve elektrokimyasal işlemler gibi fiziksel ve kimyasal yöntemlerin pahalı olması ve de bu işlemlerin ikincil bir kirlilik oluşturabilmesi dezavantajlar oluşturmaktadır. Buna karşılık bazı bakterilerin oksijenli veya oksijensiz koşullarda bu boyaları etkili bir şekilde yıkabilmeleri, fiziksel ve kimyasal metotlara alternatif olarak biyolojik metotların geliştirilmesini zorunlu kılmıştır (Chang vd., 2001).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda anaerobik ve aerobik koşullarda renk giderimi yapabilen birçok mikroorganizma izole edilmiştir (Aksu vd., 2005; Çetin vd., 2006; Ertuğrul vd., 2008; Ertuğrul vd., 2009; Martins vd., 1999; Sadettin vd., 2006; Won vd., 2009). Bu mikroorganizmalarla yapılan renk giderim çalışmalarında, boyaların biyobirikim, biyodegradasyon, biyosorpsiyon ve katabolik aktivite gibi farklı mekanizmalarla giderildiği saptanmıştır.

1.8. Boyar Maddelerin Sınıflandırılması

Boyar maddeler, kimyasal yapıları, çözünürlükleri ve boyama özelliklerine göre sınıflandırılabilirler. Birbirinden bağımsız olarak yapılan bu sınıflandırmalar arasında çok az ilişki bulunur. Örneğin; boyama özelliklerine göre farklı gruplarda olan birçok boya türü kimyasal yapısında azo grubu bulundurmaktadır. Boyar madde

sınıflandırmasında boyanın kimyasal yapısı ve çözünürlük özelliklerinden ziyade boyama özellikleri daha önemlidir.

1925 yılında İngiltere’de bulunan Society of Dyers and Colourists (SDC) ve Amerika’da bulunan American Association of Textile Chemists and Colorists (AATCC) tarafından renkler sınıflandırılmış böylelikle renk indeksi (Color Index) oluşturulmuştur. Bu indeks yapılan güncellemelerle geliştirilmekte ve uluslararası referans olarak kabul görmektedir (Tutak, 2006).

1.8.1. Doğal Kaynaklı Boyalar

Doğal boyalar; boya böcekleri, bazı bitkiler, mureks veya peliga olarak bilinen deniz kabuklularından elde edilmektedir. Eski zamanlarda bitkilerin kökleri, gövdesi, yaprakları, çiçekleri ve meyveleri boyar madde ve pigment olarak kullanılmıştır (Rogers vd., 2001). 19. Yüzyılın ortalarına gelindiğinde sentetik boyar maddeler keşfedilmiş ve doğal kaynaklı boya kullanımı azalmıştır (Dorothy vd., 2008). Yirminci yüzyılın sonlarına doğru sentetik boyaların çoğunluğunun kanserojen, toksik ve çevre kirliliğine neden olduğunun tespit edilmesiyle doğal boyaların kullanımı tekrardan önem kazanmıştır. Doğal bitki örtüsü ve boyama bitkileri bakımından dünyanın en zengin topraklarına sahip ülkesi Türkiye’dir (Langhals, 2004).

1.8.2. Sentetik Boyar Maddeler

Sentetik organik boyalar "katran boyalar" olarak adlandırılmaktadır. Sentetik boyaların çoğu doğal boyalara göre ışığa ve yıkandıklarında renklerin bozulmasına karşı daha dayanıklıdır (Hunger, 2003). Sentetik boyalar her geçen gün daha fazla geliştirilmekte olup, eskiden kullanılan boyalar yerlerini daha iyi özellikte olan boyalara bırakmaktadır (Çizelge 1.2). Bu yüzden her yıl yeni sentetik boyalar piyasaya sürülmektedir. Boyar madde üretiminde ana kaynak olan petrol ve kömürden elde edilen benzen, ksilen, tolue, naftalin ve fenol gibi aromatik hidrokarbonlar kullanılmaktadır (Langhals, 2004).

Çizelge 1.2. Sentetik boyalar ve kullanım alanları (Langhals, 2004)

Grup	Uygulama
Direkt Boyalar	Pamuk, Selülozik ve Karışımlar
Vat Boyalar	Pamuk, Selülozik ve Karışımlar
Sülfür Boyalar	Pamuk, Selülozik lifler
Organik Pigment Boyalar	Pamuk, Selülozik, Lif karışımları, kâğıt
Reaktif Boyalar	Selülozik Elyaf ve Kumaş
Dispers Boyalar	Sentetik Lifler
Asit Boyalar	Yün, İpek, Sentetik Lifler, Deri
Azoik Boyalar	Sentetik Elyaf, Deri ve Pigmentler
Bazik Boyalar	İpek, Yün, Pamuk
Oksidasyon Boyalar	Saç Boyaması
Geliştirilen Boyalar	Selülozik Elyaf ve Kumaş
Mordan Boyalar	Selülozik Elyaf ve Kumaş, İpek, Yün
Floresan/Optik Beyazlatıcı Boyalar	Sentetik Elyaf, Deri, Pamuk, Spor Malzemeleri
Solvent Boyalar	Ahşap Boyama, Solvent Mürekkep, Mumlar, Boyama Yağlar

1.9. Tekstil Atıksularının Arıtım Yöntemleri

Atıksuların arıtım yöntemleri her geçen gün gelişerek çeşitlenmekte ve farklı yöntemlerle bu probleme çözüm aranmaktadır. Geçmişte ve günümüzde kullanılan atıksu arıtım yöntemleri aşağıdaki gibi sıralanabilir.

1.9.1. Kimyasal Yöntemler

Uzun yıllardan beri tekstil atıksularının kimyasal yöntemlerle arıtımı en çok ilgi gören yöntemlerden biri olmuştur. Bu yöntemlerin kullanılmasının nedeni atıksu kalitesinde ortaya çıkan değişikliklerin kolayca tolere edilebilir olmasıdır (H. Lin vd., 1997).

Kimyasal yöntemler olarak; elektrokimyasal degradasyon, kimyasal oksidasyon ile ozonlama gibi çeşitli kimyasal metotlar boyar madde renk gideriminde

kullanılmaktadır. Boyar madde renk giderimi için çeşitli oksitleyici maddeler kimyasal yöntemlerle birlikte yaygın bir şekilde kullanılmıştır (Osugi vd., 2009).

1.9.1.1. Oksidasyon

Kimyasal yöntemler içerisinde en fazla kullanılan renk giderme metodudur. Kimyasal oksidasyonla boyar maddedeki aromatik halkalar kırılır ve bu sayede atıksulardaki boyar madde giderilmiş olur (Robinson vd., 2001).

1.9.1.2. H_2O_2 - Fe^{+2} Tuzları (Fenton Ayırıcı)

Fenton ayırıcı yöntemi iki adımdan oluşur. Bu adımlar ön oksidasyon ve koagülasyondur. Fenton ayırıcıyla yapılan bir çalışmada ön oksidasyon sürecinde renk giderim hızının KOİ giderim hızına oranla daha fazla olduğu ve aynı zamanda renk ve KOİ gideriminin büyük bölümünün ön oksidasyon aşamasında gerçekleştiği belirlenmiştir (Kang vd., 1997). Bu yöntem; renk, KOİ ve toksisite giderimi gibi avantajlara sahip olmakla birlikte dezavantajları da mevcuttur. Yöntem floklaşma işlemiyle birlikte uygulandığından atıksudaki kirleticiler çamura taşınırlar ve çamur probleminin ortaya çıkmasına sebep olur (Kang vd., 1997).

1.9.1.3. Fotokimyasal Yöntem

Bu işlemle boya molekülleri H_2O_2 (hidrojen peroksit) varlığında ultraviyole radyasyonu ile CO_2 (karbondioksit) ve H_2O (su)'ya dönüşür. Yüksek konsantrasyondaki $OH^\cdot$ (hidroksil) radikallerinin oluşmasıyla bu parçalanma meydana gelir. Boyar madde giderim hızı, pH'a, UV radyasyonunun şiddetine, boya çözeltisinin kompozisyonuna ve boyar maddenin yapısına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Robinson vd., 2001).

1.9.1.4. Sodyum Hipoklorit ($NaClO$)

Bu metotla, Cl^- (klor) boya molekülündeki amino grubuna etki ederek azo bağların kırılmasını sağlar. Klor yoğunluğunun artması renk giderimini de artırır (Slokar vd., 1998).

1.9.1.5. Ozonlama

Boyalı atıksularda uygulanan ozon (O_3)'un dozu atıksudaki boyarmadde molekülünün miktarına bağlıdır. Bu yöntemin avantajı atık çamur oluşturmaması ve ozonun gaz durumunda uygulanabilir olmasıdır. Dezavantajı ise yarılanma ömrünün kısa olması, yüksek maliyeti ve ömrünün kısa olmasına bağlı olarak sürekli olarak ortama ilave edilmesi gerekliliğidir (Robinson vd., 2001).

1.9.2. Fiziksel Yöntemler

1.9.2.1. Adsorpsiyon

Yüzey ya da yüzeyin bir kesitinde kirletici maddenin birikmesi ve derişiminin artmasına adsorpsiyon denir. Adsorpsiyon, atıksu arıtımında bir sıvı ve bir katı arasında gerçekleşir. Katı yüzeyinde tutulan maddeye adsorplanan ya da adsorbant, tutan maddeye ise adsorban ya da adsorbent adı verilir (Kocaer vd., 2002).

1.9.2.2. İyon Değişimi

Atıksulardan anyon ve katyonların giderimi, iyon değişim reçineleri kullanılarak ve iyon değiştirme yöntemi ile gerçekleştirilir. İyon değiştirme yönteminde istenmeyen bazı katyon veya anyonlar reçinedeki sodyum (Na^+) ya da hidrojen (H^+) iyonları ile değiştirilir. Reaktif boyar maddelerin renginin giderimi için alternatif bir yöntem olarak iyon değişimi metodu Greluk ve Hubicki (2010) tarafından önerilmiştir.

1.9.2.3. Membran Filtrasyonu

Membran filtrasyonu metoduyla boyanın yoğunlaştırılması, sürekli olarak boya arıtımı ve en önemlisi atıksudan boyanın ayrılması sağlanmaktadır. Bu metodun diğerlerine göre en önemli avantajı mikrobiyal aktiviteye, sıcaklığa ve beklenmedik bir kimyasal çevreye dirençli olmasıdır. Bu yöntemin dezavantajı ise yüksek osmotik basınç farklılığında, ters osmozun gerçekleşmesini sınırlamasıdır (Robinson vd., 2001).

1.9.3. Biyolojik Yöntemler

Endüstriyel işlemler sonrası alıcı sistemlere taşınan atıksulardan en önemli boyar madde giderim süreci biyolojik yöntemlerle yapılmaktadır. Yapılan çalışmalar sonrasında birçok mikroorganizmanın renk giderebilme yeteneğine sahip oldukları tespit edilmiş ve bu açıdan biyolojik yöntemler ön plana çıkmıştır (Boran vd., 2019). Biyolojik yöntemler ile renk giderim maliyeti diğer yöntemlere göre daha düşük olması aynı zamanda genelde zararlı yan ürün oluşturmaması gibi özellikleri biyolojik yöntemleri diğer yöntemlerden daha avantajlı yapmaktadır (Gill vd., 2002).

Biyolojik yöntemlerde kullanılan mikroorganizmalar renk giderimi esnasında O₂ kullanıyorsa “aerobik (oksijenli)”, O₂ kullanmıyorsa “anaerobik (oksijensiz)” boyar madde giderimi olarak tanımlanır. Mikrobiyal kütle tarafından boyar maddelerin kütlede biriktirilerek renk giderimi yapması ise biyosorpsiyon olarak tanımlanır (Annadurai vd., 2002; Zouari-Mechichi vd., 2006).

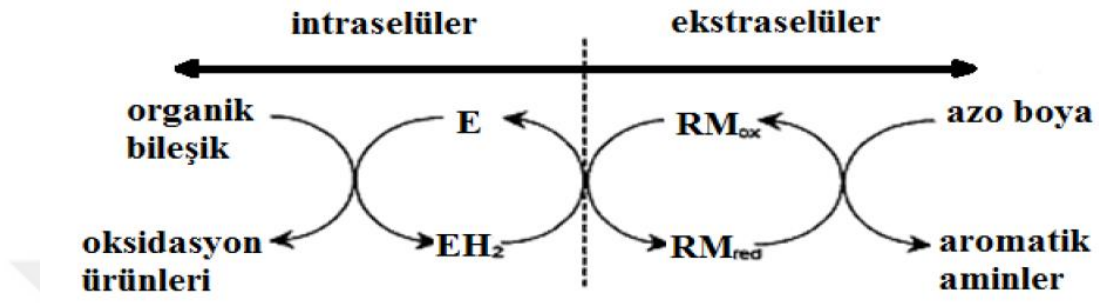
1.9.3.1. Aerobik Boyar Madde Giderimi

Bu işlemde gerçekleşen oksidasyon, redüksiyon ve hidroliz reaksiyonları mikroorganizmaların sahip oldukları enzimler tarafından katalizlenirler. Oksidasyon-redüksiyon tepkimeleri hem oksijenli ortamlarda hem de oksijenin az olduğu ortamlarda gerçekleşebilir (Annadurai vd., 2002). Ancak tekstil sanayisinde kullanılan birçok boyar madde biyolojik olarak çok zor indirgenir ya da değişmeden kalır (Willmott vd., 2008). Bu boyar maddeler arasında azo boyalar gibi aerobik şartlarda mikroorganizmalar tarafından parçalanmaya dayanıklı olarak üretilen boyalar bulunur. Bu boyar maddelerin oksijenli koşullarda bozulmasını engelleyen etkenlerden biri de yüksek molekül ağırlıkları nedeniyle hücre zarından geçememeleridir (Nigam vd., 1996; O'Neill vd., 2000a).

1.9.3.2. Anaerobik Boyar Madde Giderimi

Özellikle azot halkasının çift bağına bağlanan azo boyar maddelerinin oksijenli koşullarda indirgenmesinin zor olmasından dolayı bu tür boyaların renginin giderimi anaerobik ortamlarda gerçekleşmektedir (Cripps vd., 1990). Renk gideriminin anaerobik koşullar altında gerçekleşebilmesi için ilave karbon kaynağına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ek karbon kaynakları karbondioksit dönüştürülerek elektron açığa

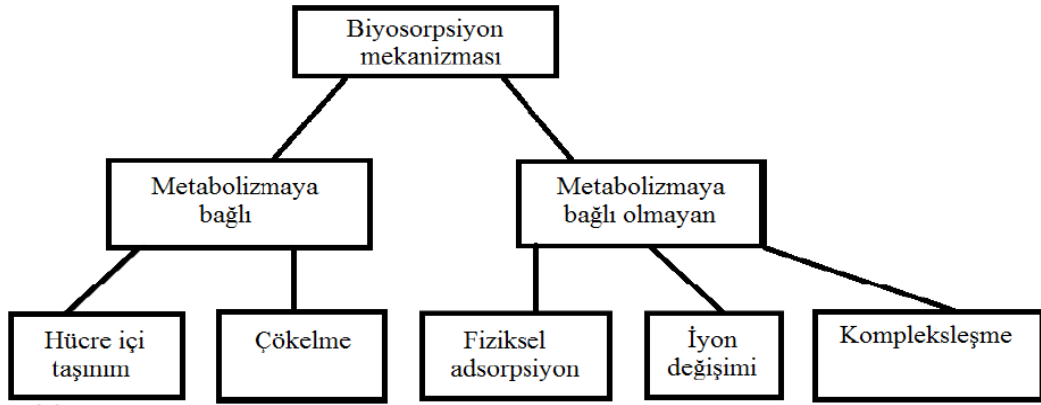
çıkartılır. Şekil 1.4.'de gösterildiği gibi elektronlar; elektron taşıma sisteminde (ETS) son elektron alıcısına taşınarak boyayla reaksiyona girer. Bu sayede azo bağları indirgenerek boya parçalanma yoluna girer. Gerçekleşen bu olay oksijen varlığında inhibe edilir. Bu sebepten ötürü bu tür boyar maddelerin renginin giderilmesinde ilk olarak anaerobik koşullarda azo köprüsünün indirgenmesi gerekir (O'Neill vd., 2000).



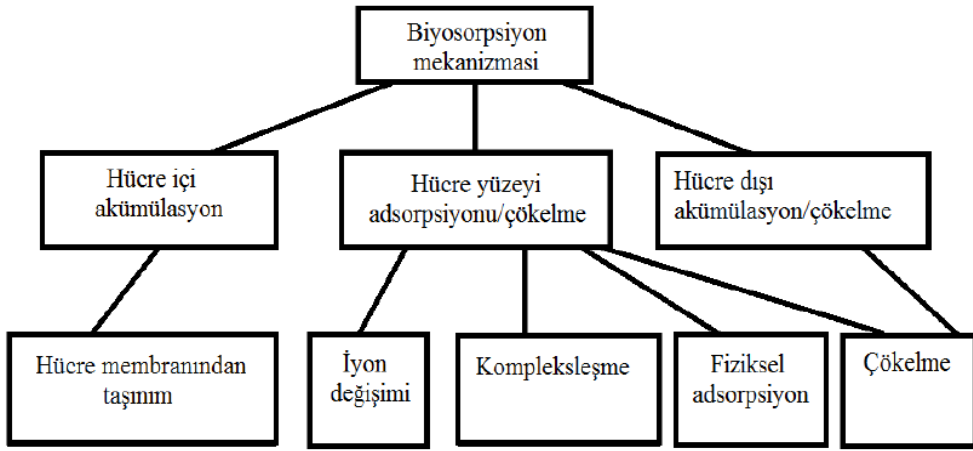
Şekil 1.4. Anaerobik koşullarda gerçekleşen azo boya redüksiyonunun hücre içerisindeki işleyişinin şeması (O'Neill vd., 2000)

1.9.3.3. Biyosorpsiyon

Biyosorpsiyon; kimyasal maddelerin mikroorganizmalar tarafından kütlede birikimi ya da adsorpsiyonu olarak adlandırılabilir. Bu yöntemle boyar madde renk gideriminde mayalar, mantarlar ve bakteriler kullanılabilir. Endüstride kullanılan boyar maddelerin kimyasal yapı çeşitliliği çok geniş olduğu için, mikroorganizmalarla boyaların etkileşimi Şekil 1.5.'te de gösterildiği gibi boyanın kimyasal yapısına ve mikroorganizma kütesine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Kullanılan mikroorganizmanın cinsine ve hücresel yapısına bağlı olarak boyaların bağlanma hızları ve kapasiteleri farklılık gösterir. Biyosorpsiyon boyar maddenin toksik yapıda olduğu durumlarda daha avantajlı olmaktadır (Khataee vd., 2011).



