



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**DOĞAL SİSTEMLERDE KOKU GİDERİLMESİ İÇİN
ETKİN MİKROORGANİZMALARIN ELDE
EDİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Hande ÜNLÜ

Biyoloji Anabilim Dalı

İzmir
2022

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**DOĞAL SİSTEMLERDE KOKU GİDERİLMESİ İÇİN
ETKİN MİKROORGANİZMALARIN ELDE
EDİLMESİ**

Hande ÜNLÜ

Danışman: Prof. Dr. Güven ÖZDEMİR

Biyoloji Anabilim Dalı
Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Yüksek Lisans
Programı

İzmir
2022

KABUL ONAY SAYFASI

Hande ÜNLÜ tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “Doğal sistemlerde koku giderilmesi için etkin mikroorganizmaların elde edilmesi” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 22.08.2022 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı

: Prof. Dr. Güven ÖZDEMİR

.....

Raportör Üye

: Prof. Dr. Ataç UZEL

.....

Üye

: Prof. Dr. Aslı KAÇAR

.....

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “**Doğal sistemlerde koku giderilmesi için etkin mikroorganizmaların elde edilmesi**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

22/08/2022

İmzası

Hande ÜNLÜ

ÖZET**DOĞAL SİSTEMLERDE KOKU GİDERİLMESİ İÇİN ETKİN
MİKROORGANİZMALARIN ELDE EDİLMESİ**

ÜNLÜ, Hande

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Güven ÖZDEMİR

Ağustos 2022, 108 sayfa

Tiyoller veya literatürde bir başka kullanımıyla merkaptanlar, endüstriyel üretim yerleri olan fabrikalar, hayvan çiftlikleri, kağıt fabrikaları, arıtım alanları ve birçok ağır sanayide bulunmakta olup koku problemlerine sebep olan toksik kimyasallar sınıfında olan bileşiklerdir. Tiyollü bileşikler, toksik, kanserojen ve mutajenik özellikler nedeniyle tehlikeli olan en iyi bilinen bileşikler arasındadır. Halk sağlığı birçok canlının yaşam kalitesini düşürür, uzun süreli maruziyeti insanlarda depresyon, kaygı, baş dönmesi, bulantı gibi sebeplere yol açmakla beraber atmosferde sera gazında etkilidir. Tüm bu sebeplerden kaynaklı tiyollü bileşiklerin ortamdaki uzaklaştırılması son yıllarda önem kazanmıştır. Bu tez çalışmasında yetişkin ve yavru domuz dışkısı, İzmir Seyrek Bölgesi'nde bulunan bir domuz çiftliği ve önceden alınmış olan aktif bir çamur örneğinden toplamda üç farklı habitatta bulunan örneklerin tiyollü bir bileşik olan 2-Furanmetanetiyol biyodegradasyon yeteneğindeki etkin mikroorganizma kültürlerinin seçilerek izolasyonu, tanımlanması ve parçalama etkinliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. İzole edilen 6 türün *Bacillus toyonensis*, *Shewanella sp.*, *Myroides injenensis*, *Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Proteus vulgaris* olduğu belirlenmiş ve biyodegradasyon etkinlikleri HPLC analizleri ile değerlendirilmiştir. Yapılan denemeler sonucunda 2-Furanmetanetiyol için; 27°C'de *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter sp.* 48 saatte % 100'ya yakın ve *Myroides injenensis*, *Shewanella sp.*, *Bacillus toyonensis* ise 72 saatte % 100'e yakın oranda biyodegradasyon etkinliği göstermiştir.

Anahtar Kelimeler : Biyodegradasyon , kokulu bileşikler , merkaptan, tiyollü bileşikler, etkin mikroorganizma, HPLC.

ABSTRACT**OBTAINING EFFECTIVE MICROORGANISMS FOR ODOR
REMOVAL IN NATURAL SYSTEMS**

ÜNLÜ, Hande

M.Sc. in Department Of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Güven ÖZDEMİR

August 2022, 108 pages

Thiols, or mercaptans with another usage in the literature, are the compounds in the class of toxic chemicals that cause odor problems and are found in some factories with industrial production sites, animal farms, paper mills, treatment areas and many heavy industries. The compounds which include thiols are among the most well-known compounds that are dangerous due to their toxic, carcinogenic and mutagenic features. Thiol-containing compounds affects the health of people and reduces the life quality of several living creatures. Their long-term exposure cause depression, anxiety, dizziness, nausea in humans. And it is effective in greenhouse gases in the atmosphere. Due to these reasons, removing thiol-containing compounds from the environment has gained importance in recent years. This thesis study was carried out to determine the isolation, identification, decomposition activities by selecting the active microorganism cultures with the ability to biodegrade 2furanmethanethiol which is a thiol-containing compound from three samples which are from completely different habitats including adult and baby pig faeces collected from a pig farm in Izmir Seyrek Region, and a previously collected active sludge sample. It was determined that 6 isolated species were *Bacillus toyonensis*, *Shewanella sp.*, *Myroides injenensis*, *Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Proteus vulgaris* and biodegradation activities were evaluated by HPLC analysis. As a result of the trials, for 2furanmetanethiol; at 27°C *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas sp.*, *Acinetobacter sp.* nearly 100% in 48 hours and *Myroides injenensis*, *Shewanella sp.*, and *Bacillus toyonensis* showed nearly 100% biodegradation efficiency in 72 hours.

Key Words: biodegradation, odorous compounds, mercaptan, thiol compounds, active microorganisms, HPLC.

ÖNSÖZ

Havada düşük konsantrasyonlarda algılanabilen kokular, çözülmüş halde bulunan kimyasal maddelerden biridir. Amonyaklı nitrojen bileşikleri, hidrojen sülfürle beraber tiyollerin dahil olduğu kükürt bileşikleri, organik asitler, aldehitler ve hidrokarbonlar başlıca kokulu gazlardır.

Çalışmamızda üç farklı doğal habitattan örnek alımı yapılmıştır. Alınan habitatlar Mineral Salt besiyerine konmuştur ve 27°C'de 10 günlük inkübasyona bırakılmıştır. 5 günde bir 185 ppm konsantrasyonunda 2-Furanmetanetiylol beslemesi yapılmıştır. İnkübasyon sonrasında uygun olan koloniler seçilmiş olup, bu koloniler tek tek saflaştırılıp ayrı ayrı Mineral Salt ortamında inkübasyona bırakılmıştır. İzole edilen mikroorganizma DNA'ları PCR'da çoğaltılıp, agoroz jel elektroforez yöntemi yapılarak düzgün bant görüntüsü elde edilmiştir. Koku ve kimyasal biyodegradasyonunu tayin etmek üzere HPLC Agilent 1100'de, 2-Furanmetanetiylol'e uygun 185 ppm konsantrasyonuna uygun bir standart hazırlanmıştır, saatlik örnek alınarak biyodegradasyona bakılmıştır ve sonuçlar raporlanmıştır. Çoğaltılan DNA'lar 16S rRNA gen bölgesinin dizilemesi hizmet satın alımı ile bir firmaya gönderilmiştir. İzolasyonu yapılan mikroorganizmaların seçilen 16S rRNA nükleotid dizileri, belirli programlar kullanılarak değerlendirilmiştir. Uygun hale getirilen mikroorganizmaların % benzerlik durumlarına NCBI Gen Bankası'nda kayıtlı dizilemelerle karşılaştırılmıştır ve isimlendirilmiştir. Yapılan analizler sonucu 6 izolatın 2-Furanmetanetiylolu yaklaşık olarak %100 degede ettiği görülmüştür.

İZMİR

22/08/2022

Hande ÜNLÜ

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İÇ KAPAK	ii
KABUL ONAY SAYFASI	iii
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ.....	xi
İÇİNDEKİLER.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvii
TABLolar DİZİNİ.....	xix
RESİMLER DİZİNİ	xxi
GRAFİKLER DİZİNİ.....	xxiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxv
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1 Organokükürtlü Bileşiklerin Özellikleri	3
2.2 Merkaptanlar veya Tiyoller	5
2.2.1 Tiyollerin Özellikleri	6

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.2.2 Tiyollerin Sentezlenmesi.....	7
2.2.3 Tiyol Tepkimeleri	10
2.2.4 Aromatik Tiyoller	14
2.2.5 Heterosiklik Tiyoller	15
2.2.6 Tiyollerin Kullanım Alanları	16
2.2.7 Tiyollerin Çevre ve Sağlık Üzerindeki Etkileri	16
2.2.8 Kükürt Döngüsüne Genel Bir Bakış	17
2.2.9 Uçucu Organik Bileşiklerin Küresel Olarak Önemi	18
2.2.10 DMS'nin Bulunduğu Başlıca Kaynaklar	19
2.2.11 Kükürt Döngüsündeki Anahtar Süreçler ve Mikroorganizmalar	21
2.2.12 Etkin Mikroorganizmalar	26
2.2.13 Kokulu Bileşiklerin Biyoteknolojik Giderimi	26
2.2.14 Kanalizasyon Sisteminde Kullanılan Koku Giderim Yöntemleri	28
2.2.15 Kokulu Bileşiklerin Giderilmesi için Farklı Analitik Yöntemler	31
3. MATERYAL METOT	34
3.1 Materyal	34
3.1.1 Tiyol Biyodegradasyonunda Kullanılacak İzolatlar	34

İÇİNDEKİLER (devam)Sayfa

3.1.2 Besiyerleri ve İçerikleri	34
3.1.3 İzolasyonu yapılan mikroorganizmaların mikroskopik tanılamaları	35
3.1.4 Tez çalışmasında kullanılan kimyasallar	35
3.1.5 HPLC (yüksek performans sıvı kromatografisi) analizinde kullanılan kimyasallar	35
3.1.6 Kalıtsal materyallerin görüntülenmesinde kullanılan kimyasallar	35
3.1.7 Çalışmada Kullanılan Cihazlar	35
3.2 Metod	37
3.2.1 2-Furanmetaneti yoluyla deşere eden organizmaların izolasyonu	37
3.2.2 Kullanılan mikroorganizmaların biyoparçalanma etkinliklerinin belirlenmesi	38
3.2.3 Biyoparçalanma etkinliğinin belirlenmesi için yapılan kültürel analizler	39
3.2.4 Yapılan analitik analizler	40
3.2.5 Seçilen mikroorganizmaların ön tanılamaları	41
3.2.6 Mikroorganizmaların moleküler tanılması	42
3.2.7 Seçilen organizmaların parçalanma aktivitelerinin zamana bağlı belirlenmesi	46
4. BULGULAR	48

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.1 İzolatların HPLC Analiz Sonuçları	52
4.2 İzolatların Mikroskopik ve Kültürel Tanılamaları	57
4.3 İzole edilen Mikroorganizmaların Moleküler Tanılamaları.....	63
4.3.1 DNA izolasyonu ve saflık kontrolü	63
4.3.2 PCR ürünleri DNA'ların saflık kontrolü.....	63
4.3.3 PCR ürünlerinin nükleotid dizilerinin belirlenmesi	64
4.3.4 Filogenetik ağaç oluşturulması	68
4.4 Biyodegradasyon Etkinliği en iyi olan izolatların 2-Furanmetaneti yolu parçalama durumunun zamana bağlı analizi	69
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	71
KAYNAKLAR DİZİNİ	74
TEŞEKKÜR.....	78
ÖZGEÇMİŞ	80

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2. 1. Metabolik olarak önemli bazı kompleks kükürt bileşiklerinin yapıları...	4
Şekil 2.2. Bazı Organokükürtlü Bileşiklerin üç boyutlu yapıları	5
Şekil 2.3 Alken ve alkolle tiyol sentezi	7
Şekil 2.4. Alkil Halojenür reaksiyonuyla tiyol sentezi	8
Şekil 2.5. Disülfür indirgenmesiyle tiyol sentezi.....	8
Şekil 2.6. Ksantat tuzuyla tiyol sentezi	9
Şekil 2.7. Alkol yoluyla tiyol sentezi.....	9
Şekil 2.8 n-olefinlerden tiyol sentezi	9
Şekil 2.9 Grignard reaktifleri ile tiyol sentezi	9
Şekil 2.10 Tiyoüreden tiyol sentezi	10
Şekil 2.11 Tiyollerin 1,3 bütandienlere katılma reaksiyonu	10
Şekil 2.12 Tiyollerden β -hidroksisülfoksit oluşumu	10
Şekil 2.13 Tiyollerden fenil ter-butil oluşumu	11
Şekil 2. 14. Merkaptallerin oluşumu	11
Şekil 2.15. Tiyolaldehitlerden α -halotiyooeter oluşumu	11
Şekil 2.16 Tiyollerin asetilenlere katılması	11
Şekil 2.17 Tiyollerin bazı bileşiklerle yükseltgenmeleri	12
Şekil 2.18 Tiyollerin disülfidlere yükseltgenmeleri	12
Şekil 2.19 Tiyollerin dimetilsülfoksit reaksiyonu	12
Şekil 2.20. Tiyollerin disülfür reaksiyonu	12
Şekil 2.21. Tiyollerin olefinlere katılmaları	13
Şekil 2.22. Tiyollerin ter-butil oluşturmaları.....	13
Şekil 2. 23. Tiyollerin markovnikof katılma mekanizmaları.....	13
Şekil 2. 24. Tiyolatlardan tiyoeter oluşumu	13
Şekil 2. 25. Tiyollerden trisülfid oluşumu	14
Şekil 2. 26. Tiyollerin biyolojik dönüşümü	14
Şekil 2. 27. Glutatyonun disülfüre dönüşümü	14
Şekil 2. 28. Aromatik tiyol oluşumu.....	15
Şekil 2. 29. Benzen di-, tritiyol oluşumu	15

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Şekil 2. 30. Heterosiklik tiyoller	15
Şekil 2. 31. Kükürt Redox Döngüsü	18
Şekil 2.32 Sülfidin doğrudan ve dolaylı oksidasyonu	25
Şekil 4.1 İzolatların filogenetik ağaç görüntüsü	69



TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 2.1 Organik kükürtlü bileşikler dört sınıfa ayrılır.	4
Tablo 2.2 Bazı tiyollü bileşiklerinin yarattığı kimyasal formülleri, koku eşikleri ve kokuları	6
Tablo 2.3 Belli Tiyollerin EN ve KN	7
Tablo 2.4 Doğal ve antropojenik kaynaklardan atmosfere V(O)SCs emisyon oranları	19
Tablo 2.5 Kükürt döngüsündeki anahtar süreçler ve enzimler	22
Tablo 2.6 Farklı analitik yöntemlerin karşılaştırılması.....	31
Tablo 3.1 Mineral Salt Medium Bileşen ve Miktarları.....	34
Tablo 3.2 2-Furanmetanetiyolün çözündürülmesi.....	37
Tablo 3.3 Kullanılan 2-Furanmetanetiyolün miktarı ve pasajlanması.....	38
Tablo 3.4 2-Furanmetanetiyolün konsantrasyon, alıkonma süresi, pik alanı ve dalga boyu	40
Tablo 3.5 PCR bileşenleri ve miktarları	44
Tablo 3.6 Universal primer setleri	45
Tablo 3.7 PCR reaksiyon basamakları.....	45
Tablo 3.8 Zamana bağlı parçalanma aktivitesi için kullanılan organizmalar ve 2F miktarları	47
Tablo 4.1 İzolatların Kültürel ve Mikroskopik Özellikleri.....	57
Tablo 4.2 İzolatların DNA ekstraksiyonu saflık durumları ve konsantrasyonları.	63
Tablo 4.3 ON722381 numaralı Genbank' a kayıt ettirilen mikroorganizma	64
Tablo 4.4 ON722382 numaralı Genbank' a kayıt ettirilen mikroorganizma	65
Tablo 4.5 ON722384 numaralı Genbank' a kayıt ettirilen mikroorganizma	66
Tablo 4.6 ON722396 numaralı Genbank' a kayıt ettirilen mikroorganizma	66
Tablo 4.7 ON746569 numaralı Genbank' a kayıt ettirilen mikroorganizma	67
Tablo 4.8 ON746570 numaralı Genbank' a kayıt ettirilen mikroorganizma	68



RESİMLER DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Resim 3.1 2-Furanmetanetiylölün 230nm dalga boyuna göre konsantrasyon görüntüsü.....	41
Resim 4. 1 2-Furanmetanetiylölün bulunduğu Mineral Salt Medium besiyerinden organizmaların izolasyonu	48
Resim 4. 2 2-Furanmetanetiylölün degradasyonu sonucu Mineral Salt Medium Besi yerinde gözlenen bulanıklaşma.....	48
Resim 4.3 Pasajlama sonrası 2FAYA1N izolatına ait Nutrient Agar ortam görüntüsü.....	49
Resim 4.4 Pasajlama sonrası 2FAXDM izolatına ait Nutrient Agar ortam görüntüsü.....	50
Resim 4.5 Pasajlama sonrası 2FAYE1S izolatına ait Nutrient Agar ortam görüntüsü.....	50
Resim 4.6 Pasajlama sonrası 2FAYA1S izolatına ait Nutrient Agar ortam görüntüsü.....	51
Resim 4.7 Pasajlama sonrası 2FAYE1K izolatına ait Nutrient Agar ortam görüntüsü.....	51
Resim 4.8 Pasajlama sonrası 2FAXN izolatına ait Nutrient Agar ortam görüntüsü.....	52
Resim 4.9 İzolat 2FAXN mikroskopik görseli	58
Resim 4.10 İzolat 2FAXDM mikroskopik görseli	59
Resim 4.11 İzolat 2FAYA1N mikroskopik görseli	60
Resim 4.12 İzolat 2FAYA1S mikroskopik görseli.....	61
Resim 4.13 İzolat 2FAYE1K mikroskopik görseli.....	62
Resim 4.14 İzolat 2FAYE1S mikroskopik görseli	62
Resim 4.15 PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü	63



GRAFİKLER DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Grafik 3.1 2furanmetanetiylol kimyasalı için oluşturulan standart eğri grafiği	41
Grafik 4.1 . İzolat 2FAXDM'nin 2-furanmetanetiylölü Biyoparçalanma Analiz Sonuçları	53
Grafik 4.2 İzolat 2FAYE1K'nın 2-furanmetanetiylölü Biyoparçalanma Analiz Sonuçları	54
Grafik 4.3 İzolat 2FAYA1N'nin 2-furanmetanetiylölü Biyoparçalanma Analiz Sonuçları	54
Grafik 4.4 İzolat 2FAYA1S'nin 2-furanmetanetiylölü Biyoparçalanma Analiz Sonuçları	55
Grafik 4.5 İzolat 2FAYE1S'nin 2-furanmetanetiylölü Biyoparçalanma Analiz Sonuçları	56
Grafik 4.6 İzolat 2FAXN'nin 2-furanmetanetiylölü Biyoparçalanma Analiz Sonuçları	56
Grafik 4.7 2-Furanmetanetiylol biyodegradasyon grafiği	69



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklamalar</u>
EN	Erime Noktası
KN	Kaynama Noktası
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
GC/MS	Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrofotometrisi
VIC	Uçucu İnorganik Bileşik
VOC	Uçucu Organik Bileşik
VOSC	Uçucu Organokükürtlü Bileşik
MT	Metantiyol
SQR	Sülfür: Kinon oksidoredüktaz



1. GİRİŞ

Koku, koku hücreleri tarafından hissedilen moleküllerin tabiatı ve konsantrasyonu, bireyler arasında ve sıcaklık, basınç ve nem gibi çevresel koşullarla çeşitlilik göstermektedir. Buna göre koku terimi, bazı uçucu inorganik (VIC) yanı sıra organik (VOC), bileşikleri içermektedir (Rappert & Müller, 2005). Kokular her zaman sosyal bir sorunu temsil etmiştir, ancak son yıllarda kamuya açık alanlarda sağlığa etkileri hakkında endişeler dile getirilmeye başlanmıştır. Kamuoyu, hava kalitesi sorunlarıyla ilgilenmeye başlamıştır ve yerel makamlara şikayetlerin ana kaynaklarını atık arıtma tesisleri ve hayvan çiftlikleri olduğu gösterilmeye başlanmıştır (Wang et al., 2021)

Koku emisyonları dünya çapında hava kirliliğinin ana kaynakları arasında yer almaktadır. Koku bileşikleri genellikle kanalizasyon arıtma tesisleri, çöplükler ve gıda işleme endüstrileri tarafından başlıca kaynaklar olarak yayıldığı kabul edilmektedir (Wang et al., 2021) Ancak, büyük ölçekli ve yoğun hayvancılık çiftliklerinin gelişmesiyle birlikte, hayvancılık çiftliklerinden kaynaklanan koku emisyonları son yıllarda çok daha fazla dikkat çekmiştir (Lomans et al., 2002)

Yaygın olan kokulu gazlar, amonyak (NH_3) içeren nitrojen bileşikleri, hidrojen sülfür (H_2S) ve merkaptanlar dahil kükürt bileşikleri, organik asitler, aldehitler ve hidrokarbonlardır. Hava kirliliğine sebep olmalarının yanı sıra: çevre kalitesinin bozulması; ticari faaliyetlere müdahale; herhangi bir kişi için rahatsızlık, zarara veya güvenlik risklerine; herhangi bir mülkün olduğu alanların kullanımı, bitkilerin veya hayvanların sağlığında risklere yol açmaktadır. İnsanların kokulara uzun süre maruz kalması, kaygı, huzursuzluk veya depresyon gibi duygusal streslerden göz tahrişi, baş ağrısı, solunum problemleri, mide bulantısı veya kusma gibi fiziksel semptomlara kadar değişen olumsuz sağlık etkilerine sebep olabilmektedir (Barbusinski et al., 2006).

Tiyoller ve Hidrojen sülfür (H_2S), düşük koku eşiğine ve yüksek derecede korozif yapılarıyla toksik ve kötü kokulu bileşiklerdir. Bu bileşikler, koku algılama eşiğinin altındaki konsantrasyonlarda dahi oldukça hoş olmayan hale gelebilmektedir. Aynı zamanda, VOSC'ler hem evsel atık sularda kötü kokuların

ana kaynakları hem de çevredeki organik mikro kirleticiler olarak kabul edilmektedir (Chebbi et al., 2016). Oluşan H₂S ve tiyollerin sanayi alanlarından çevreye salınması, ciddi sağlık sorunlarına sebep olduğu ve sülfür dioksit (SO₂)' e sebep olduğu için 1970 yılından bu yana Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından düzenlenmektedir. SO₂, çevre kirliliğinin sera gazına katkıda bulunan ve sağlığı ve Dünya'nın biyolojik çeşitliliğini etkileyen iyi bilinen bir gazdır.

Kokulu atık gazlar, hava kirleticilerinin ayrıca bir türüdür. İnsanlar düşük miktarlarda bile kokulu maddeyi algılayabilmektedir. Burunda sadece 10⁸ veya 10⁹ koku verici buhar molekülünün algılamayı tetiklemek için yeterli olduğu düşünülmektedir. Bu göz önüne alındığı zaman, havada 1 µg etil merkaptan, tespit için gerekli miktarın 10⁷ veya 10⁸ katı olan yaklaşık 10¹⁶ molekül oluşturmaktadır. İnsanların koku alma duyuları, eğer bu tür emisyonlar insan popülasyonlarının yakınında üretmekte ise, koku emisyonlarının sıkı bir şekilde kontrol edilmesini gerektirmektedir. Kabul edilebilir koku yoğunluklarına ulaşmak için çoğu durumda %95-100 arasında koku azaltma verimliliğine ihtiyaç olduğu görülmektedir. Bu emisyon azaltma seviyesi, çoğu gaz emisyonunun kontrol edilmesi için tipik olarak ihtiyaç duyulandan önemli ölçüde daha yüksek olduğu anlaşılmaktadır (Rappert and Müller, 2005).

VOSC'ler arasında etantiyol (CH₃-CH₂-SH) insan sağlığı için oldukça toksiktir. 0,7 µg/L'lik düşük koku eşiğine sahip renksiz bir kimyasaldır. Etanetiol için bir yerde izin verilen maksimum konsantrasyon 10.0 mg/L'yi geçmemelidir (Sedighi et al., 2013) ve Sağlık İdaresi (OSHA), 10 ppm'ye kadar olan MT konsantrasyonunu olması istenen en yüksek maruz kalma sınırı zaman ağırlıklı ortalama konsantrasyon (PEL TWA) olarak tanımlamaktadır. Bundan daha fazla konsantrasyonlarda MT çok toksik hale gelmektedir ve sağlığa zararlı etkilere neden olmaktadır (Badr et al., 2014).

Bu nedenle, etanetiylol gibi kokulu organik kirleticilerin uzaklaştırılması için etkili bir biyolojik bozunma yolunun geliştirilmesi arzu edilmektedir.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Kokulu bileşikler, hem organik kokuları hem de kokuya sebep veren inorganik molekülleri içermektedir (Zhu et al. , 2016). Uçucu organik bileşikler (VOC'ler), çeşitli fonksiyonel gruplara sahip, farklı fiziksel ve kimyasal davranışlara sahip moleküller tarafından oluşturulan, ancak uçucu yağ asitleri, alkoller gibi belirli uçuculuk ile bilinen (Komilis et al. , 2004), aldehitler, aminler, karbonatlar, esterler, sülfürler, disülfidler, merkaptanlar ve heterosiklik nitrojen bileşikleri (Fang et al. , 2012) gibi büyük bir organik kimyasallar grubu bütünü içerir.

