



T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

RHODOPSEUDOMONAS PALUSTRIS TARAFINDAN
ASTRAZON RED DEKOLORİZASYONUNDA YARDIMCI SUBSTRAT ETKİSİ

NUR TUNÇSİPER

Temmuz 2018

T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

RHODOPSEUDOMONAS PALUSTRIS TARAFINDAN
ASTRAZON RED DEKOLORİZASYONUNDA YARDIMCI SUBSTRAT ETKİSİ

NUR TUNÇSİPER

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK

Temmuz 2018

Nur TUNÇSİPER tarafından Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK danışmanlığında hazırlanan “*RHODOPSEUDOMONAS PALUSTRIS* TARAFINDAN ASTRAZON RED DEKOLORİZASYONUNDA YARDIMCI SUBSTRAT ETKİSİ” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.



Başkan: Prof. Dr. Meysun İBRAHİM ABDULLAH, Yakın Doğu Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Tuba ARTAN ONAT, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun/...../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Murat BARUT
MÜDÜR V.

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Nur TUNÇSİPER

ÖZET

RHODOPSEUDOMONAS PALUSTRIS TARAFINDAN ASTRAZON RED DEKOLORİZASYONUNDA YARDIMCI SUBSTRAT ETKİSİ

TUNÇSİPER, Nur

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman :Prof. Dr. Ayten Öztürk

Temmuz 2018, 51 sayfa

Endüstriyel boyaların büyük bir kısmı, boyama aşamasında suya deşarj olmaktadır. Bu boyalar ve parçalanma ürünleri insan sağlığını ve çevresini olumsuz yönde etkilemektedir. Bu ve benzeri zararlı bileşiklerin atık sulardan uzaklaştırılması tekstil endüstrisinin en önemli sorunlarından biridir. Bu tez çalışmasında, *Rhodopseudomonas palustris* ATA51 tarafından astrazon red boyasının dekolorizasyonu ve bu dekolorizasyonda yardımcı substrat olarak glukoz, sodyum asetat ve melasın etkinliği araştırılmıştır. Son boya konsantrasyonu olarak 100 mg/L kullanılmış ve her bir substrat ayrı ayrı denenmiştir. Boyanın dekolorizasyonu aralıklarla spektrofotometrik olarak (λ_{530}) ölçülmüştür. Bulgular, renk giderme için kullanılan tüm yardımcı substratların dekolorizasyonda etkin olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, bakteri büyümesi veya biyokütle için tüm yardımcı substratların kullanılabileceği ortaya konmuştur.

Anahtar Sözcükler: Biyolojik atık su arıtımı, dekolorizasyon, yardımcı substrat, mikroorganizma, fotosentetik bakteri, *Rhodopseudomonas palustris*

SUMMARY

EFFECT OF CO-SUBSTRAT ON DECOLORIZATION OF ASTRAZON RED BY *RHODOPSEUDOMONAS PALUSTRIS*

TUNÇSİPER, Nur

Niğde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor

:Prof. Dr. Ayten ÖZTÜRK

July 2018, 51 pages

Great major of the industrial dyes used has been discharged into the water during the dying phase. These dyes and their intermediate yields have affected negatively human health and their environment. Removal of these harmful compounds from wastewater has been one of the crucial problems. In this study, the decolorization of the dye astrazon red mediated glucose, sodium acetate, and molasses as co-substrate by *Rhodopseudomonas palustris* ATA51 was investigated. Final dye concentration (100 mg/L) was added into the growth media including co-substrates individually. The decolorization of dyes was measured spectrophotometrically (λ_{530}) for periods. The findings have shown that all of the co-substrates for decolorization were effective. However, all of the media were good for the bacterial growth or biomass.

Keywords: Biological waste water treatment, decolorization, co-substrates, microorganisms, photosynthetic bacteria, *Rhodopseudomonas palustris*

ÖN SÖZ

Günümüzde endüstriyel atık maddelerin doğaya zarar vermeden bertaraf edilmesi ya da bir başka ürünün hammaddesi olarak kullanılması şeklinde değerlendirilmesi önem kazanmıştır. Yapılan bu tez çalışması ile çevre dostu bir bakteri olan *Rhodopseudomonas palustris* türüne ait kendi izolatomuz bir süşun boyar madde gideriminde kullanılması ve aynı zamanda bu bakterinin geliştirilmesinde melas gibi bir şeker endüstrisi atığı olan melasın değerlendirilmesi üzerinde çalışılmıştır. Boyar madde olarak kullanılan astrazon red'in dekolorizasyonunda yardımcı substrat olarak asetat, glukoz ve melasın etkinliği araştırılmıştır. Çalışma neticesinde asetat ve glukoz kadar melasın da bakteri gelişimi ve dolayısıyla boya dekolorizasyonunda etkin olduğu görülmüştür. Bu çalışmanın ortaya koyduğu sonuçlar itibariyle bilime ve teknolojiye katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen, bilgi, tecrübe ve zamanını benimle paylaşan değerli danışman hocalarım, Sayın Prof. Dr.Ayten ÖZTÜRK'e içten şükranlarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tezimi, çalışmam süresince ve bu aşamalara gelmemde büyük katkısı olan değerli eşim Prof. Dr. Bilal TUNÇSİPER'e ithaf ediyorum ve bu tezin oluşmasında en küçük dahi katkısı olan herkese en içten dileklerle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGE VE KISALTMALAR	xi
BÖLÜM I GİRİŞ	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER	2
2.1 Azo Boyar Maddeler Ve Çevresel Etkileri	2
2.2 Atıksu Arıtımı Ve Önemi	4
2.3 Azo Boyaların Giderimi İçin Atıksu Arıtım Teknolojileri	4
2.4 Azo Boyaların Giderimi İçin Fiziksel ve Kimyasal Arıtım	5
2.5 Azo Boyaların Giderimi İçin Biyolojik Arıtım	7
2.5.1 Mantarlarla dekolorizasyon	10
2.5.2 Mayalarla dekolorizasyon	11
2.5.3 Alglerle dekolorizasyon	12
2.5.4 Bitkilerle dekolorizasyon	12
2.5.5 Bakteriyel dekolorizasyon	13
2.5.5.1 Bakteriyel dekolorizasyonu etkileyen faktörler	18
2.5.5.2 Konsantrasyonun etkileri	19
2.5.5.3 Karbon ve azot kaynaklarının etkileri	19
2.5.5.4 Oksijen ve karıştırmanın etkileri	21

2.5.5.5 Sıcaklığın etkileri	22
2.5.5.6 pH'nın etkileri	22
2.5.5.7 Boya yapısının etkileri	23
2.5.5.8 Boyaların ara metabolitlerinin etkileri	24
2.5.5.9 Elektron vericilerinin etkileri	24
2.5.5.10 Redoks potansiyelinin etkileri	25
2.5.5.11 Redoks araçlarının etkileri	25
BÖLÜM III MATERYAL VE METOT	27
3.1 Kullanılan Cihaz, Araç ve Gereçler	27
3.2 Bakteri Kültivasyonu	27
3.3 Boyar Maddenin Hazırlanışı	29
3.4 Dekolorizasyon Test Ortamlarının Hazırlanması	29
BÖLÜM IV BULGULAR VE TARTIŞMA	31
4.1. Dekolorizasyon Deneilerinin Sonuçları	31
4.2 Dekolorizasyonda Bakteriyel Gelişme Sonuçları	34
BÖLÜM V SONUÇLAR.....	37
KAYNAKLAR	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Bakteri MAT besiyeri içeriği.....	28
--	----

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Astrazon red'in kimyasal yapısı	2
Şekil 2.2. Azo boyalarının anaerobik dekolorizasyonu (Van der Zee, 2002).....	8
Şekil 2.3. Biyolojik olarak azo boyalarının giderim mekanizması (Keck vd., 1997)	9
Şekil 3.1 Dekolorizasyon deney düzeneği Dekolorizasyon deney düzeneği (a: boya dekolorizasyon ortamının ilk günü, b: boya dekolorizasyon ortamının son günü)	30
Şekil 4.1. Yardımcı substrat olmaksızın boyanın dekolorizasyonu	31
Şekil 4.2. Glukozun kullanıldığı ortamda boyanın dekolorizasyonu	31
Şekil 4.3. Asetatın kullanıldığı ortamda boyanın dekolorizasyonu	32
Şekil 4.4. Melasın kullanıldığı ortamda boyanın dekolorizasyonu	32
Şekil 4.5. Boyanın % bakteriyel dekolorizasyonunda yardımcı substrat etkisi	33
Şekil 4.6. Boyanın % dekolorizasyonunda ışığın etkisi	33
Şekil 4.7. Boya ve yardımcı substratların bakteriyel gelişmeye etkisi	35
Şekil 4.8. Biyokütle artışının toplamdaki yeri	36

SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
μ	Mikron
μm	Nanometre
mm	Milimetre
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
sn	Saniye
dk	Dakika
%	Yüzde
mL	Mililitre
mg/L	Miligram/litre
kg/m^{-3}	Organik yük birimi
pH	Hidrojen gücü
rpm	Dakikada karıştırma hızı

BÖLÜM I

GİRİŞ

Azo boyalar tekstil başta olmak üzere gıda, farmasotik, kozmetik ve deri gibi sanayilerde boyar madde olarak kullanılmaktadır. Bu boyar maddelerin kendisi ya da parçalanma ürünleri olan aromatik aminlerin kanserojen özellikleri nedeniyle çevre ve dolayısıyla halk sağlığını olumsuz şekilde etkilemektedirler. Bu tez çalışmasında kirletici atık maddeler içerisinde yer alan azo boyar maddelerin renk gideriminde yardımcı substratların etkisi araştırılmıştır. Dekolorizasyon çalışmasında fotosentetik fakültatif anaerobik bir bakteri olan ve daha önceki bir çalışmada Akkaya göletinden izole edilen *Rhodopseudomonas palustris* 51ATA şusu kullanılmıştır.

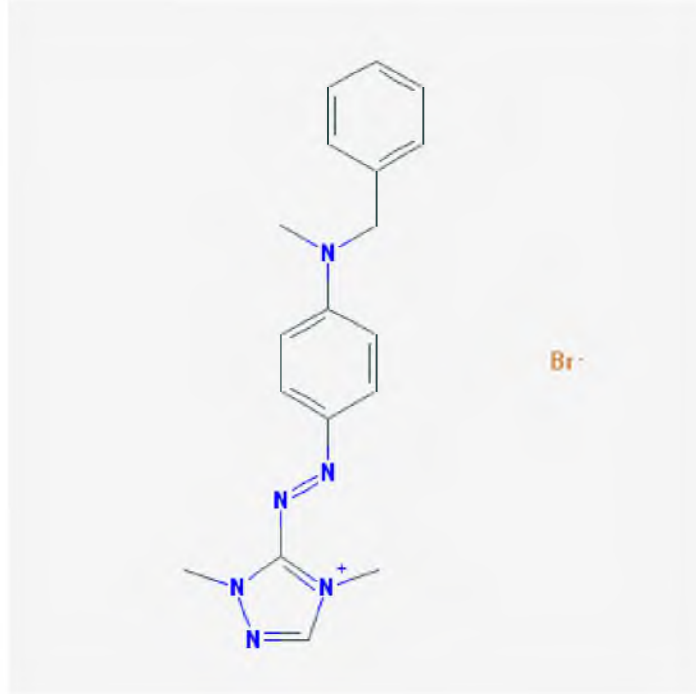
Boya endüstrinin azo boyar madde içeren suları doğaya deşarj edilmeden önce çeşitli işlemler aracılığıyla kirletici özellikleri giderilmeye çalışılmıştır. Çeşitli çalışmalar yoluyla azo boyar maddeler dekolorizasyon ve degradasyon işlemlerine maruz bırakılarak kirletici olma özellikleri ortadan kaldırılmaya çalışılmıştır. *Rhodopseudomonas palustris* ile yapılmış çalışmalarda bu bakterinin aerobik karanlıkta, anaerobik olarak ışıpta gelişebildiği ve aromatik maddeleri parçalayarak tümüyle mineralize edebildiği belirlenmiştir. Bu özelliklere sahip çok az sayıda mikroorganizma bulunmaktadır. Atık arıtımında kullanılabilecek potansiyele sahip bu bakterinin diğer boya ları ne şekilde metabolize ettiğinin de ortaya çıkarılması gerekmektedir. Daha önce yapılmış bir çalışmamızda, *Rhodopseudomonas palustris* 51ATA şusunun reaktif red 195 adlı boyayı tümüyle mineralize ettiğ i, azot ve karbon kaynağı olarak kullanılabileceğ i belirlenmiştir. Söz konusu çalışmada reaktif red 195 adlı boyanın glikoz gibi organik bir substrat varlığında sadece boyanın olduğu ortama göre daha iyi metabolize edildiğ i tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise, astrozon red boyasının dekolorizasyonunun gerçekleştirilmesinde yardımcı substrat olarak kullanılacak melas, asetat ve glukozun etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Bu çalışmada, şeker fabrikası atığı olan ve karbonhidrat içeriğ i zengin olan melas başta olmak üzere asetat ve glikoz kullanılarak astrozon red boyasının dekolorizasyonunda en uygun ve işle mi hızlandırıcı yardımcı substrat tespit edilmiştir. Özellikle melasın karbon kaynağı olarak kullanılabilmesi ileride bakterinin büyük ölçekte kullanımı açısından ekonomik bir avantaj sağlayacağı düşünülmektedir.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

2.1 Azo Boyar Maddeler Ve Çevresel Etkileri

Boya ve tekstil endüstrileri tarafından sucul sistemlere bırakılan çeşitli sentetik boyarmaddeler, doğada giderimi zor olup, degradasyona uğradığında genellikle toksik ve kanserojenik maddelere dönüşmektedirler. Bu durum atık su arıtımında ciddi bir problem olmasına karşın, sadece dekolorizasyona tabi tutulup yeterince arılmayan bu tip sular, doğrudan çevreye deşarj edilmekte, toksik özellikleri nedeniyle mevcut içilebilir ve kullanılabilir su kaynaklarını tehdit etmektedir. Azo boyalar tekstil, kâğıt, gıda, deri, kozmetik ve ilaç sanayinde çok yoğun kullanıldıklarından sanayilerde üretilen boyarmaddelerin çoğunluğunu oluşturmaktadır. Astrazon red gibi endüstride tekstil boyamada ticari olarak kullanılan boyalardan birisidir. Boyar maddeler, liflerdeki OH-, NH- veya SH- gruplarıyla (pamuk, yün, ipek, naylon) kovalent bağlar oluşturan reaktif gruplara sahip boyalardır (Chang vd., 2001).



Şekil 2.1. Astrazon red'in kimyasal yapısı

Mevcut atık su arıtım sistemlerinde zor ayrışabilir azo boyaların renk haslıkları,

stabiliteleeri ve bozunmaya karşı dirençlerinden dolayı deşarj sularından tamamen giderilememektedir. Belirli çevresel koşullar altında azo boyaların bakterilerle renginin giderilmesi ve bozundurulması yöntemi ucuz, çevreye uyumlu ve çok çeşitli türdeki boyalar için uygulanabilir olmasından dolayı bir arıtma yöntemi olarak giderek ivme kazanmaktadır. Bilhassa 19.yüzyılın sonlarından itibaren dünyada endüstrinin gelişimiyle birlikte sentetik boyaların miktarlarında ve çeşitliliklerinde bir artış sağlanmasıyla birlikte bu sentetik boya maddelerini içeren atıksulardan dolayı çevre kirliliğinde de önemli ölçüde bir artış gözlenmiştir (Pandey vd., 2007). Azo boyalar dünya genelinde kullanılan boya maddelerinin ağırlık olarak yaklaşık %70'ini kapsadığından (Zollinger, 1987) çevreye en fazla salınan ve zarar veren boya maddeleri olarak görülmektedirler (Saratale vd., 2011). Enzimatik biyolojik bozunum süreci ile mikroorganizmalar tarafından üretilen azoredüktaz enzimi ile azo bağları (-N=N-) indirgenenerek parçalanmaktadır (Stolz, 2001). Azo boyaları bir veya daha fazla azo bağı ile karakterize edilen kimyasal yapısından dolayı ışığı görünür spektrumda absorbe etmektedir (Chang vd., 2000). Azo grubu kloro (-Cl), metil (-CH₃), nitro (-NO₂), amino (-NH₂) ve hidroksil (-OH), karboksil (-COOH) gibi çok farklı ornatikleri (yerine geçen) içerebilen ve farklı türde azo boyaları verebilen benzen ve naftalin gruplarıyla yer değiştirebilmektedir (Zollinger, 1991).