(a)



(b)

Şekil 1.5. Biyosorpsiyon mekanizması (a) Hücre metabolizmasına göre sınıflandırılmış (b) Madde alımının gerçekleştiği bölgelere göre sınıflandırılması (Tsezos vd., 1989)

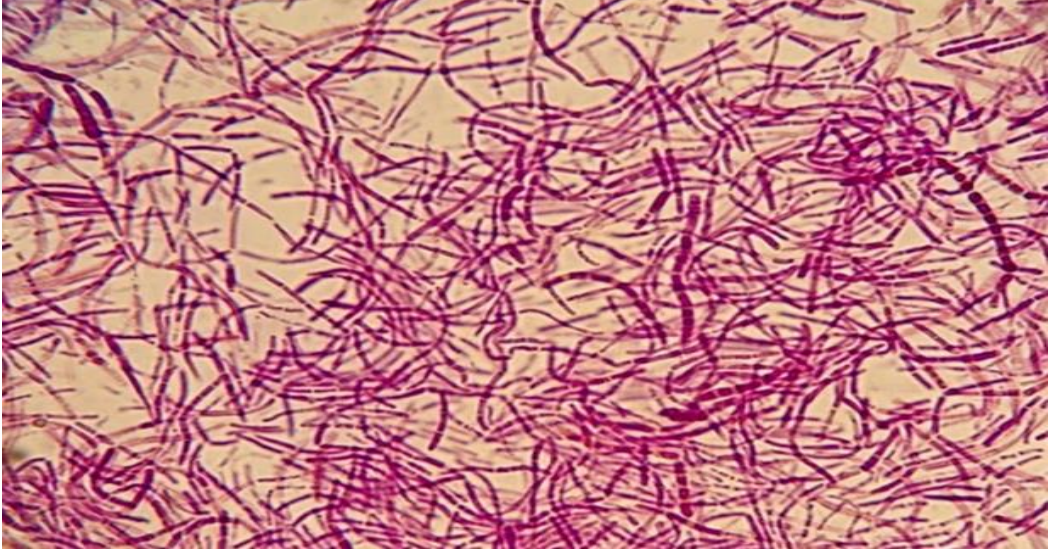
1.10. Çalışmada Kullanılan Bakteriler

1.10.1. *Bacillus megaterium*

Mezofilik bir bakteri türü olan *Bacillus megaterium* (*B. megaterium*); B₁₂ vitamini, penisilin asilaz ve amilazlar dahil olmak üzere çeşitli maddelerin biyoteknolojik üretimi için ticari olarak üretilen ve patojenik olmayan bir bakteri türüdür (Eppinger vd., 2011).

B. megaterium; ilk kez 1884 yılında Anton De Bary tarafından bir yüzyıldan daha önce tanımlanmıştır. Büyüklüğü 1.5-4 µm arasında değişen ve "megat (h) erium"

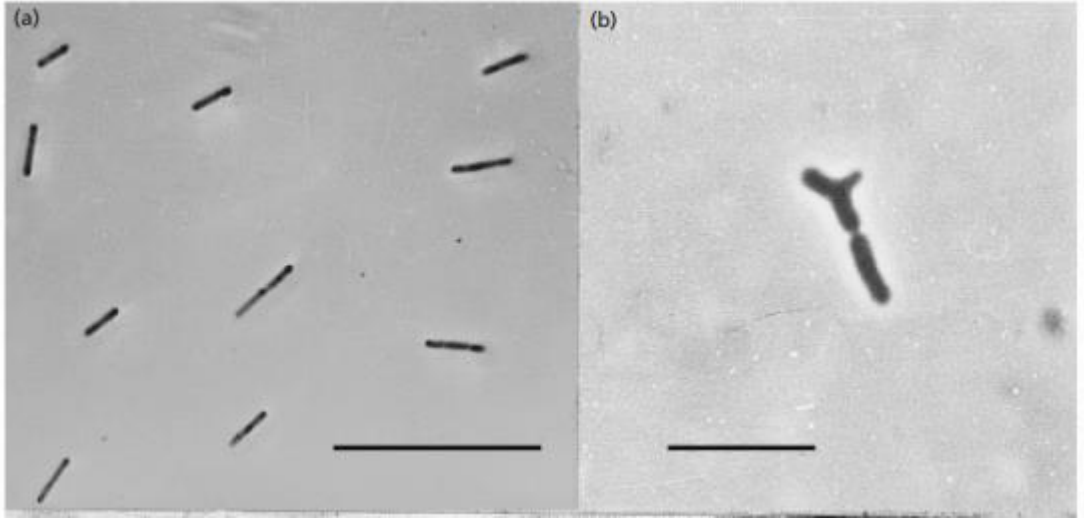
(Yunanca; büyük hayvan) olarak adlandırılan bu bakteri türü, tüm basillerin en büyüğüdür. *Bacillus subtilis*; Gram-pozitif model bir organizma olarak tanıtılmadan çok önce *B. megaterium* biyokimya ve bakteriyofajlar üzerine yapılan çalışmalarda kullanılmıştır. *B. megaterium* büyük hücre boyutu nedeniyle hücre duvarı ve sitoplazmik membran biyosentezi, sporulasyon, spor yapısı, hücresel organizasyon ve protein lokalizasyonu üzerine yapılan araştırmalar için oldukça uygundur (Christie vd., 2010).



Şekil 1.6. *Bacillus megaterium*'un mikroskopik görüntüsü (Boone vd., 2001)

1.10.2. *Anoxybacillus flavithermus*

Anoxybacillus cinsinin bir üyesi olan *Anoxybacillus flavithermus* termofilik bir bakteri türüdür. Çubuk şeklinde, spor oluşturan bakteri ailesi olan *Bacillaceae* familyasına mensuptur. *Anoxybacillus* cinsi bakteriler genelde jeotermal bölgelerde ve süt işleme tesisleri çevresinde bulunur (Pikuta vd., 2000). *Anoxybacillus flavithermus*'un eski adı *Bacillus flavithermus* 'tur (Tasara vd., 2017).



Şekil 1.7. *Anoxybacillus flavithermus*'un mikroskopik görüntüsü (Pikuta vd., 2000)

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Tekstil sanayisi boyalarının önemli bir kısmını oluşturan sentetik boyar maddelerin, oksijenli koşullarda mikrobiyal yıkıma karşı dirençli olmasındaki neden sentetik boya malzemelerinin, ışık ve kimyasal kaynaklı oksidatif etkilere karşı renklerin solmasını engelleyecek şekilde sentezlenmeleridir. Boyar maddelerin oksijenli koşullarda biyolojik olarak parçalanmasını zorlaştıracak bir diğer faktör ise molekül ağırlıklarının fazla olması sebebiyle hücre membranından geçmelerinin zor olmasıdır (Willmott vd., 2008).

Çeşitli tekstil boyalarının yıkımında birçok bakteri türü kullanılabilir. Örneğin azo boyaların oksijenli ve oksijensiz koşullar altında gerçekleşen bakteriyel renk giderimindeki ilk evre kromofor grubundaki azo bağının indirgenmesidir. Bu indirgenme düşük moleküler ağırlıktaki redoks aracıları, bazı biyojenik indirgenler ve enzimler tarafından gerçekleşen kimyasal indirgenme ya da bunların kombinasyonu gibi farklı mekanizmalarla gerçekleşir. Gerçekleşen bu tepkimeler hücre içi veya hücre dışı bölgelerde meydana gelir. Azo boyaların yıkımında genelde lakkazlar ve azoredüktazlar olarak bilinen enzimler önemli rol oynamaktadırlar (Singh vd., 2015). Lakkazlar aynı zamanda bilinen endüstriyel boyaların çoğunda renk giderme potansiyeline sahiptir (Reyes vd., 1999; Rodriguez vd., 1999).

Azo boyalarındaki azo bağlarının ($-N=N-$) kırılması sonucu anaerobik koşullarda parçalanamayan aromatik aminler de ortaya çıkabilmektedir. Sentetik tekstil boyaları normalde mutajenik, kanserojenik ve sitotoksik olmamalarına rağmen, anaerobik parçalanmaları sonucunda meydana gelen aromatik aminler bu tür özellik gösterebilirler. Bu sebepten ötürü anaerobik renk giderim sistemleri sadece aerobik arıtmadan önce bir ön arıtım metodu olarak önerilmektedir. Anaerobik arıtımla oluşan zararlı ikincil yan ürün olan aromatik aminler hidroksilasyon ve aromatik bileşiğin halkasının açılmasıyla aerobik ortamlarda mineralize edilebilirler. Böylece boyar maddeli tekstil atıksularının kombine anaerobik-aerobik süreçlerle arıtılmasıyla ilk basamakta iyi bir renk giderimi sağlanır ve anaerobik ortamda meydana gelen aromatik aminler aerobik basamakta giderilebilirler (O'Neill vd., 2000b).

Tekstil endüstrisinde kullanılan bazı azo-metal kompleks boyalarının renginin giderimi üzerine yapılan bir çalışmada, Türkiye'deki güneş deniz santrallerinden izole edilen halofilik *Halobacillus sp.* suşu kullanılmıştır. Araştırmacılar boyar madde olarak

Lanaset Navy R ve Lanaset Kahverengi B'yi, boya konsantrasyonu olarak 120 mg/L'yi test etmiş olup, pH değeri pH 4.5'a ayarlanan bu boyalar *Halobacillus sp.* suşu ile oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Buna göre; Lanaset Kahverengi B boyasının rengi 78. saatte %96.12 oranında giderilirken, Lanaset Navy R boyasının rengi inkübasyonun ilk 10. dakikasında %46.67, 3. saatinde ise %60.66 oranında giderilmiştir (Demirci vd., 2011).

Shah (2014) tarafından yapılan bir çalışmada karbon kaynağı olarak Asit turuncu boyasını karbon kaynağı olarak kullanabilen bir bakteri suşu olan PMS82, Hindistan'ın Ankleshwar ortak atık arıtma tesislerinden izole edilmiştir. Yapılan moleküler analizler sonucu izole edilen mikroorganizmanın *Bacillus megaterium* PMS82 olduğu belirlenmiştir. Test edilen bu suş statik koşullarda Asit turuncu boyasının (100 mg/L) rengini 16 saat içerisinde tamamen giderirken, aynı koşullarda 800 mg/L boyanın rengini 38 saat içinde maksimum %73 oranında giderebilmiştir. Renk giderimi için en uygun pH'nın pH 6.0-9.0, inkübasyon sıcaklığının ise 25-40 °C aralığında olduğu tespit edilmiştir. Buna ilaveten bu organizma 38 saat içerisinde yapısal olarak birbirinden farklı 5 azo boyanın rengini %70'den daha fazla oranda gidermiş ve %2 (w/v)'ye kadar yüksek tuz konsantrasyonunu tolere etmiştir. Ayrıca çalışmada gerçekleşen renk gideriminin biyolojik yıkımdan kaynaklandığı FT-IR spektroskopisi ile de doğrulanmıştır.

Yapılan başka bir çalışmada Reaktif kırmızı ME4BL tekstil boyasının rengini giderebilen bakteri suşu SVM1, Perunduari'nin Tamil Nadu'daki Erode bölgesinde bulunan ortak bir atıksu arıtma tesisinin aktif çamur toprağından izole edilmiştir. Çalışmada kullanılan bakteri izolatının Reaktif kırmızı ME4BL boyasının rengini en yüksek seviyede gidermesi amacıyla inkübasyon sıcaklığı ve pH gibi farklı parametreler optimize edilmiştir. Araştırmacılar renk giderimi için optimum pH ve sıcaklığın sırasıyla pH 8.0 ve 37 °C olduğunu saptamış olup, *Bacillus subtilis* SVM1 suşunun statik ve çalkalamalı koşullarda 42 saatlik inkübasyon sonucunda Reaktif kırmızı ME4BL (200 mg/1000 mL) boyasının renginin %93 oranında giderildiği rapor edilmiştir. Sonuç olarak çalışmada *Bacillus subtilis* SVM1 suşunun reaktif tekstil boyası içeren atıksuyu arıtmak için yararlı bir araç olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (Velmurugan vd., 2014).

Barragán ve ark. (Barragán vd., 2007) tarafından yapılan bir çalışmada Asit turuncu 7'nin de aralarında bulunduğu çeşitli boyalar katı ortamlara ilave edilmiş ve bu katı ortamlara *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas sp.* ve *Morganella sp.*, gibi bakteriler

inoküle edilmiştir. Elde edilen bulgulara göre; 96, 144 ve 192 saatlik inkübasyon periyotlarının ardından bakteriler boyar maddeleri karbon kaynağı olarak kullanmış ve böylece boyar maddelerin biyolojik yıkımı gerçekleşmiştir.

Ponraj ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada Turuncu 3R boyasının renginin giderimi için tekstil atıksuyundan izole edilen *Bacillus* sp., *Klebsiella* sp., *Salmonella* sp. ve *Pseudomonas* sp. gibi bakteriler kullanılmıştır. Çalışmalar sonucunda elde edilen bulgulara göre *Pseudomonas* sp. ve *Bacillus* sp.'nin diğer bakterilere kıyasla daha yüksek renk giderimi gerçekleştirdiği tespit edilmiş olup, bu iki bakteri arasından da *Bacillus* sp.'nin renk gideriminde daha etkili olduğu saptanmıştır. Buna göre; optimum koşullar altında 144 saatlik inkübasyon sonunda maksimum %89 oranında renk giderimi gerçekleşmiştir.

Meerbergen ve ark. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada tekstil atıksuyu arıtımında kullanılan aktif çamur sistemlerinden, tekstil ürünlerinin üretiminde yaygın olarak uygulanan boyaların (Reaktif turuncu 16 ve Reaktif yeşil 19) rengini giderebilen veya biyoyıkım yapabilen bakteri suşlarının izolasyonu ve karakterizasyonu amaçlanmıştır. Bu amaçla izole edilen 125 bakteri suşu ile çalışmalar yapılmış ve renk giderimi için uygun 5 bakteri suşu seçilmiş ve optimum koşullarda bu 5 suşun üç günlük süre zarfında Reaktif turuncu 16'nın rengini %97.9, Reaktif yeşil 19'un rengini ise %93.4 oranında giderdikleri belirlenmiştir. Bu 5 suştan da *Acinetobacter* (ST16.16/164) ve *Klebsiella* (ST16.16/034) diğer test edilen suşlardan daha iyi renk giderim performansı göstermiştir. Bu bakteriyel suşlar da 20-40 °C ve pH 4.0, 7.0 ve 9.0 gibi koşullarda inkübe edilerek optimum renk gideriminin gerçekleştiği ortam koşulları araştırılmıştır. Ancak araştırmacılar test edilen inkübasyon koşullarının dışında olan 10 °C gibi düşük bir sıcaklıkta da *Acinetobacter* (ST16.16/164) suşunun yüksek oranda renk giderimi gerçekleştirdiğini saptamışlardır.

Renk giderim çalışmalarında bazı durumlarda mikroorganizma kültürlerinin tek tek kullanımı yerine birden fazla mikroorganizma kültürünün kullanımı da tercih edilebilmektedir. Örneğin Sponza ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada indigo boyar maddesini kullanan tekstil endüstrisi atıksularının anaerobik arıtımı için çeşitli mikroorganizmaları ihtiva eden ve Pakmaya'dan alınan anaerobik çamur ve ilgili araştırmacıların reaktörde oluşturulan granül çamuru karşılaştırmalı olarak kullanılmıştır. Granül çamur ve anaerobik çamur gibi iki farklı karışık kültür kullanılarak yapılan çalışmada toksisite değerlerini gösteren IC50 sonuçları sırasıyla 1070 mg/L ile 510 mg/L olarak saptanmıştır. Renk giderimi çalışmalarında iki kültür

için de 30 mg/L, 60 mg/L ve 100 mg/L boya konsantrasyonlarında 13 ile 20 günlük inkübasyonlar sonucunda %100 renk giderimi ve maksimum %45 KOİ giderimi gözlenmiştir. Aynı konsantrasyon değerleri için 50 günlük inkübasyon sonrasında %70 KOİ gideriminin olduğu rapor edilmiştir.

Çetin ve Dönmez (2006) tarafından yapılan bir çalışmada da, tekstil endüstrisi atıksularından izole edilip melasda üretilen karışık kültürler anaerobik koşullarda tekstil endüstrisi atıksularının renginin gideriminde optimum koşulları belirlemişlerdir. Tüm boyar madde ihtiva eden atıksu örneklerinde renk giderimi için optimum pH değeri pH 8.0 olarak saptanmıştır. İnkübasyon süreleri baz alındığında 24 saatlik zaman dilimi sonucunda karışık kültürlerde en yüksek renk giderimi Reaktif kırmızı RB için %94.9 olarak belirlenmiş olup, Reaktif siyah B için %91 ve Remazol mavi içinse %63.6 oranında renk giderimi tespit edilmiştir.

Bazı renk giderim çalışmalarında da saf kültürlerin tek tek kullanımına kıyasla karışık kültür kullanımı daha etkili renk giderim sonuçlarını ortaya çıkarabilmektedir. Örneğin; Phugare ve ark. (2011) tarafından yapılan bir renk giderim çalışmasında boya ile kontamine olmuş topraktan izole edilmiş iki farklı bakteri kültürü (*Providencia* sp. SDS ve *Pseudomonas aeruginosa* BCH) birlikte Kırmızı HE3B (Reaktif kırmızı 120) boyasının rengini ayrı ayrı kültürlerle göre çok daha hızlı bir şekilde gidermiştir. Araştırmacılar bu suşların yoğun metabolik aktiviteleri sonucu 50 mg/L konsantrasyondaki boyanın renginin bir saatte %100 oranında giderildiğini bildirmişlerdir.

Mumtaz ve ark. (2015) ise yaptıkları bir çalışmada, renk giderimi potansiyeli olduğu bilinen iki bakteriyel suşu zenginleştirme tekniği ile atık imha alanından izole etmiş ve bu izolatları kullanarak Reaktif mavi 221 boyasının renginin giderimini test etmişlerdir. Optimize edilmiş koşullar altında, *Pseudomonas* sp. BDS 2 suşuyla Reaktif mavi 221'in 96 saatlik inkübasyonu sonucunda %94.4 oranında renk giderimi sağlandığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, *Alcaligenes* sp. BDS 9 suşuyla test edilen boyar maddenin 112 saatlik inkübasyonu sonunda %88.5 oranında renk giderimi gerçekleşmiştir. Bu sonuçlar, UV/Visible ve FT-IR spektroskopisiyle de desteklenmiştir.

Işık ve arkadaşları (2003) tekstil endüstrilerinde kullanılan (Direkt siyah 38 ve Kongo kırmızısı) boyaların anaerobik, aerobik ve de mikroaerofilik koşullarda rengini gidermek amacıyla fakültatif iki bakteriyi (*Pseudomonas* sp. ve *Escherichia coli*) test etmişlerdir. Test edilen bakteriler öncelikle 100 mg/L boya ve 1000 mg glikoz-KOİ/L

içeren ortamda 5 gün boyunca inkübe edilmiştir. Araştırmacılar aerobik şartlarda herhangi bir renk gideriminin olmadığını ancak koşulların anaerobik ve mikroaerofilik koşullara dönüştürüldüğünde renk gideriminin başladığı belirtmiştir. Buna göre; inkübasyon sonucunda yapılan ölçümlere göre; anaerobik koşullarda *E. coli* Kongo kırmızı'nın rengini %98 Direkt siyah 38'in rengini ise %72 oranında giderirken, *Pseudomonas sp.*'nin ise yine anaerobik şartlarda Kongo kırmızı'nın rengini %100 ve Direkt siyah 38'in rengini %83 oranında giderdiği tespit edilmiştir. Mikroaerofilik koşullarda ise Kongo kırmızı'nın ve Direkt siyah 38'in rengi *E. coli* tarafından sırasıyla %39 ve %75 oranında giderilirken, aynı boyaların rengi *Pseudomonas sp.* tarafından %76 ve %74 oranında giderilmiştir.