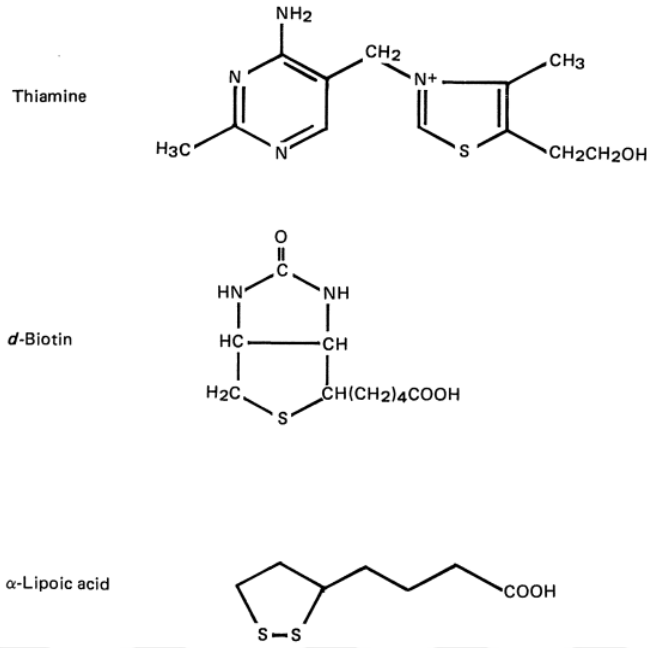
Kokular her zaman sosyal bir problemi temsil etmiştir, fakat son yıllarda halkın sağlık ve refah üzerindeki potansiyel etkileri ile ilgili endişeleri dile getirilmiştir. Hidrojen sülfür (H₂S) ve tiyoller dahil olmak üzere büyük miktarlarda uçucu organik kükürt bileşikleri (VOSC'ler), çeşitli endüstri yerlerinden çevreye salınmaktadır ve insan sağlığı ve çevre için ciddi sorunlara neden olmaktadır (Burgess et al., 2001).

Etkili merkaptan indirgeyici mikroorganizmaların izolasyonu, merkaptanları endüstriyel emisyonlardan ve atık sudan elimine etmek için verimli ve spesifik biyolojik yöntemler gerçekleştirmek için önem kazanmaktadır.

2.1 Organokükürtlü Bileşiklerin Özellikleri

Yaşamın devamlılığı açısından kükürt, doğada belli formlarda bulunmaktadır. Tüm canlı yaşam formlarında büyümede etkilidirler. Bitkiler ve mikroorganizmalar kükürdü metabolizmalarında kullanarak belli formlara dönüştürmektedirler. Memeliler doğadaki anorganik formu kullanamazlar bitkisel formlardan metabolize etmektedirler. Ayrıca kükürt, sistein ve metiyoninin yapısında bulunmaktadır.

Sistein gibi bileşiklerinin çoğu; sistin, glutatyon, metionin, taurin ve koenzim A, tüm biyologlar için bilinmektedirler. Üç heterosiklik kükürt içeren halka: tiaminin tiyazol halkası, biyotinin süstitüe edilmiş tetrahidrotiyofen halkası ve lipoik asidin oksitlenmiş disülfid halkası, tüm canlı organizmalarda merkezi öneme sahiptir bunlar şekilde gösterildiği gibidirler. (Kelly and Smith, 1992)



Şekil 2.1. Metabolik olarak önemli bazı kompleks kükürt bileşiklerinin yapıları (Kelly and Smith, 1992).

Organik kükürtlü bileşikler endüstriyel olarak üretimin olduğu alanlarda örnek olarak gübre, barut, böcek ve mantar ilaçları gibi maddelerin üretiminde kullanılmaktadır (Cremllyn, 1996).

Tablo 2.1 Organik kükürtlü bileşikler dört sınıfa ayrılır.

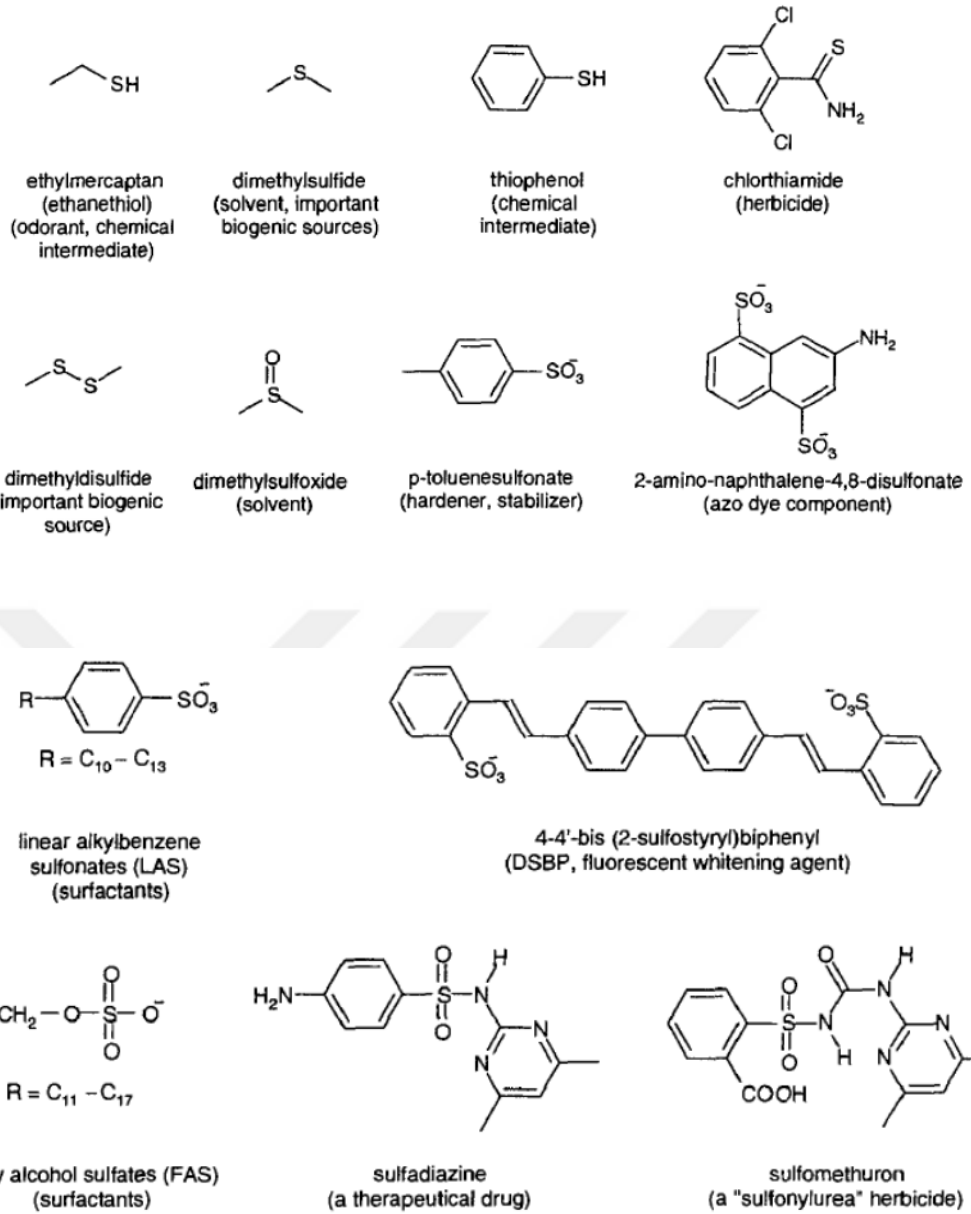
ORGANİK KÜKÜRTLÜ BİLEŞİKLER

Tiyoller

Tiyoeterler

Kinonlar

Tiyosibstitüeller



Şekil 2.2. Bazı Organokükürtlü Bileşiklerin üç boyutlu yapıları

2.2 Merkaptanlar veya Tiyoller

Alkollerin kükürtlü analogları, Tiyol olarak isimlendirilmektedir. Zeise, civa yakalayan anlamına gelen Merkaptan'ı ilk defa isimlendiren bilim insanıdır. IUPAC tarafından merkaptan ismi önerilmez, tiyollerle eşanlamlı terim olarak kabul edilmektedir. Merkaptan terimi özellikle ticarete hala yaygın olarak kullanılmaktadır. Danimarkalı Kimyager Zeise, Merkaptan'ı belli bileşiklerden sağlamıştır, bu bileşiklerin birinci üyesininin izolasyonunu yaptıktan sonra tanımlamıştır. İzole edilebilen ilk üyesi etantiyoldür ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{SH}$). Geçen zamanda, çok sayıda alkantiyol elde edilmiştir, birçok sülfhidril ($-\text{SH}$) grubu içeren yeni bileşiğin sentezlendiği bildirilmiştir (Güneş ve Cemil, 2010)

2.2.1 Tiyollerin Özellikleri

Tiyoller veya diğer ismiyle merkaptanlar, oksijen molekülünün bir sülfhidril grubu (R-SH) oluşturan bir sülfür atomu ile yerini alan alkol analoglarına verilen isimlendirmedir. R bir alkil veya aromatik grubun ismidir.

Tüm tiyoller, ciddi sorunlara neden olabilen kötü kokuları, düşük koku eşiği ve zehirli olmalarıyla bilinmektedirler. Düşük konsantrasyonlarda bile kokulu olan tiyolleri insanlar hissedebilmektedir (Güneş ve Cemil, 2010)

Tablo 2.2’de bazı tiyollü bileşiklerinin yarattığı kimyasal formülleri, koku eşikleri ve kokuları gösterilmiştir.

Tablo 2.2 Bazı tiyollü bileşiklerinin yarattığı kimyasal formülleri, koku eşikleri ve kokuları (Kiragosyan, 2015)

Bileşik	Kimyasal Formül	Koku Eşiği, (ppb)	Koku
Metanetiyoil	$\text{HS}-\text{CH}_3$	0.3 - 8.5	Çürük yumurta, balık, sarımsak
Etanetiyoil	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{SH}$	1.1	Kokuşmuş soğan, kauçuk
Dimetil sülfid	$\text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{CH}_3$	0.6 - 40	Lahana, kuşkonmaz, mısır, melas
Dimetil disülfid	$\text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{S}-\text{CH}_3$	0.1 - 3.6	Piştirilmiş lahana, kuşkonmaz, soğan
Dimetil trisülfid	$\text{H}_3\text{C}-\text{S}-\text{S}-\text{S}-\text{CH}_3$	0.1	Lahana, soğan, piştirilmiş sebzeler
Dietil sülfid	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	0.93 - 18	Sarımsak
Dietil disülfid	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{S}-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	4.3 - 40	Sarımsak, soğan, yanmış kauçuk

Ek olarak, tiyollerin değişken kısımlarına bağlanan serbest kısım, alkollü analoglarından daha asidiktir (Yıldız, 2007).

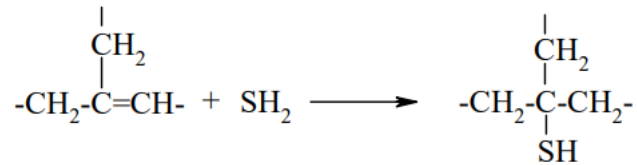
Tablo 2.3 Belli Tiyollerin EN ve KN (Yıldız, 2007)

TİYOL	FORMÜLÜ	E.N. (°C)	K.N. (°C)
Metantiyol (Metil Merkaptan)	CH ₃ SH	-123	6.0
Etantiyol (Etil Merkaptan)	CH ₃ CH ₂ SH	-147	34.7
1-Propantiyol (n-Propil merkaptan)	CH ₃ CH ₂ CH ₂ SH	-113	67.5
2-Propantiyol (izopropil merkaptan)	CH ₃ CH(SH)CH ₃	-131	52.9
1-Butantiyol (n-Butil merkaptan)	C ₄ H ₉ SH	-116	98.0
2-Butantiyol (s-Butil merkaptan)	CH ₃ CH ₂ CH(SH)CH ₃	-165	84.5
1,2-Etantiyol (Etilen di merkaptan)	HSCH ₂ CH ₂ SH	-41	146.0
Benzentiyol (Tiyofenol)	C ₆ H ₅ SH	-15	169.5
Benziltiyol	C ₇ H ₇ SH		195
1-Tiyonaftol	C ₁₀ H ₇ SH		187,2
2-Tiyonaftol	C ₁₀ H ₇ SH	81	

2.2.2 Tiyollerin Sentezlenmesi

2.2.2.1 Alken veya Alkollerin H₂S ile Reaksiyonu Yoluyla Sentezi

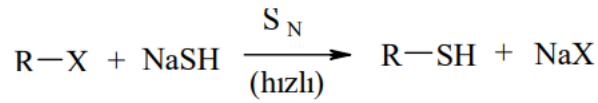
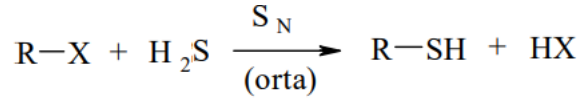
Endüstride kullanımı olan yöntemlerden bir tanesidir. Asidik katalizör varlığında gerçekleşmektedir (Yıldız, 2007)



Şekil 2.3 Alken ve alkolle tiyol sentezi (Yıldız,2007)

2.2.2.2 Alkil Halojenürlerin KSH ve NaSH ile Reaksiyonuy Yoluyyla Sentezi

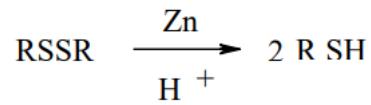
Bu reaksiyon SN tepkimesi olarak gerçekleşmektedir. Ekonomik olarak uygun olduğundan yaygın olarak kullanılmaktadır (Yıldız, 2007)



Şekil 2.4. Alkil Halojenür reaksiyonuyla tiyol sentezi (Yıldız, 2007)

2.2.2.3 Disülfürlerin İndirgenmesi Yoluyyla Sentezi

LiAlH₄ ve NaHSO₃ gibi indirgenler kullanılarak yapılmaktadır.

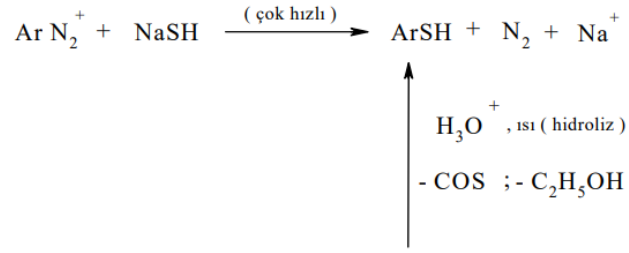


Şekil 2.5. Disülfür indirgenmesiyle tiyol sentezi (Yıldız, 2007)

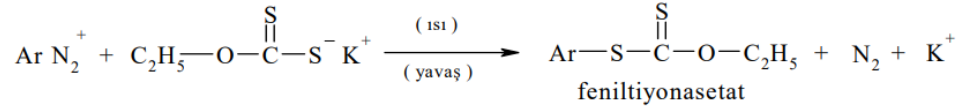
2.2.2.4 Aromatik Tiyoller (Diazonyum Tuzlarından) Yoluyyla Sentezi

Bu reaksiyon hızlı gerçekleşmektedir. Önlem alınmazsa patlamalara sebep olabilmektedir.

SH^- bağlanması ;



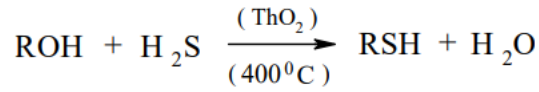
Ksantat bağlanması ;



Şekil 2.6. Ksantat tuzuyla tiyol sentezi (Yıldız, 2007)

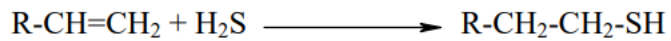
2.2.2.5 Alkoller Yoluyla Sentezi

Yöntem, buharla 4000C'de bir katalizör üzerinden geçirilmesiyle gerçekleşmektedir (Yıldız, 2007).



Şekil 2.7. Alkol yoluyla tiyol sentezi (Yıldız, 2007)

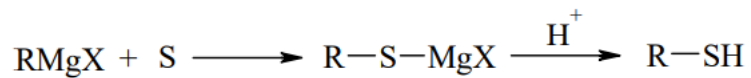
2.2.2.6 Primer merkaptanlar (n-Olefinlerden) Yoluyla Sentezi



Şekil 2.8 n-olefinlerden tiyol sentezi (Yıldız, 2007)

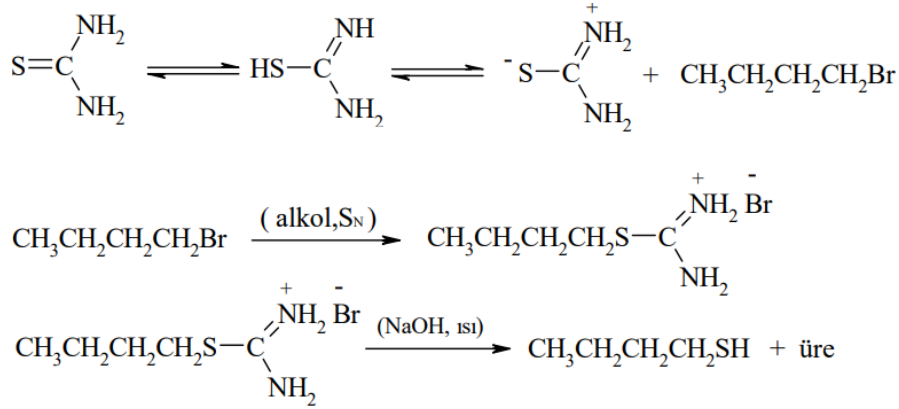
2.2.2.7 Grignard Reaktifleri Yoluyla Sentezi

Reaktiflerin, sulfurle asitli ortamda hidrolizliyle oluşmaktadır (Yıldız, 2007).



Şekil 2.9 Grignard reaktifleri ile tiyol sentezi (Yıldız, 2007)

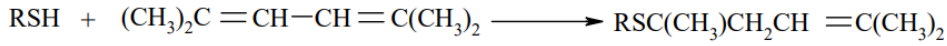
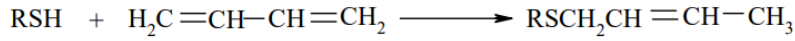
2.2.2.8 Alkiltiyoller (Tiyüreden) Yoluyla Sentezi



Şekil 2.10 Tiyüreden tiyol sentezi (Yıldız, 2007)

2.2.3 Tiyol Tepkimeleri

2.2.3.1 1,3-Butadienlere Katılmaları (Alt Başlık) 1,3-Butadienlere Katılmaları



Şekil 2.11 Tiyollerin 1,3 bütandienlere katılma reaksiyonu (Yıldız, 2007)

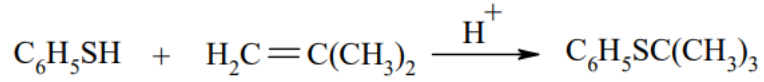
2.2.3.2 β-Hidroksisülfoksit Oluşumu

Olefinlerin tepkimesine tiyollerin eklenmesiyle oluşmaktadır. (Yıldız, 2007)



Şekil 2.12 Tiyollerden β-hidroksisülfoksit oluşumu (Yıldız,2007)

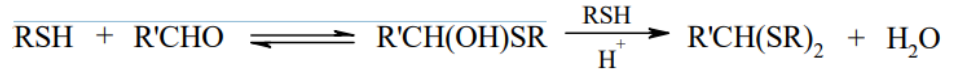
Bu reaksiyon farklı bir tepkime ile de mümkündür ve fenil ter-butil sülfürleri vermektedir (Yıldız, 2007)



Şekil 2.13 Tiyollerden fenil ter-butil oluşumu (Yıldız,2007)

2.2.3.3 Aldehitlerle Reaksiyonları

Aldehitlerle tiyollerin beraber tepkimelerinden merkaptaller oluşmaktadır (Yıldız, 2007).



Şekil 2. 14. Merkaptallerin oluşumu (Yıldız, 2007)

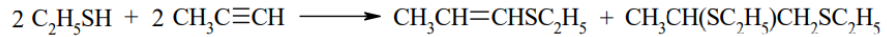
2.2.3.4 α -Halotiyoeeter Oluşumu

Hidrojenhalojenürlerle, tiyolaldehitlerin karışımıyla oluşmaktadır (Yıldız, 2007).

Şekil 2.15. Tiyolaldehitlerden α -halotiyoeeter oluşumu (Yıldız,2007)

2.2.3.5 Asetilenlere Katılmaları

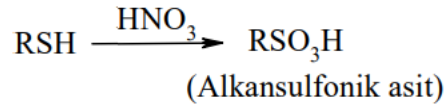
Tiyoller, asetilenlere katılmaktadır (Yıldız,2007).



Şekil 2.16 Tiyollerin asetilenlere katılması (Yıldız, 2007)

2.2.3.6 Yükseltgenmeleri

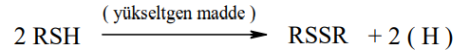
KMnO_4 , HNO_3 bileşikleri tiyolleri yükseltgeyebilmektedir (Yıldız, 2007).



Şekil 2.17 Tiyollerin bazı bileşiklerle yükseltgenmeleri (Yıldız,2007)

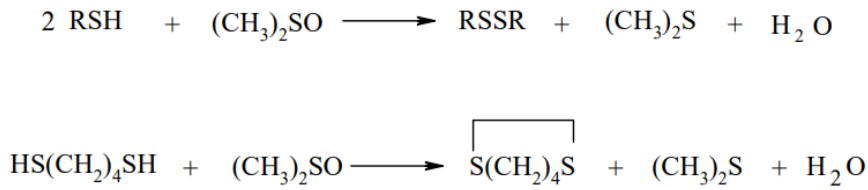
2.2.3.7 Disülfit Oluşumu

En önemli tiyol reaksiyonlarıdır. Yükseltgen maddeyle tiyoller yükseltgenebilmektedir. Bu sayede tiyol safsızlıkları disüfitlere yükseltgenerek ham petrol, tiyollerden arındırılmaktadır. (Yıldız, 2007)



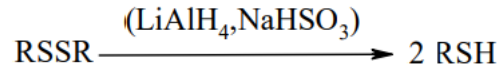
Şekil 2.18 Tiyollerin disüfitlere yükseltgenmeleri (Yıldız,2007)

2.2.3.8 Dimetilsülfoksit ile Reaksiyonu



Şekil 2.19 Tiyollerin dimetilsülfoksit reaksiyonu (Yıldız,2007)

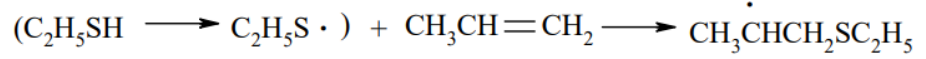
Tiyoller genel anlamıyla sıvıdırlar. Tiyollerden oluşan disüflürler ise katıdır. Disüflürler, tiyolleri anlama açısından bir seçenek olup tepkime sonrası oluşturulan 2RSH, aynı zamanda LiAlH₄, NaHSO₃ gibi indirgenlerle tiyollere indirgenebilmektedir (Yıldız, 2007).



Şekil 2.20. Tiyollerin disüflür reaksiyonu (Yıldız,2007)

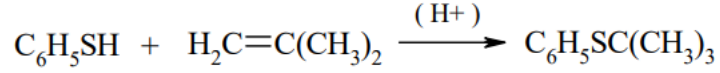
2.2.3.9 Olefinlere Katılmaları

Tiyoeterler (organik monosüflürler) tiyollerin olefinlere katılmalarıyla elde edilmektedir. (Yıldız, 2007)



Şekil 2.21. Tiyollerin olefinlere katılmaları (Yıldız,2007)

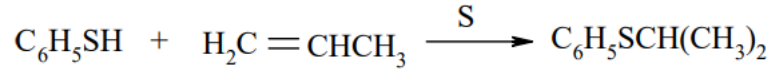
Olefinlere tiyollerin katılması fenil ter-butil sülfürleri vermektedir (Yıldız, 2007)



Şekil 2.22. Tiyollerin ter-butil oluşturmaları (Yıldız,2007)

2.2.3.10 Tiyofenol ile Propilenin Reaksiyonu

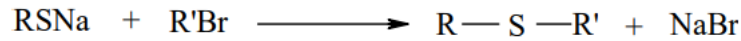
Kükürtün mevcut olduğu durumlarda tiyofenolle propilen Markovnikof birleşme mekanizmasına göre yürümektedir (Yıldız, 2007)



Şekil 2.23. Tiyollerin markovnikof katılma mekanizmaları (Yıldız,2007)

2.2.3.11 Tiyolatlardan Tiyoeeter Oluşumu

Tiyollerin nükleofilik yapısından dolayı tepkimelerde tiyolat durumundan yararlanılmaktadır. (Yıldız, 2007)



Şekil 2.24. Tiyolatlardan tiyoeter oluşumu (Yıldız,2007)

2.2.3.12 Trisülfit Oluşumu

Elementel kükürdün amin veya sodyum hidroksitle reaksiyonuyla trisülfitler oluşturulmaktadır (Yıldız, 2007).