Azo boyalarını ve bunların metabolitlerini içeren tekstil atıksularının sucul ekosistemlere uygun olmayan şekilde ya da arıtılmadan deşarjları neticesinde sucul ortamda güneş ışığının penetrasyonunda bir azalmaya yol açarak çözünmüş oksijen konsantrasyonunu ve dolayısıyla suyun kalitesini bozar, fotosentetik aktiviteyi olumsuz etkiler ve suda yaşayan flora üzerinde akut toksik etkiler oluşturur (Vandevivere vd., 1998). Ayrıca, azo boyaları, toplam organik karbon (TOC), biyolojik oksijen ihtiyacı (BOD) ve kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) açısından olumsuz bir etkiye de sahiptir. Pek çok sentetik azo boyası ve onların metabolitleri toksik, kanserojen ve mutajeniktir (Myslak ve Bolt, 1998). Ayrıca, çok sayıda rapor tekstil boyalarının ve atıksularının, yaban hayatı için bir yaşam alanı sağlamak, toprağı erozyona karşı korumak ve toprağın verimliliğini arttıran organik maddeleri sağlamak gibi önemli ekolojik fonksiyonlara sahip çeşitli bitki türlerinin çimlenme oranları ve biyokütlesi üzerinde toksik etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur (Ghodake vd., 2009). Bu nedenle, azo boyaları ve bunların metabolitlerini içeren endüstriyel atıkların arıtılması, çevreye nihai deşarjından önce gerekli görülmektedir.

2.2 Atıksu Arıtımı Ve Önemi

Su tüm canlılar için hayati bir önem taşımaktadır. Suyun ve atıksuyun önemi bilhassa kuraklığın ve su sıkıntısının çekildiği bölgelerde kendini göstermektedir. Atıksu hem kentsel hem de ticari kullanımdan kaynaklanan çevreye ve insan sağlığına zararlı olabilecek kimyasal ve biyolojik kirletici bileşenleri (patojenler) içermektedirler. Kirleticiler içerisinde bilhassa sentetik boyar maddeler çevre kirliliği açısından diğer kirleticilere kıyasla daha büyük bir risk taşımaktadır. Bu kirleticilerin fiziksel, kimyasal, biyolojik ve doğal atıksu arıtma sistemlerinde çevreye ve insan sağlığına zarar veremeyecekleri düzeylere kadar arıtılmaları sayesinde çevre ve insan sağlığı korunumu sağlanabilmektedir. Bu sebeple atıksuların arıtımı çevrenin sürdürülebilir korunumu açısından önem arz etmektedir.

2.3 Azo Boyaların Giderimi İçin Atıksu Arıtım Teknolojileri

Atıksulardan boyaların uzaklaştırılması için çok çeşitli türde fizikokimyasal yöntemler kullanılmasına karşın bu yöntemler daha fazla enerji ve kimyasal gerektirdiğinden ekonomik değildir ve bu yöntemler zor ayışabilir azo boyalarını ve/veya bunların organik metabolitlerini tamamen giderememekle birlikte ikincil kirlilik problemlerine de neden olmaktadır (Forgacs vd., 2004; Zhang vd., 2004). Bununla birlikte, mikrobiyal veya enzimatik yollarla renk giderimi ve ayıştırma yöntemi fizikokimyasal arıtma yöntemleri arasında daha az su tüketimi sağlayan kimyasal ayıştırma yöntemine alternatif olan, çevre dostu ve ekonomik bir arıtma yöntemidir (Verma ve Madamwar, 2003; Rai vd., 2005). Atıksudan boyaların giderilmesi için genel olarak; flokulasyon, adsorpsiyon, kimyasal çöktürme, fotoliz, kimyasal oksidasyon ve indirgeme, elektrokimyasal işlemler gibi çok çeşitli fizikokimyasal yöntemlerin yanısıra biyolojik yöntemler de kullanılmaktadır. Bununla birlikte kimyasal yöntemler hem ekonomik değildir hem de bu yöntemler sonucu ortaya çıkan bazı yan ürünler çevre kirliliğine sebep olmaktadır (Churchley, 1994; Vandevivera vd., 1998; Alaton vd., 2002; Chequer vd., 2011) Son yıllarda bilim insanları daha ekonomik ve çevre dostu olan biyolojik metodlarla arıtım teknolojilerini geliştirmeye yönelmişlerdir. Bu amaçla çeşitli endüstriyel sektörlere ait renkli atık suların biyolojik dekolorizasyon işlemlerinde

kullanılması üzerinde çok sayıda bilimsel çalışma yapılmıştır (Yeşilada vd., 2003; Kumar ve Sivanesan, 2007; Mohana vd., 2007; Solis vd., 2012). Özellikle beyaz çürükçül fungusların, mayaların, çeşitli aerobik ve anaerobik bakyterilerin ve karışık bakteri kültürlerinin aerobik ve anaerobik koşullarda boyar maddeleri detoksifikasyonları araştırılmıştır. Bunlar içerisinde azo bileşiklerin aerobik ve anaerobik ortamlarda biyodegradasyonuna yönelik çalışmaların yanı sıra (Donion vd., 1997; Holliger vd., 1999; Stolz, 2001; Solis vd., 2012), azo bileşiklerin dekolorizasyonu ile ilgili bakteri türlerinin, karışık aerobik ve anaerobik bakteri kültürleriyle yapılan çok sayıda çalışma vardır (Carliel vd., 1995; Chen vd., 1999; Moosvi vd., 2005; Saratele vd., 2011).

2.4 Azo Boyaların Giderimi İçin Fiziksel ve Kimyasal Arıtım

Azo boyaalarının giderilmesinde; membran filtrasyonu, koagülasyon/flokülasyon, çökeltme, flotasyon, adsorpsiyon, iyon değişimi, iyon çifti ekstraksiyonu, ultrasonik mineralizasyon, elektroliz, ileri oksidasyon (klorlama, ağartma, ozonlama, fenton oksidasyonu ve fotokatalitik oksidasyon) ve kimyasal indirgeme gibi çok çeşitli fiziko-kimyasal teknikler kullanılmaktadır. Boyaların koagülasyon-flokülasyona dayanan fiziksel yöntemleri esas olarak sülfür ve dispers boyaalarının giderilmesinde etkili olmasına karşın asitler ve tekne boyaaları için yetersizdir. Ayrıca, düşük renk giderme verimi ve büyük miktarlarda çamur üretimi bu tekniklerin uygulanmasını sınırlamaktadır (Vandevivere vd., 1998).

Boyanın biyokütleyle adsorpsiyonu şeklindeki boya giderim mekanizması uzun vadeli bir giderim yöntemi değildir. Bunun nedeni, adsorpsiyon esnasında boya zamanla biyokütle üzerinde doymuş hale geldiğinden boya ile bakteri hücreleri arasındaki biyo-birleşmenin yapısı bozulur. Bununla birlikte, adsorpsiyon yöntemleri çok çeşitli türdeki boyaalarının gideriminde yüksek verim sağlamaları nedeniyle önemli ilgi görmüştür. Bir adsorban (adsorbe edici madde) seçimi, yüksek afinite (boyayı adsorbe edebilme özelliği), hedef bileşikler için kapasite ve adsorbanın rejenerasyon (adsorbe edicimaddedenin yenilenebilirliği) olasılığı gibi özelliklere dayanmaktadır (Subramaniam vd., 2009). Aktif karbon (AC) çeşitli boyaalar için çok etkili bir adsorban olmasına rağmen, yüksek maliyetinden dolayı sıklıkla kullanılmamaktadır (Robinson vd., 2001).