Tekstil endüstrisinde özellikle polyester kumaşların boyanmasında dispers boyalar kullanılmakta olup, literatürde bu boyaların renginin giderimi üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Naresh ve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada Dispers kahverengi 21 tekstil boyasının renginin giderimi için Hindistan'da bir tekstil fabrikasının atıksuyundan izole edilen *Enterobacter gergoviae* kullanılmıştır. Araştırmacılar en yüksek renk giderimini saptamak amacıyla farklı pH, sıcaklık, karbon kaynağı ve azot kaynağı gibi çeşitli parametreleri test etmiş olup, bu amaç doğrultusunda renk giderimi çalışmaları pH 7.0-10.0, 25-39 °C'de gerçekleştirilmiştir. Yapılan optimizasyon çalışması sonucunda en yüksek renk gideriminin pH 7.0 ve 31 °C'de %93 olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar ek karbon kaynağının renk giderimi üzerine etkisini belirlemek için 200 mg/L Dispers kahverengi 21 içeren ortamlara ayrı ayrı %0.2-1.0 oranlarında glikoz, laktoz ve sükroz ilave etmiş glikoz ilavesinin renk giderimini arttırırken, laktoz ve sükroz ilavesinin herhangi bir renk giderimi artışına sebep olmadığını ifade etmişlerdir. Ek azot kaynaklarının renk giderimi üzerine etkisini saptamak için boyar madde içeren ortamlara %0.2-1.0 oranlarında ayrı ayrı olacak şekilde üre ve amonyum klorür ilave edilmiş ve en yüksek renk gideriminin %0.2 amonyum klorür ilave edilmiş ortamda gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Jadhav ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada dispers bir boya olan Kahverengi 3REL'in renginin gideriminde *Galactomyces geotrichum* MTCC 1360 ve *Bacillus sp.* VUS kullanılmıştır. Bir maya ve bir bakterinin birlikte kullanımını test edildiği bu çalışmada Kahverengi 3REL'in optimum koşullar olan pH 7.0 ve 50 °C'de iki mikroorganizma konsorsiyumu ile 2 saatlik inkübasyonu sonucu %100 renk giderimi gerçekleşmiştir. Araştırmacılar aynı boyayı her iki mikroorganizma ile ayrı ayrı da inkübe etmiş olup, Kahverengi 3REL'in *G. geotrichum* MTCC 1360 ile 24 saat

inkübasyonu sonucu %39, *Bacillus* sp. VUS ile 5 saat inkübasyonu sonucu %100 renk giderimi gerçekleştiğini saptamışlardır. Çalışmada inkübasyon ortamına nişasta, pepton ve üre gibi ek karbon ve azot kaynaklarının ilavesinin renk giderimini arttırdığı rapor edilmiştir.

Yine bir bakteri (*Brevibacillus laterosporus* MTCC 2298) ve maya (*Galactomyces geotrichum* MTCC 1360) konsorsiyumu kullanılarak gerçekleştirilen bir renk giderim çalışmasında boyar madde olarak dispers bir boya olan Scarlet RR test edilmiştir. Bu çalışmada araştırmacılar Scarlet RR içeren tekstil endüstrisi atıksuyu ile bakteri-maya konsorsiyumunu 48 saat boyunca inkübe etmiş ve inkübasyon sonucu atıksuyun BOİ ve KOİ'sinde sırasıyla %68 ve %74 oranlarında bir azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca aynı konsorsiyum 50mg/L konsantrasyonda Scarlet RR içeren solüsyonun pH 9.0, 40 °C ve statik koşullarda 18 saat boyunca inkübe edilmiş ve inkübasyon sonucu %98 oranında renk giderimi elde edilmiştir. Aynı çalışmada *B. laterosporus* MTCC 2298 ve *G. geotrichum* MTCC 1360 ayrı ayrı Scarlet RR ile inkübe edildiğinde sırasıyla %61 ve % 34 gibi konsorsiyuma kıyasla daha düşük renk giderimleri elde edilmiştir (Kurade vd., 2012).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışmalarda Kullanılan Bakteriler

Çalışmalarda Foron grubu farklı iki boyanın rengini gidermek için mezofilik bir bakteri izolatı olan *Bacillus megaterium* A1 (accession number: KC579390) ve Afyon ilindeki sıcak su kaplıcalarından izole edilen termofilik bir bakteri türü olan *Anoxybacillus flavithermus* (accession number: KJ434779) kullanılmıştır. Bu bakteri kültürlerinin devamlılığını sağlamak amacıyla bakteri izolatlarının saf katı kültürlerinden 30 günde bir taze Nütrient Agar (NA) plaklarına yeniden ekimi yapıldıktan sonra *Bacillus megaterium* A1 30 °C’de, *Anoxybacillus flavithermus* ise 50 °C de 24 saat boyunca statik inkübatörde inkübe edilmiştir. Elde edilen saf bakteri kültürleri İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Laboratuvarının buzdolabında 4 °C’de stok kültür olarak muhafaza edilmektedir.

3.1.1. *Bacillus megaterium*

Çalışmamızda mezofilik bir bakteri izolatı olan *Bacillus megaterium* A1 kullanılmıştır. Bu bakterinin sınıflandırma basamakları Çizelge 3.1’deki gibidir.

Çizelge 3.1. *Bacillus megaterium*’un sistematik sınıflandırması (Seki vd., 1978)

Alem:	Bacteria
Filum:	Firmicutes
Sınıf:	Basili
Ordo:	Bacillales
Familya:	Bacillaceae
Cins:	<i>Bacillus</i>
Tür:	<i>Bacillus megaterium</i>

3.1.2. *Anoxybacillus flavithermus*

Çalışmamızda termofilik bir bakteri izolatı olan *Anoxybacillus flavithermus* kullanılmıştır. Bu bakterinin sınıflandırma basamakları Çizelge 3.2’deki gibidir.

Çizelge 3.2. *Anoxybacillus flavithermus*'un sistematik sınıflandırması (Anonymous. (2019))

Alem:	Bacteria
Filum:	Firmicutes
Sınıf:	Basidiomycetes
Ordo:	Bacilli
Familya:	Bacillaceae
Cins:	<i>Anoxybacillus</i>
Tür:	<i>Anoxybacillus flavithermus</i>

3.2. Çalışmada Kullanılan Boyar Maddeler

Bu tez çalışmasında dispers grubu boyalardan Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyaları kullanılmıştır.

3.3. Bakteri Kültürlerinin Hazırlanışı

Bu çalışmada öncelikle *Bacillus megaterium* A1 ve *Anoxybacillus flavithermus*'un NA plaklarında üretilmiş stok kültürlerden örnek alınarak Nutrient Broth (NB) ortamlarına steril koşullarda transfer edilmiştir. Daha sonra *Bacillus megaterium* A1 30 °C'de ve 150 rpm'de, *Anoxybacillus flavithermus* ise 50 °C'de ve 150 rpm'de çalkalamalı inkübatörlerde üretilerek saf sıvı bakteri kültürleri elde edilmiştir.

3.4. Boyar Maddelerin Maksimum Işık Absorbladığı Dalga Boylarının Belirlenmesi

Çalışmalarda kullanılacak boyar maddelerin renk giderim oranlarının belirlenebilmesi için öncelikle test edilecek boyar maddelerin maksimum ışık absorbladığı dalga boyunun saptanması gerekir. Buna göre; Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarından 1000 ppm olacak şekilde stok boya solüsyonları hazırlanarak Nütrient Broth (NB) besiyerine son konsantrasyonları 50-200 ppm olacak şekilde eklenmiştir. Hazırlanan solüsyonların maksimum dalga boyları

spektrofotometrik (Shimadzu-UV-1601, UV/Visible) tarama yoluyla saptanmıştır. Foron Siyah ve Foron Kahverengi tekstil boyalarının maksimum ışık absorbladığı dalga boyları sırasıyla 521 nm ve 591 nm olarak belirlenmiştir.

3.5. Renk Giderim Çalışmaları

Yapılan ön çalışmalar neticesinde *Bacillus megaterium* A1'in optimum renk giderim koşullarını tespit etmek için bu bakteri izolatu Foron Siyah ve Foron Kahverengi içeren NB ortamlarında, 25-40 °C sıcaklıklarda, 50-200 ppm konsantrasyonlarda, statik ve çalkalamalı (50-200 rpm) koşullarda ve ayrıca pH 5-9'da 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Benzer şekilde *Anoxybacillus flavithermus*'un optimum renk giderim koşullarını tespit etmek için *A. flavithermus* Foron Siyah ve Foron Kahverengi içeren NB ortamlarında, 40-55 °C sıcaklıklarda, 50-200 ppm konsantrasyonlarda, statik ve çalkalamalı (50-200 rpm) koşullarda ve de pH 5-9'da 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bu izolatların renk giderim aktiviteleri aseptik koşullarda erlenlerden örnekler alınarak spektrofotometrik (Shimadzu-UV-1601, UV/Visible) yöntemle tespit edilmiştir. Üç tekrarlı olarak gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen örneklerin spektrofotometrik ölçümleri sonucu elde edilen absorbans değerleri SPSS 15.0 paket programı kullanılarak minimum, maksimum ve ortalama renk giderim oranlarına dönüştürülmüş ve ayrıca standart sapmaları da hesaplanmıştır.

3.5.1. *Bacillus megaterium* A1 ve *Anoxybacillus flavithermus* ile Renk Gideriminde Sıcaklık Optimizasyonu

Mezofilik bakteri izolatu *Bacillus megaterium* A1'in optimum renk giderim koşullarının belirlenmesi ve farklı sıcaklık değerlerinin renk giderimine etkisini saptamak amacıyla üçer tekrarlı 19 mL hacminde ayrı ayrı hazırlanmış 200 ppm Foron Siyah ve 200 ppm Foron Kahverengi çözeltileri otoklavda 121 °C' de 20 dakika boyunca steril edilmiş, soğutulmuş ve ardından 1 mL sıvı bakteri kültürü inoküle edilmiştir. Daha sonra boyar madde ve bakteri kültürü içeren ortamlar inkübasyon sıcaklıkları 25 °C, 30 °C, 35 °C ve 40 °C olacak şekilde ayarlanmış çalkalamalı etüvlerde 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası bakterileri uzaklaştırmak amacıyla örnekler 6000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra

süpernatant kısımları alınarak Foron Kahverengi için 521 nm, Foron Siyah içinse 591 nm’de absorbanları ölçülmüştür.

Benzer çalışma termofilik *Anoxybacillus flavithermus* ile de gerçekleştirilmiş olup, aynı konsantrasyonda (200 ppm) steril Foron Siyah ve Foron Kahverengi solüsyonu yine 1 mL *A. flavithermus* sıvı kültürü ile aynı çalkalama hızında (150 rpm) ve de 40 °C, 45 °C, 50 °C ve 55 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. *Bacillus megaterium* A1 ile yapılan çalışmayla aynı şekilde inkübasyon sonrası bakterileri uzaklaştırmak amacıyla örnekler aynı koşullarda (6000 rpm’de 5 dakika) santrifüj edildikten sonra süpernatant kısımları alınarak Foron Kahverengi için 521 nm, Foron Siyah içinse 591 nm’de absorbanları ölçülmüştür.

Her iki çalışmada da spektrofotometrik ölçümler sonrası elde edilen absorban değerleri SPSS 15.0 paket programında analiz edilip renk giderim oranları saptanmış ve yine SPSS 15.0 paket programı kullanılarak renk giderim oranlarının minimum, maksimum ve ortalama değerleri ile standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

3.5.2. *Bacillus megaterium* A1 ve *Anoxybacillus flavithermus* ile Renk Gideriminde Optimum Boyar Madde Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Etkili bakteriyel renk gideriminin belirlenmesinde diğer parametreler gibi optimum boyar madde konsantrasyonunun saptanması da büyük önem arz etmektedir. Buna göre; 1 mL sıvı *Bacillus megaterium* A1 ve *Anoxybacillus flavithermus* sıvı kültürleri farklı konsantrasyonlarda (50 ppm, 100 ppm, 150 ppm ve 200 ppm) 19 mL Foron Kahverengi ve Foron Siyah solüsyonlarına inoküle edilmiştir. Bu işlemin ardından *Bacillus megaterium* A1 150 rpm çalkalama hızında ve 30 °C’de, *Anoxybacillus flavithermus* ise 150 rpm çalkalama hızında ve 50 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübe edilen her iki bakteriye ait örneklerin 6000 rpm’de 5 dakika santrifüjü sonrası örneklerin süpernatant kısımları alınarak Foron Kahverengi için 521 nm, Foron Siyah içinse 591 nm’de absorbanları olarak ölçülmüştür.

Saptanan absorban değerleri SPSS 15.0 paket programı kullanılarak analiz edilmiş ve bu sayede her iki bakteri izolatının test edilen iki boyar maddede gerçekleştirdikleri renk giderim oranları saptanmıştır. Ayrıca aynı paket program kullanılarak renk giderim oranlarının minimum, maksimum ve ortalama değerleri ile standart sapma değerleri de hesaplanmıştır.

3.5.3. *Bacillus megaterium* A1 ve *Anoxybacillus flavithermus* ile Renk Gideriminde Çalkalama Optimizasyonu

Bacillus megaterium A1 izolatının optimum renk giderim koşullarının belirlenmesi amacıyla yapılan optimizasyon çalışmalarından bir diğeri de farklı çalkalama hızlarının (rpm) renk giderimi üzerine etkisini araştırmaktır. Bu amaç doğrultusunda 100 ppm konsantrasyonda Foron Siyah ve Foron Kahverengi boyalarını içeren 19 mL hacmindeki solüsyonlar steril edildikten sonra bu ortamlara ayrı ayrı 1 mL sıvı bakteri kültürleri inoküle edilmiş ve çalkalama hızları; statik, 50 rpm, 100 rpm, 150 rpm ve 200 rpm olacak şekilde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübatörde 24 saat boyunca inkübe edilen örnekler 6000 rpm de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant kısımları alınarak Foron Kahverengi için 521 nm, Foron Siyah içinse 591 nm’de absorbansları ölçülmüştür.

Maksimum renk gideriminin saptanması amacıyla çalkalama hızının optimizasyonu çalışması test edilen diğeri bakteri izolatı *Anoxybacillus flavithermus* ile de gerçekleştirilmiş olup, 200 ppm steril Foron Siyah ve Foron Kahverengi solüsyonları yine 1 mL *A. flavithermus* sıvı kültürü ile statik ve farklı çalkalama hızlarında (50 rpm, 100 rpm, 150 rpm ve 200 rpm) 50 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası bakterileri uzaklaştırmak amacıyla örnekler 6000 rpm’de 5 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant kısımları alınarak Foron Kahverengi için 521 nm, Foron Siyah içinse 591 nm’de absorbansları ölçülmüştür.

Elde edilen absorbans değerleri SPSS 15.0 paket programında analiz edilip minimum, maksimum, ortalama renk giderim değerleri ile standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

3.5.4. *Bacillus megaterium* A1 ve *Anoxybacillus flavithermus* ile Renk Gideriminde pH Optimizasyonu

Su içerisindeki H^+ (hidrojen iyonu) derişiminin eksi logaritmasına pH denir. $pH = -\log [H^+]$ olup, bu formüle göre H^+ derişimi arttıkça pH azalır.

Mezofilik *Bacillus megaterium* A1 ile renk gideriminin en yüksek olduğu pH değerini belirlemek amacıyla 100 ppm Foron Siyah ve Foron Kahverengi solüsyonlarının pH değerleri 0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl kullanılarak pH metre (Hanna HI2002-02 Edge) aracılığıyla pH 5.0, pH 6.0, pH 7.0, pH 8.0 ve pH 9.0’a

ayarlanmıştır. Benzer şekilde termofilik *Anoxybacillus flavithermus* ile en yüksek renk gideriminin olduğu pH değerini saptamak amacıyla 200 ppm Foron Siyah ve Foron Kahverengi solüsyonlarının pH değerleri yine 0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl kullanılarak pH 5.0, pH 6.0, pH 7.0, pH 8.0 ve pH 9.0' a ayarlanmıştır. Daha sonra farklı pH değerlerine ayarlanmış 19 mL'lik boya solüsyonlarına her iki bakteri izolatının sıvı kültürlerinden 1'er mililitre ayrı ayrı inoküle edilmiş ve *Bacillus megaterium* A1 30 °C'de ve 150 rpm'de, *Anoxybacillus flavithermus* ise 50 °C'de 50 rpm'de 24 saat boyunca çalkalamalı inkübatörlerde inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrası bakterileri uzaklaştırmak amacıyla örnekler 5 dakika 6000 rpm'de santrifüj edildikten sonra süpernatant kısımları alınarak Foron Kahverengi için 521 nm, Foron Siyah içinse 591 nm'de absorbansları ölçülmüştür.

Elde edilen absorbans değerleri SPSS 15.0 paket programında analiz edilip minimum, maksimum, ortalama renk giderim değerleri ile standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

3.5.5. *Bacillus megaterium* A1 ve *Anoxybacillus flavithermus* ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah Boyalarının Karışımının Renginin Giderimi

Çalışmada Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının karışımlarının optimum koşullarda test edilen iki bakteri izolatı ile renginin giderimi de araştırılmıştır. Buna göre; *B. megaterium* A1 ile renk gideriminde 50 ppm Foron Kahverengi ile 50 ppm Foron Siyah boya solüsyonları karıştırılarak elde edilen boya karışımı (19 mL) önce otoklavda steril edilmiştir. Daha sonra aseptik koşullarda boya karışımına sıvı *B. megaterium* A1 kültüründen 1 mL inoküle edilmiş ardından da bakteri izolatı optimum koşullarda (30 °C, 150 rpm ve pH 7.0) 24 saat inkübe edilmiştir. Buna benzer olarak; *A. flavithermus* kullanılarak ile iki boyanın karışımının renginin gideriminde 100 ppm Foron Kahverengi ile 100 ppm Foron Siyah boya solüsyonları karıştırılmış ve elde edilen boya karışımı (19 mL) otoklavda steril edilmiştir. Daha sonra boya karışımına aseptik koşullarda *A. flavithermus* sıvı kültüründen 1 mL inoküle edilmiş ardından da termofilik bakteri izolatı optimum koşullarda (50 °C, 50 rpm ve pH 5.0) 24 saat inkübe edilmiştir.