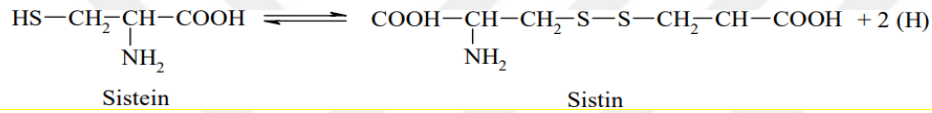
Şekil 2. 25. Tiyollerden trisülfit oluşumu (Yıldız,2007)

2.2.3.13 Sülfonik Asit

Nitrik asit veya potasyum permanganatla tiyoller, yükseltgenir ve sülfonik asitler (RSO₃H) elde edilmektedir (Yıldız, 2007)

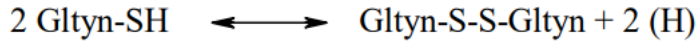
2.2.3.14 Biyolojik Önemi

Tiyollerin disülfürlere biyolojik olarak dönüşümü önemlidir. Aminoasitin tiyollü hali sisteindir, disülfür durumuysa sistindir. (Yıldız, 2007)



Şekil 2. 26. Tiyollerin biyolojik dönüşümü (Yıldız,2007)

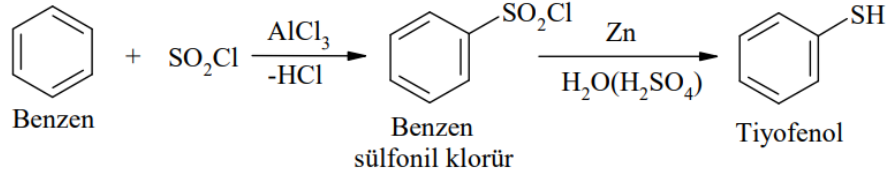
Glutatiyon tiyol grubu içeren bir tripeptittir, kolay bir şekilde disülfür haline dönüşmektedir. Biyokimyasal moleküller bu reaksiyonla elektron taşımaktadır (Yıldız, 2007)



Şekil 2. 27. Glutatiyonun disülfüre dönüşümü (Yıldız,2007)

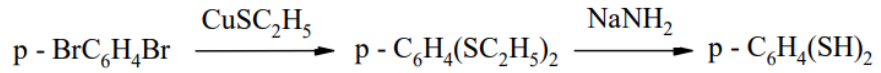
2.2.4 Aromatik Tiyoller

Ar-SH fenollerin kükürt analogları bir başka deyişle, aromatik tiyollerdir. Aromatik tiyoller, IUPAC'a göre, merkaptobenzenler (merkaptobenzen gibi), aren tiyoller (2-Naftalen tiyol gibi) olarak isimlendirilmektedir. Doğal materyallerde çok sınırlı olarak oluşan aren tiyoller, alifatik tiyollerden farklı olmasının sebebi oksidize olarak kolay bir şekilde disülfürlere dönüşmelerinden kaynaklıdır. Alkan tiyollere göre birçok yönden farklıdır. Belirli tiyoller fenol buhar içinde uçucu olmalarıyla bilinmektedir. Aromatik tiyoller ayrıca, Sülfoklorürlerin ve disülfidlerin indirgenmesiyle meydana gelebilmektedir (Yıldız, 2007).



Şekil 2. 28. Aromatik tiyol oluşumu (Yıldız,2007)

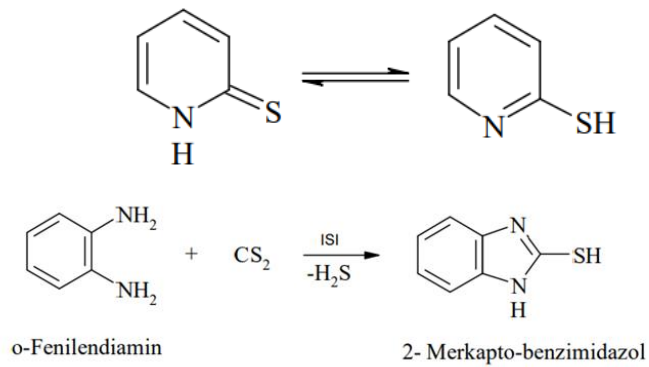
Brombenzenlerden, Benzen di- ve tritiyoller oluşabilmektedir (Yıldız, 2007).



Şekil 2. 29. Benzen di-, tritiyol oluşumu (Yıldız,2007)

2.2.5 Heterosiklik Tiyoller

Heterosiklik tiyoller ve türevleri doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Kauçukun yardımcı maddesinde, boyar madde sentezi, fotoğrafçılıkta, bitki koruyucularda ve ilaç sanayi gibi çeşitli şekillerde kullanılmaktadırlar. Genel olarak tiyoeter yapısında mevcuttur (Ullmann and Foerst, 1983;). Bu bileşiklerin tepkimelerinin çoğunda sabit halka sistemi mevcuttur. Düşük ve kendine has kokuları vardır renksiz veya sarı renkli bileşikler olarak ayırt edilebilmektedirler. Azot içeren tiyollerin farklı formları arasında denge mevcuttur (Yıldız, 2007).



Şekil 2. 30. Heterosiklik tiyoller (Yıldız,2007)

Bu dengenin tiyon formu yönüne olduğunu spektroskopik çalışmalar göstermektedir. Tiyol veya tiyon formunun açığa çıkması heterosiklik tiyollerin

reaksiyonları sayesinde olabilmektedir. Elde edilmeleri için farklı reaksiyonları vardır. Karbonsülfür heterosiklik tiyol eldesinde reaktif olarak oldukça önemli olduğu bilinmektedir (Yıldız, 2007).

2.2.6 Tiyollerin Kullanım Alanları

Etil tiyol şiddetli kokulu bir bileşiktir, doğal gazlarda oluşan koku birikintilerini tespit etmede faydalanılmaktadır ve etil tiyol sülfanol ($\text{Me}_2\text{C}(\text{SO}_2\text{Et})_2$) yapımı için senelerdir başlangıç maddesi olarak kullanılmaktadır. Metiyonin'in endüstriyel üretiminde Metil tiyol kullanılmaktadır.

Herbisit, instektisit ve tarım kimyasallarının üretiminde ara madde bağlı moleküler kütlesi az olan alkan tiyoller ve p-klorobenzen tiyoller kullanılmaktadır. Ahşapçılıkta kullanılan bazı sülfidlerin sağlanmasında Merkaptosit esterleri ile alkan tiyoller ara maddelerdir. (Yıldız, 2007)

Çeşitli endüstriyel uygulamalarda boyacılık gibi Aren Tiyollerden faydalanılmaktadır. Plastik endüstrisinde ise Aromatik ditiyoller, monomer ve değiştirici olarak kullanılmaktadır. Lastik sanayisinde ise tiyofenenoller birleştirici olarak kullanılmaktadır (Yıldız, 2007).

Yapay kauçuk imalinde tiyollü bileşikler kullanılmaktadır. Kauçuk vulkanizasyon hızlandırıcı olarak 2-merkaptobenzotiyazol ve türevleri kullanılmaktadır. (Yıldız, 2007)

Tiyoller tıbbi kullanım alanında da önemli bir yere sahiptirler. Amin iyonu radyasyonun etkisine karşı hayvanlarda korumayı 2-merkaptoetil sağlamaktadır. Şampuanlar içerisinde kepek önleyici olarak, 2-piridintiyol-1-oksit kullanılmaktadır. Zararlı böceklerle mücadele amacıyla da tiyollerin kullanımı mevcuttur. Laurilmerkaptan ise zararlı canlılarının zirai mücadelesinde öldürücü etkisi vardır. Sivrisinek larvalarına karşı, aromatik tiyoller tesirli olduğu gözlenmiştir (Yıldız, 2007).

2.2.7 Tiyollerin Çevre ve Sağlık Üzerindeki Etkileri

Çevreye ve sağlık açısından bakıldığı zaman en önemli kokulu gazlar, amonyak ve hidrojen sülfür (H_2S) ve merkaptanlar dahil kükürt bileşikleridir.

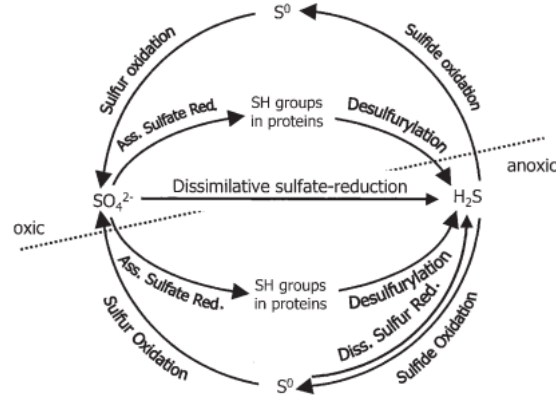
Çevrede kokuya sebebiyet veren bu kimyasallar, çevre kalitesinin bozulmasına, birçok ticari faaliyetin engellenmesine, herhangi bir kişinin (işçiler, işverenler, bu bölgede yaşayan halkın) sağlık güvenliğinin bozulması, zararı ve hasarına, herhangi bir mülkün, bitkinin veya hayvanın ayrıca insanların yerleşim alanlarını yaşamaya uygun olmayan hale getirmektedir. Sağlık etkileri, konsantrasyon ve maruz kalma süresi ile ilişkili olmaktadır. Kokulu uçucu bileşiklerin bir karışımına uzun süre maruz kalmak astım, atopik dermatit ve nörolojik hasar dahil olmak üzere farklı hastalıklar için bir risk teşkil edebilmektedir. (Piccardo et al., 2022)

Methanetiol olarak da bilinen metil merkaptan toksik bir maddedir. İnsanların akut olarak bu kimyasala maruziyeti, gözlerin ve solunum yollarının mukoza zarlarında tahrişe neden olmaktadır. Ayrıca, merkezi sinir sistemi depresyonuna ve solunum felcine neden olmaktadır. Bir depolama tankından tert-bütil-merkaptan sızıntısına maruz kalan bir insan popülasyonu gözlenmiştir, nefes darlığı, göz tahrişi ve ajite davranışta artış olduğunu bildirilmiştir (Behbod et al., 2014).

Özetle, insanların bu kokulara uzun süre maruz kalması; kaygı, huzursuzluk veya depresyon gibi mental ve duygusal stresler dışında göz tahrişi, baş ağrısı, solunum problemleri, mide bulantısı veya kusma gibi fiziksel semptomlara kadar değişen istenmeyen reaksiyonlara neden olabilmektedir.

2.2.8 Kükürt Döngüsüne Genel Bir Bakış

Kükürt elementi, çeşitli oksidasyon durumlarında meydana gelmektedir. Kükürt indirgenmiş hali (oksidasyon durumu -2) ile tamamen oksitlenmiş (oksidasyon durumu $+6$) hali arasında değişmektedir. Kükürt elementinin üç oksidasyon durumu, -2 sülfhidril ve sülfid şeklinde, 0 elemental kükürt şeklinde ve $+6$ sülfat şeklinde olan hali doğada bol miktarda bulunmaktadır. Bu bileşikler şekil 1'de görüldüğü üzere biyolojik, kimyasal ve jeokimyasal süreçlerin bir kombinasyonu ile sürekli olarak birbirine dönüştürülmektedir. İnorganik ve organik kükürt bileşiklerinin dönüşüm süreçlerine mikrobiyolojik süreçler hakimdir. Tüm bunların kombinasyonu, kükürt döngüsüyle sonuçlanmaktadır. (Lomans et al., 2002)



Şekil 2. 31. Kükürt Redox Döngüsü (Lomans et al., 2002)

2.2.9 Uçucu Organik Bileşiklerin Küresel Olarak Önemi

Okyanus suyunda düşük ancak önemli miktarlarda dimetil sülfür (DMS) tespit edildiğinde uçucu organik bileşiklerin önemi artmıştır. DMS'nin okyanusu atmosfer bölmesine bağlayan kısmında az bulunması, kükürt döngüsündeki 'kayıp halka' olduğu varsayımına yol açmıştır. Bunun sebebi, atmosfere esas olarak H_2S 'den kaynaklı bir kükürt emisyonu olması düşüncesi olmuştur. Aynı zamanda kükürt döngüsündeki rolünü kanıtlayacak kadar okyanus yüzey suyunda yüksek sülfür konsantrasyonları tespit edilmemiştir. Kükürt yeni hipoteze göre, atmosfer yoluyla (ilk olarak DMS'nin oksidasyon ürünleri şeklinde) DMS olarak yağmur yağışıyla biriktiği karasal sistemlere aktarılmaktadır. Bu bulgudan sonra, organik kükürt bileşiklerinin mikrobiyoloji, kimya ve biyojeokimyası üzerine bir model önerilmiştir. Küresel sıcaklıklar, deniz yosunlarında DMS'nin bir öncüsü olan dimetilsülfoniopropionatın (DMSP) daha yüksek birincil üretimi ve dolayısıyla daha yüksek atmosferik DMS emisyon oranları nedeniyle artan bir DMS üretimi ile sonuçlanmaktadır. Artan DMS konsantrasyonu, Dünya yüzeyine ulaşan güneş ışığı miktarını azaltarak aynı zamanda küresel sıcaklığı da azaltmaktadır. Sıcaklıktaki bu düşüş, birincil DMSP üretimi üzerinde de azalmaya neden olduğu düşünülmektedir. Tüm bunlar dikkate alındığı zaman, DMS'nin metan ve karbondioksit gibi sera gazlarının davranışına karşı etkili olduğu düşünülmüştür. DMS, düşük konsantrasyonlarda bir lezzet bileşenleri iken (bira ve peynirde), daha yüksek konsantrasyonlarda uçucu olan bu organik bileşikler çok toksiktir. Biyolojik olarak üretilen DMS'nin küçük bir kısmı atmosfere gelmektedir. Üretilen DMS'nin yaklaşık %90'ı, atmosfere gitmeden önce anaerobik ve aerobik mikroorganizmalar tarafından parçalanmaktadır. Mikrobiyal olan bu dönüşümler, doğal sistemlerden atmosfere uçucu organik bileşiklerin akışlarını etkin bir şekilde kontrol etmektedir. Bunun yanı sıra, kükürt içeren fosil yakıtların

yanması, atmosferin toplam SO₂ emisyonuna büyük ölçüde katkıda bulunmaktadır. (Schäfer et al., 2010)

2.2.10 DMS'nin Bulunduğu Başlıca Kaynaklar

Doğal ve antropojenik kaynaklardan atmosfere yayılan uçucu organik kükürlü bileşiklerin emisyon oranları Tablo 2.4'teki gibidir. (Schäfer et al., 2010)

Tablo 2.4 Doğal ve antropojenik kaynaklardan atmosfere V(O)SCs emisyon oranları (Schäfer et al., 2010)

Kaynak	Kükürt bileşiği salınımı (Tg/yıl ⁻¹)						
	SO ₂	H ₂ S	DMS	DMDS	CS ₂	COS	Total
Okyanus		0-15	38-40	0-1	0.3	0.4	38.7-56.7
Tuz bataklığı		0.8-0.9	0.58	0.13	0.07	0.12	1.7-1.8
Bataklık		11.7	0.84	0.2	2.8	0.85	17.4
Toprak ve bitkiler		3-41	0.2-4.0	1	0.6-1.5	0.2-1.0	5.0-48.5
Biokütlenin yanması	7	0-1		0-1		0.11	7.1-9.1
Volkan/tüten yanardağ	8	1		0-0.02	0.01	0.01	9.0
Total	15	16.5-70.6	39.6-45.4	1.3-3.4	3.8-4.7	2.7-3.5	78.9-142.6

2.2.10.1 Denizel Ortamlar

DMS akısının atmosferde yaklaşık olarak 24.49±5.3 Tg a⁻¹ olduğu düşünülmektedir. DMS'in denizlerde yaklaşık olarak 21 Tg a⁻¹'dir ve doğadaki %80 DMS akısı denizlerde oluşmuştur, bu sebeple en önemli kaynağıdır. Geriye kalan %20 si bitki örtüsü, tuz bataklığı ve nehir ağzından, topraktan ve otluk alanlardan antropojenik alanlardan kaynaklanmaktadır. DMS'nin ana kaynağı deniz ortamında bulunan DMSP'dir. DMSP makroalglerin bazı türlerindeki metabolizma ara ürünüdür. Algler yüksek konsantrasyonda, (100 mM'e yakın) DMSP biriktirebilmektedirler. Mercanlar ile mercan kayalıkları yüksek konsantrasyonlu DMS kaynağı olabilmektedir. *Spartina* ve *Wollastonia biflora* gibi bazı damarlı bitkiler de DMS bulundurmaktadır, bu bitkiler önemli miktarda DMSP içermektedir ve ayrıca şeker kamışında da moleküllerine rastlanmıştır. DMSP içeren bir organizmada (örneğin bir zooplanktonda) virüsle kontamine olma sebebiyle DMSP tahribatı gerçekleşebilmekte ve DMSP deniz suyunda çözülebilir hale gelebilmektedir. Ancak DMSP çözüldüğü an DMS' ye indirgenmez. DMS emisyonunun çoğunluğu açık okyanus ortamlarından

kaynaklanmaktadır ve mikrobiyal matlar ve gelgit tortulları da önemli DMS kaynaklarının başlıcalarıdır. (Schäfer et al., 2010)

2.2.10.2 Karasal Kaynaklı DMS

DMS formasyonu karasal ve temiz su ortamında bulunabilmektedir. Ancak bu alanlarda DMS emisyonu deniz ortamında olduğu kadar çok çalışılmamıştır ve henüz farklı üretim mekanizmalarının önemine dair net bir görüş yoktur. Son yıllarda Avustralya’da bir tarım toprağının derin katmanlarında (1m derinliğin altında) DMS oluşumu ve bozulması gözlemlenmiştir. DMS’nin bu tip topraklardan gözlemlenen SO₂ emisyonlarının potansiyel bir kaynağı olabileceği ortaya atılmıştır. Glukozinolatların kükürt içerdikleri için buna sahip turpgil türlerinin topraktaki bitki kalıntılarının ayrışması, DMS MT ve DMDS dahil olmak üzere bir dizi uçucu kükürt bileşiği üretebilmektedir. Turpgil kalıntılarının toprağa eklenmesiyle beraber yerel olarak geliştirilmiş uçucu kükürt bileşikler üretimi, toprak kaynaklı fitopatojenik mantarları kontrol etmek için kullanılmaktadır. Tatlı su ortamlarında, sülfür metilasyonu veya metoksilatlı aromatik bileşiklerin bozunması sonucu, tabakalı göllerin ve bunların çökellerinin anoksik bölgelerinde DMS ve MT üretimi oluşabilmektedir. Ayrıca DMS üretimi tatlı su göllerinin oksik katmanlarında tespit edilmiştir. (Schäfer et al., 2010)

2.2.10.3 Bitkiler Tarafından Dms Üretimi

Bitkiler karasal ortamda, yarısının tropikal ortamlarda bulunduğu düşünülen ve 3.2 Tga⁻¹ olduğu düşünülen ana DMS kaynağı olabilmektedir. Bitkiler, H₂S, DMS, MT, COS ve CS₂ dahil olmak üzere bir dizi uçucu kükürt bileşiği yayabilir; H₂S ve DMS genellikle baskın türlerdir, ancak emisyon oranları değişken olmakla beraber birçok faktöre bağlı olmaktadır. Ağaçlarda yapılan bir çalışmada DMS ve COS gaz değişiminde DMS emisyon oranları ve sıcaklıkları arasında benzer bir ilişki bulunmuştur fakat DMS emisyonu test edilen ağaçlar arasında evrensel bir özellik olmadığı tespit edilmiştir (Schäfer et al., 2010).

2.2.10.4 Antropojenik Dms Kaynakları

Endüstriyel olarak DMS ve metanetiol, dimetilsülfit (DMDS) ve hidrojen sülfür gibi indirgenmiş kükürt bileşikler, kağıt endüstrisinde ağaç hamurlaştırma işlemindeki ürünlerden bazıları olmaktadır. Ayrıca, alkollerin aldehitlere Swern oksidasyonunun yan ürünü olduğu, Kraft prosesinin likörlerinde önemli

miktarlarda oluşabilmektedir. Gıda ve bira endüstrisinde, tarım ve hayvancılıkta da DMS emisyonlarının oluşumundan sorumludurlar. DMS'nin antropojenik kaynakları mevcut kaynağının %1 inden daha azından sorumlu olduğu düşünülmektedir. Uçucu organik kükürt bileşiklerinin düşük koku eşikleri sebebiyle rahatsız edici kokuların nedeni olabilmektedir. (Örneğin, kağıt imalatının atık su arıtımından kaynaklı olabilir veya aneorobik koşullarda DMSO nun DMS ye indirgenmesinin neden olduğu yüksek DMSO konsantrasyonlarına sahip başka kanalizasyon arıtımında rahatsız edici kokuların nedeni olabilmektedir. Mantar üretim alanında organik gübre yayılımı ve biyokatıların uygulanması için kompost sağlayan endüstriyel operasyonların yanında , tarım ve çiftçilik endüstriyel operasyonlar da DMS kaynağı olan alanlardır. (Schäfer et al., 2010)

2.2.11 Kükürt Döngüsündeki Anahtar Süreçler ve Mikroorganizmalar

Kükürt döngüsündeki anahtar süreçler ve Prokaryotlar Tablo 2.5'teki gibi özetlenmiştir.

Tablo 2.5 Kükürt döngüsündeki anahtar süreçler ve enzimler(Madigan, Martinko, Stahl, & Clark, 2011)

Süreç	Organizma
Sülfide / Sülfür Oksidasyonu $H_2S \rightarrow S^0 \rightarrow SO_4^{-2}$	1.Aerobik:Kükürt Kemolitotrofları (<i>Thiobacillus</i> , <i>Beggiota</i> ve başkaları) 2.Anaerobik:Mor, Yeşil Fototrofik Bakteriler ve Bazı Kemolitotroflar
Sülfat İndirgenmesi $SO_4^{-2} \rightarrow H_2S$	Anaerobik (<i>Desulfovibrio</i> , <i>Desulfobacter</i> , <i>Archaeoglobus</i> (<i>Archaea</i>))
Kükürt İndirgenmesi $S^0 \rightarrow H_2S$	Anaerobik (<i>Desulfuromonas</i> , birçok hipertermofilik <i>Archaea</i>)
Kükürt Disproporsinasyonu $S_2O_3^{-2} \rightarrow H_2S + SO_4^{-2}$	(<i>Desulfovibrio</i> ve diğeleri)
Organik Kükürt Bileşiği Oksidasyonu ve İndirgenmesi ($CH_3SH \rightarrow CO_2 + H_2S$) ($DMSO \rightarrow DMS$)	Birçok organizma bunu yapabilir.
Desülfürilasyon Organik-S $\rightarrow H_2S$	Birçok organizma bunu yapabilir.

2.2.11.1 Sülfürün Elemental Sülfüre Oksidasyonu

H_2S 'nin S_0 'a oksidasyonu için, flavositokrom c veya sülfür: kinon oksidoredüktaz (kısaca SQR) veya diğer bir oksidasyon yolu olarak Sox enzim sistemi veya ters çalışan sülfid redüktaz olmak üzere daha sonra hücre içinde veya dışında depolanan iki metabolik yol izi vardır.

Flavocytochrome c, FAD bağlayıcı FccB ve FccA alt birimden oluşan periplazmik bir proteindir. In vitro flavositokromlar, sülfidler ile sitokrom c550 gibi küçük c tipi sitokromlar arasındaki elektron transferini katalize ederek, elektronları fotosentetik reaksiyon merkezine aktarabilmektedir. In vivo flavositokrom c, elektron donörü olarak sülfid kullanan birçok organizmanın

flavositokrom c üretmesi ve onu üretmeyen ve hala sülfid organizmaların olmasından kaynaklı çok açık değildir. Buna göre de sülfidlerin oksitlenmenin başka yolları olduğunu kanıtlamaktadır. Başka bir sebep, *Allochromatium vinosum* ve *Chlorobium tepidum*'un flavositokrom c üretmeyen mutantlarının, mutasyona uğramamış kontrol gruplarıyla çok benzer sülfid oksidasyon oranları göstermesidir. Son olarak, sülfürlerin yokluğunda daha da sülfidlere oksitlenen elemental kükürt granüllerinin oluşumuyla sonuçlanan sülfidlerin oksidasyonudur. *Chlorobiaceae* ve *Chromatiaceae* familyalarının bazı üyeleri sülfidleri oksitlemek için flavositokrom c kullansa da, bunu yapmanın birincil yolu değildir (Kushkevych et al., 2021)

Sülfür: Kinon Oksidoredüktaz

Flavositokrom c ile oksidasyona alternatif olarak, elektronların sülfürden hücredeki kinon havuzuna aktarılmasıdır. Bu, sülfürün oksidasyonunu katalizleyen ve elektron alıcısı olarak izoprenoid kinon kullanan SQR enzimini gerektirmektedir. Bu metabolik yol izini kullanan sadece kemotrofik ve fototrofik prokaryotlarda değil, aynı zamanda mitokondrielerde bile keşfedilmiştir (Griesbeck et al., 2000). SQR enziminin zara bağlı olan aktivitesi, hem mor hem de yeşil kükürt bakterilerinde biyokimyasal olarak daha önce gösterilmiştir (Shahak et al., 1992). Bu enzimin, kinol oksitleyici Reiske FeS proteini ve sitokrom b kompleksi yoluyla elektronları fotosentetik elektron taşıma zincirine taşıdığı düşünülmektedir. SQR enziminin homologları, elektron donörü olarak sülfür bileşiklerini kullanmayan *Chlorobiaceae* familyasındaki yeşil kükürt bakterilerinin tüm suşlarında bulunmaktadır (Kushkevych et al., 2021).