Ekonomik olarak daha elverişli prosesleri tasarlamak için bazı araştırmacılar boya içerikli atıksulardan renk gideriminde turba, bentonit kil, uçucu kül, polimerik reçineler, iyon değiştiriciler ve mısır /mısır koçanları, mısır sapları ve buğday samanı gibi birçok biyolojik materyaller gibi düşük adsorban maddeleri kullanmaktadırlar (Ramakrishna ve Viraraghavan, 1997). Bununla birlikte, bu adsorbanların pratik uygulaması, onların yenilenmeleri ve imhaları, yüksek çamur üretimleri, çok geniş aralıktaki boyalarla ilgili olarak düşük verimlilikler ve yüksek maliyetlerle ilişkili problemlerden dolayı sınırlıdır (Anjaneyulu vd., 2005). Ultrafiltrasyon, nanofiltrasyon ve ters ozmoz gibi filtrasyon yöntemleri suların yeniden kullanımı ve kimyasal geri kazanım için kullanılmıştır. Tekstil endüstrisinde membranların kullanımı atıksuyun rengini, BOİ ve KOİ'sini eşzamanlı olarak azaltan hidrolize boyarmaddelerin ve boyama yardımcı maddelerinin ayrılmasına büyük olanaklar sağlamış olup bunların merserize edilmesi (kumaşın boya alımını ve mukavemetini artırma işlemi) ve ağartılması için de yararlı bulunmuştur. Bu yaklaşımla, filtrenin türünün ve gözenekliliğinin seçimi, atıksuyun kimyasal bileşimine ve proses için gerekli spesifik sıcaklığa bağlıdır. Bununla birlikte, yüksek yatırım maliyetleri, potansiyel membran kirlenmesi ve daha ileri bir arıtımı gerektiren ikincil atıksu deşarjlarının üretilmesi gibi bazı önemli dezavantajları vardır (Robinson vd., 2001).

Kimyasal oksidasyon yöntemleri boya moleküllerinin yok edilmesini veya ayrışmasını sağlar ve bu yaklaşımlar ozon (O₃), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve permanganat (MnO₄) gibi çeşitli oksitleyici etkenleri kullanır. Bir bileşiğin veya bileşik grubunun kimyasal bileşimindeki modifikasyon, bu oksitleyici etkenler varlığında gerçekleşir ve bu nedenle boya molekülleri degradasyona duyarlı hale gelir (Metcalf, 2003). Ozonlama yönteminin, birçok azo boyalarla yüksek reaktiviteden ve gaz halinden dolayı reaksiyon hacimlerinde değişiklik olmaması ve iyi renk giderme verimlerinden dolayı etkili olduğu bulunmuştur (Alaton vd., 2002). Bununla birlikte kısa ömrü, dağınık boyalara ve suda çözünmeyen meyvelere karşı etkisizliği, düşük COD giderimi ve yüksek ozon maliyeti bu tekniğin pratik uygulamasını sınırlar (Anjaneyulu vd., 2005). İleri oksidasyon proseslerinde (AOP) (fotokimyasal ve fotokatalitik) O₃ ve H₂O₂ gibi oksitleyici etkenler veya heterojen fotokatalistler tehlikeli boya kirleticilerinin imhası için radikalleri üreten bir radyasyon kaynağının varlığında yada yokluğuna TiO₂, ZnO₂, Mn ve Fe gibi katalizörlerle kullanılmaktadır (Vandevivere vd., 1998; Anjaneyulu vd.,

2005; Wang vd., 2009). Fenton reaksiyon yöntemi nispeten ucuzdur ve aynı zamanda çözünür ve çözünmeyen boyalar için yüksek KOİ giderme ve renk giderme verimleri sağlar, ancak yöntemde yüksek çamur üretiminden dolayı kullanımını sınırlıdır (Robinson vd., 2001). H₂O₂/UV prosesi esasen yüksek renk giderme (% 95'e kadar), çok az çamur oluşumu ve kısa bekletme süresinde yüksek KOİ giderme özelliği nedeniyle en etkili AOP teknolojisidir (Alaton vd., 2002). Bununla birlikte bu yöntem yüksek derecede renkli atık su ve dağınık veya tekne (vat) boyları için daha az etkilidir ve UV ışığının verimsiz kullanımı bu sürecin maliyetini arttırırken istenmeyen yan ürünlerin oluşumuna da neden olmaktadır (Pearce vd., 2003).

Elektrokimyasal oksidasyon, organik bileşiklerin ayrıştırılmasında ve tehlikeli olmayan ürünlerin üretilmesinde çok etkilidir, ancak gerekli yüksek elektriğin maliyeti de bu işlemin kullanımını kısıtlamıştır (Morawski vd., 2000). Renk giderim tekniklerinin çoğu ya renkleri çamurun içine konsantre ederek ya da renkli molekülleri tamamen yok ederek etkili olmaktadır. Sonuç olarak, renk içerikli atıksuların arıtılması için bir aerobik granüler çamur yöntemi önerilmiştir (Adav vd., 2009).

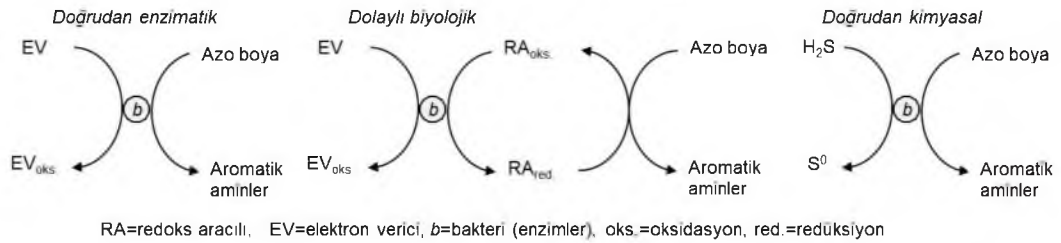
Sonuç olarak bu çalışmada, boya içerikli atıksularla ilgili olarak ekonomik açıdan uygulanamaması, renk haslığı; azo boylarının bozunmaya karşı direnci (Anjaneyulu vd., 2005); ikincil kirlilik sorunlarına neden olabilecek derecede önemli miktarda çamur üretmesi ve bunun da arıtma yöntemlerinin maliyetini önemli ölçüde arttırması; karmaşık prosedürleri içermesi gibi sebeplerden dolayı (Zhang vd., 2004) zor ayrışabilen azo boyların ve/veya onların organik metabolitlerini tamamen giderememesi gibi bazı dezavantajları olan çeşitli fiziksel/kimyasal yöntemlerinin bir özeti sunulmuştur.

2.5 Azo Boyaların Giderimi İçin Biyolojik Arıtım

Organik bileşiklerin mantarlar, mayalar, algler, bitkiler ve bakteriler aracılığıyla ayrıştırılması ya da biyodegradasyonudur. Biyodegradasyon işlemleri anaerobik, aerobik veya ikisinin bir kombinasyonunu içerebilir. Bakteri hücreleri ile azo boyları arasındaki reaksiyon göz önüne alındığında, aerobik ve anaerobik koşullar altında yetiştirilen mikroorganizmaların fizyolojisi arasında önemli farklar bulunduğunu belirtmek gerekir (Stolz, 2001). Aerobik bakterilerin indirgeyici süreçte baskın hale

geçebilmeleri için ortama spesifik olarak adapte edilmelidir. Bu adaptasyon, çok basit bir azo bileşiğinin bulunduğu sürekli kültürde uzun süreli bir aerobik büyümeyi içermektedir.

Bakteriler, azo grubunu oksijen varlığında indirgeyerek parçalayabildikleri kontrollü koşullar altında azo grubuna özgü bir azo redüktaz enzimini sentezler. Bununla birlikte anaerobik koşullar altında bakteriyel indirgeme ortamdaki genel olarak azo bileşiklerine özgü olmadığından azo boyalarını içeren atık sulardaki rengin giderilmesinde daha fazla kullanılmaktadır. Şekil 4.1’de görüldüğü üzere, zorunlu anaerobik (örneğin, *Bacteroides* sp., *Eubacterium* sp), fakültatif anaerobik (örn., *Proteus vulgaris*, *Streptococcus faecalis*) ve aerobik bakteriler (Örneğin; *Bacillus* sp., *Sphingomonas* sp.), mayalar ve hatta daha yüksek organizma dokuları gibi çok çeşitli organizmalar anaerobik koşullar altında azo bileşiklerini azaltabildiği görülmüştür (Wuhrmann vd., 1980; Bragger vd., 1997). Her ne kadar metal iyonu içeren boyaların bazen renk giderme verimlerini azalttığına dair bazı göstergeler olsa da test edilen hemen hemen her azo bileşiğinin anaerobik koşullar altında biyolojik olarak kolayca indirgenebildiği bilinmektedir (Chung vd., 1992; Delée vd., 1998).