İnkübasyon sonrası boya karışımlarından her iki bakteriyi de uzaklaştırmak amacıyla örnekler ayrı ayrı olacak şekilde 6000 rpm'de 5'er dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant kısımları alınarak 526 nm'de absorbansları ölçülmüştür.

Ölçülen absorbans değerleri SPSS 15.0 paket programında analiz edilip her iki bakteriyel izolata ait minimum, maksimum, ortalama renk giderim değerleri ile standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

3.5.6. *Bacillus megaterium* A1 ve *Anoxybacillus flavithermus* ile Sentetik Atıksuyun Renginin Giderimi

Çalışmanın diğer bir aşamasında farklı özelliklere sahip bu iki bakteriyel izolatın çeşitli atıksuların renginin gideriminde kullanılıp kullanılamayacağını test etmek amacıyla farklı içeriklerde sentetik atıksular oluşturulmuştur. Buna göre; öncelikle 100 mg/L (100 ppm) ve 200 mg/L (200 ppm) Foron Kahverengi ve 100 mg/L (100 ppm) ve 200 mg/L (200 ppm) Foron Siyah solüsyonlarına ayrıca 50 ppm Foron Kahverengi ile 50 ppm Foron Siyah boyalarının karışımı ve 100 ppm Foron Kahverengi ile 100 ppm Foron Siyah boyalarının karışımına ayrı ayrı 90 g/L sodyum sülfat (Na_2SO_4) ve 20 g/L sodyum karbonat (Na_2CO_3) ilave edilerek 6 farklı özellikte sentetik atıksu elde edilmiştir (Yeşilada vd., 2014a). Daha sonra 19' ar mL hacmindeki bu atıksular otoklavda steril edilmiş ve ardından bu atıksulara aseptik koşullarda *B. megaterium* A1 ve *A. flavithermus* sıvı kültüründen 1'er mL inoküle edilmiştir. Bu işlemleri takiben her iki mezofilik bakteri izolatı da optimum koşullar altında 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası diğer çalışmalarda olduğu gibi örnekler ayrı ayrı olacak şekilde 5'er dakika 6000 rpm'de santrifüj edildikten sonra süpernatant kısımları alınarak 496 nm'de absorbansları ölçülmüştür.

Ölçülen absorbans değerleri SPSS 15.0 paket programında analiz edilip her iki izolata ait minimum, maksimum, ortalama renk giderim değerleri ile standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

3.6. Lakkaz Enziminin Varlığının Araştırılması

Çalışmada test edilen her iki bakteri izolatında hem ekstraselüler hem de intraselüler lakkaz varlığı araştırılmış olup, ekstraselüler lakkaz varlığı boyar maddeler ile bakterilerin inkübasyonunun ardından yapılan santrifüj sonrası elde edilen süpernatandan alınan örneklerin kullanımı ile spektrofotometrik olarak araştırılmıştır.

İntraselüler lakkaz varlığı içinse öncelikle boyar maddeler ile bakterilerin inkübasyonunun ardından yapılan santrifüj sonrası dibe çöken bakteriyel peletler sodyum asetat tamponu ile karıştırılmıştır. Daha sonra örnekler buz içerisinde 1'er dakika aralıklarla toplam 2 dakika ultrasonikasyon işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen homojenat 6000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenmiş ve elde edilen süpernatandan alınan örneklerin kullanımı ile intraselüler lakkaz varlığı spektrofotometrik olarak araştırılmıştır. Hem ekstraselüler hem de intraselüler lakkaz aktivitesi, 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) (ABTS)'nin katyon radikali (ABTS^{•+}) oksidasyonunun 30 °C' de 1 dakika boyunca 420 nm'de spektrofotometrik olarak (Shimadzu-UV-1601, Japonya) izlenmesiyle araştırılmıştır (Yesilada vd., 2014b). Deney karışımı 100 mM sodyum asetat tamponu (C₂H₃NaO₂) (pH 5.0), 0.5 mM ABTS ve uygun bir miktar ham enzim kaynağı içermektedir. Bir ünite lakkaz aktivitesi 30 °C'de 1 dakikada 1 µmol substratı (ABTS) oksitleyen enzim miktarı olarak tanımlanır (Birhanli vd., 2006; Birhanli vd., 2013).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çevre kirliliği kontrolü son yıllarda büyük bir önem kazanmıştır. Alıcı ortama deşarj edilen boyar maddeler, düşük miktarlarda dahi istenmeyen sonuçlara sebebiyet verebilir. Çeşitlerine göre farklılık göstermekle birlikte boyar maddeler sıklıkla mutajenik ve toksik etkiler göstermektedir. Boyar maddelerin tamamı toksik olmasa da çevreye yabancı olduğu için çevre kirleticisi olarak tanımlanmaktadır (Chang vd., 2001).

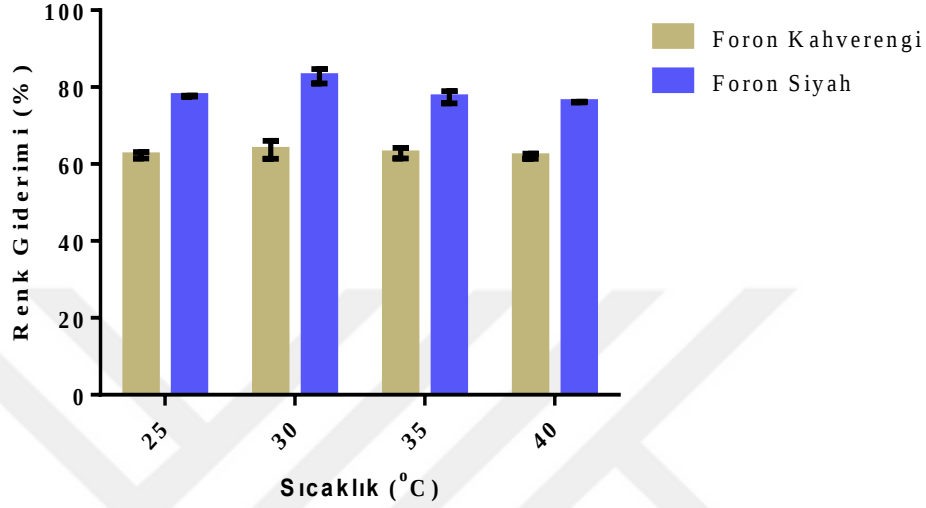
Renk gideriminde kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemlerin her boyar madde için kullanılabilir olmamaları, pahalı olmaları ve çevre için zararlı yan ürün oluşturmalarından dolayı uygulamaları sınırlıdır (Chang vd., 2001; Lucas vd., 2006b). Biyolojik yöntemler ise renk gideriminde kullanılabilecek zengin bir organizma çeşitliliğinin olması, maliyetlerinin düşük olması ve genelde çevreye zararlı toksik madde meydana getirmemelerinden dolayı ön plana çıkmaktadır. Buna göre; son yıllarda yapılan pek çok çalışma çeşitli mikroorganizma türlerinin atıksulardaki birçok boyanın rengini giderebilme potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Bu tez çalışmasında yapılan ön çalışmalar sonucunda test edilen *Bacillus megaterium* A1 ve *Anoxybacillus flavithermus*'un Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının rengini giderme potansiyellerinin çeşitli parametrelere ve inkübasyon koşullarına göre farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Bu nedenle renk giderim çalışmalarında farklı boya konsantrasyonları, ortam pH'ları, inkübasyon sıcaklıkları ve çalkalama hızlarının renk giderim verimi üzerine etkileri araştırılmış olup, saptanan optimum koşullarda test edilen bakteri izolatlarıyla Foron Kahverengi ve Foron Siyahın karışımlarının ve bu boyar maddeler kullanılarak hazırlanan sentetik atıksuların renklerinin giderilip giderilemeyeceği de araştırılmıştır.

4.1. Farklı İnkübasyon Sıcaklıklarının *Bacillus megaterium* A1 ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah Boyalarının Renginin Giderimi Üzerine Etkisi

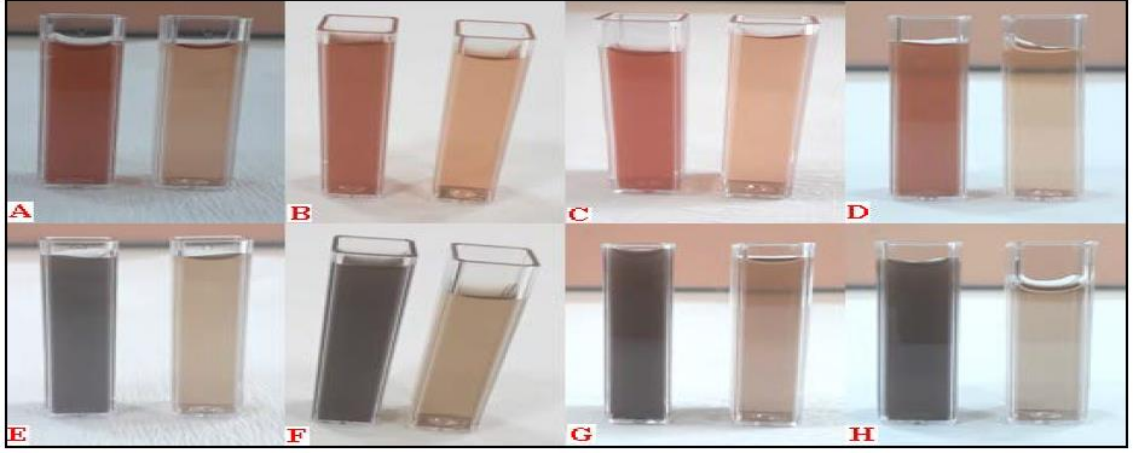
Çalışmalarda kullanılan ve Gram pozitif mezofilik bir bakteri izolatı olan *Bacillus megaterium* A1 test edilen tüm koşullarda 24 saat gibi kısa bir inkübasyon süresinde iki farklı Foron grubu boyanın (Foron Kahverengi ve Foron Siyah) rengini etkili bir şekilde gidermiştir. En yüksek renk giderimi her iki boya için de 30 °C'de

gerçekleşmiştir. En yüksek renk gideriminin gerçekleştiği koşullardaki boya konsantrasyonu 100 ppm, ortam pH'sı pH 7.0 ve çalkalama hızı 150 rpm'dir. Bu koşullarda 24 saatlik inkübasyon sonucunda elde edilen en yüksek renk giderim oranları Foron Kahverengi için %62 iken, Foron Siyah için %83 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Farklı inkübasyon sıcaklıklarında 100 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının *Bacillus megaterium* A1 ile çalkalamalı koşullarda (150 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları

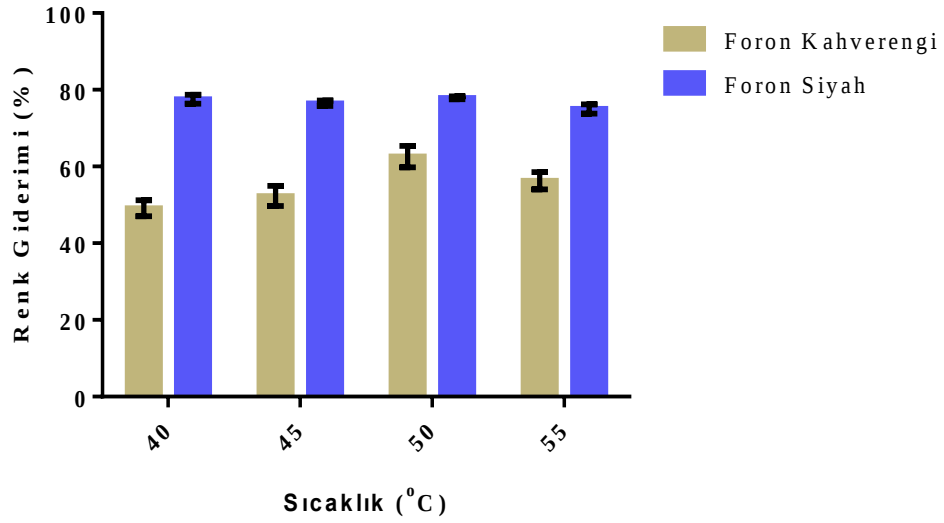
Sıcaklık renk giderim verimi açısından oldukça önemli bir parametre olup, çalışmalarda kullanılan bakteri izolatının mezofilik bir organizma olması sebebiyle inkübasyon sıcaklık aralığı olarak 25-40 °C test edilmiş ve en yüksek renk giderim veriminin elde edildiği sıcaklık derecesinin 30 °C olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1). Spektrofotometrik ölçüm sonuçlarına göre; sıcaklık derecesinde Foron Kahverengi ve Foron Siyahın renk giderim oranları sırasıyla %62 ve %83 olarak belirlenmiştir. Farklı inkübasyon sıcaklıklarında gerçekleşen renk giderimleri makroskobik gözlemlerle de desteklenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *Bacillus megaterium* A1 izolatu ile 100 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverenginin 25 °C (A), 30 °C (B), 35 °C (C) ve 40 °C (D)'de ve aynı konsantrasyondaki Foron Siyahın 25 °C (E), 30 °C (F), 35 °C (G) ve 40 °C (H)'de 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi

4.2. Farklı İnkübasyon Sıcaklıklarının *Anoxybacillus flavithermus* ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah Boyalarının Renginin Giderimi Üzerine Etkisi

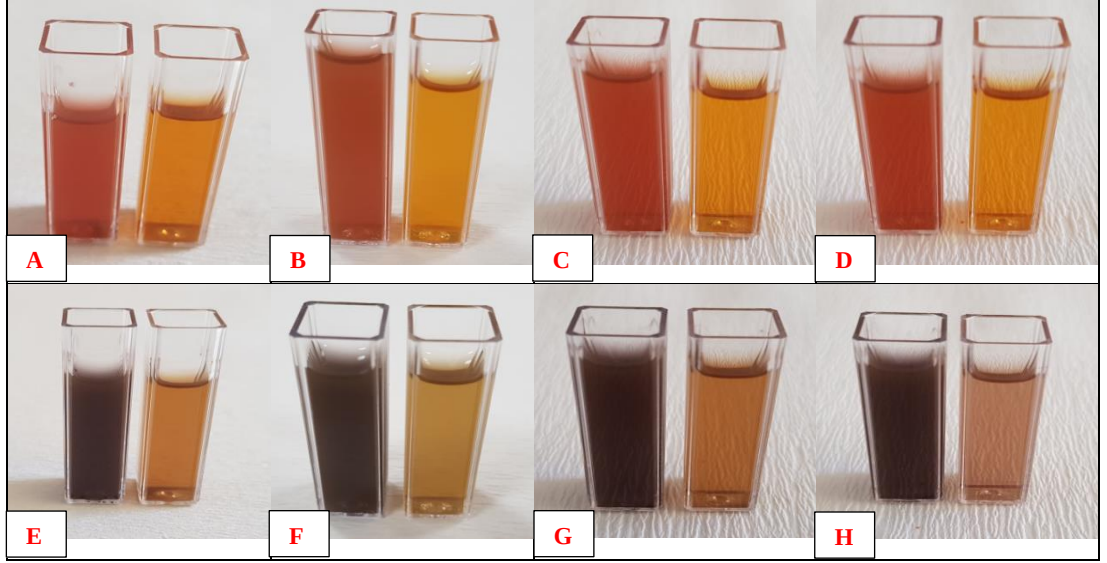
Termofilik *Anoxybacillus flavithermus* test edilen tüm koşullarda yine 24 saat gibi kısa bir inkübasyon süresinde iki farklı Foron grubu boyanın (Foron Kahverengi ve Foron Siyah) rengini etkili bir şekilde gidermiştir. Test edilen her iki boya için de renk gideriminin en yüksek olduğu inkübasyon sıcaklığı 50 °C olarak saptanmış olup, bu çalışmada kullanılan optimum boya konsantrasyonu 200 ppm, ortam pH değeri pH 5.0 ve çalkalama hızı 50 rpm'dir. Test edilen inkübasyon sıcaklıklarında elde edilen renk giderim sonuçları Şekil 4.3'de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. Farklı inkübasyon sıcaklıklarında 200 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının *Anoxybacillus flavithermus* ile çalkalamalı koşullarda (50 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları

Bakteriler ile gerçekleştirilen benzer çalışmalara bakıldığında yüksek oranlarda renk giderimlerinin gerçekleştiği inkübasyon süreleri boya yapısı ve bakteri çeşidine bağlı olarak değişmektedir (Liao vd., 2013).