2.2.11.2 Polisülfidlerin Oksidasyonu

Polisülfidler, çoğu mor ve yeşil kükürt bakterisinde sülfür oksidasyonunun birincil ürünüdür, ancak bazıları onları çevreden kabul edebilmektedir. Çalışılan birkaç mikroorganizma dışında, bu organik kükürt bileşiklerinin şimdiye kadar bilinmeyen bir enzimatik işleme oluşturulduğuna inanılmaktadır (Kushkevych et al., 2021).

2.2.11.3 Sox Enzim Sistemi ve Ters Çalışan Sülfid Redüktaz

Sox enzim sistemi en iyi şekilde *Rhodobacter capsulatus* için tanımlanmıştır. Flavositokrom c, sox genleri veya her ikisiyle, kontroller olarak

hala sülfid oksidasyon değerlerinde önemli bir farklılık göstermemiştir (Kushkevych et al., 2021).

2.2.11.4 Sülfidlerin Sülfat'a Oksidasyonu

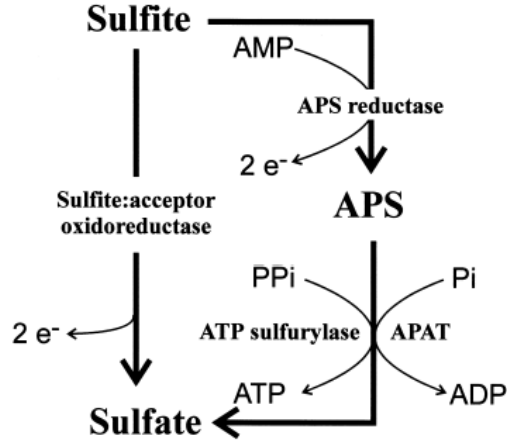
Fototrofik kükürt bakterilerinde kükürt bileşiklerinin oksidasyonunun son adımı sülfidlerin sülfatlara oksidasyonu olmaktadır. Yeşil kükürt bakterileri çoğunlukla dışarıdan sağlanan sülfidleri oksitleyemezken, bazı mor kükürt bakterileri bu yeteneğe sahiptir. Aynı zamanda, sülfidler, Dsr sistemi tarafından kükürt metabolizmasında bir ara madde olarak bütün fototrofik kükürt bakterilerinin sitoplazmasında meydana gelmektedir. Bu zamana kadar, sülfidlerin oksidasyonunun sadece iki yöntemi bilinmektedir. Birinci yöntem sülfid dehidrojenaz ile doğrudan oksidasyonu, ikinci yöntem ise, adenosin-50-fosfosülfat (APS) yoluyla dolaylı AMP'ye bağlı oksidasyonudur. İki yol da bir organizmada bulunabileceği enzimatik olarak kanıtlanmıştır (Kushkevych et al., 2021).

Sülfid Dehidrojenaz ile Doğrudan Oksidasyon

Sülfid dehidrojenaz, elektronları ferrisiyanürlere veya flavositokrom c'ye göndererek sülfidlerin sülfatlara doğrudan oksidasyonunu sağlamaktadır. En çok bilinen bakteriyel sülfid dehidrojenaz, alfa-proteobakteri'de bulunan *Starkeya novella*'daki SorAB proteindir. Molibden kofaktörü ve sitokomdan oluşan heterodimer yapıdadır. Katalizi esnasında elektronlar, oldukları yerden küçük bir alt birimde bulunan c552 aracılığıyla yavaş yavaş aktarılmaktadır. Buradan da sitokrom c550'ye aktarılmaktadır (Kushkevych et al., 2021).

Dolaylı AMP Bağımlı Oksidasyon

Bu yol izinde sülfid, AMP'den APS, APS redüktaz ile oluşmaktadır. APS'nin AMP olan yapısal kısmı, ATP sülfülaz ile pirofosfata aktarılmaktadır. Adenil sülfat ise fosfat adeniltransferaz (APAT) ile fosfata aktarılır, burada bir ATP veya ADP açığa çıkmaktadır. Adenilat kinaz kullanılabilen bu iki ADP molekülü ATP ve AMP'ye dönüştürülebildiği için ATP sülfülaz ve APAT sülfatı serbest bırakan substratın fosforilasyonunu katalizlemektedir. Tüm süreç bakteriyel sitoplazmada gerçekleşmektedir (Kushkevych et al., 2021).



Şekil 2.32 Sülfitin doğrudan ve dolaylı oksidasyonu (Kappler and Dahl, 2001)

2.2.11.5 Tiyosülfatların Oksidasyonu

Bakteriler, tiyosülfatları tiyosülfat dehidrogenaz kullanılarak tetrasyonana veya multienzim Sox sistemi kullanılarak sülfatlara okside etmektedir (Kushkevych et al., 2021).

Tiyosülfatın Tetrasyonata Oksidasyonu

Tetrasyonat zayıf asidik bir ortamda daha fazla üretilmektedir bunun sebebi Ph'ya bağlı olmasındandır. Oksidasyona sülfat dehidrojenaz enzimi sebep olmaktadır. Bu enzim, tiyosülfatların oksidasyonu sırasında açığa çıkan elektronların bir alıcısı olan iPIP'yi (yüksek potansiyelli demir-kükürt proteini) kullanmaktadır (Kushkevych et al., 2021).

2.2.11.6 Tiyosülfatların Sülfatlara Oksidasyonu

Tiyosülfatlar, sülfatlara Sox multienzim kompleksini oksitleyen bir sox geni içermektedir. Sülfite, sitoplazmanın yapısında bulunan ters etkili disimilatör sülfite redüktaz DsrAB tarafından üretilmektedir. SorT sülfite dehidrojenazları, mor veya yeşil kükürt bakterilerinde bulunmamaktadır. Bununla birlikte, zara bağlı bir polisülfid redüktaz benzeri demir-kükürt molibdoproteini (SoeABC) için genler evrensel olarak bulunmamaktadır (Kushkevych et al., 2021).

Biyodamlatma filtreleme yöntemi kolay ve düşük maliyetli teknoloji, orta miktarda bir sermaye ve düşük işletme maliyetleri, asit üretenler dahil olmak üzere çevre kirliliğine sebep olan kimyasalların etkin bir şekilde uzaklaştırması ve düşük basınçta damlama sebebiyle avantajlı bir işlemdir. Bu yöntemin dezavantajı ise çok fazla besin ve yüksek konsantrasyonda VOC'ler işlenirse ortama büyüyen biyokütle tıkanmaya sebep olabilmektedir.

Biofiltrasyon işleminde ise, kolay ve düşük maliyetli teknoloji, biyodamlatmaya göre daha düşük bir sermaye ve işletme maliyetleri, düşük konsantrasyonlarda kirleticilerin etkin şekilde uzaklaştırılması, düşük basınçta damlama ve fazla atık yığını üretilmemesi sayesinde avantajlı bir yöntemdir. Her 2-5 yılda bir filtre yatağı değişimi, yüksek miktarda kirletici konsantrasyonları için daha az uygunlukta, nem ve pH kontrolü daha zor ve partikül maddeler filtre yatağını tıkayabilir olması bu yöntemin dezavantajları arasındadır.

Mikroorganizmalar, biyofiltrenin ambalaj malzemesi üzerinde biyofilm olarak büyümektedir. Arıtılacak kirletici, önce biyofilmi çevreleyen sulu film tarafından emilmektedir ve sonrasında biyobozunma biyofilm içinde gerçekleşmektedir. Bu işlem bir emici kolonda sıvı fazdaki kokuların fiziksel olarak ayrılması veya emilmesinden ardından sıvı fazlı bir biyoreaktörde biyolojik arıtmadan oluşmaktadır. Biyoreaktörden çıkan atık su, absorbe edici ünitenin tepesine yeniden sirküle edilerek yüksek oranda çözünür kirleticilerin etkin gazla temizlenmesini sağlamaktadır. Biyoyıkama teknolojisinin başlıca avantajları şunlardır: pH ve besin dozajı, kısmen düşük gaz basıncı düşüşü ve küçük alan gereksinimi gibi operasyonel parametrelerin kararlılığı ve efektif kontrolünün olmasıdır. Paketleme malzemesinin tıkanması önlediğinden, biyolojik temizleyiciler büyük gaz akış hızlarını ve yüksek kirletici konsantrasyonlarını işleme kapasitesine sahiptir. Ek olarak reaksiyon ürünleri yıkama ile uzaklaştırılabildiğinden, reaktörde üretilen toksik yan ürünlerin konsantrasyonları düşük seviyelerde tutulabilmektedir. Biyoyıkama makinelerinin dezavantajları ise şu şekildedir: sıvı atık oluşumu ve olası aşırı çamur oluşumu ve en yavaş büyüyen mikroorganizmaların yıkanma riski olabilir ve ayrıca gaz halindeki çevre kirliliğine yol açan maddelerin absorpsiyon kolonunda kaldığı kısa süre boyunca absorbe edildiğinden biofiltrasyon yöntemi suda az çözünen bileşikler için daha az uygun olmaktadır. (Barbusinski et al., 2017)

2.2.14 Kanalizasyon Sisteminde Kullanılan Koku Giderim Yöntemleri

2.2.14.1 Sıvı fazda arıtma

Kanalizasyona farklı kimyasalların eklenerek hidrojen sülfür (H₂S) oluşumunu kısıtlanması amaçlanmaktadır. (City of Los Angeles, (2011))

Kalsiyum Nitrat (BİOKSİT)

Nitrat eklemesi bakterilerin kullandığı sülfat yapılarını değiştirmektedir ve kanalizasyondaki sülfür oluşumunu en aza indirmektedir. Fazla miktarı kanalizasyon tesisini etkilerken arıtma tesisinin birincil arıtıcılarında nitrojen gazı kabarcıkları oluşturmaktadır. Bitkilerde az miktarda BOD₅ azalmasına sebep olmaktadır aynı zamanda kalsiyum, biyokütle büyümesi için gerekli bir mikro besin olmasıyla avantajlıdır. (City of Los Angeles, (2011))

a. Demir tuzları

Demir klorür sıvıya girdiği an demir ve klorür olarak ayrışmaktadır, sıvıya girdiği an sülfürlerle tepkimeye girerek demir sülfürleri meydana getirmektedir. Sülfürlerdeki bu azalmayla beraber buhar halindeki H₂S konsantrasyonlarını azaltarak koku konsantrasyonunun azalmasına olanak sağlamaktadır. Atık sudaki sülfür dışındaki anyonlarla reaksiyona girebilme eğilimi bu yöntemin dezavantajıdır. (City of Los Angeles, (2011))

b. Metal tuzları

Metal tuzları, hidrojen sülfür ile tepkimeye girerek sülfürleri çöktirmektedir. Genellikle demir sülfat tuzları kullanılmaktadır. Yöntemin avantajı peroksit veya kloro göre maliyeti azdır ve kanalizasyonun pH'ını arttıracak yüksek asit içeriğine sahip olmalarıdır. Anca bu atıkların biyolojik metabolize edilmesine engel olabilmektedir. (City of Los Angeles, (2011))

c. Potasyum permanganat

Hidrojen sülfür ile çeşitli tepkimeye girebilen oksitleyici bir kimyasaldır. Son ürün olarak atık akışlarda elementel kükürt, sülfat, tionatlar, ditionatlar ve mangan sülfürleri oluşturan tepkimelere girebilmektedirler. Çamur susuzlaştırma

işlemlerinde son derece etkili olduğu görülmüştür. Kullanılacak miktarın belirlenmesi ve kontrolü güçtür. Hidrojen sülfürün giderilmesi için maliyetlidir ve yüksek doz gerektirmektedir. Ayrıca taşıma ve depolama için önlem alınması gereklidir (City of Los Angeles, (2011)).

d. Klor ve sodyum hipoklorit

Klor, su ile birleştiğinde hidrojen sülfür metabolize eden bakteriler için inhibe edici olan hipokloröz ve hidroklorik asit meydana getirmektedir. Klor lağım suyunu arıtmak için kullanılan yararlı olsa da, atıkları parçalayan bakteriler için öldürücüdür. Uzaklaştırılması güç kloraminleri oluşturmak için atık akıştaki idrarla birleştirmektedir. Klorlu kanalizasyonun arıtılması sırasında toksik veya kanserojen klorlu hidrokarbonlar oluşabilmektedir. Klor güvenlik önlemleri gerektiren tehlikeli bir kimyasaldır (City of Los Angeles, (2011)).

e. Hidrojen peroksit

Hidrojen peroksit, hidrojen sülfür ile hızlı tepkimeye girerek kükürt ve su oluşturur. Tepkimeleri kısa sürede tamamlandığı için sadece yerel problemleri iyileştirme için tercih edilmektedir. Pahalı ve koruyucu kıyafet giymeyi ayrıca kullanılırken özel güvenlik önlemleri alınması gerektirecek kadar tehlikelidir. Taşınırken veya depolanması yapılırken yüz kalkanları takılmalıdır ve kendiliğinden yanabilmektedir (City of Los Angeles, (2011)).

f. Oksijen/Hava Enjeksiyonu

Oksijenasyon, yararlı aerobik ve fakültatif anaerobik bakterilerin istenmeyen anaeroblara göre hızlı üremesini sağlayarak karbon kaynaklarını fazla tüketmesine olanak tanımaktadır. Bu, yararlı bakterilerin mevcut besinlerden daha fazlasını tüketmesini sağlamaktadır. Doymunluk seviyesi az olduğundan kullanımı sınırlıdır (City of Los Angeles, (2011)).

g. Kostik Şok Dozajı

Kanalizasyonun sülfidit oluşan alanlarına sodyum hidroksit direkt eklenmektedir. En az yarım saat boyunca sülfat indirgeyen bakterilerin etkisiz duruma getirmek için artan hacim, hız ve pH 12.5'in üzerinde eklenmektedir. Bu uygulama sülfürün bulunduğu tüm formlarını etkin bir şekilde yok etmektedir.

h. Magnezyum hidroksit

Atık suyun pH'ı arttıkça, sudaki sülfürler, H₂S gazından çözülmüş sülfürlere doğru gitmektedir. Magnezyum hidroksit atık suyun pH'ını yükselterek tampon görevi görmektedir 7,5 ve 8,6 aralığındaki Ph'ın artırılması ve tamponlaması için atık suya sürekli olarak magnezyum hidroksit eklenmektedir. 8.6'lık bir pH'ta, sülfürlerin çok az kısmı H₂S gazı olarak mevcuttur. Yüksek bir pH'ın sağlanmasıyla, etkili koku giderimi sağlanmaktadır.

2.2.14.2 Buhar fazlı arıtma

Bu yöntem, gazları ve kokuları doğrudan işleme tabi tutmaktadır.

a. Sızdırmazlık Bakım delikleri

Buhar fazındaki kokuların en iyi giderimi buharları kontrol altına almaktır. İşlem, bakım deliğinden gazın dışarı çıkmasını engellemektir.

b. Gaz Kapanı Bakım Deliği

Gazı kapanı bakım deliğiyle kazalizasyondaki gazların geçişini engelleyen tuzaklar kurulmaktadır.

c. Bakım Deliği Ekleri

Bioteg MH Biyofiltre gibi bakım deliği eklerindeki filtre ortamında mikroorganizmalar mevcuttur bu organizmalar bakım kapağından çıkmadan önce oksitlenerek koku giderimi yapmaktadırlar.

d. Büyük Hava Arıtma Tesisleri

Karbon temizleyiciler, H₂S'in giderimi için aktif karbon kullanılmaktadırlar. Yüksek oranda H₂S uzaklaştırması yapabilmektedir.

Biyofiltreler, özellikle hayvancılık tesislerindeki kokulu organik bileşiklerin giderimini yapmaktadır, yaygın olarak tesislerde kullanılmaktadır ve etkili bir yöntemdir.

Biyolojik Damlama Filtresi uzun ömürlüdür ve birçok avantajı vardır. Mevcut olan her şey ortam içerisinde dönüştürülmektedir. Ayrıca sisteme organizmalar için devamlı besleme yapılmaktadır (City of Los Angeles, (2011)).

2.2.14.3 Hidrolik iyileştirmeler

Düşük Akış Hızı

Kanalizasyon yavaş aktığında, mevcut olan tortu da artmaktadır. Tortular, hidrojen sülfüre iyi bir altyapı sağlamaktadır bu sebeple kanalizasyonlar artmanın olmaması sebebiyle uygun akış hızının gerektiği şekilde yapılmaktadır (City of Los Angeles, (2011)).

Ters Sifonlar

Basıncın artması ters sifonların akışı tarafında önemli koku sorunlarıyla bağdaştırılmıştır. Gazı sifondan aktarmak için de hava kanalları veya köprülerine gerek duyulmaktadır, bu sebeple sistem buna uygun olmalıdır (City of Los Angeles, (2011)).

2.2.15 Kokulu Bileşiklerin Giderilmesi için Farklı Analitik Yöntemler

Koku yayan kimyasallar, duyuşal değerlendirmeden sonra kokuların insanlara, çevreye ve biyolojiye yönelik potansiyel riskinin daha fazla etki değerlendirmesi yapılabilmesi için nicel ve nitel olarak analiz edilmelidir (Wang et al., 2021).

Tablo 2.6 Farklı analitik yöntemlerin karşılaştırılması (Wang et al., 2021)

Metod	Tanım	Uygulama	Avantaj	Referans
Spektrofotometri	Belirli bir dalga boyunda veya belirli bir dalga boyu aralığında ışığın absorbansını ölçerek nitel ve nicel analiz için bir yöntemdir.	Amonyak, Sülfür, Aromatik bileşikler (fenol, akrolein, piridin)	Yüksek hassasiyet İyi seçicilik Kolay kullanım	Van Kempen et al., 2002; Ministry of Ecology and Environme

				nt of the People's Republic of China, 2009
GC	Sistemdeki her bir bileşenin ayırma ve analiz yöntemi Karışım, adsorpsiyon kapasitesi, çözünürlük, afinite ve anyon durgunluğu gibi fiziksel özelliklerin farkına dayanır.	Organik aminler, Kükürt bileşikleri, Uçucu yağ asitleri, Karbonil bileşikleri, Ester, Fenol, Alkol, Azot bileşikleri Sülfür(hidrojen sülfür, karbon disülfür, karbonil	Yapısal olarak benzer bileşik için zayıf tanıma, Karmaşık operasyon	Miranda-Lopez et al., 1992; Jin et al., 1997
GC/MS	Yöntem, kütle spektrometresinin iyon kaynağına tek tek girerek bileşiklerin doğru tanımlanması için kütle spektrometrisi ile etkili ayırma ve çözünürlük yeteneği için gaz kromatografisini birleştirir.	kükürt, merkaptan, tiyoeter, tiyofen, dimetildisülfid, dimetiltrisülfid) Uçucu organik Bileşikler	Genel amaçtan özel amaca isteğe bağlı dedektörler	Akdeniz et al., 2012; Cai et al., 2007
HPLC	Sıvıyı mobil faz ve yüksek basınçlı infüzyon sistemi olarak kullanan, Tek çözücü veya karışık gibi farklı polariteye sahip mobil faz	Düşük moleküler ağırlıklı organik aminler, Anilinler, Karbonil	Yüksek fiyatlı analiz süresi	Tsai et al., 2009; Hofstetter et al., 2019

	Farklı oranlarda çözücü ve tampon, sabit fazlı kromatografik kolona pompalanır. Kolondaki bileşenler ayrıldıktan sonra, numunenin analizini gerçekleştirmek için algılama için dedektöre girerler.	bileşikleri, Fenoller		
İyon kromatografisi	Esas olarak iyon değişim grupları arasındaki değişimi kullanır, yani ayırma, kendi kendine bakım değişim reçinesine iyonlar arasındaki afinite farkına dayanır.	Uçucu yağ asitleri, Organik aminler	Dar doğrusal aralık, Nispeten zayıf çözünürlük	Botre and Gharpure, 2006; Pan et al., 2007
Elektronik burun	Yöntem, kokuyu tanımlamak için gaz sensörü dizisinin tepki modelini kullanan elektronik bir sistemdir.	Amonyak, Sülfür, Koku konsantrasyonu	Zayıf stabilite Periyodik kalibrasyon Dar test aralığı	Jha and Hayashi, 2014; Romain et al.,2005

3. MATERYAL METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Tiyol Biyodegradasyonunda Kullanılacak İzolatlar

Kullanılan izolatlar 16.12.2020 tarihinde, İzmir Seyrek bölgesinde bulunan bir Domuz Çiftliği (yetişkin domuz ve yavru domuz dışkısı) ve daha önceden örneği alınan bir aktif çamur örneğinden toplamda üç farklı habitattan alınan örneklerden elde edilmiştir.

3.1.2 Besiyerleri ve İçerikleri

Kullanılacak besiyeri ortamı, Mineral Salt Medium besiyeri seçilmiş olup, içerikleri çökelti oluşturmamak için Tablo 3.1’de sırayla 500 ml’lik distile su içerisinde tartılıp, hazırlanmıştır.

Tablo 3.1 Mineral Salt Medium Bileşen ve Miktarları

Bileşen	Miktar (g/500Ml)
KH_2PO_4	1,2 gr
K_2HPO_4	1,05 gr
FeSO_4	0,01 gr
NH_4Cl	0,23 gr
MgCl_2	0,11 gr

Besiyeri içerikleri tablodaki sıraya göre tartılıp 500ml’lik distile su içerisinde teker teker çalkalayıcıda çözüldürülerek sırayla konulmuştur. Besiyeri otoklavlanmadan enjektör ve filtre kullanılarak steril edilmiştir.

Elde edilen mikroorganizmaların özelliklerini belirlemek için, Tryptic Soy Agar (TSA) besiyeri (*Merck 1.05458*) ve Nutrient Agar (*Sigma-Aldrich 70148*) otoklavlanarak, petrilere dökülerek izolatların ekimleri yapılmıştır.

3.1.3 İzolasyonu yapılan mikroorganizmaların mikroskopik tanılamaları

Biyodegradasyon yapan ve elde edilen mikroorganizmaların morfolojik tanılamalarının yapılması amacıyla gram boyama yöntemi kullanılmıştır.

3.1.4 Tez çalışmasında kullanılan kimyasallar

2-Furanmetanetiyo (98-02-2 Merck)

3.1.5 HPLC (yüksek performans sıvı kromatografisi) analizinde kullanılan kimyasallar

Bakterilerin tiyol biyodegradasyon yeteneği ve degradasyon yüzdesinin belirlenmesi için HPLC cihazı kullanılmıştır. Sabit fazda C18 (Agilent Eclipse XDB) HPLC Column ve mobil fazda asetonitril (75-05-8 Merck) ve formik asit (64-18-6 Merck) kullanılmıştır.

3.1.6 Kalıtsal materyallerin görüntülenmesinde kullanılan kimyasallar

Parçalama yeteneği gözlenen mikroorganizmaların DNA'ları, agaroz TAE tamponu ve GelRed (Biotium) floresanlı nükleik asit boyası kullanılarak görüntülenmeleri yapılmıştır. Kalıtsal materyalin molekül ağırlıklarının belirlenmesi için Ladder (PCR 100 bp Low Ladder- Merck) , kalıtsal materyali agarozaya yüklemek için yükleme boyası kullanılmıştır.

3.1.7 Çalışmada Kullanılan Cihazlar

- Hassas Teraz (Denver Instrument): Gerekli kimyasal malzemeleri ve ortamdaki bileşenleri tartmak amacıyla kullanılmaktadır.
- Otoklav (Hirayama Hiclave-HV 50L): Kullanımı tamamlanan organizmalı besiyerleri ve hazırlanan yeni (taze) ortamları sterilize etmek için kullanılmaktadır.
- Steril Kabin : Ekim işlemlerinin tamamında kontamine olma riskinin önüne geçilmesi amacıyla kullanılmıştır.
- DNA/RNA Steril Kabini (Biosan): Moleküler biyoloji alanındaki çalışmaların yürütüldüğü süreçte kontamine olma riskini ortadan kaldırmak amacıyla kullanılmıştır.

▪ İnkübatör (Memmert): Solid besiyerlerindeki organizmaların 27⁰ C derecede geliştirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

▪ Çalkalayıcı (New Brunswick Scientific Innova 4340): Likit ortamdaki organizmaların 120 rpm ve 27⁰ C derece koşullarında büyütülmesi amacıyla kullanılmıştır.

▪ Spektrofotometre (Hettich - Carry 300 Bio): Aşı mikroorganizması görevinde kullanılacak mikroorganizmaların miktarı belirlenirken kullanılmıştır.

▪ HPLC (Agilent 1100 Series): Tiyol ve tiyol ihtiva eden bileşikleri indirgeyebilen organizmalarda parçalama etkinliğinin tespit edilmesi amacıyla kullanılmıştır.

▪ PCR (Techne-TC Plus): İzolasyonu sağlanmış mikroorganizmaların kalıtsal materyal çoğaltılması amacıyla kullanılmıştır.

▪ Vortex (VWR): Karıştırma işlemlerinde ve özütleme (ekstraksiyon) basamağında kullanılmıştır.

▪ Mikropipetler (Eppendorf): Mikrolitre hacimli likitlerin aktarımında 10, 100 ve 1000 mikrolitrelik pipetler kullanılmıştır.