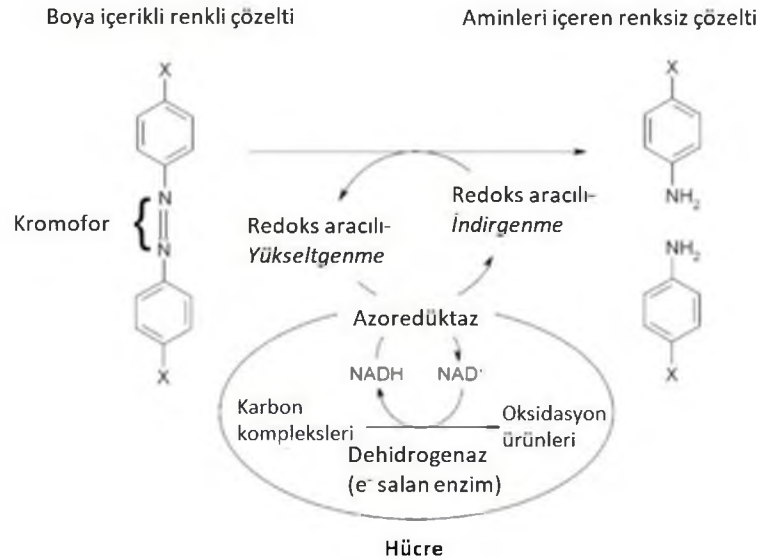
Şekil 2.2. Azo boyalarının anaerobik dekolorizasyonu (Van der Zee, 2002)

Çoğu azo boyaları sülfonat ile yerdeğiştiren gruplara ve yüksek bir molekül ağırlığına sahip olduğundan genel olarak hücre membranlarından geçmesi pek olası değildir. Dolayısıyla indirgeme aktivitesi boyanın hücre içi alınışına bağlı değildir. Russ vd. (2000), bakteriyel zarların flavin içeren kofaktörleri neredeyse geçirmediğini ve dolayısıyla indirgeme eşdeğerlerinin sitoplazmadan sülfonatlı azo boyalarına aktarımının flavinler tarafından kısıtlandırıldığını ispatlamıştır. Böylece, sitoplazmik flavine bağımlı azoredüktazlar tarafından oluşturulan indirgenmiş flavinler tarafından indirgeme dışında bir mekanizmanın bozulmamış hücre membranları olan bakteri

hücrelerinde sülfonatlı azo boya gideriminden sorumlu olduğu görülmektedir.

Kudlich vd. (1997), redoks bileşiklerinden kaynaklanan membrana bağlı azo redüktaz aktivitesinin, hücre zarı boyunca nüfuz eden sülfonatsız boyaların indirgenmesinden sorumlu olan çözünebilir sitoplazmik azo redüktazdan farklı olduğunu göstermiştir. Kudlich vd. (1997), bir thiol'e özgü inhibitörün *Sphingomonas sp.*'deki membrana bağlı azo redüktazı neredeyse tamamen inaktive ettiğini fakat sitoplazmik azo redüktazı etkilemediğini ortaya koymuşlardır. Membrana bağlı olan azo redüktaz ve sitoplazmik azo redüktazlar iki farklı enzim sistemidir. Şekil 4.2, anaerobik koşullar altında tüm bakteri hücrelerini kullanarak azo boyalarının redoks aracılı giderimi için önerilen bir mekanizmayı göstermektedir.

Azo boyalarının hücre sıvısı içerisindeki nihai indirgemesi her ne kadar ağırlıklı olarak kimyasal bir redoks reaksiyonu olsa da redoks araçları elektronları sitoplazmik indirgeyici enzimlere bağımlı kalarak tedarik eder. Bu kimyasal redoks reaksiyonun sitoplazmada sentezlenen ve hücrede birikim olmadan salınan dehidrogenazlı azo redüktazı içeren bir enzimatik reaksiyon ile bağlantılı olarak da çalışması mümkündür (Bragger vd., 1997).



Şekil 2.3. Biyolojik olarak azo boyalarının giderim mekanizması (Keck vd., 1997)

Fiziksel ve kimyasal yöntemlere kıyasla biyolojik degradasyon daha az çamur ve çevreye zararlı olmayan ürünler üretmekte ve daha ekonomik olmaktadır. Biyolojik

dekolorizasyonda geliştirilen mikrobik tekniklerin kullanımı, çevre bilimlerinde önemli bir araştırma alanıdır. Bu tür yaklaşımlarda mikroorganizmalar kendilerini toksik atıklara alıştırmakta ve doğal olarak yeni dirençli suşlar geliştirmekte ve bu da çeşitli toksik kimyasalları daha az zararlı hale getirmektedir. Mikrobiyal sistemdeki zor ayrışabilir bileşiklerin biyolojik olarak parçalanmasının arkasındaki mekanizma, biyodönüşümü sağlayan enzimlerinin etkisine dayanmaktadır (Saratale vd., 2011). Azo boya ları, doğada ksenobiyotiktir (organizmaya yabancı madde) ve biyolojik bozulmaya karşı dirençlidir ve tekstil atıksularından bu renklerin tamamen giderilmesi ve bozunması için mikrobiyal veya enzimatik arıtma yönteminin kullanılması aşağıdaki avantajları sağlamaktadır: (1) çevre dostu olması, (2) daha az maliyetli olması, (3) daha az çamur üretmesi, (4) toksik olmayan veya mineralizasyonu tamamlanmış nihai ürünler üretmesi; ve (5) fizikokimyasal yöntemlere kıyasla daha az su tüketimi gerektirmesidir (Rai vd., 2005).

Mikrobiyal renk gidermenin etkinliği, seçilen mikroorganizmaların ortama adapte olabilirliğine ve etkinliğine bağlıdır. Sonuç olarak, son yıllarda çok sayıda tür çeşitli boya ların renk giderme ve mineralizasyonu için test edilmiştir (Pandey vd., 2007). Etkili türlerin izolasyonu ve dolayısıyla bunların bozunması atık suyun arıtımın en ilgi çekici biyolojik yönlerinden biridir (Chen vd., 2008). Çok çeşitli türde mikroorganizmalar geniş aralıktaki boya ların renginin giderebilme yeteneğine sahiptir. Bunlar; Bakteriler, funguslar, aktinomisetler, algler ve bitkilerdir.

2.5.1 Mantarlarla dekolorizasyon

Filamentli mantarlar, toprak, canlı bitkiler ve organik atık maddeler gibi ekolojik nişleri kapsayan her yerde bulunmaktadır. Mantarların metabolizmalarını hızla değişen karbon ve azot kaynaklarına adapte etme kabiliyeti hayatta kalmaları için önemlidir. Bu metabolik aktivite, poliaromatik hidrokarbonlar, organik atıklar, boya atıkları ve steroid bileşikleri gibi çeşitli kompleks organik kirleticileri parçalayabilen geniş bir hücre içi ve hücre dışı enzim kümesinin üretilmesi yoluyla elde edilir (Saratale vd., 2011). Mantar sistemlerinin renkli ve metalik atıksuların arıtılmasında en uygun olduğu görülmektedir. Bu gibi mantarların çok çeşitli türdeki zor ayrışabilir organik bileşikleri ayrıştırabilme yeteneği lignin peroksidaz (LiP), mangan peroksidaz (MnP) ve lakkaz gibi ligninolitik (lignin ayrıştırıcı) enzimlerinin nispeten spesifik olmayan yapısından dolayı

gerçekleşmektedir (Christian vd., 2005).