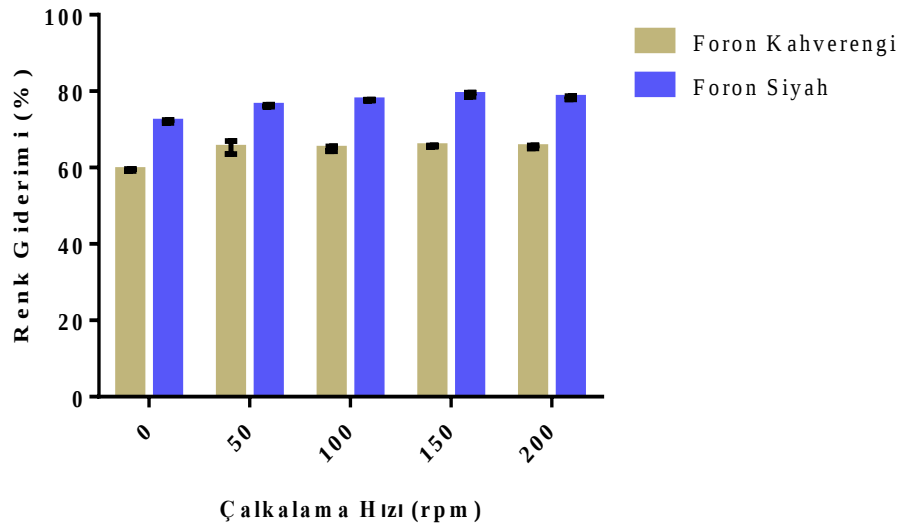
Renk giderim etkinliği açısından inkübasyon sıcaklığı önemli bir parametre olup, bu çalışmada kullanılan bakteri izolatının termofilik bir organizma olması sebebiyle inkübasyon sıcaklık aralığı olarak 40-55 °C test edilmiş ve en yüksek renk giderim veriminin saptandığı sıcaklık derecesi olarak 50 °C tespit edilmiştir (Şekil 4.3). Spektrofotometrik ölçüm sonuçlarına göre; bu inkübasyon sıcaklık derecesinde Foron Kahverengi ve Foron Siyahın renk giderim oranları sırasıyla %63 ve %78 olarak belirlenmiştir. Farklı inkübasyon sıcaklıklarında gerçekleşen renk giderimleri yapılan makroskopik gözlemlerle de desteklenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. *Anoxybacillus flavithermus* izolatu ile 200 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverenginin 40 °C (A), 45 °C (B), 50 °C (C) ve 55 °C (D)'de ve aynı konsantrasyondaki Foron Siyahın 40 °C (E), 45 °C (F), 50 °C (G) ve 55 °C (H)'de 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi

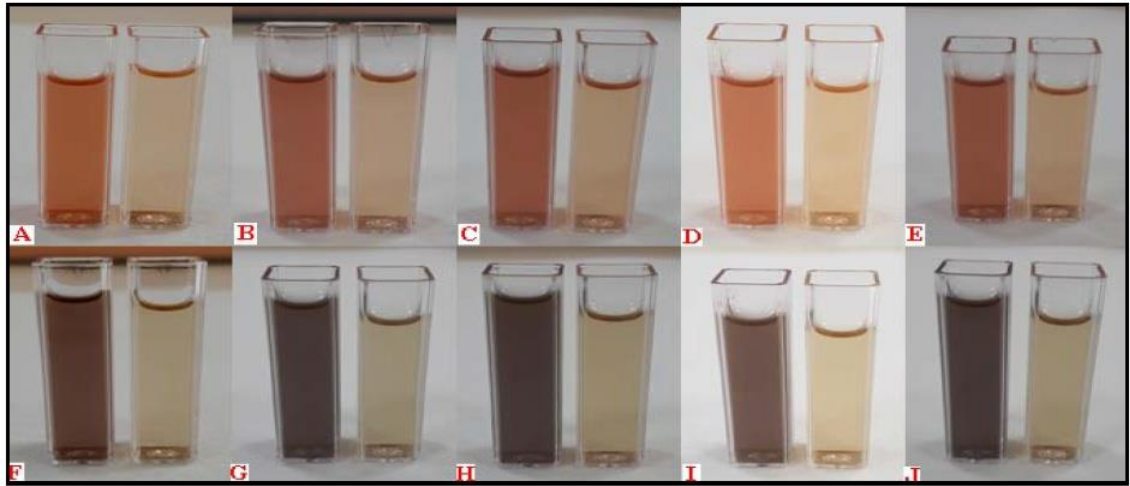
4.3. Farklı Çalkalama Hızlarının *Bacillus megaterium* A1 ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah Boyalarının Renginin Giderimi Üzerine Etkisi

Yapılan çalışmalar neticesinde test edilen mezofilik bakteri izolatu olan *Bacillus megaterium* A1'in Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının rengini giderme potansiyellerinin inkübasyon koşullarına göre farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. *Bacillus megaterium* A1 için diğer koşullar optimum olacak şekilde test edilen iki boyar madde statik (0 rpm) ve 50-200 rpm gibi çeşitli çalkalama hızlarında *Bacillus megaterium* A1 ile 24 saat inkübe edilmiş ve daha sonra elde edilen renk giderim oranları kontrole kıyasla spektrofotometrik olarak saptanmıştır. Buna göre; hem Foron Kahverengi hem de Foron Siyah boyalarının en yüksek renk giderim oranları 150 rpm çalkalama hızında sırasıyla %65 ve %79 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Foron Kahverengi ve Foron Siyah boya larının *Bacillus megaterium* A1 ile 30 °C’de farklı çalkalama hızlarında (0-200 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları

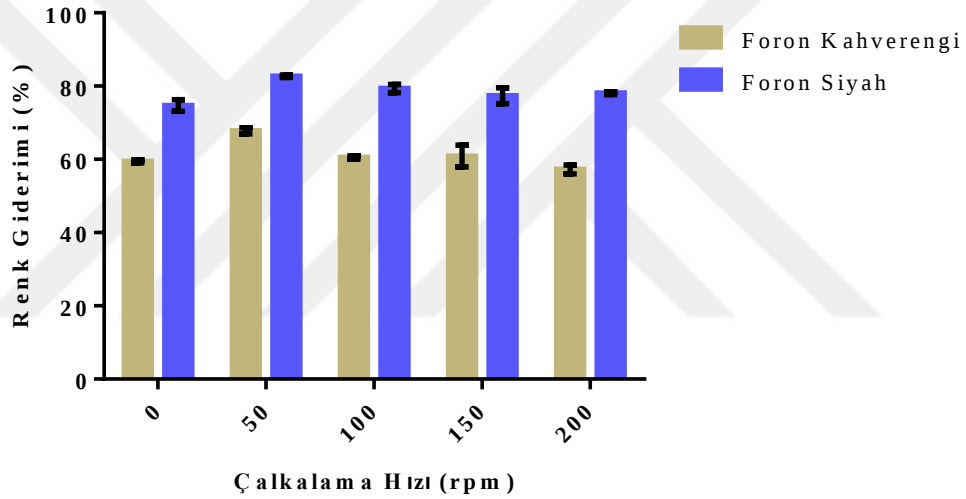
Spektrofotometrik ölçümlerden elde edilen renk giderim oranlarına ek olarak makroskobik gözlemler sonucunda tüm çalkalama hızlarında belirgin renk değişimlerinin olduğu makroskobik olarak da gözlenmektedir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. *Bacillus megaterium* A1 izolatı ile 100 ppm konsantrasyonda Foron Kahverenginin statik (A), 50 rpm (B), 100 rpm (C), 150 rpm (D) ve 200 rpm (E) ve aynı konsantrasyonda Foron Siyahın statik (F), 50 rpm (G), 100 rpm (H), 150 rpm (I) ve 200 rpm (J)’de 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi

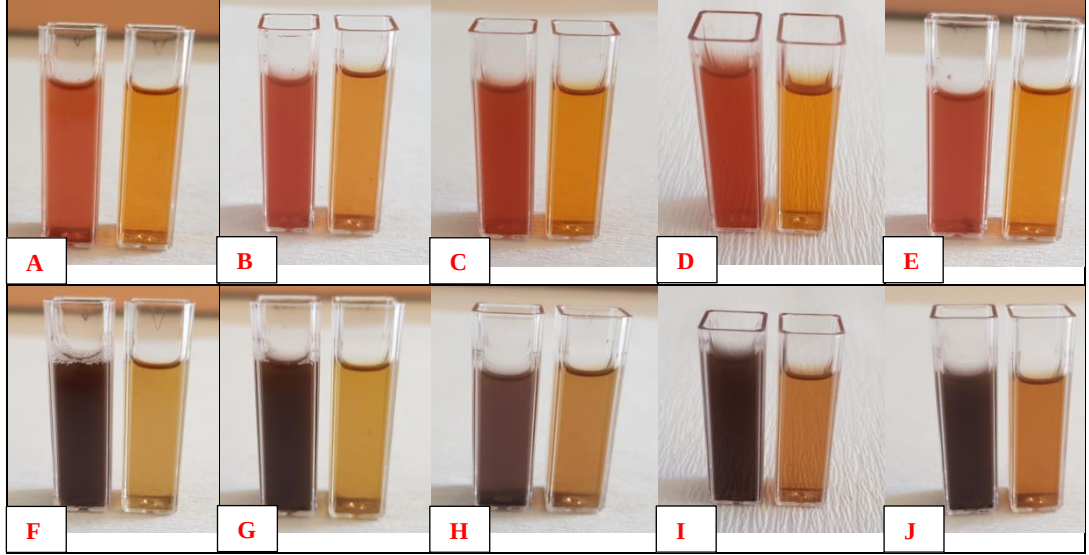
4.4. Farklı Çalkalama Hızlarının *Anoxybacillus flavithermus* ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah Boyalarının Renginin Giderimi Üzerine Etkisi

Anoxybacillus flavithermus ile kullanılan boyaların renginin gideriminde çalkalama hızının rolünü belirlemek amacıyla farklı çalkalama hızları test edilmiştir. Bu amaç doğrultusunda kullanılan bakteri (*Anoxybacillus flavithermus*) diğer koşullar optimum olacak şekilde statik ve 50-200 rpm gibi çeşitli çalkalama hızlarında kullanılan boyar maddeler ile 24 saat inkübe edilmiş ve daha sonra renk giderim oranları spektrofotometrik olarak saptanmıştır. Buna göre; hem Foron Kahverengi hem de Foron Siyah boyalarının en yüksek renk giderim oranları 150 rpm çalkalama hızında sırasıyla %67 ve %82 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının *Anoxybacillus flavithermus* ile 50 °C’de farklı çalkalama hızlarında (0-200 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları

Spektrofotometrik verilere ek olarak makroskobik gözlemler sonucunda tüm çalkalama hızlarında her iki boyanın da verimli bir şekilde rengini giderildiği makroskobik gözlemler de açık bir şekilde görülmektedir (Şekil 4.8).



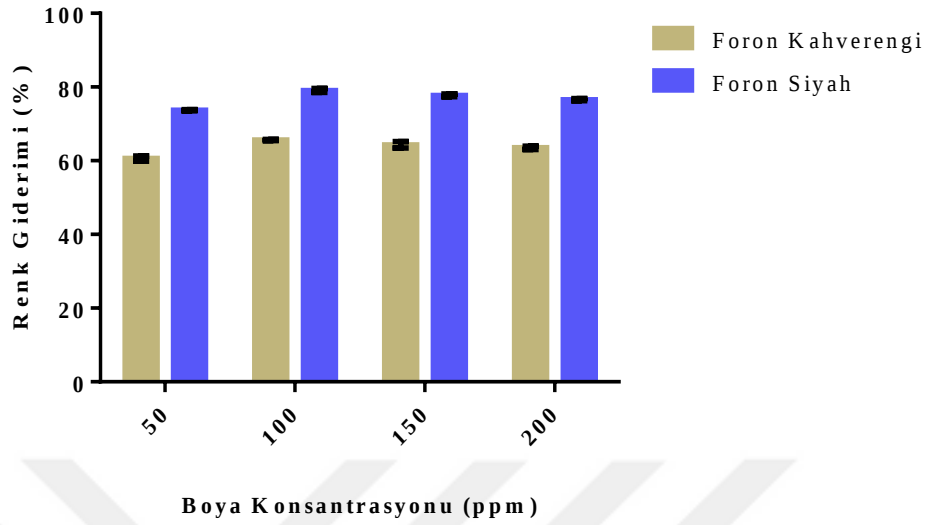
Şekil 4.8. *Anoxybacillus flavithermus* ile 200 ppm konsantrasyonda Foron Kahverenginin statik (A), 50 rpm (B), 100 rpm (C), 150 rpm (D) ve 200 rpm (E) ve aynı konsantrasyonda Foron Siyahın statik (F), 50 rpm (G), 100 rpm (H), 150 rpm (I) ve 200 rpm (J)'de 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi

Yapılan çalışmada statik ve çalkalamalı koşullar altında hem mezofilik bakteri izolatı *Bacillus megaterium* A1 hem de termofilik bakteri izolatı *Anoxybacillus flavithermus* ile elde edilen renk giderim oranları birbirine yakın olsa da çalkalamalı koşullardaki renk giderim veriminin statik koşullardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle kullanılan boyar maddeler ile bakteri hücrelerinin daha iyi temas edeceği ve böylece daha fazla renk gideriminin gerçekleşebileceği düşüncesi ile çalışmalara çalkalamalı koşullarda devam edilmiştir.

4.5. *Bacillus megaterium* A1 ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah Boyalarının Renginin Giderimi Üzerine Farklı Boyar Madde Konsantrasyonu Etkisi

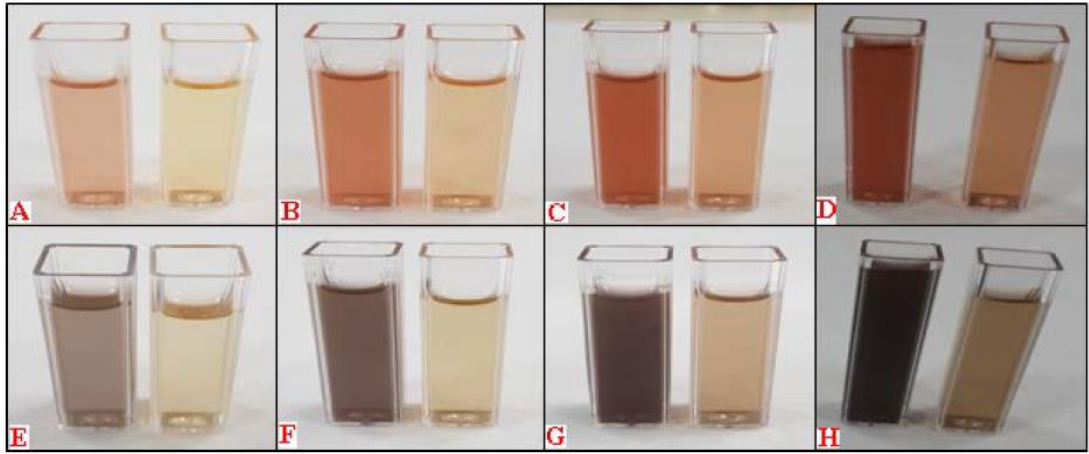
Çalışmanın bu aşamasında *Bacillus megaterium* A1 ile Foron Kahverengi ve Foron Siyahın renginin giderimi üzerine boyar madde konsantrasyonu etkisinin saptanması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda test edilen mezofilik bakteri izolatı 50-200 ppm konsantrasyonlardaki Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının optimum sıcaklık (30 °C) ve çalkalama hızında (150 rpm) 24 saat inkübasyonu sonucu elde edilen spektrofotometrik renk giderim sonuçları Şekil 4.9' da gösterilmiş olup, kontrole kıyasla gerçekleşen belirgin renk değişimleri makroskobik gözlemler de

desteklenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.9. Çeşitli konsantrasyonlarda Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının *Bacillus megaterium* A1 ile 30 °C’de çalkalamalı koşullarda (150 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları

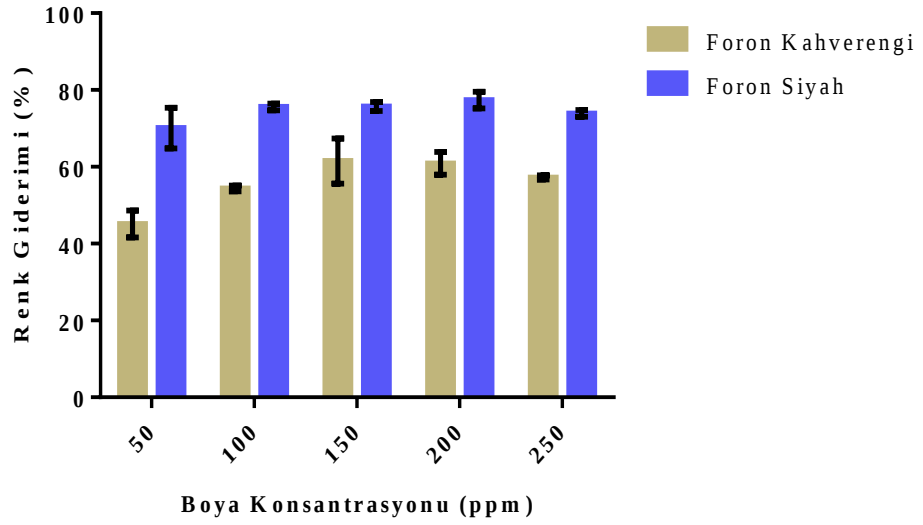
Mezofilik bakteri izolatı *Bacillus megaterium* A1 ile optimal koşullar altında farklı konsantrasyonlarda boyar maddeler ile inkübasyon sonucunda en iyi renk giderimi her iki boya için de 100 ppm konsantrasyonda gerçekleşmiştir (Şekil 4.9). *Bacillus megaterium* A1 ile inkübasyon sonucunda spektrofotometrik verilere ek olarak makroskobik gözlemler sonucunda da tüm konsantrasyonlarda belirgin bir renk değişiminin olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. *Bacillus megaterium* A1 ile 50 ppm (A), 100 ppm (B), 150 ppm (C), 200 ppm (D) konsantrasyonlardaki Foron Kahverengi ve 50 ppm (E), 100 ppm (F), 150 ppm (G), 200 ppm (H) konsantrasyonlardaki Foron Siyahın optimum inkübasyon sıcaklığında (30 °C) ve çalkalamalı koşullarda (150 rpm) 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi

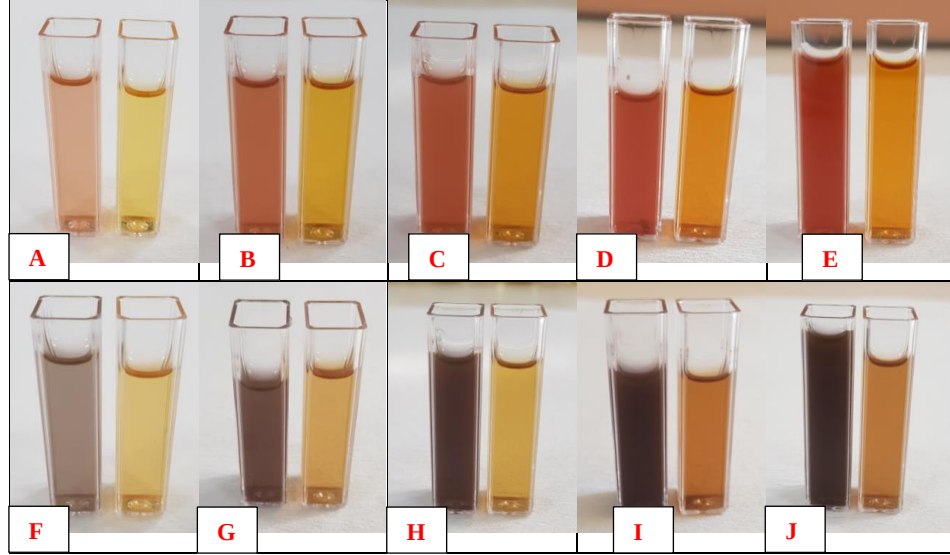
4.6. *Anoxybacillus flavithermus* ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah Boyalarının Renginin Giderimi Üzerine Farklı Boyar Madde Konsantrasyonu Etkisi

Bu çalışmada test edilen diğer bakteri izolatu olan *Anoxybacillus flavithermus*'un Foron Kahverengi ve Foron Siyahın renginin giderim aktivitesi üzerine boyar madde konsantrasyonu etkisinin saptanması amaçlanmıştır. Buna göre; 50-250 ppm konsantrasyonlardaki boyaların optimum sıcaklıkta (50 °C) ve çalkalama hızında (50 rpm) 24 saat inkübe edilmiş ve elde edilen spektrofotometrik renk giderim sonuçları Şekil 4.11'de, makroskobik görüntüler ise Şekil 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.11. Çeşitli konsantrasyonlarda Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyaalarının *Anoxybacillus flavithermus* ile 50 °C’de çalkalamalı koşullarda (50 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları

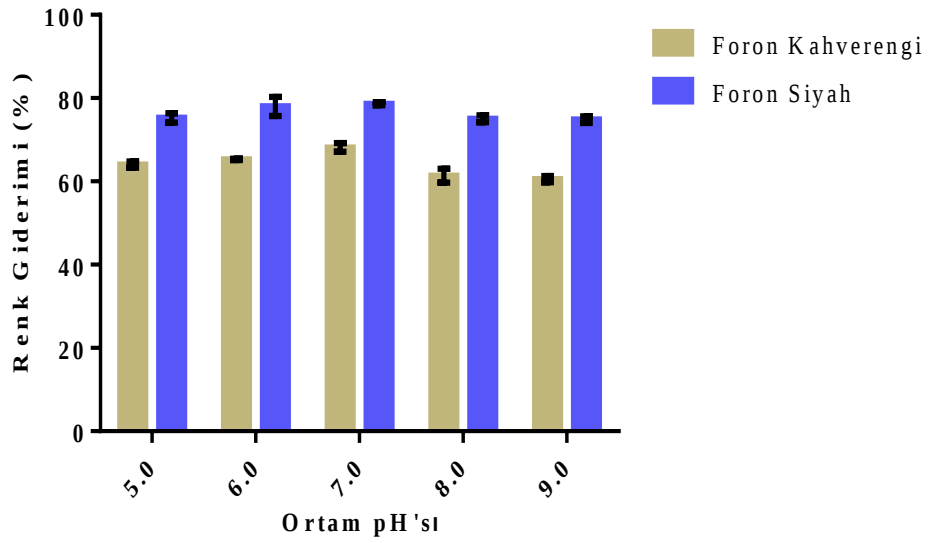
Termofilik bakteri *Anoxybacillus flavithermus* ile optimal koşullar altında gerçekleştirilen optimum boya konsantrasyonu testleri sonucunda en iyi renk giderimi 200 ppm boya konsantrasyonda gerçekleşmiştir. Ancak hem spektrofotometrik veriler hem de makroskobik görüntüler incelendiğinde *Anoxybacillus flavithermus*’un tüm konsantrasyonlarda 24 saat gibi kısa inkübasyon süresinde etkili renk giderimleri gerçekleştirdiği görülmektedir.