▪ Santrifüj (Hettich): Yüksek performanslı sıvı kromatografisi analizi ve kalıtsal materyal izolasyonunda kullanılmıştır.

▪ Jel Görüntüleme Cihazı (UVP Biospectrum): İzolasyonu sağlanmış kalıtsal material ve PCR ürünlerinin görüntülenmesi amacıyla kullanılmıştır.

▪ Elektroforez: İzolasyonu sağlanmış DNA'ların saflığı kontrol edilirken kullanılmıştır.

3.2 Metod

3.2.1 2-Furanmetanetiylü degrede eden organizmaların izolasyonu

Otoklavda steril edilen 50ml'lik amber şişelerin içerisine, Mineral salt medium besiyeri, 5ml'lik enjektörlerle çekilip 0.45 uM'lik steril filtrelerden geçirilerek amber şişelerin içerisinde 25ml olacak şekilde aktarılmıştır. Atık çamur, yavru domuz dışkısı ve yetişkin domuz dışkısından 1gram tartılarak amber şişelerin içerisine konulmuştur. 2-Furanmetanetiylol suyun içerisinde çözünmediği için besiyerine aktarılmadan önce Tablo 3.2'deki gibi kloroformda çözdürüldükten sonra, son konsantrasyonu 185mg/L olacak şekilde içerisinde örnek bulunan amber şişelere 2furanmetanetiylolden 46,3ul eklenmiştir. Amber şişeler 5 gün süre ile 27⁰C sıcaklıkta 120 rpm de çalkalamalı inkibatörde inkübasyona bırakılmıştır.

Tablo 3.2 2-Furanmetanetiylün çözdürülmesi

0,5ul 2-Furanmetanetiylol	4,5ul kloroform
---------------------------	-----------------

İnkübasyon süresinin sonunda ana örnek olan amber şişelerden 1,23 ul alınarak, yeniden steril edilen ve filtreden geçirilen mineral salt medium besiyeri içeren şişelere ana örnekten pasajlama yapılmıştır.

5 günlük inkübasyon süresi sonunda aynı parametreler baz alınarak 2.kez 1.pasajlaması yapılan amber şişelerden 1,23 ul alınarak, yeniden steril edilip filtreden geçirilen mineral salt medium besiyeri içeren amber şişelere 2.kere pasajlama yapılmıştır ve aynı şekilde 5 günlük inkübasyona bırakılmıştır.

Tablo 3.3 Kullanılan 2-Furanmetanetiylölün miktarı ve pasajlanması

Ana Örnek	1.Pasaj	2.Pasaj
25 mL Mineral Salt Medium Besiyeri	25 mL Mineral Salt Medium Besiyeri	25 mL Mineral Salt Medium Besiyeri
1 g Yetişkin Domuz Dışkısı	1,23ul ana örnekten alındı.	1.23ul 1.pasajdan alındı.
1 g Yavru Domuz Dışkısı	1.23ul ana örnekten alındı.	1.23ul 1.pasajdan alındı.
1 g Atık Çamur	1.23ul ana örnekten alındı.	1.23ul 1.pasajdan alındı.
185 mg/L 2-Furanmetanetiylöl	Ana örnek dışında besleme yapılmadı.	Ana örnek dışında besleme yapılmadı.

Pasajlama işleminden sonra, mikrobiyal yoğunluk ve farklı mikroorganizmaların belirlenebilmesi için amber şişelerden örnekler alınarak 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} 'lük seyreltmeler yapılmıştır ve 10^{-3} , 10^{-4} 'lük seyreltmeler Nutrient Agar'a ekilmiştir. 30°C , 24saatlik inkübasyona bırakılmış olup, sonrasında besiyerinde üreme olan petrillerdeki üreme farklılıklarına göre belirlenmiş ve farklılık gösteren koloniler besiyeri ortamından alınarak saflaştırma amaçlı çizgi ekim yöntemi ile yeniden Nutrient Agar ortamlarına ekilmiştir. Saflaştırılmış olan izolatlar, yatık Nutrient Agar'a ekilip, $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2 Kullanılan mikroorganizmaların biyoparçalanma etkinliklerinin belirlenmesi

2-Furanmetanetiylölün biyodegradasyon denemesinde, 50 ml'lik amber şişelerde hazırlanan ve tek karbon kaynağı olarak kullanılacak olan tiyollü bileşik için, en iyi parçalanma konsantrasyonu 185 mg/L olacak şekilde 46,3 mg/L 2-Furanmetanetiylöl içeren her bir amber şişede 25 Ml içeren Mineral Salt Medium ortamı hazırlanmıştır.

Yatık Nutrient agarda +4°C’de saklanan izolatlar denemelere başlamadan önce aktivasyonlarının sağlanması için; 15 ml nutrient agar içeren petrilere ekilerek 30 °C’ de 24 saat boyunca inkübatörde büyütülmüştür.

İnkübasyon süresinin sonunda, önceden hazırlanmış olan 5ml lik FTS’li tüplerin içerisine aktivasyonu sağlanan izolatlar optik yoğunlukları OD 1 olacak şekilde aktarılmıştır. Böylece yapılan denemelerde oluşabilecek mikroorganizma sayısı kaynaklı belirsizlikler önlenmiştir ve OD 1’ e karşılık gelen optik yoğunluğun yaklaşık olarak 10^6 - 10^7 kob/ml olduğu belirlenmiştir.

Hazırlanan tüm amber şişeler 2-Furanmetanetiylol eklenmeden önce otoklavlanmıştır. 1/10’luk seyreltilmiş olan 2-Furanmetanetiylol ve optik yoğunluğu 1’ e ayarlanmış olan tüplerden %5 izolat, içerisinde mineral salt medium içeren ortamlara aktarılmış ve iyice karıştırılmıştır. 2-Furanmetanetiylolün uçucu olması sebebiyle, 2ml’lik şırıngalarla ortam içerisinden hızlıca 1ml çekilmiş ve steril ependorflara aktarılmıştır. Ependorflar 2500 rpm’de 5 dakika santrifüjlendikten sonra çok dipten olmayacak şekilde 2ml lik şırıngayla süpernatant çekilmiştir ve 0.45 mMlik filtreden HPLC analizi için viyallere aktarım yapılmıştır. Süpernatant alımı santrifüj sonunda yapılmıştır. Böylelikle Mikroorganizmaların ekim işlemi sırasında besiyerinden gelebilecek olası organik maddelerin uzaklaştırılması sağlanmıştır.

3.2.3 Biyoparçalama etkinliğinin belirlenmesi için yapılan kültürel analizler

İzolatların dış koşullara akliye olmaları; mevcut ortamın bileşenlerine göre etkilenmektedir. Bu çevresel koşullar sıcaklık, oksijen içeriği vb. gibi birçok faktör olabilmektedir. Mikroorganizmalar üzerinde, etkinlik ölçümleri için kullanılan ortamların yeterliliği, aynı zamanda degradasyon tayini için bakılacak olan tiyollü bileşiğin uçuculuğu, çözünürlüğü, organizmalar üzerinde inhibe etkilerinin olup olmadığı ve canlılık faaliyetlerindeki durumları belirleyen kültürel ekim yöntemi kullanılmıştır.

Çalışma süresince, iki gün aralıklarla amber şişelerden alınan örnekler TSA besiyerine aktarılmıştır. Böylece mikroorganizmaların canlılık faaliyetlerindeki artma azalma miktarları belirlenmiştir. Ayrıca kontrol grubu olarak kullanılan amber şişelerin de değişimlere bakılmıştır ve içerisinde mikroorganizma grubu bulunan amber şişelerle kıyaslanarak herhangi bir kirlenme durumu olup olmadığı kontrol edilmiştir.

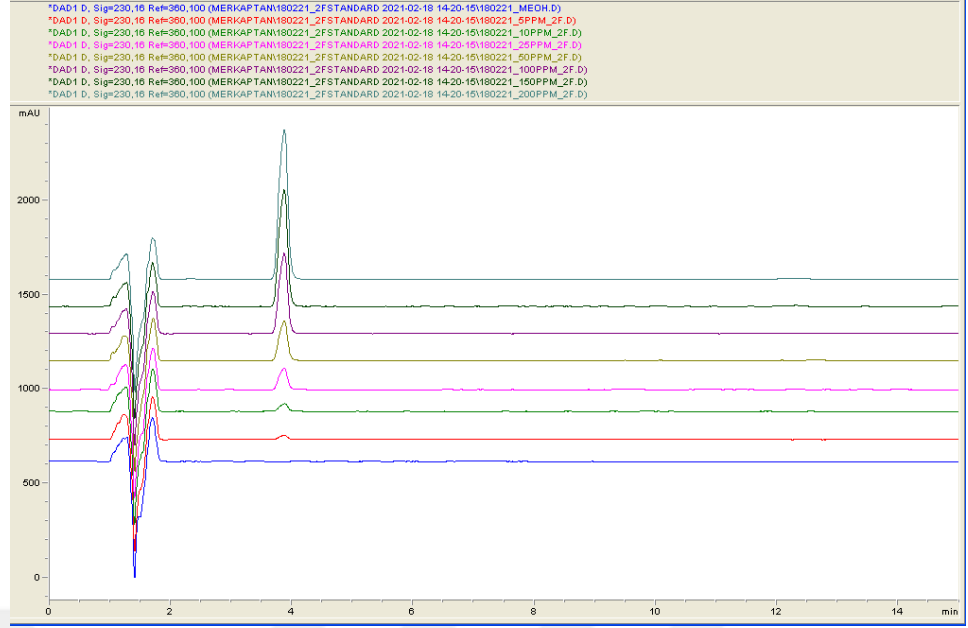
3.2.4 Yapılan analitik analizler

İzolatların biyoparçalama kabiliyetlerinin sayısal verileri; besin kaynağı olarak kullanıldığı düşünülen 2furanmetanetiylol bileşiğinin sürece bağlı azalmasını tespit eden Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*) ile ölçülmüştür.

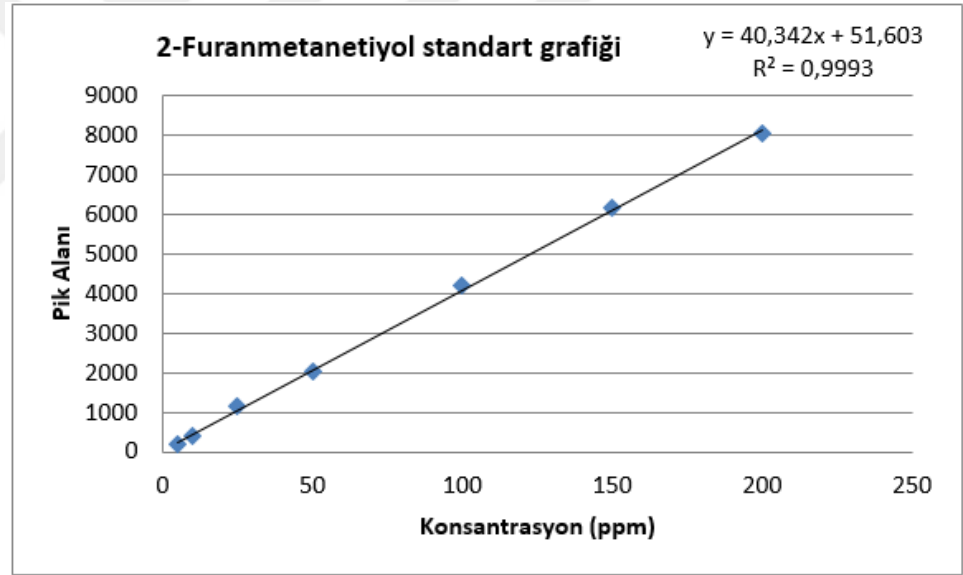
2-Furanmetanetiylolün biyoparçalanmasının gözlenmesi için HPLC (Agilent 100 series, USA) cihazı ile C18 (4,6x150mm, 5µm, Agilent Eclipse XDB) kolonu kullanılmıştır. Yöntem, DAD dedektörü vasıtasıyla %50 Asetonitril, %50 (%0.9 Formik asit ilaveli) - su mobil fazında, 1ml/dk akış hızı, 20µl enjeksiyon ile kolon sıcaklığı 30°C ve 15 dakika olacak şekilde oluşturulmuştur. 2-Furanmetanetiylol suda çözünmediği için HPLC analizi standart grafiği yapılmadan önce yapılacak olan seyreltme metanol içerisinde yapılmıştır. 2-Furanmetanetiylol için belirli konsantrasyonlarda ardışık seyreltme ile hazırlanan örneklerle belli bir alıkonma süresinde elde edilen alanlar (Tablo 3.4) ile konsantrasyonlara karşı standart eğri grafiği (Şekil 3.1) oluşturulmuştur, bilinmeyen örnekteki 2-Furanmetanetiylol konsantrasyonunun belirlenmesi için sabit katsayılar elde edilmiştir. Sonrasında, analizlerde belirlenecek olan pikler 2-Furanmetanetiylol için alıkonma süresi 3.8 olarak 230nm dalga boylarında ölçülmüştür. Standart grafik 200ppm'e kadar bu kimyasalı okuduğu için çalışılacak olan konsantrasyon ve hesaplamalar 185ppm'e göre hesaplanmıştır.

Tablo 3.4 2-Furanmetanetiylolün konsantrasyon, alıkonma süresi, pik alanı ve dalga boyu

Kimyasal	Konsantrasyon	Rt	Pik Alanı	Dalga Boyu
2F	5ppm	3.837	209.4	230 nm
2F	10ppm	3.843	383.9	230 nm
2F	25ppm	3.837	1138	230 nm
2F	50ppm	3.835	2035.7	230 nm
2F	100ppm	3.837	4185	230 nm
2F	150ppm	3.837	6172.7	230 nm
2F	200ppm	3.836	8021.3	230 nm



Resim 3.1 2-Furanmetanetiylolün 230nm dalga boyuna göre konsantrasyon görüntüsü



Grafik 3.1 2furanmetanetiylol kimyasalı için oluşturulan standart eğri grafiği

3.2.5 Seçilen mikroorganizmaların ön tanılamaları

Morfolojik ve analitik işlemlerin sonucunda, 2furanmetanetiylolün parçalamasını yapabilen mikroorganizmaların ön tanılamaları yapılmıştır.

Kültürel ve mikroskopik özelliklerinin tanılamalarına ek olarak moleküler teknikler kullanılarak 16S rDNA dizi analizi aracılığıyla izolasyonu yapılan mikroorganizmalar tanılanmıştır.

3.2.5.1 Kültürel özellikler

İzolasyonu yapılan mikroorganizmalar TSA ortamına ekimleri yapılarak 30°C’de 24 saat sonunda oluşan koloniler morfoloji, renk, koku ve pigmentasyon bakımından incelenmiştir.

3.2.5.2 Mikroskopik özellikler

TSA ortamında üreyen kültürlerin Gram boyama tepkimeleri, bakteri morfolojileri ve mikroskopik boyutları 100x’lik büyütmede mikroskopta incelenmiştir.

3.2.6 Mikroorganizmaların moleküler tanılaması

3.2.6.1 DNA izolasyonu

Yapılan analizlerden sonra, 2-Furanmetanetiylü besin kaynağı olarak kullanıp biyoparçalama kabiliyeti gösteren organizmaların moleküler olarak tanılamasının yapılabilmesi için birinci basamak olarak DNA izolasyonları yapılmıştır. DNA izolasyonu için Roche [High Pure PCR Template Preparation Kit](#) kullanılarak aşağıda belirtilen şekilde yapılmıştır.

1. Seçilen izolatlar içerisinde yaklaşık 4 ml PBS çözeltisi bulunan tüplerin içerisinde çözdürülürüp OD ‘si 2 olacak şekilde ayarlanmıştır. OD’si ayarlanan izolatlardan 1µl alınarak ependrofa aktarılmıştır ve 5000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilmiştir.

2. Santrifüjden sonra süpernat atılarak pellete 200 µl Binding Buffer eklenerek pellet çözümlenirken çözdürüldükten sonra üzerine 40 µl Proteinaz K eklenerek 70°C ‘de 20 dakika ısı bloğunda inkübe edilmiştir.

3. İnkübasyonun sonunda ısı bloğundan alınan ependorflar oda sıcaklığına geldikten sonra üzerine 100 µl izopropil alkol eklenerek pipetle pipetleme yapılmıştır.

4. 5dakika 13000 rpm’de santrifüj yapılmıştır.

5. High Pure Filter Tube, bir collection tube ile birleştirilmiştir.

6. Sıvı numunenin geri kalanı filtre tüpünün tampon haznesine pipetlenmiştir.

7. High Pure filter tube'ün tamamı santrifüje yerleştirilerek 1dakika 8000 rpm'de santrifüjlenmiştir.

8. Sonra yıkama ve elüsyon aşamasına geçilmiştir.

9. Santrifüjden sonra, Filter tube, Collection tube'den çıkarılmıştır ve collection tube'le içinde sıvı bulunan endorf atılmıştır.

10. Filter tube yeni bir Collection tube 'ün içerisine yerleştirilmiştir.

11. Filter tube'un üst haznesine 500 ul inhibitör removal buffer eklenmiştir.

12. 1 dakika 8.000 rpm'de santrifüjlenmiştir.

13. High Pure Filter Tube, bir collection tube ile birleştirilmiştir.

14. 9.ve 10. Basamak tekrar edilmiştir.

15. Filter tube'un içerisine 500ul wash buffer eklenmiştir.

16. 1 dakika 8.000 rpm'de santrifüj yapılmıştır ve alttaki sıvı atılmıştır.

17. 13, 14, 15 ve 16. Basamak tekrar edilmiştir.

18. Tüpteki sıvı atıldıktan sonra, High Pure 10 saniye boyunca tam hızda santrifüjlenmiştir.

19. Collection tube atılmıştır.

Ek santrifüleme adımları washing buffer kalıntılarını ortadan kaldırmaktadır.

3.2.6.2 DNA miktarı ve saflık kontrolü yapılması

Nanodrop 2000 (Thermo) cihazı kullanılarak DNA'nın saflık ve miktarı tayin edilmiştir. Cihazın izolasyon prosedüründeki blankleme ile çözelti

içerisindeki DNA tanıtılmıştır. Yapılan her ölçümün sonunda cihazın optik ölçüm haznesi hassasiyeti sebebiyle temizlenmiştir. Örneklerden 1,5 µL alınarak 3 defa aynı işlemle kontrol edilip çalışılmıştır.

3.2.6.3 PCR/ PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

16S rDNA dizi analizi için uygun olduğu düşünülüp seçilen DNA örneklerinin kopyalanıp çoğaltılmasında, Xpert Taq Maternix kullanılmıştır. Kit içerisindeki bileşiklerle birlikte 16S rDNA'ya spesifik universal primerler ve kalıp DNA eklenmiştir. DNA'yı kopyalayacak olan koleksiyon tüplerine eklenecek olan bileşenler ve reaksiyon basamakları kit içeriğine göre düzenlenmiştir ve Tablo 3.5'te belirtilmiştir.

Tablo 3.5 PCR bileşenleri ve miktarları

BİLEŞEN	MİKTARI
Kalıp DNA	5 µl
Master Mix	12,5 µl
11 Forward	1 µl
1492 Reverse	1 µl
Su	5.5 µl

İstenilen DNA bölgelerinin çoğaltılması için bakterilerin bu 16s rDNA'ya spesifik olan universal primer setleri belirlenip kullanılmıştır. Primer setleri Tablo 3.6'da görülmektedir.

Tablo 3.6 Universal primer setleri

Primerler	Nükleotid Sırası
11F (Forward primer)	5'GTT TGA TGG CTC AG 3'
1492R (Reverse primer)	5'TAC GGC TAC GAC TT 3'

Çoğaltılacak bölge için, kite uygun şekilde olan, reaksiyon basamakları Tablo 3.7'de belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

Tablo 3.7 PCR reaksiyon basamakları

İŞLEM	DÖNGÜ	SÜRE	SICAKLIK
Denatürasyon (İlk)		-	95
Denatürasyon		20 sn	95
Bağlanma	30	30 sn	48
Uzama		1,50 dk	72
Uzama (Son)		5 dk	72
Soğutma		-	+4

3.2.6.4 PCR ürünlerinin elektroforezi

Çoğaltılan DNA bölgeleri, 1 µl GelRed boyası içeren %1'lik agaroz jel ve tamponlama görevi gören 1xTA kullanılarak 90V'da 45 dakika bantlamaların görüntülenmesi için işlemi başlatılmıştır. 2 µl PCR örneği ve 1µl Loding Dye boyası ve 3µl su art arda eklenerek jelin kuyucuklarına yüklenmiştir ve her elektroforez işleminde örneklerle beraber Ladder (PCR 100 bp Low Ladder-Merck) jelde yürütülmüştür. Yürütme sonucu çıkan DNA bantlarının boyutları, ölçülmüştür. Jel üzerinde, yaklaşık 1500 bp uzunluğundaki universal primerlere jel üzerinde çakışan DNA bantları dikkate alınmıştır.

3.2.6.5 PCR ürünlerinin nükleotid dizilerinin belirlenmesi

Letgen Bioteknoloji aracılığıyla seçilen izolasyonu yapılmış mikroorganizmalar için belirlenen 16S rRNA nükleotid dizileri, FinchTV ile bakılmasının ardından Center for Biotechnology Information (NCBI) Gen Bankası'na (BLAST) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) girilerek kayıtlı dizilerle

karşılaştırılması yapıp, blast sonucu benzeyen organizmalar isimlendirilmiştir. ClustalW ile (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw>) referans olan sekans dizileri indirilmiş ve tanılanan dizilerin karşılaştırılması yapılmıştır. MEGA 7 kullanılarak, “Neighbor-joining” metoduyla mikroorganizma türlerinin akrabalık ilişkisini ortaya koyan filogenetik ağacı yapılandırılmıştır. Ayrıca, belirlenen diziler Genbank'a yüklenerek sonraki araştırmalarda kullanılmak için aksesyon numaraları alınmıştır.

3.2.7 Seçilen organizmaların parçalanma aktivitelerinin zamana bağlı belirlenmesi

Tanımlanması yapılmış organizmaların zamana bağlı biyodegradasyon yeteneğinin saptanması amacıyla her organizma için 50 ml'lik amber şişelere 25ml Mineral Salt Medium besiyeri hazırlanmıştır ve % 5 'lik bakteri kültüründen eklenmiştir. Tablo 3.8 'de belirtildiği gibi her organizma için tek bir koşul sağlanmıştır. Her organizma için 25 ml besiyerine karbon kaynağı olarak yoğunluğu 1.22 g/mL olan 2-Furanmetanetiolden, 1/10 metanolle seyreltilmiş olarak toplam hacmi 46,3ul olacak şekilde konularak 120 rpm' de 30°C de çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Kimyasalın uçuculuğu gözönünde bulundurularak amber şişelerin kapakları her seferinde iyi bir şekilde parafilmelenmiştir. İzolasyonu yapılan mikroorganizmaların biyoparçalama ölçüm analizleri sırasında örnek alınırken meydana gelebilecek kirlilik riski durumundan dolayı, deneme süresince açılmadan bekletilecek kontrol amber şişeleri hazırlanmıştır ve 120 rpm 30°C' de inkübasyona kaldırılmıştır. Kimyasalın besiyeri ortamına konulduğu ilk an olan t0 anından itibaren t24, t48 t72. saate kadar her 24 saatte bir amber şişelerden steril ependorflara 1.5ml örnek alınarak santrifüje konularak 2500 rpm de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra süpernatanttan 800 ul 2ml lik şırıngayla alınarak 0.45 Mm lik filtrelerden geçirilerek HPLC viallerine analiz için aktarılmıştır.

Tablo 3.8 Zamana bağlı parçalanma aktivitesi için kullanılan organizmalar ve 2F miktarları

Kontrol Grubu

(Organizma Yok) + Mineral Salt Medium + 46,3 ul 2F

2FAYE1K +Mineral Salt Medium + 46,3 ul 2F

(Yetişkin domuz dışkısı)

2FAYA1N +Mineral Salt Medium + 46,3 ul 2F

(Yavru domuz dışkısı)

2FAYA1S +Mineral Salt Medium + 46,3 ul 2F

(Yavru domuz dışkısı)

2FAXN +Mineral Salt Medium + 46,3 ul 2F

(Aktif amur rneęi)

2FAYE1S +Mineral Salt Medium + 46,3 ul 2F

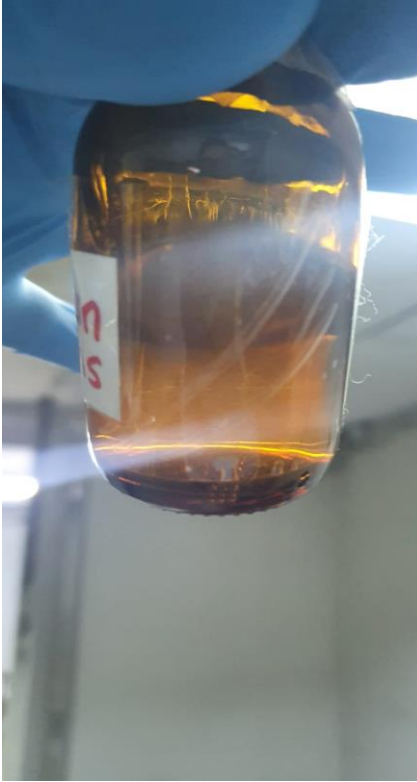
(Yetişkin domuz dışkısı)

2FAXDM +Mineral Salt Medium + 46,3 ul 2F

(Aktif amur rneęi)

4. BULGULAR

Yapılan tez çalışmasında İzmir’de bulunan bir Domuz Çiftliği (yetişkin domuz ve yavru domuz dışkı) ve daha önceden örneği alınan bir aktif çamur örneğinden toplamda üç farklı habitattan alınan örneklerden izole edilmiştir. Alınan örnekler Mineral Salt Medium Besi yeri ortamlarındaki pasajlamadan sonraki görüntüleri Resim 4.1’ de gösterilmiştir. Resim 4.2’de görüldüğü gibi 1.günün sonunda bulanıklaşma oluşmuştur.