Azo boyaların biyobozunması ile ilgili birçok çalışma, azo boyalarının mineralizasyonunda biyoproseslerin geliştirilmesinde kullanılan beyaz çürük mantarlardan elde edilen mantar kültürlerine odaklanmıştır. *Phanerochaete chrysosporium* en yaygın olarak incelenen beyaz çürüklük mantardır, ancak *Trametes (Coriolus) versicolor*, *Bjerkandera adusta*, *Aspergillus ochraceus*, *Pleurotus* türleri ve *Phlebia* ve diğer çeşitli izolatlar gibi diğerleri de dikkat çekmektedir (Saratale vd., 2011). Bununla birlikte, tekstil atıksularından boyaların uzaklaştırılması için beyaz-çürük mantarların uygulanması, uzun büyüme döngüsü ve azot sınırlayıcı koşullara ihtiyaç gibi bazı sistemin doğasında olan dezavantajlara sahiptir. Ayrıca, beyaz çürük mantarlar atık sularda doğal olarak bulunmaz ve dolayısıyla enzim üretimi sağlanamayabilir (Robinson vd., 2001). Dahası, renk gideriminin tamamlanması için gereken uzun hidrolik bekletme süresi de mantarlarla renk giderme sisteminin performansını sınırlar ve biyoreaktörlerdeki mantarların korunması da endişe kaynağıdır (Chang vd., 2004).

2.5.2 Mayalarla dekolorizasyon

Mayaların renk giderme yeteneğini araştırmak için çok az çalışma yapılmıştır ve esas olarak biyosorpsiyon üzerinde çalışılmıştır. *Candida tropicalis*, *Debaryomyces polymorphus*, *Candida zeylanoides* (Yang vd., 2003) ve *Issatchenkia occidentalis* (Ramalho vd., 2004) gibi bazı *ascomycetet* (asklı) maya türleri farklı azo boyaların enzimatik biyolojik bozunumunu ve neticesinde renginin giderilmesini sağlamak için kullanılmıştır. Son yıllarda, *Saccharomyces cerevisiae* MTCC-463'ün Malakit Yeşil ve Metil Kırmızı'nın renginin giderilmesinde rolü olduğu bildirilmiştir (Jadhav vd., 2007). Ayrıca, *Saccharomyces cerevisiae* hücreleri, melas besini ile büyüme süresince reaktif tekstil boyasının (Remazol Blue, Remazol Black B ve Remazol Red RB) biyoakümüülasyonunu da göstermiştir (Aksu ve Donmez, 2003). Bazı çalışmalar, *Galactomyces geotrichum* MTCC 1360'ın, trifenilmetanın, azo ve tekstil boyalarının rengini giderebilirken, maya türlerinin umut verici bir boya adsorbantı olarak hareket ettiğini ve daha yüksek boya konsantrasyonunu kullanabildiklerini (Jadhav vd., 2008) göstermiştir. Son zamanlarda, enzimatik mekanizmalar ve bozunma ürünlerinin toksisitesi ile birlikte, *Trichosporon beigeli* NCIM-3326 kullanılarak Deniz Blue

HER'in renginin giderilmesi için ayrıntılı bir çalışma yürütülmüştür (Saratale vd., 2011).

2.5.3 Alglerle dekolorizasyon

Literatürde alglerin azo boyalarını indirgeyebildiği kaydedilmiştir (Semple vd., 1999). Bilhassa saf ve karışık alg kültürlerinde iki aylık inkübasyon sonunda yaklaşık %70 oranında renk giderme verimleri sağlandığı gözlenmiştir (Lee vd., 1978). *Siyanobakteri* veya algler gibi fotosentetik organizmalar her yerde dağılım gösterir ve dünyanın birçok yerinde görülür ve atıksuyun renginin giderilmesi alanında artan bir ilgi görmektedir. Literatürdeki bir araştırmada, alglerin bir indüklenmiş (uyarılmış) azoredüktaz enzim formu yoluyla azo boyalarını parçalayabildikleri ileri sürülmektedir (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

Algler tarafından renk giderimi, renkli moleküllerin CO₂ ve H₂O gibi renksiz moleküllere dönüşümü ve kromoforların alg biyokütlesi üzerine adsorpsiyonu, alg biyokütlesinin üretimi için kromoforların asimilatif kullanımının aslen üç farklı mekanizmasından dolayıdır. Birkaç klorella ve *Osillatoria* türü, azo boyalarını aromatik aminlerine ayrıştırabilir ve aromatik aminleri daha basit organik bileşikler veya CO₂'ye metabolize edebilir (Acuner ve Dilek, 2004). Mohan vd. (2002), renk gideriminin alglerle biyolojik dönüşüm ve biyokoagülasyonu müteakiben biyosorpsiyondan dolayı sağlandığını vurgulamıştır. Otuzdan fazla azo boya bileşiklerinin *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella vulgaris* ve *Oscillatoria tenuis* tarafından daha basit aromatik aminlere ayrıştırılarak renginin giderilebileceğini bildirilmiştir (Yan ve Pan, 2004). Böylece yukarıda bahsi geçen sonuçların, alglerin stabilizasyon havuzlarındaki azo boyalarının ve aromatik aminlerin giderilmesinde önemli bir rol oynayabileceği anlamına gelebilir. Dahası, bu biyosorpsiyon prosesi, atıksuların renginin giderilmesi için düşük maliyetli ve etkili bir yaklaşım olarak benimsenebilir ve daha maliyetli malzemelere karşı bir alternatif olarak uygulanabilir.

2.5.4 Bitkilerle dekolorizasyon

Fitoremediasyon (bitkisel ıslah) ağır metaller ve organik kirleticilerle kirletilen toprakların ve yeraltı sularının iyileştirilmesi için etkili ve ekonomik yaklaşımı vaat eden yeni bir teknolojidir Fitoremediasyonun temel avantajları, daha az besin girdisi

gerektiren, yönetilmesi daha kolay olan ve genel olarak hem estetik görünümlü ve hem de çevresel sürdürülebilirlik nedeniyle genel bir kabul gören büyük bir biyokütleye sahip ototrofik bir sistem olmasıdır (Ghodake vd., 2009).

Daha spesifik olarak, dar yapraklı su kamışları (cattail), kostik koşullar altında sentetik reaktif boya atıksu arıtımında çalışılmıştır. Buna mükabil, Mbuligwe (2005), tropikal bitkilerle (coco yam) bitkilendirilmiş yapay sulakalanlarda % 72-77 oranlarında renk gideriminin sağlandığını belirtmiştir. Ayrıca, farklı agronomik sonuçlara sahip üç bitki türü (*Brassica juncea*, *Sorghum vulgare* ve *Phaseolus mungo*) azo boyalarındaki ve tekstil atıksularındaki reaktif grubunun renginin giderilmesinde değerlendirilmiştir. *B. juncea*, *S. vulgare* ve *P. Mungo* bitkileri tekstil atıksularındaki rengi sırayla % 79, % 57 ve % 53'e kadar gidermiştir (Ghodake vd., 2009). Benzer şekilde, literatürde *Blumea malcommi* bitkisinin tekstil boyası Reactive Red 5B'yi ayrıştırdığı vurgulanmıştır (Kagalkar vd., 2009).

Etkili ve verimli fitoremediasyon tekniklerini geliştirmek için kapsamlı araştırmalar yapılmıştır. *Tagetes patula L.* (Marigold)'nin saçaksız kök kültürlerinin Reaktif Red 198'in renginin giderilmesinde etkili olduğu ve bunun için sorumlu olan bitkideki enzimin belirlendiği bildirilmiştir (Patil vd., 2009). Bununla birlikte, fitoremediasyonun büyük ölçekli uygulanmasında, bitki tarafından tolere edilen kirleticilerin seviyesi, kirleticilerin biyolojik olarak kullanılabilir fraksiyonu ve uçucu organik kirleticilerin uçurulması ve ayrıca arıtma sistemi için büyük geniş alanlar gerektirmesi gibi bir takım engeller ile karşı karşıya kalınmaktadır.