Şekil 4.12. *Anoxybacillus flavithermus* ile 50 ppm (A), 100 ppm (B), 150 ppm (C), 200 ppm (D), 250 ppm (E) konsantrasyonlardaki Foron Kahverengi ve 50 ppm (F), 100 ppm (G), 150 ppm (H), 200 ppm (I), 250 ppm (J) konsantrasyonlardaki Foron Siyahın optimum inkübasyon sıcaklığında (50 °C) ve çalkalamalı koşullarda (50 rpm) 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi

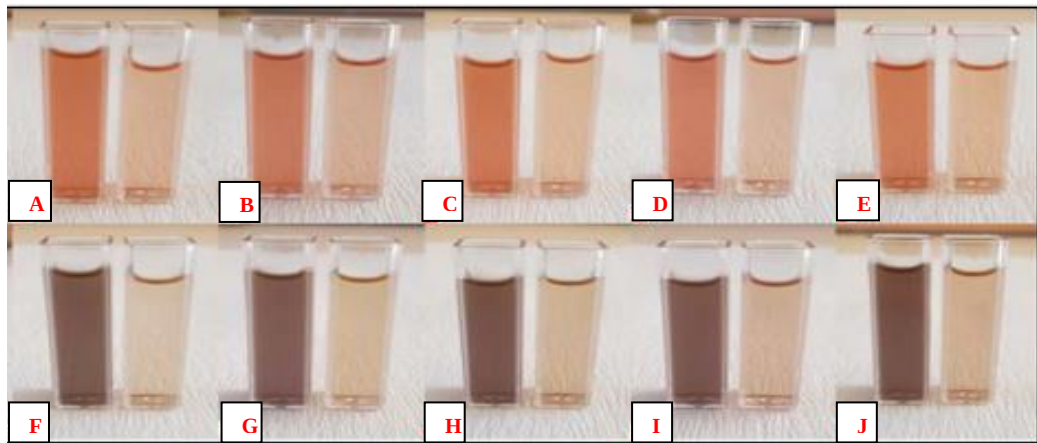
4.7. *Bacillus megaterium* A1 ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah Boyalarının Renginin Giderimi Üzerine Farklı Ortam pH'larının Etkisi

Farklı ortam pH'larının *Bacillus megaterium* A1'in renk giderim potansiyeli üzerine etkisini araştırmak amacıyla test edilen Foron grubu boyaları içeren NB ortamlarının pH'ları pH 5.0-9.0'a ayarlanmış ve bu ortamlarda *Bacillus megaterium* A1 24 saat süreyle optimum koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen verilere göre her iki boya için de en yüksek renk giderim oranı pH 7.0'a ayarlanmış ortamda saptanmıştır. Test edilen diğer ortam pH'larında da etkili renk giderimleri gerçekleşmiştir (Şekil 4.13). Şekil 4.13'te de görülebileceği gibi Foron Kahverenginin en yüksek renk giderim oranı %68 iken, Foron Siyahın en yüksek renk giderim oranı %78'dir.



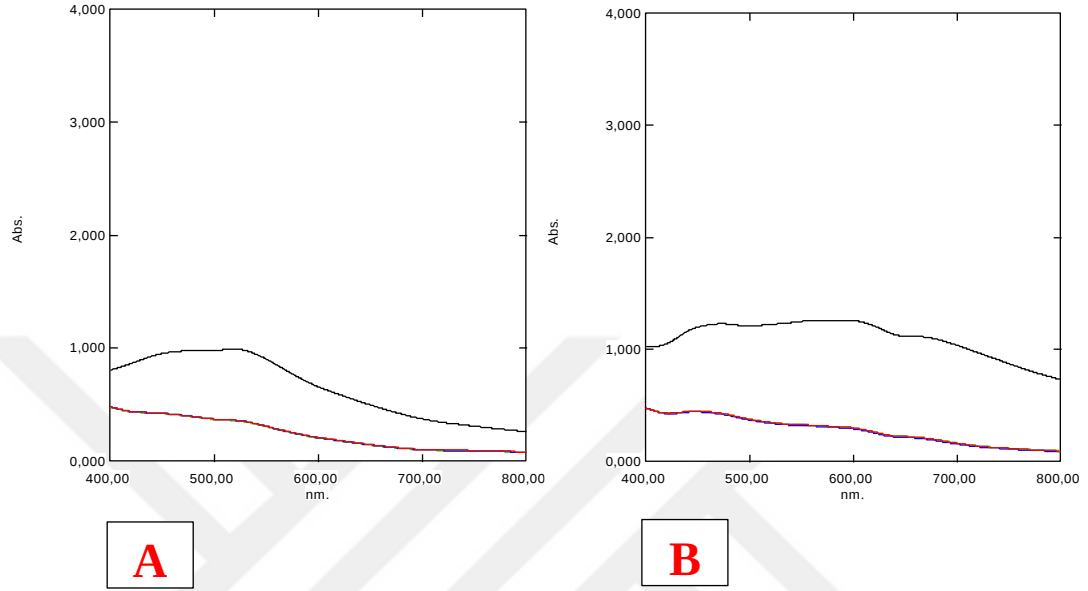
Şekil 4.13. Farklı pH'lardaki Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyaalarının *Bacillus megaterium* A1 ile 100 ppm konsantrasyonda, 30 °C'de çalkalamalı koşullarda (150 rpm) 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları

Mezofilik bakteri *Bacillus megaterium* A1 ile farklı pH'lara ayarlanmış boyar madde içeren ortamlarda inkübasyon sonucu en iyi renk giderimi pH 7.0'a ayarlanmış ortamda gerçekleşmiştir. Spektrofotometrik verilere ek olarak makroskobik gözlemler sonucunda da *Bacillus megaterium* A1 ile tüm pH değerlerinde belirgin renk değişimlerinin olduğu saptanmıştır (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. *Bacillus megaterium* A1 izolatu ile 100 ppm konsantrasyondaki pH 5.0 (A), pH 6.0 (B), pH 7.0 (C), pH 8.0 (D) ve pH 9.0 (E) olan Foron Kahverenginin ve aynı konsantrasyondaki pH 5.0 (F), pH 6.0 (G), pH 7.0 (H), pH 8.0 (I) ve pH 9.0 (J) olan Foron Siyahın 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi

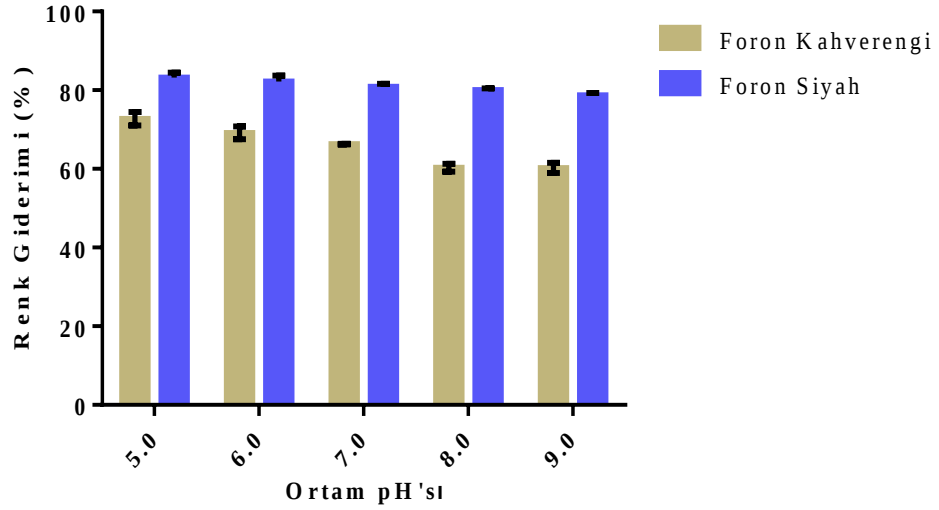
Yapılan çalışmalara ilaveten *Bacillus megaterium* A1 izolatı ile optimum koşullarda 24 saat muamele edilen 100 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyaların renginin giderimi spektrofotometrik tarama ile de gösterilmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. *Bacillus megaterium* A1 izolatı ile 100 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverengi (A) ve Foron Siyahın (B) optimum koşullarda 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişiminin spektrofotometrik tarama ile gösterimi

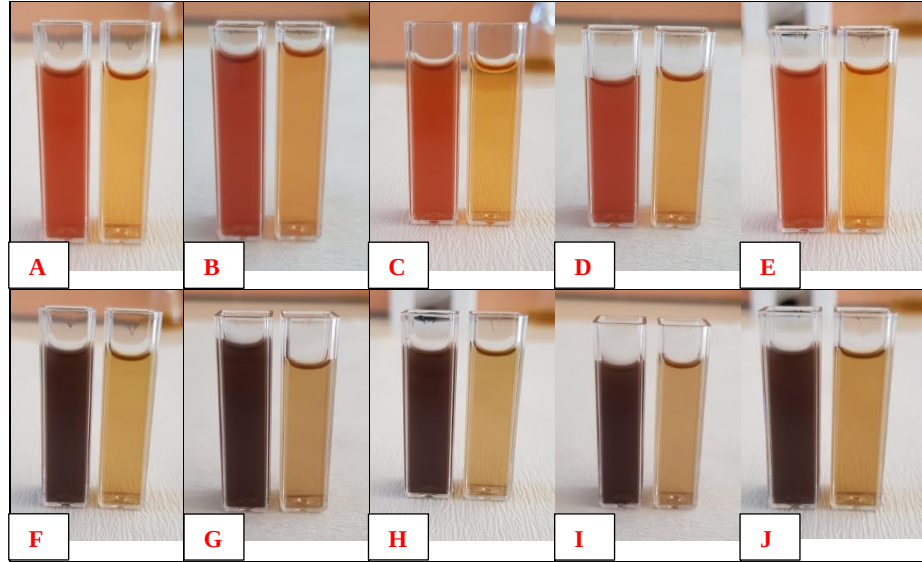
4.8. *Anoxybacillus flavithermus* ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah Boyalarının Renginin Giderimi Üzerine Farklı Ortam pH'larının Etkisi

Farklı ortam pH'larının *Anoxybacillus flavithermus*'un renk giderim yeteneği üzerine etkisini araştırmak amacıyla boyar madde içeren NB ortamlarının pH'ları pH 5.0-9.0'a ayarlanmış ve *Anoxybacillus flavithermus* farklı pH'lara ayarlanmış ortamlarda optimum koşullarda 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Elde edilen verilere göre her iki boya için de en yüksek renk giderim oranı pH 5.0'de saptanmıştır. Şekil 4.16'dan da görülebileceği gibi Foron Kahverenginin en yüksek renk giderim oranı %72 iken, Foron Siyahın en yüksek renk giderim oranı %83' tür.



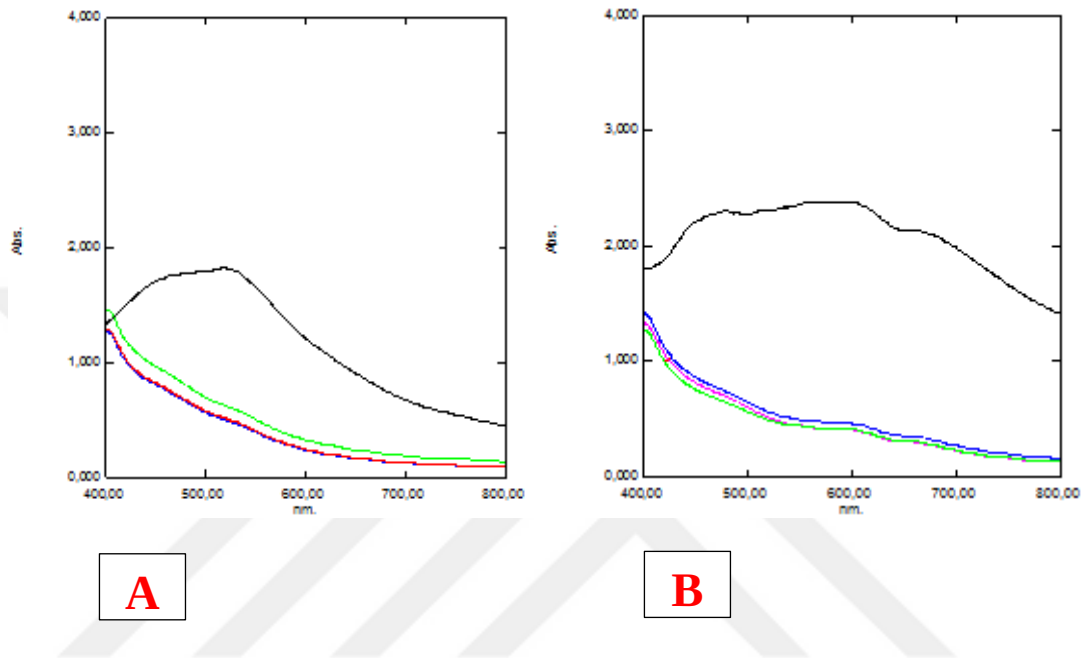
Şekil 4.16. Farklı pH'larda, 200 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının *Anoxybacillus flavithermus* ile 50 °C ve 50 rpm'de 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları

Test edilen tüm pH'lardaki ortamların *Anoxybacillus flavithermus* ile inkübasyonu sonucunda spektrofotometrik renk giderim verilerine ek olarak makroskobik gözlemler sonucunda da belirgin renk giderimleri gerçekleşmiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. *Anoxybacillus flavithermus* izolatu ile 200 ppm konsantrasyondaki pH 5.0 (A), pH 6.0 (B), pH 7.0 (C), pH 8.0 (D) ve pH 9.0 (E) olan Foron Kahverenginin ve aynı konsantrasyondaki pH 5.0 (F), pH 6.0 (G), pH 7.0 (H), pH 8.0 (I) ve pH 9.0 (J) olan Foron Siyahın 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi

Yapılan çalışmalara ek olarak *Anoxybacillus flavithermus* izolatu ile optimum koşullarda 24 saat muamele edilen 200 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyaların renginin giderimi spektrofotometrik tarama ile de saptanmıştır (Şekil 4.18).

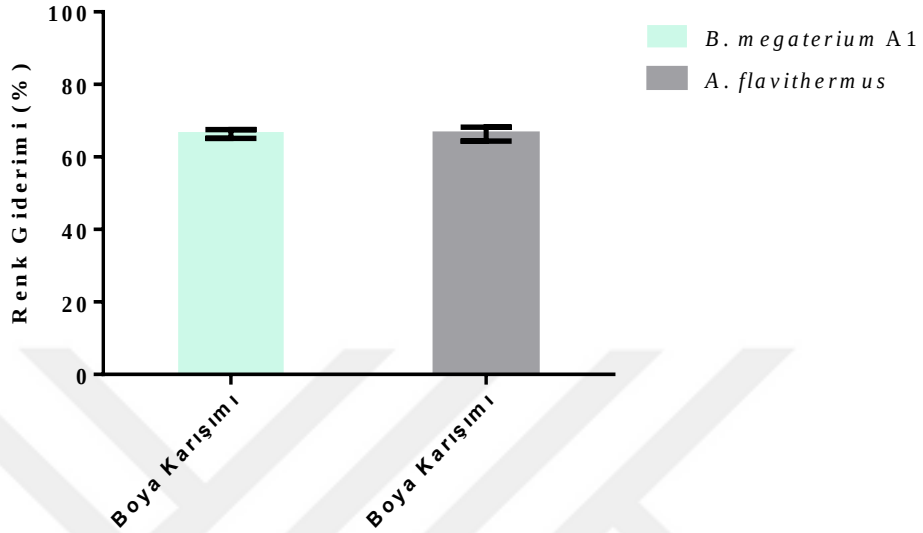


Şekil 4.18. *Anoxybacillus flavithermus* izolatu ile 200 ppm konsantrasyondaki Foron Kahverengi (A) ve Foron Siyahın (B) optimum koşullarda 24 saat muamelesi sonucu gerçekteşen renk değişiminin spektrofotometrik tarama ile gösterimi

4.9. *Bacillus megaterium* A1 ve *Anoxybacillus flavithermus* ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah Boyalarının Karışımının Renginin Giderimi

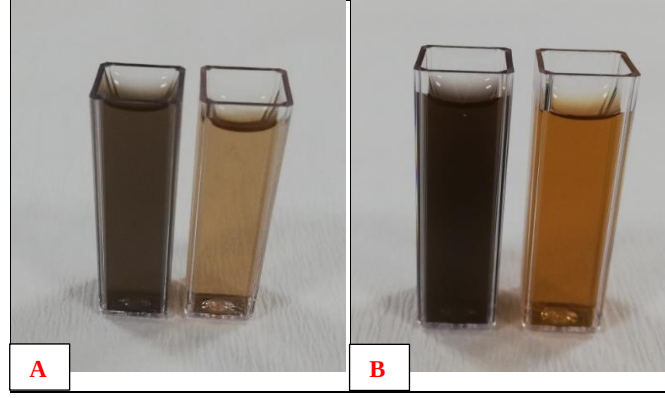
Optimizasyon çalışmaları sonucunda renk gideriminde en uygun koşulların tespit edilmesinin ardından hem *Bacillus megaterium* A1 hem de *Anoxybacillus flavithermus* ayrı ayrı iki boyanın karışımının renginin gideriminde kullanılmıştır. *Bacillus megaterium* A1 izolatu 50 ppm Foron Kahverengi ve 50 ppm Foron Siyah içeren boya karışımı ile optimum koşullarda (30 °C, 150 rpm ve pH 7.0) 24 saat süresince inkübe edilmiştir. *Anoxybacillus flavithermus* ise 100 ppm Foron Kahverengi ve 100 ppm Foron Siyah içeren boya karışımı ile optimum koşullarda (50 °C, 50 rpm ve pH 5.0) 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Yapılan ölçümler 24 saat gibi kısa bir inkübasyon süresinde iki farklı Foron grubu boyanın karışımının da

renginin etkili bir şekilde giderildiğini göstermiştir. Ancak renk giderim sonuçları her iki bakterinin de tek bir boya içeren solüsyonlara kıyasla boya karışımlarının rengini biraz daha düşük oranla giderdiğini göstermektedir (Şekil 4.19).