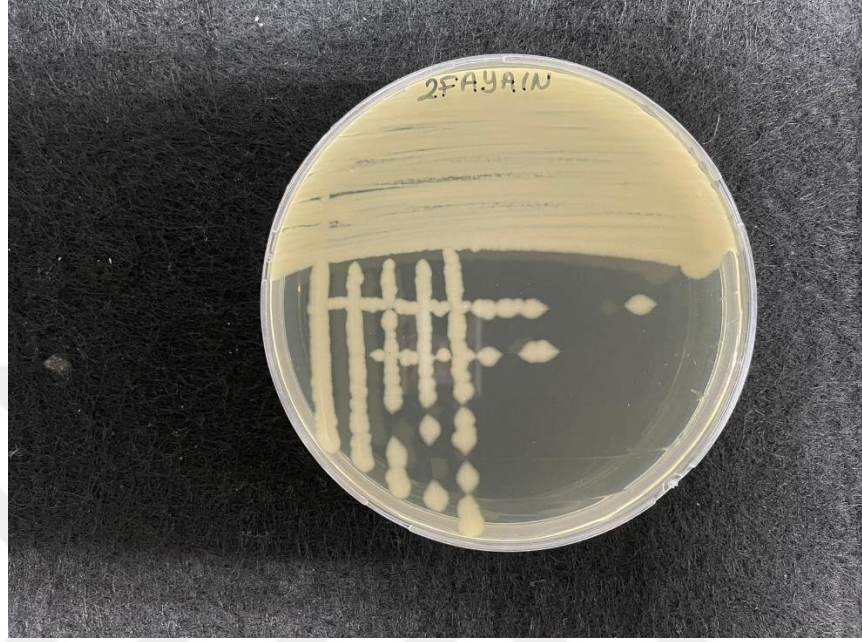


Resim 4.1 2-Furanmetanetiylolün bulunduğu Mineral Salt Medium besiyerinden organizmaların izolasyonu

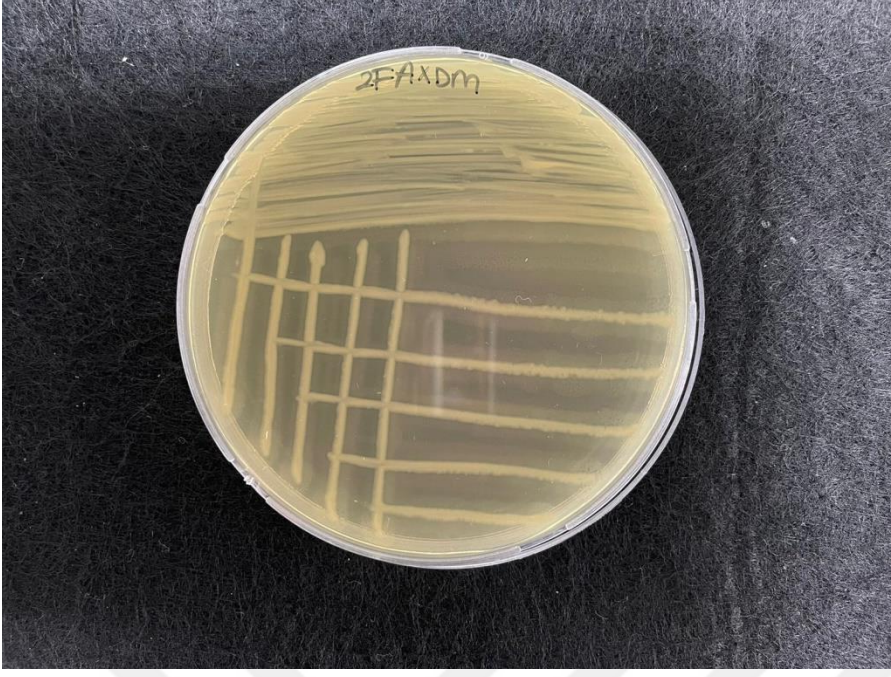


Resim 4.2 2-Furanmetanetiylolün degradasyonu sonucu Mineral Salt Medium Besi yerinde gözlenen bulanıklaşma

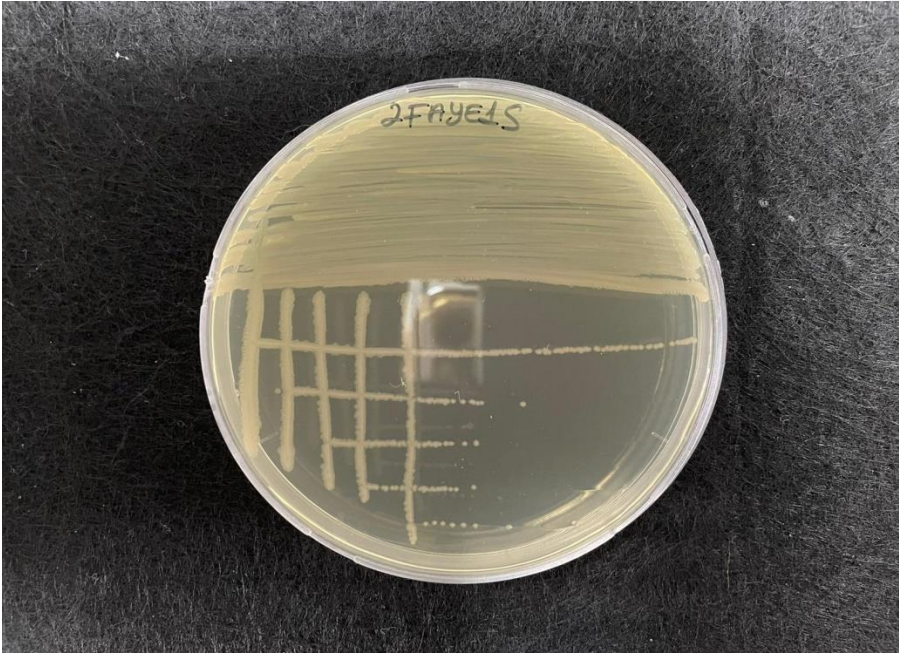
Petrilerde büyüyen ve farklı olduğu düşünölen 13 organizma 2-Furanmetanetiölö parçalama yeteneğinde olduğu düşünölererek Nutrient Agar ortamlarında saflaştırılmıştır. Çalışmaya devam edilen 5 organizmanın petri plaklarındaki görüntöleri Resim 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8’de görölmektedir.



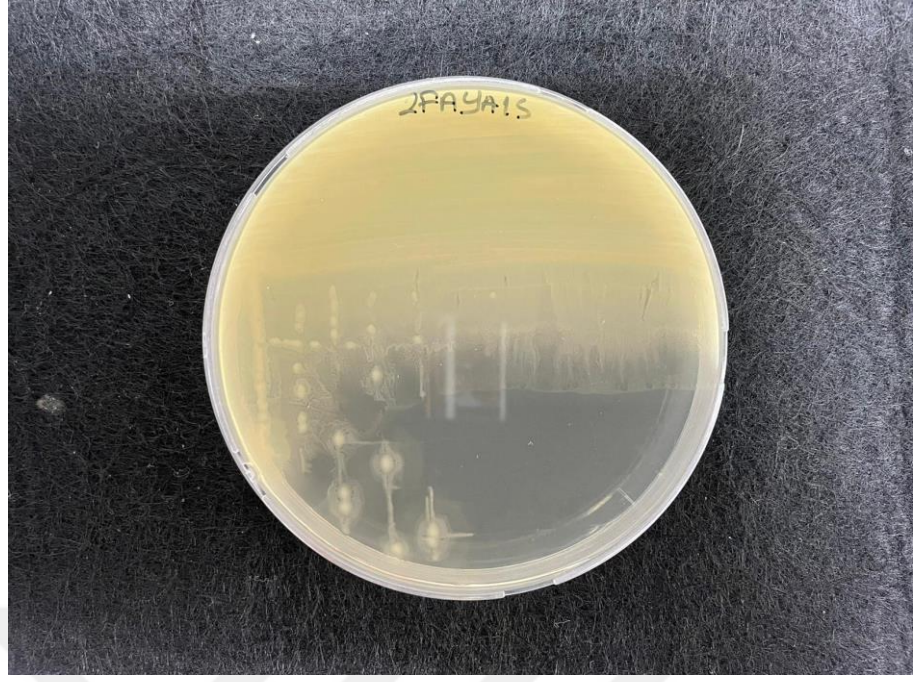
Resim 4.3 Pasajlama sonrası 2FAYA1N izolatına ait Nutrient Agar ortam görüntüsü



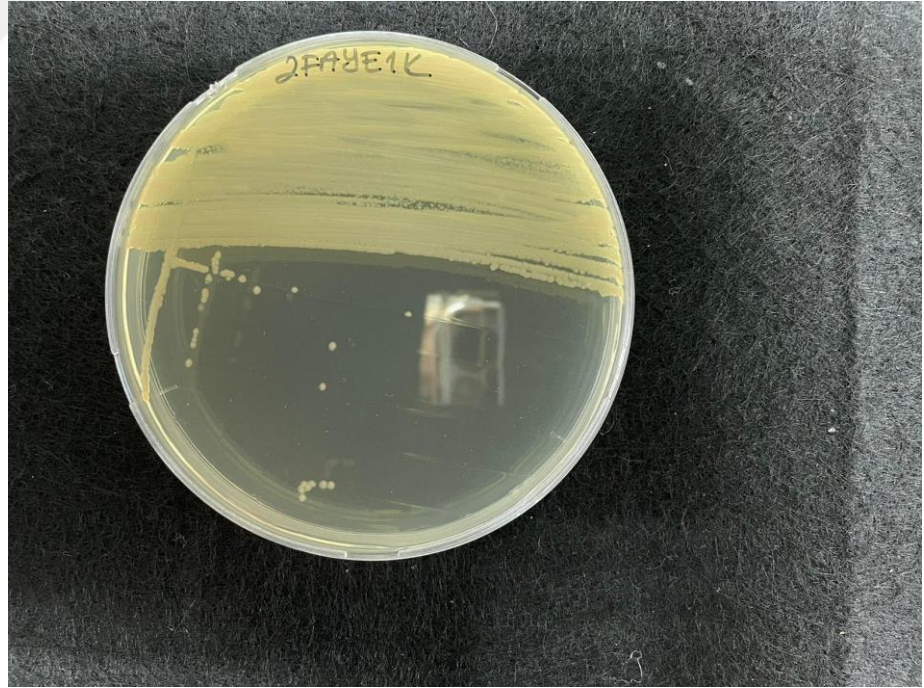
Resim 4.4 Pasajlama sonrası 2FAXDM izolatına ait Nutrient Agar ortam görüntüsü



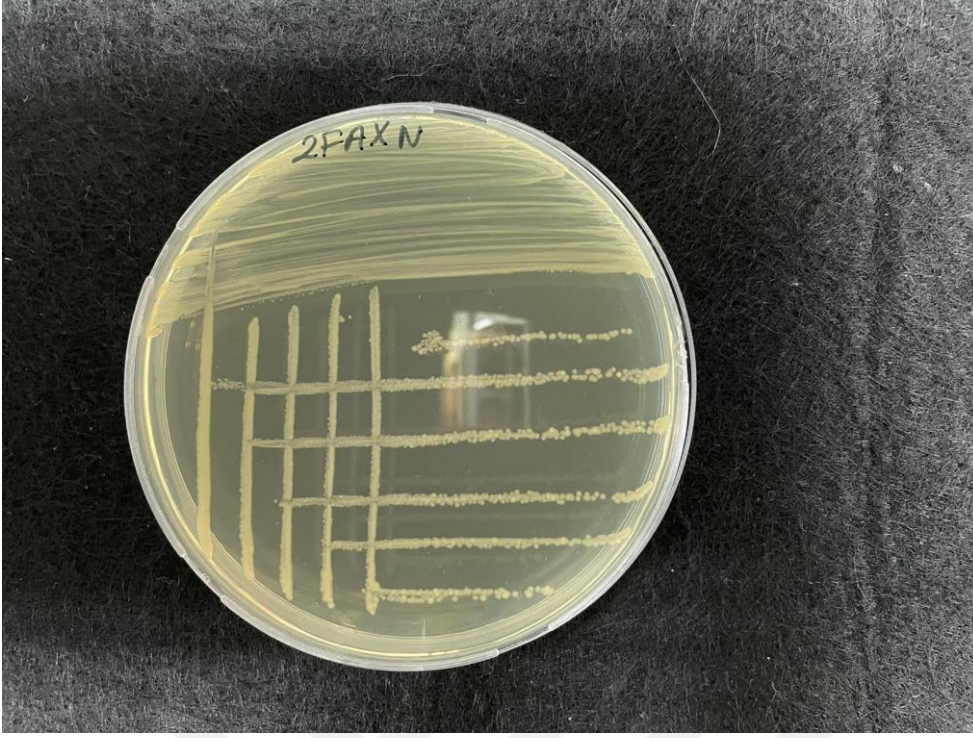
Resim 4.5 Pasajlama sonrası 2FAYE1S izolatına ait Nutrient Agar ortam görüntüsü



Resim 4.6 Pasajlama sonrası 2FAYA1S izolatına ait Nutrient Agar ortam görüntüsü



Resim 4.7 Pasajlama sonrası 2FAYE1K izolatına ait Nutrient Agar ortam görüntüsü

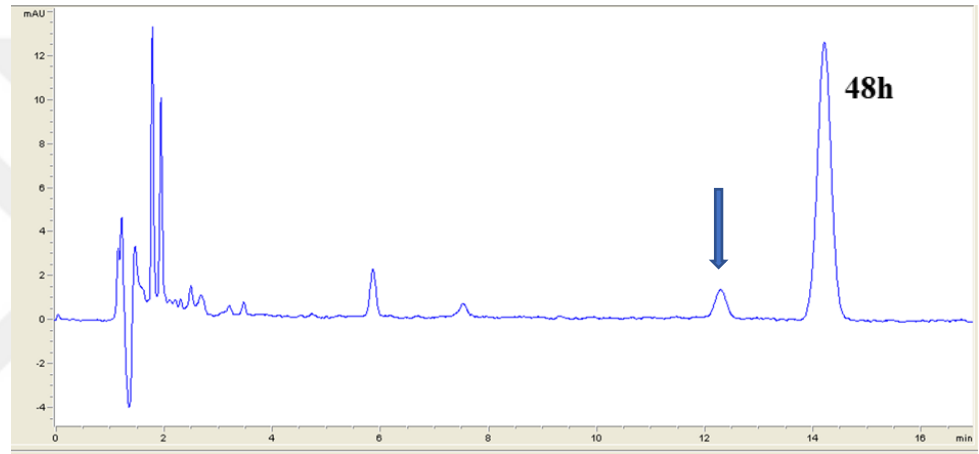
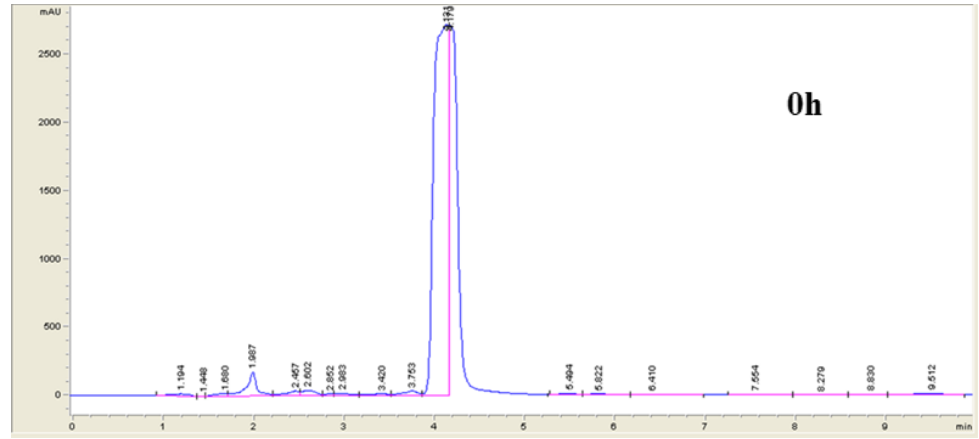


Resim 4.8 Pasajlama sonrası 2FAXN izolatına ait Nutrient Agar ortam görüntüsü

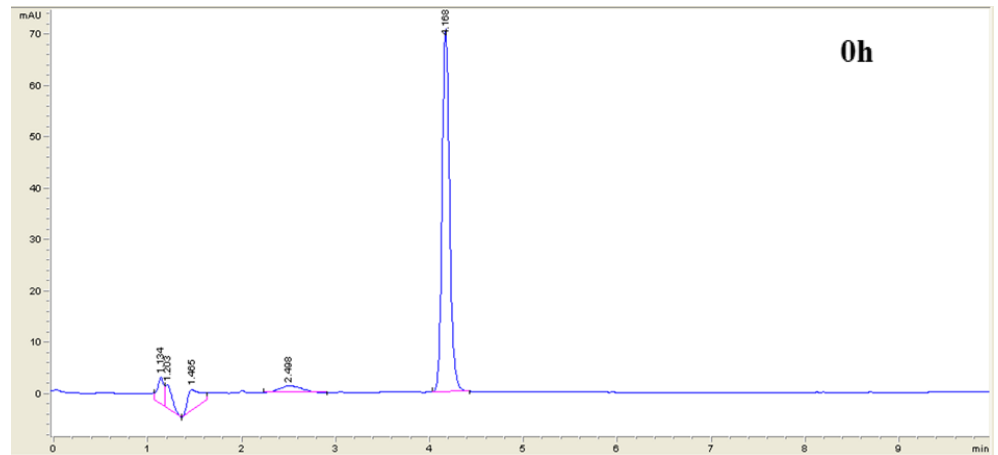
Nutrient Agar besisi yerinde büyüyen organizmaların tam olarak saf olduklarından emin olduktan sonra tekrardan Nutrient Agar besisi yerine ekimleri yapılarak morfolojik tanılamaları yapılmıştır.

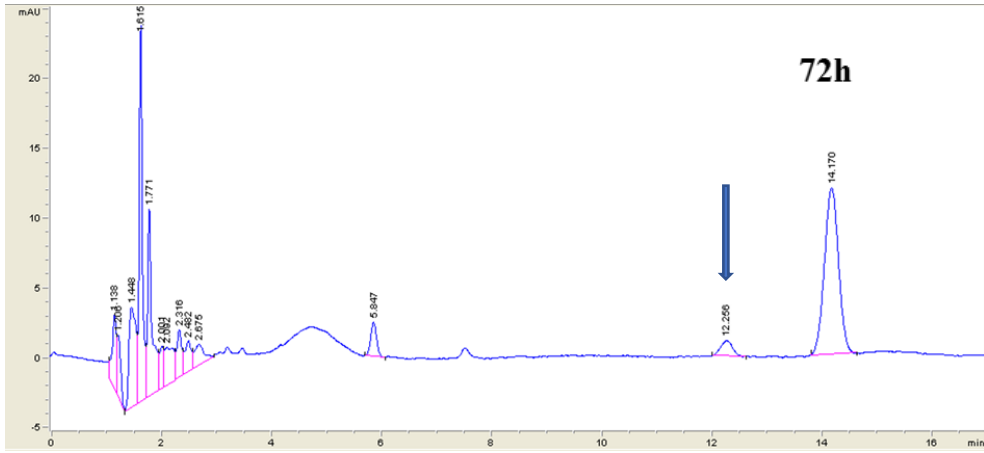
4.1 İzolatların HPLC Analiz Sonuçları

Nutrient Agar ortamında üreme gösteren 13 organizma tek tek mineral Salt Medium besisi yerinde 27°C'de karbon kaynağı olarak 2-Furanmetanetiylü kullanıp kullanılmadığına bakılmıştır. HPLC analizi sonucunda 11 organizmanın 2-Furanmetanetiylü degrades etme yeteneğinde olduğu saptanmıştır. Ancak 6 izolat için verilerin yetersiz olması, kolon safsızlığı nedeniyle sonrasında çalışmadan çıkarılmıştır. İzolatlara ait 2-Furanmetanetiylün degradasyonuna ait HPLC analiz sonuçları grafik 4.1,4.2 ,4.3,4.4 ,4.5 ve 4.6'da gösterilmiştir.

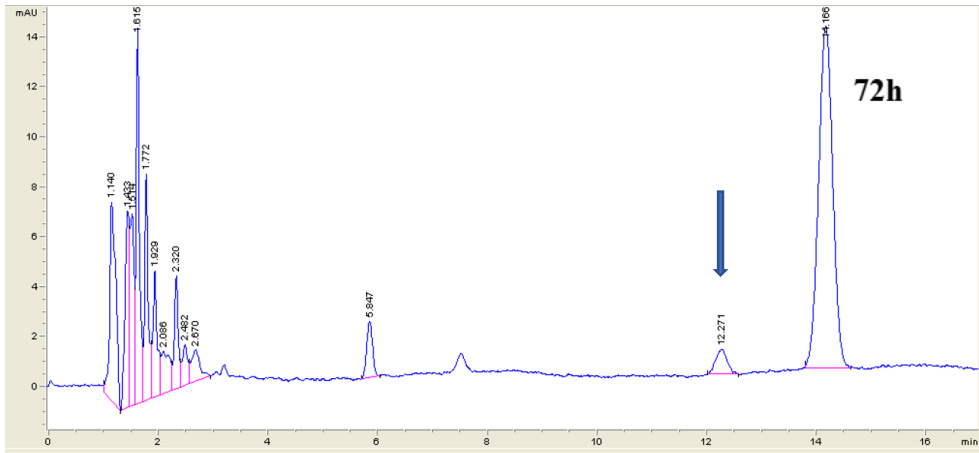
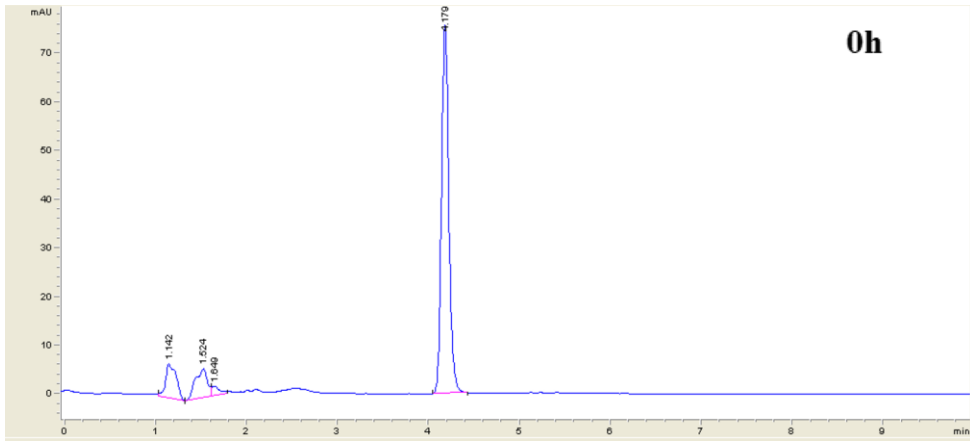


Grafik 4.1 . İzolat 2FAXDM'nin 2-furanmetanetiylolu Biyoparçalanma Analiz Sonuçları

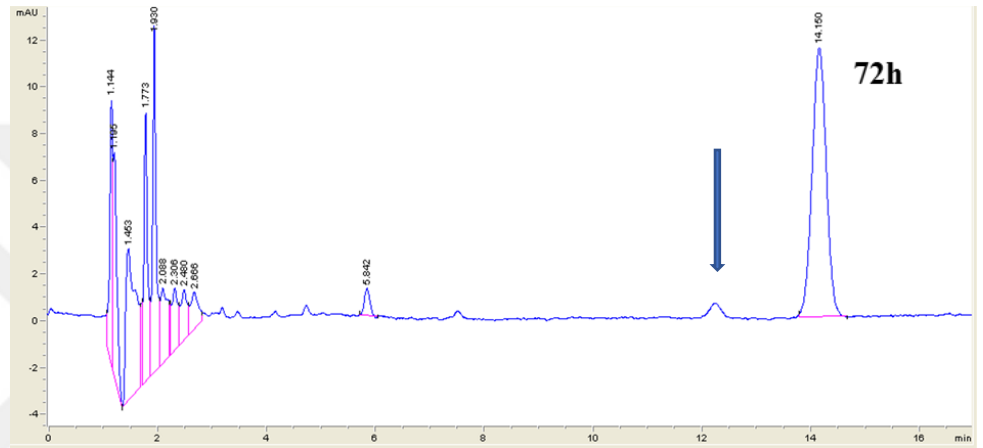
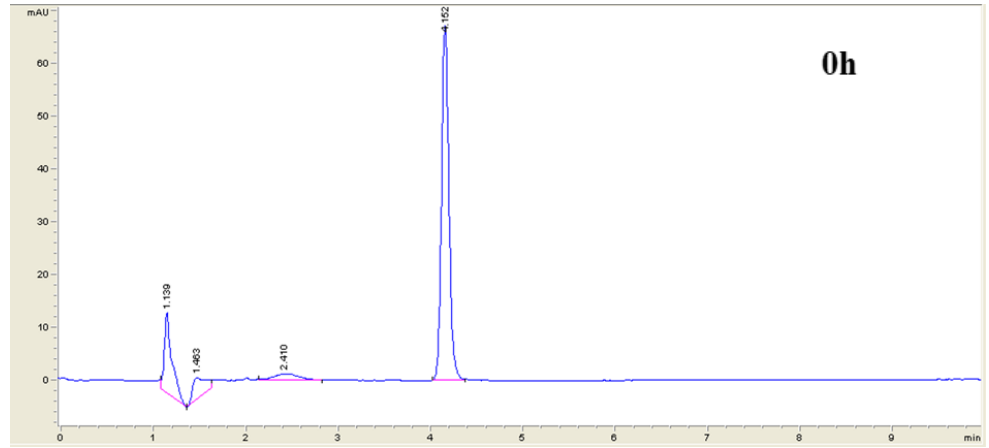