2.5.5 Bakteriyel dekolorizasyon

Bakterilerin kullanıldığı birçok çalışmada, bu canlıların çeşitli kirletici maddeleri içinde biriktirme (biyoakümülyasyon), yüzeyinde tutma (biyosorpsiyon), enzimatik olarak parçalama (biyodegradasyon) ve tüketerek yok etme (mineralizasyon) özellikleri araştırılmaktadır. *Pseudomonas*, *Rhodobacter* gibi bazı fotosentetik anaerobik bakterilerin, belirli şartlar altında aromatik halkalı bileşikler parçaladıkları tespit edilmiştir (Harwood ve Gibson, 1988; Rhalkar vd., 1993; Sasikala vd., 1994; Dönmez ve Öztürk, 1999). Bu bakteri türlerinden *Rhodopseudomonas palustris* ile yapılan çalışmalarda hem adsorpsiyon yeteneğinin hem de degradasyon yeteneklerinin yüksek

olduğu ve azo boyar maddelerin rengininin giderilebildiği gösterilmiştir (Liu vd., 2006; Wang vd., 2008; Selimoğlu vd., 2011; Çelik vd., 2012).

Bu çalışmalar içerisinde en iyi ortamın anaerobik koşullar olduğu ve bu ortamda degradasyona uğradığı tespit edilen azo boyar maddelerin, renksiz maddelere dönüşmesine karşın, oluşan parçalanma ürünlerinin kanserojenik ve mutajenik özellik gösterdiği de tespit edilmiş ve bu boyar maddelerin degradasyon çalışmalarının çevre kirliliği gideriminde yeterli olmadığı ispatlanmıştır. Çünkü yapılan çalışmaların hemen hepsi boyar maddeleri içeren atık suların daha çok estetik kaygılardan dolayı arıtılmasına yöneliktir. Ancak asıl problem bu boyaların degradasyonu sonucu ortaya çıkan toksik aromatik aminlerdir. Bunların da sulardan giderimine yönelik çok az sayıda çalışma yapılmış ve genellikle başarı sağlanamamış olmasına (Pandey vd., 2007) karşın daha önce yaptığımız çalışmada (Çelik vd., 2012), *Rhodopseudomonas palustris* 51ATA şusunun remazol red 195 boyasını sonuna kadar tüketip hiçbir aromatik amini oluşturmadan mineralize ettiği bulunmuştur. Bu özelliği dekolorizasyona tabi tutacağı pek çok boyayı da tüketebileceği ihtimali araştırılmıştır. Bu çalışmanın devamında en uygun ve en ucuz yardımcı substratı bulmaya yönelik bir çalışmanın gerekliliğini ortaya koymuştur. Yapılan çalışmalarda dekolorizasyon, biyodegradasyon ve biyotransformasyon çalışmalarında çeşitli yardımcı substrat kullanımının, etkinliği artırdığı ve işlemi hızlandırdığı tespit edilmiştir (Bajaj vd., 2008; Sheth ve Dave, 2009; Kalme vd., 2010; Nosheen vd., 2010). Bu yardımcı substratlar içerisinde değerlendirilebilmesi için özellikle melas gibi karbonhidratlar açısından zengin atık maddeler tercih edilmektedir. Yardımcı substratlar karbon ve enerji kaynağı olarak mikroorganizmaların gelişmesine ve biyokütle miktarının artmasını sağlamaktadır. Ekonomik olacağı düşünüldüğü için özellikle melas üzerinde durulan bu çalışmanın sonuçları bilim ve çevre açısından son derece önemli olacaktır.

Azo boyalarının renginin giderilmesi genellikle konvansiyonel anaerobik, fakultatif anaerobik ve aerobik koşullar altında farklı bakteri grupları tarafından gerçekleşir. Azo boyalarının mikrobiyal bozunum mekanizması potansiyel olarak tehlikeli aromatik aminler içeren renksiz solüsyonların oluşmasına neden anaerobik şartlardaki azoredüktaz enzimlerinin yardımıyla azo bağlarının (-N=N-) redüktif bölünmesini içerir (Chang ve Kuo, 2000). Elde edilen ara metabolitler (örneğin aromatik aminler) aerobik veya anaerobik olarak daha da bozundurulur (Joshi vd., 2008). Birçok yeni araştırma,

atıksulardan boyayı gidermek için mikrobiyal biyokatalizörlerin kullanılması üzerine odaklanmıştır (Chang vd., 2004). Azo boyalarının renk giderme işleminde çeşitli bakteri gruplarının rolünü belirlemek için kapsamlı çalışmalar yürütülmüştür (Pandey vd., 2007). Bu boyaların bakteriyel yollarla renginin giderilmesi ve ayrıştırılması yöntemi daha yüksek derecede bir biyolojik bozunma ve mineralleşmeyi sağlayabildiğinden ve çok çeşitli azo boyalarına uygulanabildiğinden, ucuz ve çevre dostu olduğundan ve daha az çamur ürettiğinden kayda değer bir ilgi göstermiştir (Rai vd., 2005).

Endüstri atıksuları oldukça karmaşık olup çok çeşitli sentetik boyalar ve seyrelticiler, asitler, bazlar, tuzlar, deterjanlar, nemlendiriciler, oksidanlar ve benzeri diğer birçok ürünleri içermektedir. Bu renkli atıkların nehirlere ve göllere boşaltılması, çözülmüş oksijen konsantrasyonunun azalmasına neden olur, böylece yerleşik organizmalar için ölümcül olan anoksik koşullar yaratılır. Biyolojik süreçler mevcut teknolojilere alternatif oluşturmaktadır, çünkü bunlar daha ekonomik, çevreye dost ve çok miktarda çamur üretmemektedir. Dahası, bakteriyel azo boyar maddelerinin renk giderme ve mineralizasyonu fungal (mantar) sistemlere kıyasla daha hızlıdır.

Karışık kültürlerin özellikle bu alanda daha yararlı olduğu gözlemlenmiştir, çünkü bazı mikrobiyal topluluk, tek tek hiçbir saf suş'un başarıyla üstlenemeyeceği biyolojik bozunma görevlerini topluca yürütebilir (Nigam vd., 1996). Bununla birlikte, karışık kültürler sadece sistemde neler olduğu ile ilgili ortalama makroskopik görünüm sağladığından sonuçlar kapsamlı şekilde yinelenemez ve sonuçların etkili bir şekilde yorumlanmasını da zorlaştırır.

Azo boyalarını parçalayabilen saf bakteri kültürlerini izole etme çabaları 1970'lerde *Bacillus subtilis*, *Aeromonas hydrophila* ve *Bacillus cereus*'un raporlarıyla başladı (Wuhrmann vd., 1980). Son zamanlarda, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas luteola* ve *Pseudomonas sp.* gibi tekli bakteri kültürleri ve izole edilmiş *Pseudomonas sp.* ile renk giderme konusunda önemli miktarda araştırma yapılmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* aerobik koşullar altında ve glikoz varlığında ticari bir tabakhane ve tekstil boyasını ve Navitan Fast Blue S5R'nin rengini giderebilmiştir. Bu organizma ayrıca çeşitli azo boyalarının da rengin giderilmesini (Nachiya ve Rajkumar, 2005).

Saf bir kültür sisteminin kullanılması tekrarlanabilir verilerin elde edilmesini

sağlamakta ve böylece deneysel gözlemlerin yorumlanması daha kolaylaştırmaktadır. Böylece, biyokimyasal ve moleküler biyolojinin tüm araçlarını kullanılarak ayrıntılı biyolojik bozunma mekanizmalarının belirlenmesi daha kolaylaşır ve elde edilen bilgiler ise gelişmiş enzim aktiviteleri ile modifiye suş'ları üretmek için enzim sisteminin düzenlenmesinde yararlı olabilir. Belirli bir bakteri kültürü ile azo boyalarının reng giderim kinetiklerinin kantitatif analizi ayrıntılı olarak incelenmiştir (Chang ve Kuo, 2000). Laboratuvarımızda, saf kültürde belirli boyaların metabolik yolu oksidoredüktif enzimatik çalışmalar ve UV-vis spektroskopi, fourier transform infrared spektroskopi (FTIR), gaz kromatografi kütle spektrometresi (GC/MS), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi gibi çeşitli analitik teknikler kullanılarak respit edilmiştir.