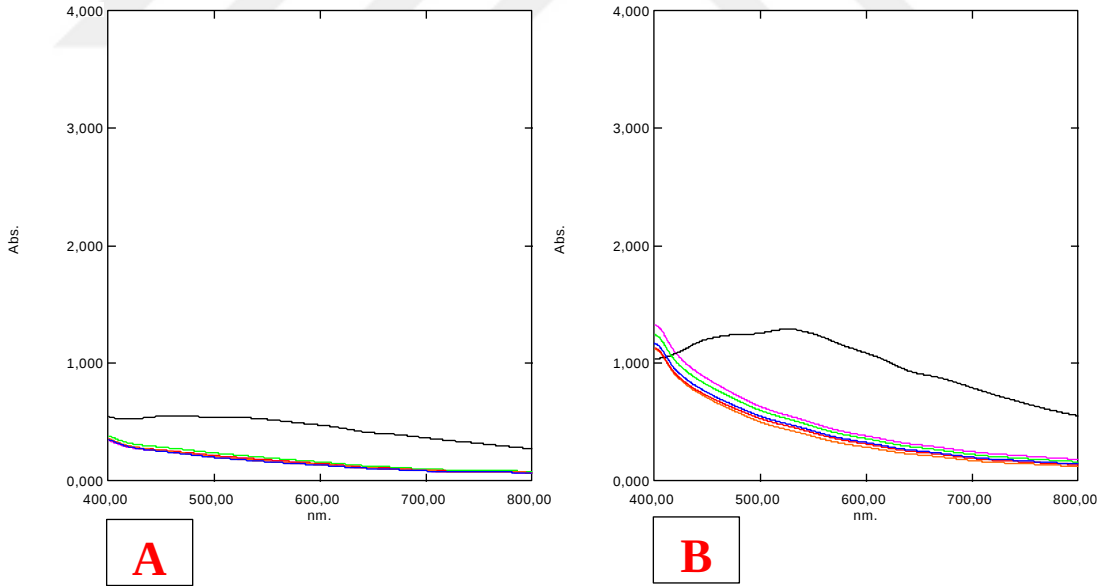
Şekil 4.19. Farklı konsantrasyonlardaki Foron Kahverengi (50 ppm) ve Foron Siyah (50 ppm) boyalarının *Bacillus megaterium* A1 ile toplam 100 ppm konsantrasyonda ve Foron Kahverengi (100 ppm) ve Foron Siyah (100 ppm) boyalarının *Anoxybacillus flavithermus* ile toplamda 200 ppm konsantrasyonda optimum koşullarda 24 saatlik inkübasyonu sonucu elde edilen renk giderim oranları

Mezofilik bakteri izolatu *Bacillus megaterium* A1 ile Foron Kahverengi ve Foron Siyahın karışımının optimum koşullarda 24 saat inkübasyonu sonucunda elde edilen renk giderimi %62 iken, termofilik bakteri izolatu *Anoxybacillus flavithermus* ile aynı boyaların karışımının optimum koşullarda 24 saat inkübasyonu sonucunda elde edilen renk giderimi %63 olarak belirlenmiştir. Spektrofotometrik verilere ek olarak makroskobik gözlemler sonucunda her iki bakteri izolatıyla da belirgin renk giderimlerinin olduğu Şekil 4.20’de gösterilmiştir.



Şekil 4.20. *Bacillus megaterium* A1 ile 50 ppm Foron Kahverengi ve 50 ppm Foron Siyah (A) boyalarının karışımının optimum koşullarda (30 °C, 150 rpm ve pH 7.0), *Anoxybacillus flavithermus* ile 100 ppm Foron Kahverengi ve 100 ppm Foron Siyah (B) boyalarının karışımının optimum koşullarda (50 °C, 50 rpm ve pH 5.0) 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişimi

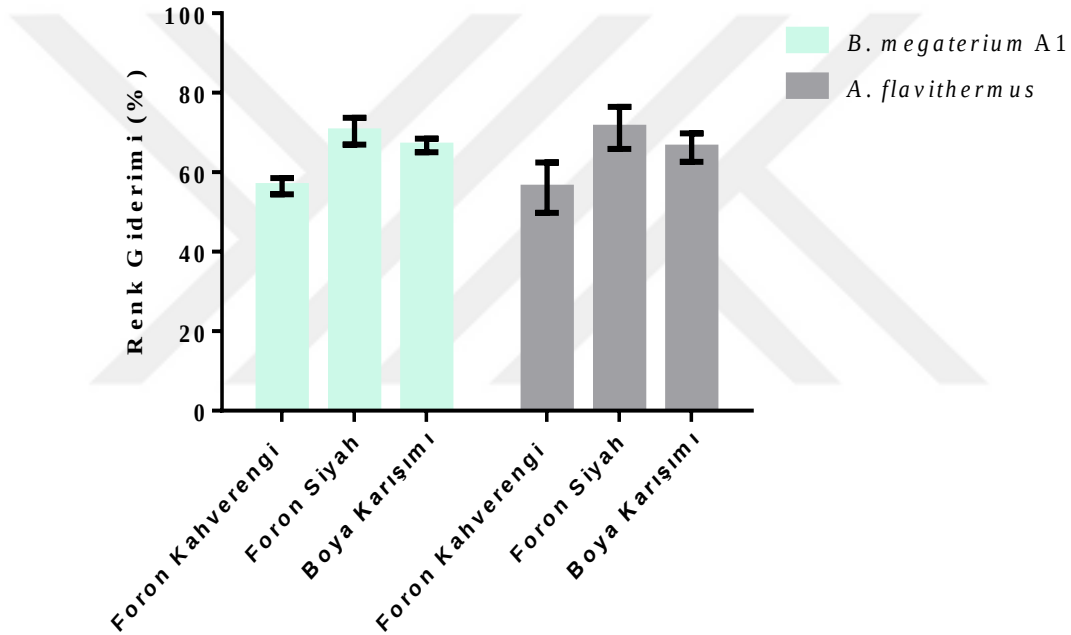
Yapılan çalışmalara ilaveten *Bacillus megaterium* A1 ve *Anoxybacillus flavithermus* izolatlarının ayrı ayrı kullanımı ile Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının karışımının renginin giderimi spektrofotometrik tarama ile de Şekil 4.21’de gösterilmiştir.



Şekil 4.21. 50 ppm Foron Kahverengi ve 50 ppm Foron Siyah (B) boyalarının karışımının *Bacillus megaterium* izolatı A1 (A) ve 100 ppm Foron Kahverengi ve 100 ppm Foron Siyah boyalarının karışımının *Anoxybacillus flavithermus* izolatı (B) ile optimum koşullarda 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk gideriminin spektrofotometrik tarama ile gösterimi

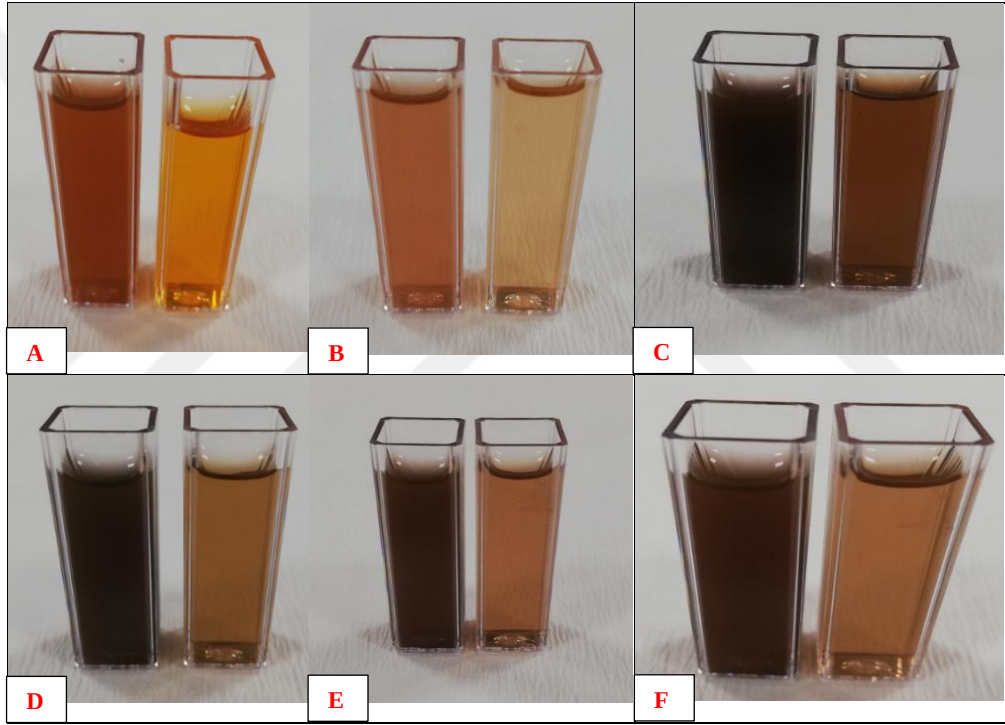
4.10. Sentetik Atıksu Oluşturularak Atıksuların Renk Gideriminin Araştırılması

Bu çalışma kapsamında 100 mg/L (100 ppm) boya solüsyonu (Foron Kahverengi ve Foron Siyah), 90 g/L sodyum sülfat (Na_2SO_4) ve 20 g/L sodyum karbonat (Na_2CO_3) belirli oranlarda karıştırılarak sentetik atıksu elde edilmiştir. Sentetik atıksuların arıtılmasında *Anoxybacillus flavithermus*, Foron Kahverengi kullanılarak hazırlanan sentetik atıksuyun rengini %55, Foron Siyah kullanılarak hazırlanan sentetik atıksuyun rengini %67, Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının karışımı ile hazırlanan sentetik atıksuyun rengini ise %65 oranında gidermiştir (Şekil 4.22).



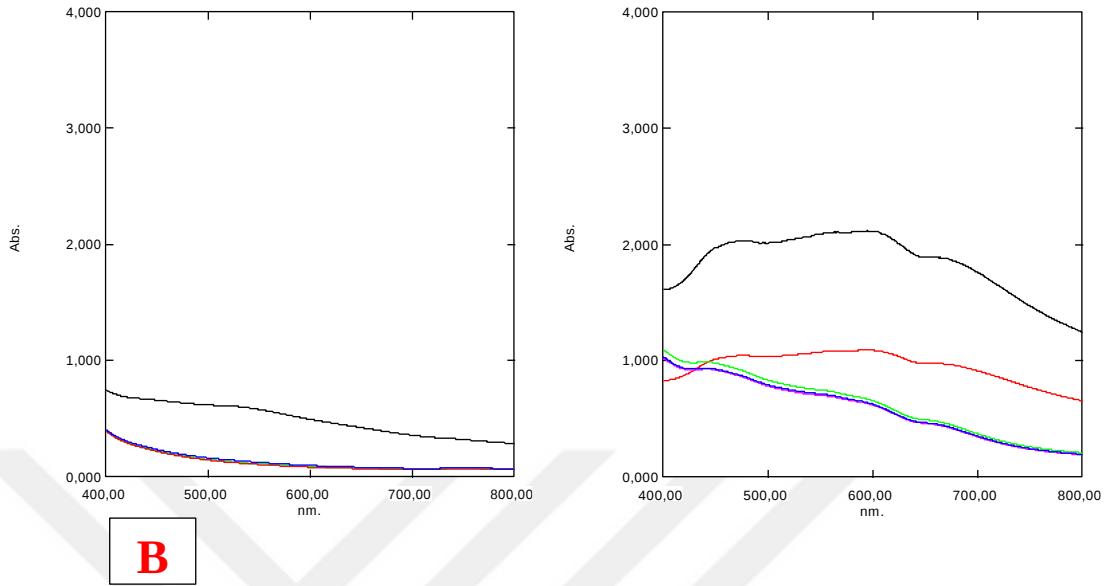
Şekil 4.22. *Bacillus megaterium* A1 ile 24 saatlik inkübasyon sonucunda farklı konsantrasyonlarda ve ayrı ayrı Foron Kahverengi (100 ppm), Foron Siyah (100 ppm) ve Foron Kahverengi (50 ppm) ile Foron Siyahın (50 ppm) karıştırılmasıyla oluşturulan sentetik atıksuların optimum koşullarda renginin giderimi. *Anoxybacillus flavithermus* ile 24 saatlik inkübasyon sonucunda farklı konsantrasyonlarda ve ayrı ayrı Foron Kahverengi (200 ppm), Foron Siyah (200 ppm) ve Foron Kahverengi (100 ppm) ile Foron Siyahın (100 ppm) karıştırılmasıyla oluşturulan sentetik atıksuların optimum koşullarda renginin giderimi

Mezofilik bakteri *Bacillus megaterium* A1 ile sentetik atıksuyu arıtımında ise; Foron Kahverengi kullanılarak hazırlanan sentetik atıksuyun %60, Foron Siyah kullanılarak hazırlanan sentetik atıksuyun %74 oranında ve Foron Kahverengi ve Foron Siyah boyalarının belli oranlarda karışımı ile hazırlanan sentetik atıksuyun yaklaşık %68 oranında renk giderimi gerçekleşmiştir. Mezofilik bakterinin sentetik atıksu arıtımının, termofilik bakterinin arıtım sonuçlarından daha iyi olduğu tesit edilmiştir. Spektrofotometrik verilere ek olarak makroskobik gözlemler sonucunda da sentetik atıksu arıtımında; hem *Anoxybacillus flavithermus* hem de *Bacillus megaterium* A1 bakterileri ile muamele sonucunda belirgin renk değişimlerinin olduğu gözlemlenmektedir (Şekil 4.23).



Şekil 4.23. Foron Kahverengi (200 ppm) ile hazırlanan sentetik atıksuyun *Anoxybacillus flavithermus* ile (A), Foron Kahverengi (100 ppm) ile hazırlanan sentetik atıksuyun *Bacillus megaterium* A1 ile (B), Foron Kahverengi (100 ppm) ve Foron Siyah (100 ppm) karıştırılarak hazırlanan sentetik atıksuyun *Anoxybacillus flavithermus* ile (C), Foron Siyah (200 ppm) ile hazırlanan sentetik atıksuyun *Anoxybacillus flavithermus* ile (D), Foron Siyah (100 ppm) ile hazırlanan sentetik atıksuyun *Bacillus megaterium* A1 ile (E) ve Foron Kahverengi (50 ppm) ve Foron Siyah (50 ppm) karıştırılarak hazırlanan sentetik atıksuyun *Bacillus megaterium* A1 ile renginin giderimi (F)

Yapılan çalışmalara ek olarak sentetik atıksuların renk giderim sonuçları spektrofotometrik taramalar ile de saptanmıştır (Şekil 4.24).



Şekil 4.24. *Bacillus megaterium* A1 ile Foron Kahverengi (50 ppm) ve Foron Siyah (50 ppm) boyalarının karıştırılmasıyla hazırlanan sentetik atıksuyun optimum koşullarda 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişiminin spektrofotometrik tarama ile gösterimi (A). *Anoxybacillus flavithermus* izolatu ile Foron Kahverengi (100 ppm) ve Foron Siyah boyalarının (100 ppm) karıştırılmasıyla hazırlanan sentetik atıksuyun optimum koşullarda 24 saat muamelesi sonucu gerçekleşen renk değişiminin spektrofotometrik tarama ile gösterimi (B)

5. SONUÇ VE ÖNERİ

Bu çalışmadan elde edilen verilere göre; pek çok bakteri izolatu kullanılarak çeşitli konsantrasyonlardaki farklı tekstil boyaları çeşitli inkübasyon koşullarında kısa sürede, etkili ve ekonomik bir şekilde yıkıma uğratılabilir. Özellikle boya fabrikaları ve tekstil fabrikalarından çevreye salınan atıksularda problem oluşturan boyar maddelerin renkleri bu yıkım sonucunda ya tamamen ya da yüksek oranda giderilebilir. Mevcut çalışmanın aerobik koşullarda yürütülmesi anaerobik boyar madde yıkımı esnasında oluşabilecek toksik aromatik aminlerin oluşmaması açısından oldukça önemlidir. Ayrıca renk giderim koşullarının optimizasyonunun yapılması elde edilebilecek renk giderim aktivitesinin artırılması açısından da son derece gerekli bir durumdur. Bu çalışma; renk giderimi açısından özgül mikroorganizmalarla yapılacak uygulamaların ekonomik ve etkili bir arıtım sistemini önemli oranda destekleyebileceğini göstermektedir.

Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılan mezofilik *Bacillus megaterium* A1 ve termofilik *Anoxybacillus flavithermus* bakterileri kısa sürede önemli oranlarda renk giderimi gerçekleştirmiştir. Ayrıca statik inkübasyon koşullarında da renk gideriminin yüksek oranda oluşu literatürdeki bazı bakteri türlerinin çeşitli boyalarla çalkalamalı koşullarda inkübasyonu sonucu gerçekleşen renk giderimi sonucundan yüksek olduğunu göstermiştir. Literatürde hem Foron grubu boyalar hem de yeni izole edilen bu bakterilerin bugüne kadar sentetik atıksu arıtımında ve renk giderimi çalışmalarında test edilmemiş olması çalışmamızın özgün olduğunu göstermektedir.

Boyaların renk gideriminde en fazla rol alan enzimler genelde lakkaz ve azoredüktazlardır. Çalışmamızda lakkaz enzim aktivitesinin olup olmadığında araştırılmış ancak kayda değer bir sonuç alınamamıştır. Bu sonuçlar da bize bu çalışmada renk gideriminin özellikle metabolik yıkım ve adsorpsiyon ile olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak; yüksek oranlarda rengi giderilmiş tekstil ve boya endüstrisi atıksularının daha ileri bir arıtım sonrasında çevreye salınması bu ortamlarda yaşayan tüm canlıların sağlığının korunması ve çevre kirliliğinin azaltılması açısından oldukça önemlidir.