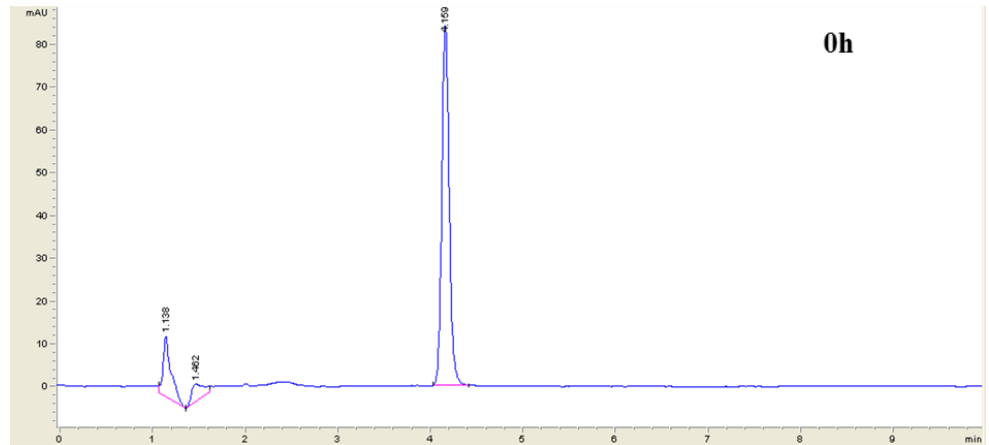
Grafik 4.2 İzolat 2FAYE1K'nın 2-furanmetanetiylü Biyoparçalanma Analiz Sonuçları

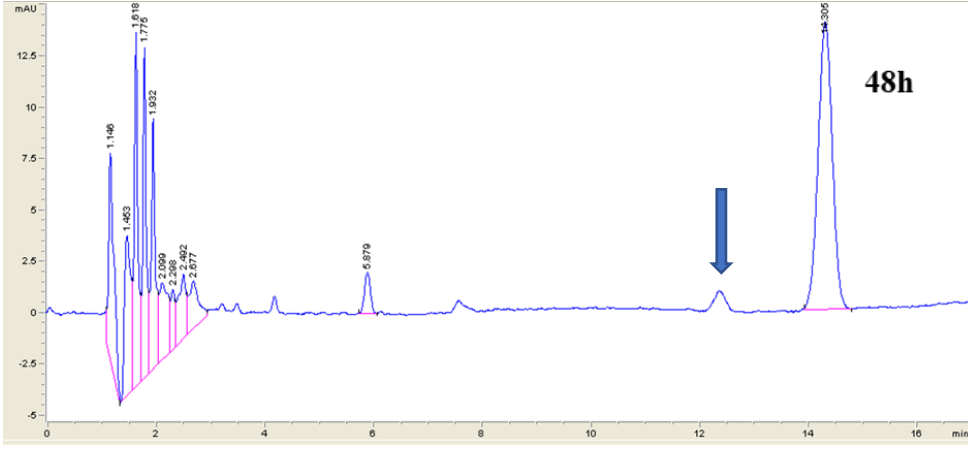


Grafik 4.3 İzolat 2FAYA1N'nin 2-furanmetanetiylü Biyoparçalanma Analiz Sonuçları

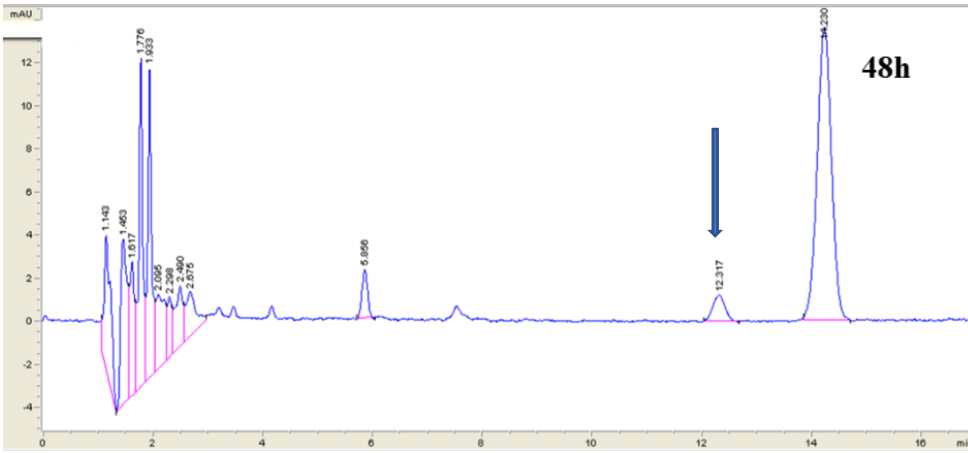
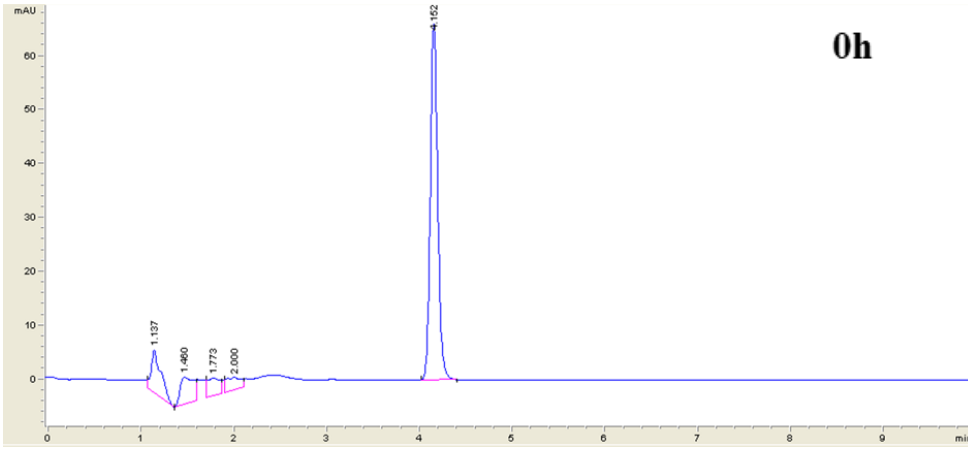


Grafik 4.4 İzolat 2FAYA1S'nin 2-furanmetanetiylolu Biyoparçalanma Analiz Sonuçları





Grafik 4.5 İzolat 2FAYEIS'nin 2-furanmetanetiylü Biyoparçalanma Analiz Sonuçları



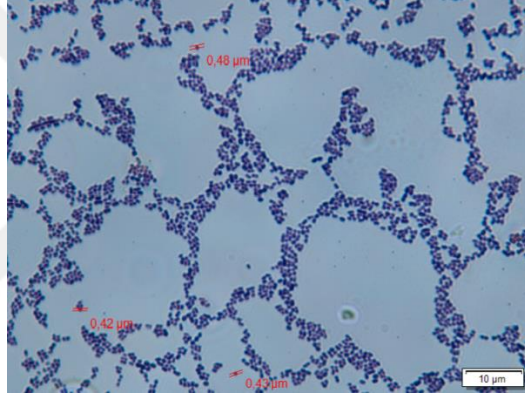
Grafik 4.6 İzolat 2FAFN'nin 2-furanmetanetiylü Biyoparçalanma Analiz Sonuçları

4.2 İzolatların Mikroskopik ve Kültürel Tanılamaları

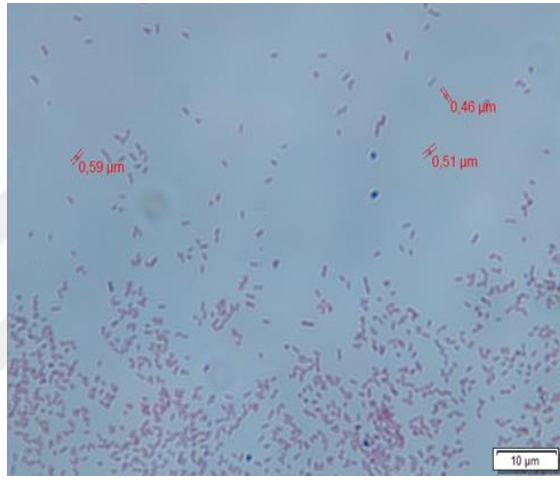
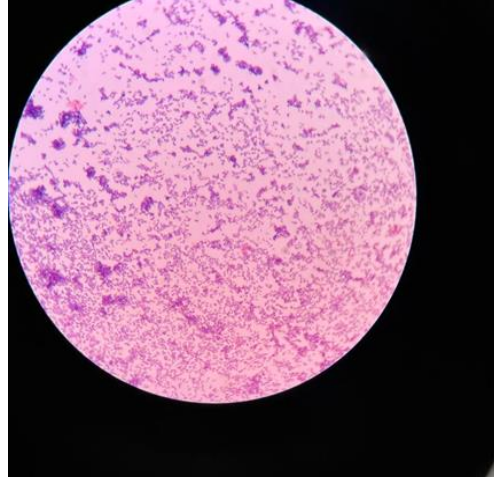
İzolatların ön tanılamalarının yapılabilmesi için kültürel ve mikroskopik özellikleri Tablo 4.1' de verilmiştir. Analizlerle, elde edilen mikroorganizmalar hakkında genel bilgi alınması hedeflenmiştir. Parçalama etkinliği olduğu düşünüldüğü ve kesinleştikten sonra ileri tanılamaları dizileme analizleriyle yapılmıştır. İzolatların ayrıca Gram boyama sonuçları mikroskopik görüntüleri Resim 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1 İzolatların Kültürel ve Mikroskopik Özellikleri

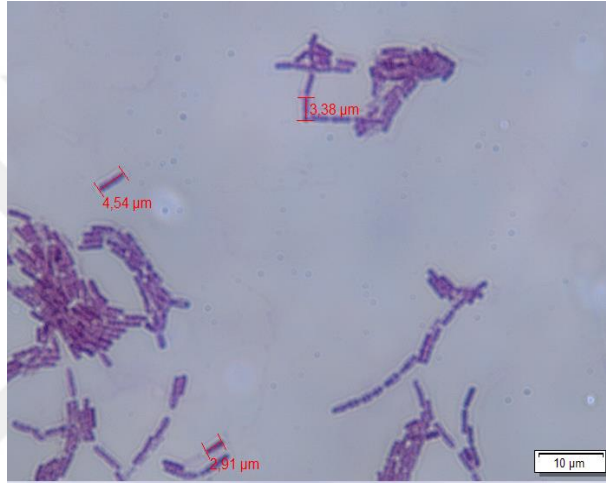
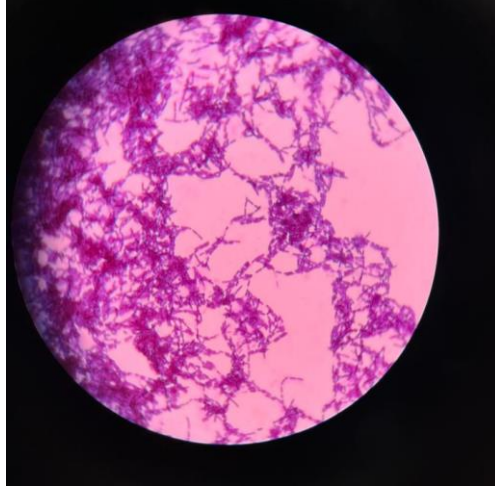
İzolatlar	Hücre morfolojisi	Koloni pigmentasyonu	Koloni kokusu	Gram reaksiyonu
2FAXN (Aktif çamur)	Çubuk	Sarı	Kokusuz	Gram (-)
2FAYE1K (Yetişkin domuz dışkısı)	Çubuk	Sarı	Kokusuz	Gram (-)
2FAYA1S (Yavru domuz dışkısı)	Çubuk	Şeffaf	Kokusuz	Gram (-)
2FAYE1S (Yetişkin domuz dışkısı)	Çubuk	Sarı	Kokusuz	Gram (-)
2FAXDM (Aktif çamur)	Çubuk	Sarı	Kokusuz	Gram (-)
2FAYA1N (Yavru domuz dışkısı)	Çubuk	Beyaz	Kokusuz	Gram (+)



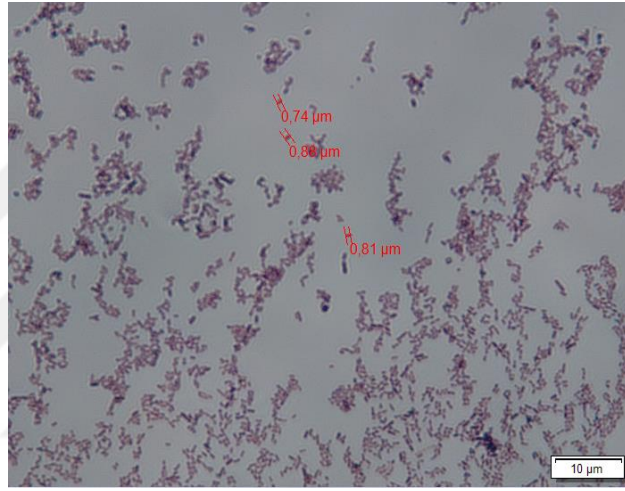
Resim 4.9 İzolat 2FAXN mikroskobik görseli



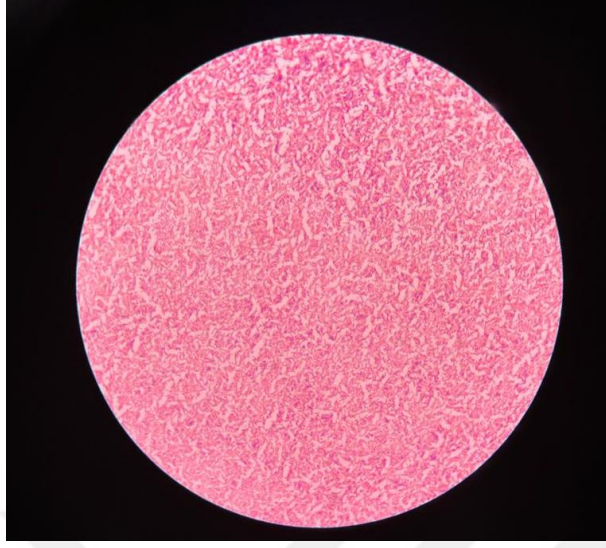
Resim 4.10 İzolat 2FAXDM mikroskobik görseli



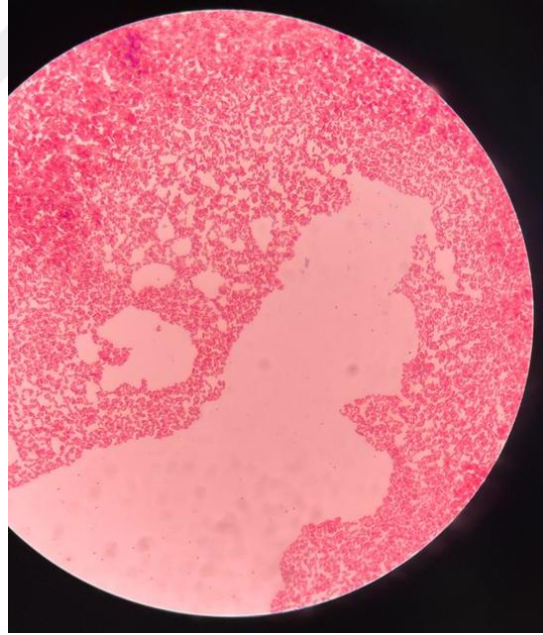
Resim 4.11 İzolat 2FAYA1N mikroskobik görseli



Resim 4.12 İzolat 2FAYA1S mikroskobik görseli



Resim 4.13 İzolat 2FAYE1K mikroskopik görseli



Resim 4.14 İzolat 2FAYE1S mikroskopik görseli

Resim 4.13 ve 4.14'deki 2FAYE1K ve 2FAYE1S izolatlarına ait mikroskopik ölçümler, program standardı hata verdiği için ölçülememiştir.

4.3 İzole edilen Mikroorganizmaların Moleküler Tanılamaları

4.3.1 DNA izolasyonu ve saflık kontrolü

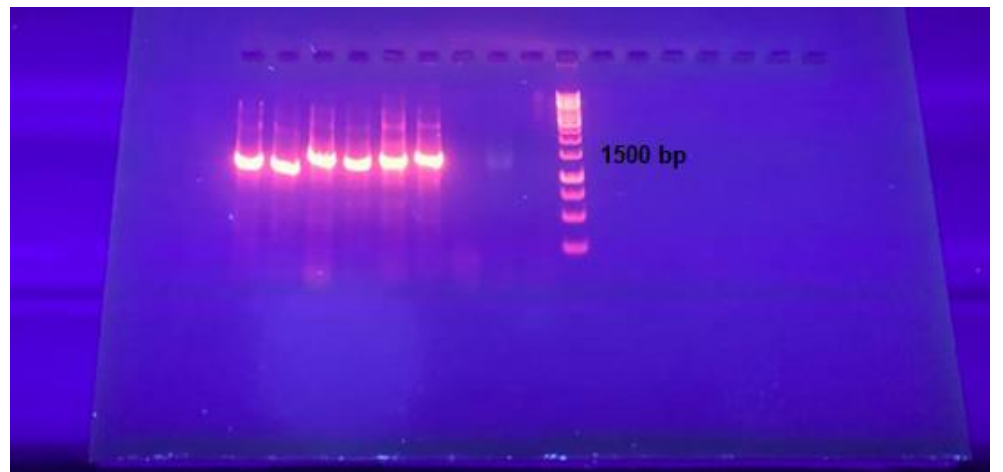
11 tane izolat, Roche High Pure PCR Template Preparation Kit kullanılarak DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Genomik DNA 'ların saflık ve nükleik asitleri ölçümleri Tablo 4.2’de verilmiştir. Bu genomik DNA 'ların tamamlanma kontrolleri %1'lik agaroz jelde yapılmış ve Resim 4.15’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2 İzolatların DNA ekstraksiyonu saflık durumları ve konsantrasyonları

İZOLAT	260/280 (nm)	ng/ul
2FAYE1K	1,61	167,8
2FAYA1N	1,49	46,5
2FAYA1S	1,90	155,6
2FAYE1S	1,82	25,6
2FAXN	1,92	23,6
2FAXDM	1,85	31,0

4.3.2 PCR ürünleri DNA’ların saflık kontrolü

Saflık durumu doğrulanan DNA’lar universal primerlerle çoğaltılmış olup elektroforezde yürütülüp doğrulamaları yapılmıştır (Resim 4.15).



Resim 4.15 PCR ürünlerinin agaroz jel görüntüsü

4.3.3 PCR ürünlerinin nükleotid dizilerinin belirlenmesi

Tez çalışmasında saflaştırılmış olan izolatlar spesifik primerlerle çoğaltılmış ve 16S rRNA'nın baz dizisi analizi Letgen Bioteknoloji tarafından yapılmıştır. Verilerin tayini DNA Base Assembler programı ile doğrulanmıştır. Tür tayini Gen Bankası internet sayfasında (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>) bulunan diğer dizilerle aynı olma oranları karşılaştırılarak incelenmiş ve sonuçlar her mikroorganizma için sırayla verilmiştir.

Letgen Bioteknoloji'ye gönderilen PCR ürünleri yaklaşık 1500 bp büyüklüğündedirler. En uzun dizileme olabilmesi hedeflenmiş olup, analizleri iki farklı primer (11F ve 1492R) kullanılarak yaptırılmıştır. Tayine gönderilmiş olan laboratuvardan herhangi bir işleme uğramamış DNA dizi sonuçları gönderilmiştir. Tüm mikroorganizmaların gönderilen iki sonucun DNA Base Assembler programı kullanılarak birleştirilerek her mikroorganizma için tek bir sekans dizisi oluşturulmuştur. Uygun hale getirilen DNA dizileri Center for Biotechnology Information (NCBI) Gen Bankası'na (BLAST) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) girilerek kayıtlı diziler ile karşılaştırılmış ve BLAST sonucu; izolat: 2FAYA1N (%100) *Bacillus toyonensis*, izolat: 2FAYE1K (%100) *Shewanella sp.*, izolat 2FAYA1S: (%100) *Myroides injenensis*, izolat: 2FAYE1S: (%100) *Pseudomonas sp.*, izolat: 2FAXN: (%100) *Acinetobacter sp.*, izolat: 2FAXDM (%100) *Proteus vulgaris* olarak belirlenmiştir. Tüm dizileme sonuçları 5'→3' yönündedir. Sonuçlara göre verilen numaralar, Gen bankasına girilmiş olan dizilerin accession (kayıt) numaraları olmaktadır. Mikroorganizmalara ait 16S rDNA'nın dizileri Tablo, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8' da verilmiştir.