6. KAYNAKLAR

- Aksu, Z. (2005). Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. *Process Biochem.*, **40**, 997-1026.
- Aksu, Z., Dönmez, G. (2005). Combined effects of molasses sucrose and reactive dye on the growth and dye bioaccumulation properties of *Candida tropicalis*. *Process Biochem.*, **40**, 2443-2454.
- Annadurai, G., Juang, R.S., Lee, D.J. (2002). Use of cellulose-based wastes for adsorption of dyes from aqueous solutions. *J. Hazard. Mater.*, **92**, 263-274.
- Anonymous. (2019). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=150247> (on-line access on 20 June 2019).
- Barragán, B.E., Costa, C., Carmen Márquez, M. (2007). Biodegradation of azo dyes by bacteria inoculated on solid media. *Dyes Pigments*, **75**, 73-81.
- Başer, İ. (1990). *Boyarmadde Kimyası*. Akademik baskı, İstanbul, Türkiye, 220.
- Birhanli E, Yesilada O (2006). Increased production of laccase by pellets of *Funalia trogii* ATCC 200800 and *Trametes versicolor* ATCC 200801 in repeated-batch mode. *Enzyme Microb. Tech.* **39**, 1286-1293.
- Birhanli E, Erdogan S, Yesilada O, Onal Y (2013). Laccase production by newly isolated white rot fungus *Funalia trogii*: effect of immobilization matrix on laccase production. *Biochem. Eng. J.* **71**, 134-139.
- Boone, D.R., Castenholz, R.W., Garrity, G.M. (2001). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria*. New York, USA, 721 p.
- Boran, F. (2013). *Yeni izole edilmiş beyaz çürükçül funguslarla katı substrat fermentasyonu koşullarında lakkaz üretimi*. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya.
- Boran F, Birhanlı E, Yeşilada Ö, Özbey E (2019). Comparison of indigo carmine decolorization by *Pseudomonas aeruginosa* and crude laccase enzyme from *Funalia trogii*. *Turk. J. Biol.* **43**, 37-46.
- Borchert, M., Terazi JA ., (2001). Decolorization of reactive dyes by the white rot fungus *Trametes versicolor* in sequencing batch reactors. *Biotechnol. Bioeng.* **75**, 313-21.
- Boustanabad, N. (2014). *Bacillus thuringiensis ile çeşitli boyaların renk giderimlerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.

- Chang, J.S., Chou, C., Lin, Y.C., Lin, P.J., Ho, J.Y., Lee Hu, T. (2001). Kinetic characteristics of bacterial azo-dye decolorization by *Pseudomonas luteola*. *Water Res.*, **35**, 2841-2850.
- Chen, K.C., Wu, J.Y., Liou, D.J., Hwang, S.C.J. (2003). Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains. *J. Biotechnol.*, **101**, 57-68.
- Christie, G., Götzke, H., Lowe, C.R. (2010). Identification of a receptor subunit and putative ligand-binding residues involved in the *Bacillus megaterium* QM B1551 spore germination response to glucose. *J. Bacteriol.*, **192**, 4317-4326.
- Cripps, C., Bumpus, J.A., Aust, S.D. (1990). Biodegradation of azo and heterocyclic dyes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microb.*, **56**, 1114-1118.
- Çetin, D., Dönmez, G. (2006). Decolorization of reactive dyes by mixed cultures isolated from textile effluent under anaerobic conditions. *Enzyme Microb. Tech.*, **38**, 926-930.
- Demirci, A., Mutlu, M.B., Güven, A., Korcan, E., Güven, K. (2011). Decolorization of textile azo-metal complex dyes by a halophilic bacterium isolated from Çamaltı Saltern in Turkey. *Clean-Soil, Air, Water*, **39**, 177-184.
- Donlon, B., Razo-Flores, E., Luijten, M., Swarts, H., Lettinga, G., Field, J. (1997). Detoxification and partial mineralization of the azo dye mordant orange 1 in a continuous upflow anaerobic sludge-blanket reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **47**, 83-90.
- Dorothy, M., Miriam, C. (2008). *Rice and Mushrooms for Color*, Thresh Publications, Santa Rosa, California, USA, 162 p.
- Dos Santos, A.B., Bisschops, I.A., Cervantes, F.J., Van Lier, J.B. (2004). Effect of different redox mediators during thermophilic azo dye reduction by anaerobic granular sludge and comparative study between mesophilic (30 °C) and thermophilic (55 °C) treatments for decolourisation of textile wastewaters. *Chemosphere*, **55**, 1149-1157.
- Duarte, F.J., Hillman, L.W. (1990). *Dye Laser Principles : With Applications*. Academic Press, San Diego, USA, 456 p.
- Eppinger, M., Bunk, B., Johns, M.A., Edirisinghe, J.N., Kutumbaka, K.K., Koenig, S.S.K., Vary, P.S. (2011). Genome sequences of the biotechnologically important *Bacillus megaterium* strains QM B1551 and DSM319. *J. Bacteriol.*, **193**, 4199-4213.
- Ertuğrul, S., Bakır, M., Dönmez, G. (2008). Treatment of dye-rich wastewater by an immobilized thermophilic cyanobacterial strain: *Phormidium sp.* *Ecol. Eng.*, **32**, 244-248.
- Ertuğrul, S., San, N.O., Dönmez, G. (2009). Treatment of dye (remazol blue) and heavy metals using yeast cells with the purpose of managing polluted textile wastewaters. *Ecol. Eng.*, **35**, 128-134.

- Gill, P.K., Arora, D.S., Chander, M. (2002). Biodecolourization of azo and triphenylmethane dyes by *Dichomitus squalens* and *Phlebia spp.* *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **28**, 201-203.
- Greluk, M., Hubicki, Z. (2011). Efficient removal of acid orange 7 dye from water using the strongly basic anion exchange resin amberlite IRA-958. *Desalination*. **278**, 219-226.
- Hunger, K. (2003). *Industrial Dyes: Chemistry, Properties, Applications*. Wiley-Vch., Frankfurt, Germany, 685 p.
- Işık, M., Sponza, D.T. (2003). Effect of oxygen on decolorization of azo dyes by *Escherichia coli* and *Pseudomonas sp.* and fate of aromatic amines. *Process Biochem.* **38**, 1183-1192.
- Işık, M., Sponza, D.T. (2005). Substrate removal kinetics in an upflow anaerobic sludge blanket reactor decolorising simulated textile wastewater. *Process Biochem.*, **40**, 1189-1198.
- Jebapriya G.R., Gnanadoss J.J. (2015). Bioremediation of textile dye using white rot fungi: A review. *Int. J. Curr. Res. Rev.* **5**, 1-13.
- Jadhav, S.U., Jadhav, U.U., Dawkar, V.V., Govindwar, S.P. (2008). Biodegradation of disperse dye brown 3REL by microbial consortium of *Galactomyces geotrichum* MTCC 1360 and *Bacillus sp.* VUS. *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, **13**, 232-239.
- Judd, D.B., Wysecki, G. (1975) *Color in Business, Science and Industry*. Wiley Series in Pure and Applied Optics, New York, USA, 388 p.
- Kang, S.F., Chang, H.M. (1997). Coagulation of textile secondary effluents with Fenton's reagent. *Water Sci. Technol.*, **36**, 215-222.
- Kapdan, I.K., Oztekin, R. (2003). Decolorization of textile dyestuff reactive orange 16 in fed-batch reactor under anaerobic condition. *Enzyme Microb. Tech.*, **33**, 231-235.
- Khataee, A.R., Dehghan, G. (2011). Optimization of biological treatment of a dye solution by macroalgae *Cladophora sp.* using response surface methodology. *J. Taiwan Inst. Chem. E.*, **42**, 26-33.
- Kocaer, F.O., Alkan, U. (2002). Boyar madde içeren tekstil atıksularının arıtım alternatifleri. *Uludağ University J. Fac. Eng.* **7**, 47-55.
- Kurade M.B., Waghmode T.R., Kagalkar, A.N., Govindwar, S.P. (2012). Decolorization of textile industry effluent containing disperse dye scarlet RR by a newly developed bacterial-yeast consortium BL-GG. *Chem. Eng. J.*, **184**, 33-41.

- Kurbanova, R., Mirzaoğlu, R., Ahmedova, A., Şeker, R., Özcan, E. (1998). *Boya ve Tekstil Kimyası ve Teknolojisi*, Akademik Baskı, Konya, Turkey, 561 p.
- Langhals, H. (2004). *Color Chemistry. Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments. Angew. Chem. Int. Edit.*, **43**, 5291-5292.
- Liao, C.S., Hung, C.H., Chao, S.L. (2013). Decolorization of azo dye reactive black B by *Bacillus cereus* strain HJ-1. *Chemosphere*, **90**, 2109-2114.
- Lin, S.H., Chen, M.L. (1997). Treatment of textile wastewater by chemical methods for reuse. *Water Res.* **31**, 868-876.
- Lucas, M.S., Amaral, C., Sampaio, A., Peres, J.A., Dias, A.A. (2006a). Biodegradation of the diazo dye reactive black 5 by a wild isolate of *Candida oleophila*. *Enzyme Microb. Tech.*, **39**, 51-55.
- Lucas, M.S., Peres, J.A. (2006b). Decolorization of the azo dye reactive black 5 by fenton and photo fenton oxidation. *Dyes and Pigments*. **71**, 236-244.
- Manu, B., Chaudhari, S. (2002). Anaerobic decolorisation of simulated textile wastewater containing azo dyes. *Bioresource Technol.*, **82**, 225-231.
- Martins, M.A.M., Cardoso, M.H., Queiroz, M.J., Ramalho, M.T., Campus, A.M.O. (1999). Biodegradation of azo dyes by the yeast *Candida zeylanoides* in batch aerated cultures. *Chemosphere*, **38**, 2455-2460.
- McMullan, G., Meehan, C., Conneely, A., Kirby, N., Robinson, T., Nigam, P., Smyth, W.F. (2001). Microbial decolourisation and degradation of textile dyes. *Appl. Microbiol. Biot.*, **56**, 81-87.
- Meerbergen, K., Willems, K.A., Dewil, R., Van Impe, J., Appels, L., Lievens, B. (2018). Isolation and screening of bacterial isolates from wastewater treatment plants to decolorize azo dyes. *J. Biosci. Bioeng.* **125**, 448-456.
- Mumtaz, Sadia & Hassan, Noshaba & Naz, Iffat & Ahmed, Safia. (2015). Decolorization of Textile Dye Reactive Blue 221 by Bacteria Isolated from Anthropogenic Dye Contaminated Soil. *Pol.J.Environmental*. **24**, 1705-1716.
- Namal, O.Ö. (2017). Tekstil endüstrisi atıksularının arıtımında kullanılan proseslerin araştırılması. *Nevşehir Bil. Tekno. Derg.*, **6**, 388-396.
- Naresh, B., Preethi, C., Sneha, S., Bhagyashree, R., and Parizad, P. (2013). Microbial decolorization of disperse textile dye Brown 21 by *Enterobacter gergoviae* isolated from textile effluent. *Int. Res. J. Environment Sci.* **2**, 31-36.
- Nigam, P., Banat, I. M., Singh, D., Marchant, R. (1996). Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes. *Process Biochem*, **31**, 435-442.

- O'Neill, C., Hawkes, F., Hawkes, D., Esteves, S., Wilcox, S. (2000a). Anaerobic-aerobic biotreatment of simulated textile effluent containing varied ratios of starch and azo dye. *Water Res.*, **34**, 2355-2361.
- O'Neill, C., Lopez, A., Esteves, S., Hawkes, F.R., Hawkes, D.L., Wilcox, S. (2000b). Azo-dye degradation in an anaerobic-aerobic treatment system operating on simulated textile effluent. *Appl. Microbiol. Biot.*, **53**, 249-254.
- Osugi, M.E., Rajeshwar, K., Ferraz, E.R.A., De Oliveira, D.P., Araújo, Â.R., Zaroni, M.V.B. (2009). Comparison of oxidation efficiency of disperse dyes by chemical and photoelectrocatalytic chlorination and removal of mutagenic activity. *Electrochim. Acta*, **54**, 2086-2093.
- Pagga, U., Brown, D. (1986). The degradation of dyestuffs: Part II Behaviour of dyestuffs in aerobic biodegradation tests. *Chemosphere*, **15**, 479-491.
- Pandey, A., Singh, P., Iyengar, L. (2007). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *Int. Biodeter. Biodegr.*, **59**, 73-84.
- Phugare, S.S., Kalyani, D.C., Patil, A.V., Jadhav, J.P. (2011). Textile dye degradation by bacterial consortium and subsequent toxicological analysis of dye and dye metabolites using cytotoxicity, genotoxicity and oxidative stress studies. *J. Hazard. Mater.*, **186**, 713-723.
- Pikuta, E., Lysenko, A., Chuvilskaya, N., Mendrock, U., Hippe, H., Suzina, N., Laurinavichius, K. (2000). *Anoxybacillus pushchinensis* gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic, alkaliphilic, moderately thermophilic bacterium from manure, and description of *Anoxybacillus flavithermus* comb. nov. *Int. J. Syst. Evol. Micr.*, **50**, 2109-2117.
- Ponraj, M., Gokila, K., Zambare, V. (2011). Bacterial decolorization of textile dye-Orange 3R. *Int. J. Adv. Biot. Res.*, **2**, 168-177.
- Rajaguru, P., Kalaiselvi, K., Palanivel, M., Subburam, V. (2000). Biodegradation of azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system. *Appl. Microbiol. Biot.*, **54**, 268-273.
- Reyes, P., Pickard, M.A., Vazquez-Duhalt, R. (1999). Hydroxybenzotriazole increases the range of textile dyes decolorized by immobilized laccase. *Biotechnol. Let.*, **21**, 875-880.
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., Nigam, P. (2001). Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technol.*, **77**, 247-255.
- Rodríguez, E., Pickard, M.A., Vazquez-Duhalt, R. (1999). Industrial dye decolorization by laccases from ligninolytic fungi. *Curr. Microbiol.*, **38**, 27-32.

- Rogers, W. (2001). *Dyes and Dyeing*, In Jenkins, Roma, Italy, 252 p.
- Sadettin, S., Dönmez, G. (2006). Bioaccumulation of reactive dyes by thermophilic *Cyanobacteria*. *Process Biochem.*, **41**, 836-841.
- Sam, Mesut ve Yesilada, Ozfer. (2001). Decolorization of Orange II dye by white-rot fungi. *Folia microbiol.* **46**, 143-5.
- Sarioğlu, M., Dean, C., (1998). Tekstil atıksularından renk giderimi için UASB (Yukarı akışlı çamur yatağı) reaktörünün kullanılması örneği. *İ.T.Ü. 6. Endüstriyel Kirlenme Kontrolü Sempozyumu*, İ.T.Ü., Haziran 3-5, 37-42.
- Seesuriyachan, P., Takenaka, S., Kuntiya, A., Klayraung, S., Murakami, S., Aoki, K. (2007). Metabolism of azo dyes by *Lactobacillus casei* TISTR 1500 and effects of various factors on decolorization. *Water Res.*, **41**, 985-992.
- Seki, T., Chung, C.K., Mikami, H. Oshima, Y. (1978). Deoxyribonucleic acid homology and taxonomy of the genus *Bacillus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **28**, 182-189.
- Seventekin, N. (1988). *Boyar Madde Kimyasına Giriş*, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çoğaltma Yayınevi, Bornova-İzmir, Türkiye, 475 p.
- Shah, M.P. (2014). Bioremedial application of *Bacillus megaterium* PMS82 in microbial degradation of acid orange dye. *Int. J. Environ. Biorem. Biodegr.*, **2**, 93-99.
- Shrveve, Norris., Brink, A., Joseph (çeviri: Çataltaş A.İhsan) (1983). *Kimyasal Proses Endüstrileri I*, İnkılâp-Aka Basımevi, İstanbul, 567 p.
- Singh, R.L., Singh, P.K., Singh, R.P. (2015). Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes - A review. *Int. Biodeter. Biodegr.*, **104**, 21-31.
- Slokar, Y.M., Majcen Le Marechal, A. (1998). Methods of decoloration of textile wastewaters. *Dyes and Pigments*, **37**, 335-356.
- Sponza, D.T., Işık, M., Atalay, H. (2000). İndigo boyar maddelerinin anaerobik arıtılabilirliklerinin incelenmesi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Müh. Fak. Fen ve Müh. Der.* **2**, 23-34.
- Şen, S., Demirer, G. (2003). Anaerobic treatment of real textile wastewater with a fluidized bed reactor. *Water Res.*, **37**, 1868-1878.
- Talarposhti, A.M., Donnelly, T., Anderson, G.K. (2001a). Colour removal from a simulated dye wastewater using a two-phase anaerobic packed bed reactor. *Water Res.*, **35**, 425-432.

- Tasara, T., Morach, M., Klumpp, J., Stephan, R. (2017). Complete genome sequence of *Anoxybacillus flavithermus* strain 52-1A isolated from a heat-processed powdered milk concentrate. *Genome Announc.*, **5**, 1,2.
- Tsezos, M., Bell, J.P. (1989). Comparison of the biosorption and desorption of hazardous organic pollutants by live and dead biomass. *Water Res.*, **23**, 561-568.
- Tutak M., (2006). *Reaktif tekstil boyalarında alternatif reaktif gruplarının denenmesi*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- Vazquez-Duhalt, R., Westlake D.W.S., Fedorak P.M. (1995). Kinetics of chemically modified lignin peroxidase and enzymatic oxidation of aromatic nitrogen-containing compounds, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **42**, 675-681.
- Velmurugan, S., Ravikumar, R. (2014). Biodegradation and decolorization of reactive dye red ME4BL by *Bacillus subtilis*. *Int. J. Environ. Biorem. Biodegr.*, **2**, 250-255.
- Vitor, V., Corso, C.R. (2008). Decolorization of textile dye by *Candida albicans* isolated from industrial effluents. *J. Ind. Microb. Biotechnol.*, **35**, 1353-1357.
- Willmott, N., Guthrie, J., Nelson, G. (2008). The biotechnology approach to colour removal from textile effluent. *J. Soc. Dyers Colour.*, **114**, 38-41.
- Won, S.W., Yun, H.J., Yun, Y.S. (2009). Effect of pH on the binding mechanisms in biosorption of reactive orange 16 by *Corynebacterium glutamicum*. *J. Colloid. Interf. Sci.*, **331**, 83-89.
- Yeşilada Ö., Birhanlı E., Ercan S., N. Özmen, (2014a). Reactive dye decolorization activity of crude laccase enzyme from repeated-batch culture of *Funalia trogii*. *Turk. J. Biol.*, **38**, 103-110.
- Yesilada O, Birhanli E, Ozmen N, Ercan S (2014b). Highly stable laccase from repeated-batch culture of *Funalia trogii* ATCC 200800. *Appl. Biochem. Microbiol.* **50**, 55-61.
- Zouari-Mechichi, H., Mechichi, T., Dhoub, A., Sayadi, S., Martínez, A.T., Martínez, M.J. (2006). Laccase purification and characterization from *Trametes trogii* isolated in Tunisia: decolorization of textile dyes by the purified enzyme. *Enzyme Microb. Tech.*, **39**, 141-148.

ÖZGEÇMİŞ

Adı: Burak

Soyadı: GÜÇLÜ

Doğum Yeri ve Tarihi: ADANA - 21.09.1991

E- posta: brkguclu01@gmail.com

Lisans: 2011-2015 Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, BİLECİK