Tablo 4.3 ON722381 numaralı Genbank' a kayıt ettirilen mikroorganizma

2FAYA1N: *Bacillus toyonensis* 16S r DNA dizilemesi

```
CAAGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTG
CCCATAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATA
ACATTTTGAAGTGCATGGTTCGAAATTGAAAGGCGGCTTCGGCTGTCA
CTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCT
CACCAAGGCAACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACA
CTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGG
AATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGT
GATGAAGGCTTTTCGGGTCGTAATACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGT
GCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCAC
```

GGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTT
 ATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCT
 GATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGG
 AGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATTCATGTGTAGCGGTGA
 AATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTG
 GTCTGTAAGTACTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGAT
 TAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAG
 AGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCT
 GGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
 CGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGAAGAA
 CCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAAAACCCTAGAGATAGGGCTTCT
 CCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTG
 TCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC

Tablo 4.4 ON722382 numaralı Genbank' a kayıt ettirilen mikroorganizma

2FAYE1K: *Shewanella* sp. 16S r DNA dizilemesi

ACAAGGGAGTTTACTCCTGAGGTGGCGAGCGGCGGACGGGTGAG
 TAATGCCTAGGGATCTGCCAGTCGAGGGGGATAACAGTTGGAAACG
 ACTGCTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGGAGGGGACCTTCG
 GGCTTCCGCGATTGGATGAACCTAGGTGGGATTAGCTAGTTGGTGAG
 GTAATGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGTTCTGAGAGGATGAT
 CAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAG
 CAGTGGGGAATATTGCACAATGGGGGAAACCCTGATGCAGCCATGCC
 GCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTCAGTAGGGAG
 GAAAGGTTGCAGTTTAATAAACTGTAGCTGTGACGTTACCTACAGAAG
 AAGGACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTC
 CGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTG
 TTAAGCGAGATGTGAAAGCCCTGGGCTCAACCTAGGAATAGCATTTCG
 AACTGGCGAACTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTA
 GCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGG
 CCCCTGGACAAAGACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAA
 ACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCTACTCG
 GAGTTTGGTGTCTTGAACACTGGGCTCTCAAGCTAACGCATTAAGTAG
 ACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGAC
 GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGATGCAACGC
 GAAGAACCCTTACCTACTCTTGACATCCACAGAATWCNSTAGAGATRGC
 TTAGTGCCTTCGGGA

Tablo 4.5 ON722384 numaralı Genbank' a kayıt ettirilen mikroorganizma

2FAYA1S: *Myroides injenensis* 16S r DNA dizilemesi

TAGCTTGCTATCTAGAGACCGGCGCACGGGTGAGTAACGCKTAT
 GCAACCTACCTTATACAGGTGAATAGCCCGGAGAAA YTCGGATTAATG
 CACCATGGTTTAATTKTGTGGCATCTCAWGATTAATAAAGATTTATCG
 GTATAAGATGGGCATGCGTATCATTAGCTAGTTGGTGTGGTAACGGCA
 TACCAAGGCAACGATGATTAGGGGTCCTGAGAGGGAGATCCCCACA
 CTGGTACTGAGACACGGACCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGAGG
 AATATTGGTCAATGGAGGCAACTCTGAACCAGCCATGCCGCGTGCAGG
 AAGAATGTCCTATGGATTGTAAACTGCTTTTGTACGGGAAGAAACATC
 GCTACGTGTAGTACTTGACGGTACCGTAAGAATAAGGATCGGCTAAC
 TCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGATCCGAGCGTTATCCGGA
 ATTATTGGGTTTAAAGGGTTCGTAGGCGGTTTATTAAGTCAGTGGTGA
 AATTTCTTAGCTTAACTAAGACACGGCCATTGATACTGGTAGACTTGA
 ATAGTATGGAAGTAACTAGAATATGTAGTGTAGCGGTGAAATGCTTAG
 ATATTACATGGAATACCAATTGCGAAGGCAGGTTACTACGTACTTATT
 GACGCTGATGAACGAAAGCGTGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCT
 GGTAGTCCACGCCGTAAACGATGGATACTAGCTGTTTCGGTTTTTCGGAC
 TGAGTGGCTAAGCGAAAGTGATAAGTATCCCACCTGGGGAGTACGTTC
 GCAAGAATGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTG
 GAGCATGTGGTTTAATTCGATGATACGCGAGGAACCTTACCAGGGCTT
 AAATGTAGATTGACGTATTTGGAAACAGATATTTCTTCGGACAATTTA
 CAAGGTGCTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGCCGTGAGGTGTCAGGTT
 AAGTCCTATAACGAGCGCAACCCCTATTGTTAGTTACCATC

Tablo 4.6 ON722396 numaralı Genbank' a kayıt ettirilen mikroorganizma

2FAYE1S: *Pseudomonas sp.* 16S r DNA dizilemesi

CGGGAGCTTGCTCCTTGATTCAGCGGCGGACGGGTGAGTAATAC
 CTAGGAATCTGCCTGATAGTGGGGGACAACGTTTTCGAAAGGAACGCTA
 ATACCGCATAACGTCCTACGGGAGAAAGCAGGGGACCTTCGGGCCTTGC
 GCTATCAGATGAGCCTAGGTTCGGATTAGCTAGTTGGTGTAGGTAATGGC
 TCACCAAGGCGACGATCCGTA ACTGGTCTGAGAGGATGATCAGTCACA
 CTGGA ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG
 AATATTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTG
 AAGAAGGTCTTCGGATTGTAAAGCACTTTAAGTTGGGAGGAAGGGCA

GTAAGCTAATACCTTGCTGTTTTGACGTTACCGACAGAATAAGCACCG
 GCTAACTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCAAGCGTTA
 ATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGTGGTTCGTTAAGTTGG
 ATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATCCAAAACCTGGCGA
 GCTAGAGTAGGGCAGAGGGTGGTGGAAATTCCTGTGTAGCGGTGAAAT
 GCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGGC
 TCATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAG
 ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCAACTAGCCGTTGGAAT
 CCTTGAGATTTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTTGACCGCCTGGG
 GAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCG
 ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGGAAGCAACGCGAAGAACCTT
 ACCAGGCCTTGACATCCAATGAACTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTT
 CGGGAACATTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTG
 GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCTTAGTT
 ACCAGCACGTTATGGTGGGCACTCTAAG

Tablo 4.7 ON746569 numaralı Genbank' a kayıt ettirilen mikroorganizma

2FAXN: *Acinetobacter* sp. 16S r DNA dizilemesi

TGCTTCGGTAAYTGACCTAGCGGCGGACGGGTGAGTAATACTTA
 GGAATCTGCCTATTAATGGGGGACAACATCTCGAAAGGGATGCTAATA
 CCGCATACGCCCTACGGGGGAAAGCAGGGGATCACTTGTGACCTTGCG
 TTAATAGATGAGCCTAAGTCGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCC
 TACCAAGGCGACGATCTGTAGCGGGTCTGAGAGGATGATCCGCCACAC
 TGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGA
 ATATTGGACAATGGGGGGAACCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGTGTGA
 AGAAGGCCTTATGGTTGTAAAGCACTTTAAGCGAGGAGGAGGCTCCTG
 TAGTTAATACCTACAGTGAGTGGACGTTACTCGCAGAATAAGCACCGG
 CTAACCTCTGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACAGAGGGTGCGAGCGTTAA
 TCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGTGCGTAGGCGGCTTTTTAAGTCGGA
 TGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCATTCGATACTGGGAAG
 CTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAAT
 GCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCATCTGGCC
 TAATACTGACGCTGAGGTACGAAAGCATGGGGAGCAAACAGGATTAG
 ATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGC
 CTTTGAGGCTTTAGTGGCGCAGCTAACGCGATAAGTAGACCGCCTGGG
 GAGTACGGTCGCAAGACTAAAACCTCAAATGAATTGACGGGGGCCCCG
 ACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGATGCAACGCGAAGAACCTT

ACCTGGTCTTGACATAGTAAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTT
CGGGAACCTTACATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTC

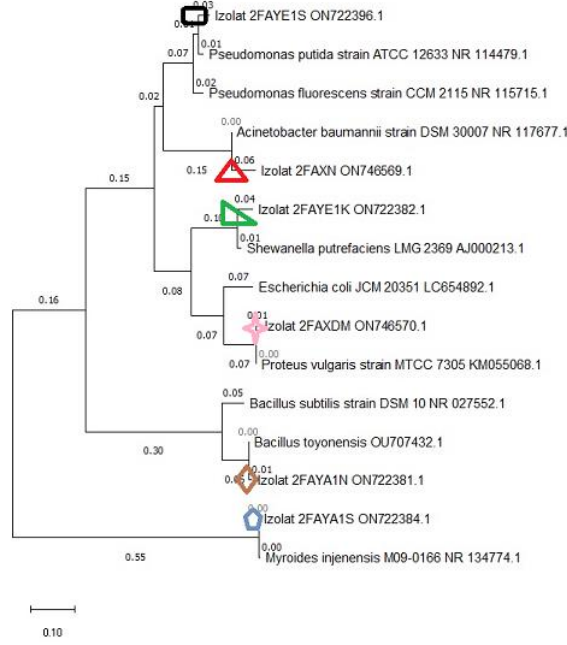
Tablo 4.8 ON746570 numaralı Genbank' a kayıt ettirilen mikroorganizma

2FAXDM: *Proteus vulgaris* 16S r DNA dizilemesi

TAACAGGAGAAAGCTTGCTTTCTTGCTGACGAGCGGCGGACGGG
TGAGTAATGTATGGGGATCTGCCCGATAGAGGGGGATAACTACTGGA
AACGGTGGCTAATACCGCATGACGTCTACGGACCAAAGCAGGGGCTCT
TCGGACCTTGCCTATCGGATGAACCCATATGGGATTAGCTAGTAGGT
GAGGTAATGGCTCACCTAGGCGACGATCTCTAGCTGGTCTGAGAGGAT
GATCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGG
CAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCAGCCAT
GCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAGTACTTTCAGCGGG
GAGGAAGGTGATAAAGTTAATACCTTTATCAATTGACGTTACCCGCAG
AAGAAGCACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGG
GTGCAAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAGGCGG
TCAATTAAGTCAGATGTGAAAGCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCAT
CTGAAACTGGTTGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCACGT
GTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGG
CGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAG
CAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGAT
TTAGAGGTTGTGGTCTTGAACCGTGGCTTCTGGAGCTAACGCGTAAA
TCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAATTG
ACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAAC
GCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAATCCTTTAGAGATA
GAGGAGTGCCTTCGGGAACCTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTC
AGCTCGTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TTATCCTTTGTTGCC

4.3.4 Filogenetik ağaç oluşturulması

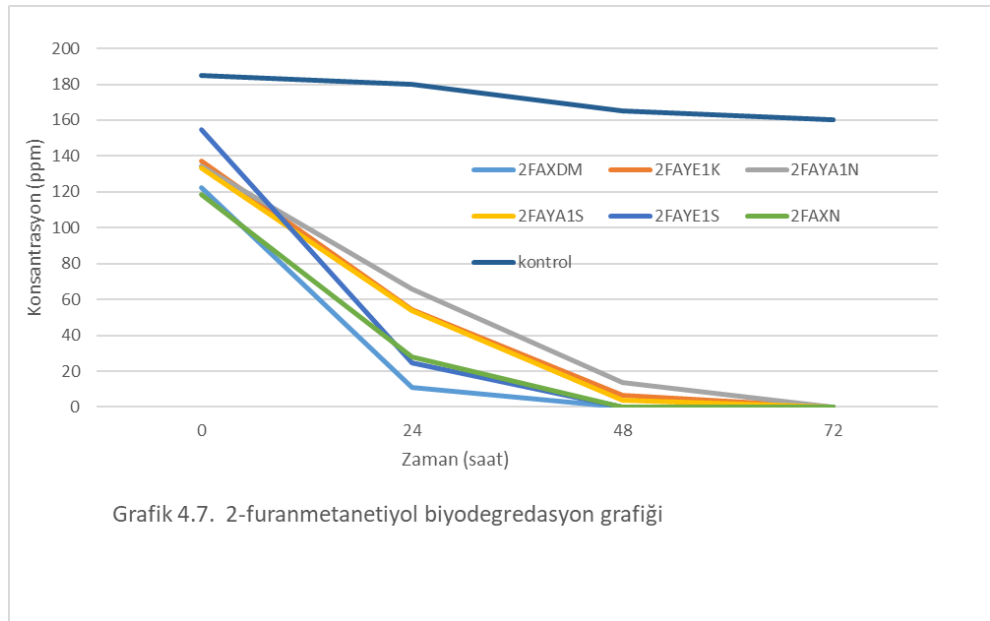
Gerekli baz dizileri temizlendikten sonra mikroorganizmalara ait 16S rDNA dizileri Mega 7 programı'nda hizalanmıştır. Sonrasında ClustalW ile Maximum Likelihood” metoduyla türlerin filogenetik ağacı yapılandırılmıştır ve Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 İzolatların filogenetik ağaç görüntüsü

4.4 Biyodegradasyon Etkinliği en iyi olan izolatların 2-Furanmetanetiylü parçalama durumunun zamana bağlı analizi

48.saatte degradasyon yapan 2FAXDM, 2FAYE1S, 2FAXN ve 72.saatte parçalama yapan 2FAYE1K, 2FAYA1N, 2FAYA1S izolatlarına ait degradasyonuna ait Grafik 4.7'de görülmektedir.



Grafik 4.7. 2-furanmetanetiylü biyodegradasyon grafiği

Grafik 4.7 2-Furanmetanetiylü biyodegradasyon grafiği



5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Koku problemleri, kentleşme ve sanayileşmeyle beraber artan endüstriyel üretim yerleri; işleme tesisleri, atık su arıtma tesisleri, boya tesisleri, petrol rafinerileri, kağıt fabrikaları, boya tesisleri, plastik ve reçine imalathaneleri, hayvan çiftlikleri, kimya endüstrileri yapılan yerlerden kaynaklı giderek artmaktadır. Bitkiler, hayvanlar ve insanlar için sağlık problemlerine neden olan organik veya kimyasal kokulu bileşikler, canlıların yaşadığı alanları uygunsuz ve verimsiz hale getirmektedir. Ekosisteme, özellikle hava kirliliğine sebebiyet veren kokulu bileşiklerle alakalı çalışmalar giderek artmaktadır. Uçucu organik kükürtlü bileşikler merkaptanlar ve merkaptanlı bileşikler, küresel kükürt döngüsü ve sera gazı üretimiyle doğrudan bağlantılıdır. Farklı habitatlarda, çeşitli iç sularda yaygın ötrofikasyon ve iklim değişikliğiyle beraber organik açıdan yoğun olan sucül kütlelerde içme suyu kaynaklarıyla bağlantılı hale gelmiştir.

Kokulu bileşiklerin ve tiyollerin uzaklatırılması veya işlenmesi için kimyasal, fiziksel ve biyolojik arıtma yöntemleri kullanılmaktadır. Mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucu meydana gelen organik bileşiklerin doğal ayrışma süreçlerine dayanan biyolojik gaz arıtma yöntemleri, ekonomi, ekolojik saflık, ikincil kirleticilerin olmaması, doğada doğal olarak meydana gelen süreçlerin kullanılması ve kirliliğin giderilmesinde yüksek verimlilik olması açısından son derece önemli hale gelmiştir (Kasperczyk et al., 2019). Yapılan tez çalışmasında izole edilen mikroorganizmaların çevresel kirlilik etmeni olan tiyollü bileşiği biyoparçalanmasındaki etkinliklerinin ölçülmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla tiyollü bileşik içerdiği düşünülen önceden alınmış olan aktif çamur örneği, yavru ve yetişkin domuz dışkısı örneklerinden 2-Furanmetanetiyolü biyoparçalamaya yeteneğinde olan toplam 11 türün saflaştırma işlemleri yapılarak tanılanarak 2furanmetanetiyolü metabolizme edebilme etkinlikleri ölçülmüştür. 11 izolatın 5 tanesi verilerin yetersiz olması, HPLC analizleri sırasında alıkonma sürelerinin kayması, kolon safsızlığı sebebiyle çalışmadan çıkarılmıştır.

2-Furanmetanetiyolü tek bir karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilen 6 izolat, 27 °C'de inkübasyonu sırasında Mineral Salt Medium ortamındaki 185 mg l⁻¹ konsantrasyonunda degrede edebildiği saptanmıştır.

İzolat 2FAXDM, 2FAYE1S, 2FAXN metonelde çözdürülmüş olan 2-Furanmetanetiyolü 48 saatte %100'e yakın parçalarken, 2FAYE1K, 2FAYA1N,

2FAYA1S izolatlarının 72 saatte %100'e yakın parçalama etkinliklerinin olduğu görülmüştür. 72 saatte parçalama yapan 3 izolat için muhtemelen 2-Furanmetanetiylolün toksik etkisinden veya organizmaların ortama aklimasyon sürecinin uzamasından kaynaklı 72saatte parçalama yaptığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda literatürden farklı olarak tiyollü bir bileşik olan 2-Furanmetanetiylol diğer tiyollü bileşikler arasında ilk defa kullanılmıştır. Bu bileşiğin seçilmesinin nedeni özellikle küçükbaş ve büyükbaş hayvan çiftliklerinde var olabilecek tiyollü bileşiklerin tamamen parçalanması düşünülmektedir. İlk defa kullanılan 2-Furanmetanetiylol bileşiği, yöntem ve kimyasal olarak literatürdeki farklı tiyollü bileşiklerin parçalamasıyla kıyaslanmıştır.

Yapılan bir çalışmada saf bir *Ralstonia eutropha* kültürü kullanılarak 115 ila 320 mg/m³ (0.115 ppm ve 0.32 ppm) arasında değişen çeşitli başlangıç konsantrasyonlarında etan tiyol 120 ~ 168 saat içinde neredeyse tamamen parçalanırken, 452 mg/m³'a (0.452 ppm) kadar daha yüksek konsantrasyonlarda, parçalama verimliliğinin düştüğü gözlenmiştir ve GC-MS yöntemiyle oluşan kimyasallar tayin edilmiştir (Sedighi et al., 2013). Bu çalışmanın bulguları, *Ralstonia eutropha* ve *Pseudomonas sp.*'nin benzer mekanizmayla etantiyolü parçaladığını ve sülfata kadar parçalayabileceğini önermiştir (Barreiros et.al, 2008, Sedighi et al.,2013). Bu tez çalışmasını özgün kılan, yapılan yöntemin HPLC olması ve izolatlarımızdan biri olan *Pseudomonas sp.* 'nin 48 saatin sonunda ve daha yüksek konsantrasyondaki 2-Furanmetanetiylolü %100'e yakın parçalayabilme etkinliklerinin olmasıdır.

Yapılan başka bir literatür çalışmasında *Thiobacillus thioparus* (DSMZ 5368) ' un metantiyolü parçalama etkinliği yarı kesikli bir biyoreaktörde (8.51 mM) ve en düşük (0.53 mM) metantiyol konsantrasyonlarında yaklaşık 300 dakika sonunda metantiyolün biyolojik olarak uzaklaştırılması sırasında yaklaşık %89 ve %94'e ulaşmıştır (Kiumars Badra et al.,2014). Çalışmadaki verim yüksek sayılsa da metantiyol konsantrasyonuna baktığımız zaman yaptığımız çalışma elde ettiğimiz izolatlar ve kimyasalı parçalamaları bakımından tiyol biyodegradasyonu açısından gelecek için umut vaat etmektedir.

Yapılan tüm çalışmalarda gözlenen ortak bir sonuç vardır kullanılan tiyollü bileşiklerin konsantrasyon miktarı arttıkça mikroorganizmaların biyo parçalama verimlilikleri düşmektedir. Bunun sebebi tiyollerin, mikroorganizmaların

metabolik yol izlerini inhibe etmeleri veya ortam içindeki adaptasyonlarını düşürmelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışmayı literatürdeki çalışmalara göre farklı kılan HPLC analizleriyle degradasyona bakmak olmuştur. Bunun dezavantajı hem uygulamanın zamanı açısından hem de oluşan ara ve son ürün tayinini için her kimyasala uygun standart oluşturma zamanının kısıtlı olması açısından literatürdeki diğer çalışmalara göre yetersiz kalmıştır. Kullanılan 2-Furanmetanetiyoil literatür taraması yapıldığında diğer tiyollü bileşiklere göre hiç çalışılmayan bir kimyasal olmaktadır. Kimyasalın uçuculuğunun ve toksisitesinin fazla olması, izolatların Mineral Salt Medium ortamında bu kimyasala aklimasyonu açısından uygulamayı zorlaştıran kısımlarından biri olmuştur.

Literatürler tarandığında çalışmada elde ettiğimiz izolatlarımızın bir kısmının tiyol degradasyonu amacıyla daha önce kullanılmadığı görülmektedir. Bu organizmalar *Bacillus toyonensis*, *Shewanella sp.*, *Myroides injenensis*, *Acinetobacter sp.*, *Proteus vulgaris*' tir.

Grafik 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6'da 2-Furanmetanetiyoilün biyodegradasyon grafiğinde alıkonma zamanı dışında izolatların farklı bir metaboliti de oluşturduğu kontrol grubuyla karşılaştırdığımızda, 15 kat azalttığı görülmüştür. Bu durum diğer çalışmalara göre bu çalışmayı özgün kılmaktadır. HPLC analizi 2-Furanmetanetiyoil için oluşturulan standart eğri dışında farklı bir kimyasal için kısıtlı zaman olduğu ve standart eğri oluşturulmadığı için oluşan metabolit tespit edilememiştir.

Elde ettiğimiz izolatları ilerleyen dönemlerde çevrede kokuya sebebiyet veren birçok habibatta denemesinin yapılabileceği düşüncesinde olmalıyız. Bu çalışmamızın sonunda endüstriyel üretimin yapıldığı, insanların yaşadıkları alanlara yakın bölgelerdeki sucul yerler, sanayiide atıkların bulunduğu tüm alanlarda kullanılacak konsorsiyum ürünleri olarak değerlendirilebileceği düşüncesinde olmalıyız. Aynı zamanda ekotoksikolojik çalışmalarla beraber öncül olan bu tez çalışmasının daha kapsamlı çalışılabileceği düşüncesinde olmalıyız.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Badr, K., Bahmani, M., Jahanmiri, A., & Mowla, D. (2014). Biological removal of methanethiol from gas and water streams by using *Thiobacillus thioautotrophicus*: Investigation of biodegradability and optimization of sulphur production. *Environmental Technology (United Kingdom)*, 35(14), 1729–1735. <https://doi.org/10.1080/09593330.2014.881404>

Barbusinski, K., Kalemba, K., Kasperczyk, D., Urbaniec, K., & Kozik, V. (2017). Biological methods for odor treatment – A review. *Journal of Cleaner Production*, 152, 223–241. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.03.093>

Barbusinski, K., Kalemba, K., Kasperczyk, D., Urbaniec, K., Kozik, V., & Slaska, R. (2006). Biological methods for odor control - a review, 1–23.

Behbod, B., Parker, E. M., Jones, E. A., Bayleyegn, T., Guarisco, J., Morrison, M., ... Yip, F. (2014). Community Health Assessment Following Mercaptan Spill. *Journal of Public Health Management and Practice*, 20(6), 632–639. Retrieved from <https://www.jstor.org/stable/48516907>

Chebbi, A., Jaoua, H., Loukil, S., Mhiri, N., Ammar, N., Sayadi, S., & Chamkha, M. (2016). Biodegradation of malodorous mercaptans by a novel *Staphylococcus capitis* strain isolated from gas-washing wastewaters of the Tunisian Chemical Group. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13(2), 571–580. <https://doi.org/10.1007/s13762-015-0897-8>

City of Los Angeles. (2011). Sewer odour control master plan.

GÜNEŞ, Z. Ö., & Cemil, İ. (n.d.). DOKTORA TEZİ.

Higa, T., & Parr, J. F. (1994). *Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment* (Vol. 1). International Nature Farming Research Center Atami.

Kappler, U., & Dahl, C. (2001). Enzymology and molecular biology of prokaryotic sulfite oxidation1. *FEMS Microbiology Letters*, 203(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2001.tb10813.x>

Kiragosyan, K. (2015). *Maximization of sulfur formation in the presence of organic sulfur compounds in a dual bioreactor gas desulfurization system*. *Syria Studies* (Vol. 7). Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/269107473_What_is_governance/link/548173090cf22525dcb61443/download%0Ahttp://www.econ.upf.edu/~reynal/Civil_wars_12December2010.pdf%0Ahttps://think-asia.org/handle/11540/8282%0Ahttps://www.jstor.org/stable/41857625

Kushkevych, I., Cejnar, J., Treml, J., Dordević, D., Kollar, P., & Vítězová, M. (2020). Recent advances in metabolic pathways of sulfate reduction in intestinal bacteria. *Cells*, 9(3), 698.

Kushkevych, I., Procházka, J., Gajdács, M., Rittmann, S. K.-M., & Vítězová, M. (2021). Molecular physiology of anaerobic phototrophic purple and green sulfur bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6398.

Lomans, B. P., van der Drift, C., Pol, A., & Op den Camp, H. J. M. (2002). Microbial cycling of volatile organic sulfur compounds. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 59(4), 575–588. <https://doi.org/10.1007/s00018-002-8450-6>

Madigan, M., Martinko, J., Stahl, D., & Clark, D. (2011). *Brock Biology of Microorganisms* (13th ed.). Benjamin Cummings.

Piccardo, M. T., Geretto, M., Pulliero, A., & Izzotti, A. (2022). Odor emissions: A public health concern for health risk perception. *Environmental Research*, 204, 112121.

Rappert, S., & Müller, R. (2005). Microbial degradation of selected odorous substances. *Waste Management*, 25(9), 940–954. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.07.015>

Schäfer, H., Myronova, N., & Boden, R. (2010). Microbial degradation of dimethylsulphide and related C1-sulphur compounds: organisms and pathways controlling fluxes of sulphur in the biosphere. *Journal of Experimental Botany*, 61(2), 315–334.

Sedighi, M., Vahabzadeh, F., Zamir, S. M., & Naderifar, A. (2013). Ethanethiol degradation by *Ralstonia eutropha*. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18(4), 827–833. <https://doi.org/10.1007/s12257-013-0083-0>

Szymanski, N., & Patterson, R. A. (2003). Effective microorganisms (EM) and wastewater systems. *Future Directions for On-Site Systems: Best Management Practice*, 347–355.

Wang, Y.-C., Han, M.-F., Jia, T.-P., Hu, X.-R., Zhu, H.-Q., Tong, Z., ... Hsi, H.-C. (2021). Emissions, measurement, and control of odor in livestock farms: A review. *The Science of the Total Environment*, 776, 145735. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145735>

Yıldız, A. G. M. (2007). Halosübstitüe benzokinonun s-nükleofilleri ile reaksiyonlarından yeni tiyoeterlerin sentezi.



TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde, çalışmamın yürütülmesinde ve yol gösterilmesinde bana destek olan başta değerli tez danışman Hocam Prof. Dr. Güven ÖZDEMİR'e iyi bir mentor olduğu için en içten teşekkürlerimi sunarım. Bu projenin (FYL-2020-22124) yapılmasında maddi destek veren Ege Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim. Lisans ve Yüksek Lisans eğitimin boyunca bilgisini benden esirgemeyen anabilim dalı hocalarıma teşekkür ederim. Laboratuvar ekip arkadaşlarıma bu süreç boyunca paylaştığımız her şey için teşekkür ederim. Tezime katkı sağlayan, sunumumu dinleyen değerli jüri üyelerine ayrıca teşekkür ederim. Bana abilik yapan, değerli hocam Dr. Öğr. Üy. Caner VURAL ve bana ablalık ve hocalık yapan değerli Cansu VURAL'a manevi desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Eğitim öğretim hayatımda hep yanımda ve arkamda duran, verdiğim kararlara hep saygı duyan beni maddi ve manevi olarak destekleyen canım aileme; anneme, babama ve ablama çok teşekkür ederim. Son olarak uzakta dahi olsak bana hep yakınımdaymış gibi hissettiren değerli dostum, Büşra GÜLTEKİN'e hayatımda ve yanımda olduğu için teşekkür ederim.



ÖZGEÇMİŞ

Namık Kemal İlkokulu, orta okulu Barbaros Ortaokulunda ve lise eğitimimi Antalya Anadolu Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2013 yılında Ege Üniversitesi Biyoloji bölümünü kazandım. Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan 2019 yılında mezun oldum. 2019 yılının Eylül ayında ise Ege Üniversitesi Biyoloji/Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji alanında, Prof. Dr. Güven ÖZDEMİR danışmanlığında yüksek lisans eğitimime başladım.

Hande ÜNLÜ

Yüksek Lisans Öğrencisi