Bakteriyel renk giderimi verimli ve hızlıdır, ancak tek tek bakteri türleri genellikle azo boyaları tamamen ayrışmaz ve ara ürünlerde genellikle kanserojen aromatik aminler bulunur ve bunlar daha ileri ayrışmaya ihtiyaç duyarlar (Joshi vd., 2008). Bu nedenle, karışık mikrobiyal popülasyonlardan oluşan arıtım sistemleri mikrobiyal topluluğun sinerjik (eş etkin) metabolik faaliyetlerinden dolayı daha yüksek bir biyolojik bozunma ve mineralleşme derecesine ulaşmakta ve sentetik azo boyalarının bozunmasında saf kültürlerin kullanımına kıyasla önemli avantajlara sahiptir (Chen ve Chang, 2007). Genel olarak, azo boyaların parçalanması sırasında doğada toksik olan aromatik aminlerin üretilmesine neden azo bağlarının ilk bölünmesi gerçekleşir, ancak mikrobiyal topluluk varlığında bu aromatik aminler tamamlayıcı organizmalar tarafından prosesi daha etkili ve verimli hale getirerek bozunumunu sağlar (Tony vd., 2009.). Buna ek olarak, tek bir bakteri suş'unu boya içeren atık su numunelerinden izole etmek zaman alıcı ve güçtür ve azo boyalarının etkili bir şekilde renginin giderilmesi ve bozundurulması uzun vadeli adaptasyon prosedürlerini gerektirmektedir.

Azo bileşikleri hem aerobik hem de anaerobik koşullar altında biyolojik bozulmaya duyarlıdır. Genel olarak, azo boyalarının mikrobiyal olarak parçalanması, anaerobik koşullar altında bir azoredüktaz enzimi yardımıyla azo bağlarının indirgeyici parçalanmasını (-N=N-) ve ayrıca dört elektron transferini (eşdeğerleri azaltarak) içermektedir. Daha sonra azo bağında iki aşamadan geçmekte ve her bir aşamada nihai bir elektron alıcısı olarak görev alan iki elektron azo boyasına transfer edilmekte ve sonuçta boyanın renginin giderilmesini ve böylece çözeltinin renginin giderilmesini

sağlanmaktadır (Chang vd., 2000). Elde edilen ara metabolitler (örneğin aromatik aminler) daha sonra aerobik veya anaerobik olarak daha ileri bozunuma uğrarlar (Pandey vd., 2007). Anaerobik koşullar altında azo boyalarının renginin giderilmesinin nispeten basit ve spesifik olmayan bir yöntem olduğu düşünülmektedir.

Çok çeşitli sentetik boyaların bozunması için çeşitli anaerobik arıtma uygulamalarının etkinliği birçok kez ispatlanmıştır (Wang vd., 2009). Bazı araştırmacılar, aerobik solunumun NADH kullanımını baskın hale getirdiğinde dolayı oksijenin varlığının azo bağını indirgeme aktivitesini genellikle inhibe ettiğini ve dolayısıyla elektronun NADH'den azo bağlarına geçmesini engellediğini ileri sürmektedirler. Literatürde, karışık aerobik ve fakültatif anaerobik mikrobiyal toplulukla sağlanan çeşitli azo boyalarının anaerobik renk giderimi ile araştırma sonucu bildirilmiştir olup kültürlerin bir çoğunun aerobik koşullarda büyüebilmelerine karşın renk gideriminin sadece anaerobik koşullarda başarılı olduğu kaydedilmiştir (Moosvi vd., 2005).

Boyaların (çoğunlukla azo boyaları) anaerobik renk giderimini içeren deneysel çalışmanın çoğu mono kültürler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bir dizi azo boyanın anaerobik bozunmasında *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Proteus*, *Micrococcus* ve mor kükürtsüz fotosentetik bakterileri türlerinin etkili olduğu bulunmuştur (Tablo 1). Anaerobik koşullarda azo boyalarının biyolojik membrandan mikrobiyal hücrelere nüfuz etmesinin renk giderme için başlıca hız sınırlayıcı faktör olarak rol aldığı da bildirilmiştir (Kodam vd., 2005).

Azo boyalarını aerobik olarak rengini giderebilen birkaç bakteri türü son birkaç yılda izole edilmiştir. Aerobik koşullar altında mono-ve di-oksijenaz enzimleri, halka fisyon öncesinde O₂'den organik bileşiklerin aromatik halkasına oksijenin katılmasını katalize etmektedir (Sarayu ve Sandhya, 2010). Bazı aerobik bakteriler, azo bileşiklerini oksijen katalizli azoredüktazların yardımıyla azaltabilir ve aromatik aminler üretebilir (Lin vd., 2010).

Aerobik azo redüktazların kofaktörler olarak hem NAD(P)H hem de NADH'yi kullanabildiğini ve sadece bakterilerin karboksilatlanmış büyüme substratlarını değil, aynı zamanda sülfonatlanmış yapısal analogları da indirgeyebilecek şekilde parçalayabildiği belirtilmiştir (Nachiyar ve Rajkumar, 2005). Bu tür azoredüktaz

aktivitesi. *Pseudomonas* türlerinde bakteriler, azo boyayı büyüme substratı olarak kullanamazlar ve ilave organik karbon kaynaklarına ihtiyaç duyarlar (Stolz, 2001). Üstelik, tek karbon kaynağı olarak azo bileşiklerinde büyüeyebilen çok az bakteri vardır. Bu bakteriler, -N=N- bağlarını indirgeyerek parçalamakta ve büyümeleri için karbon kaynağı ve enerji olarak aminleri kullanmaktadırlar. Bu tür organizmalar kendi substratlarına özgüdür. Bu özelliğe sahip bakteri suş'larının örnekleri sırasıyla karboksi turuncu I ve karboksi turuncu II üzerinde aerobik olarak büyüeyebilen *Xenophilus azovorans* KF 46 (daha önce *Pseudomonas sp.* KF46) ve *Pigmentiphaga kullae* K24 (daha önce *Pseudomonas sp.* K24)'dir (McMullan vd., 2001). Azo boyasını azaltıcı enzimleri ihtiva eden az sayıdaki bakterinin azo boyaları tamamen aerobik koşullar altında parçalandığı tespit edilmiştir (Nachiyar ve Rajkumar, 2003).

Sentetik boyaların dekolorizasyonunda çok yoğun biçimde kullanılan gram negatif bakterilerden; *Aeromonas hydrophila*, *Burkholderia cepacia*, *Citrobacter sp.*, *Desulfovibrio desulfuricans*, *Escherichia coli*, *Geobacter sulferreducens*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas stutzeri*, *Sphingomonas xenophaga*, *Stenotrophomonas maltophila*, *Xenophilus azovorans* ve gram pozitif bakterilerden; *Arthobacter globiformis*, *Bacillus benzenovorans*, *Bacillus cereus*, *Bacillus gordonae*, *Bacillus polymixa*, *Caulobacter subvibriodes*, *Clostridium perferingens*, *Kurthia sp.*, *Nocardia carallina*, *Paenibacillus azoreducens*, *Streptomyces viridosporus* örnek gösterilebilir (Forgacs vd., 2004).

2.5.5.1 Bakteriyel dekolorizasyonu etkileyen faktörler

Araştırmalar biyolojik arıtma sistemlerinin boya giderme veriminin büyük ölçüde işletme parametrelerinden etkilendiğini göstermiştir. Biyolojik arıtma proseslerinde, çalkalamama (çalkalama), oksijen, sıcaklık, pH, boya yapısı, boya konsantrasyonu, farklı karbon ve azot kaynakları, elektron verici ve redoks mediatör (aracı) takviyesi gibi çeşitli fiziko kimyasal işlem parametreleri doğrudan bakterilerin azo boylarının renk giderme performansını doğrudan etkiler. Havalandırma, sıcaklık, pH ve redoks potansiyelinin seviyesi maksimum boya azaltma oranını elde etmek için optimize edilmelidir. Elektron vericisinin ve redoks aracısının konsantrasyonları sistemdeki biyokütle miktarı ve atık suda mevcut olan boya miktarı ile dengelenmelidir.

2.5.5.2 Konsantrasyonun etkileri

Yüksek konsantrasyonlardaki boyaların mikroorganizmalar üzerine toksik olduğu belirlenmiştir. Literatürdeki bir araştırmada, muhtemelen farklı yapılara sahip boya moleküllerinin azo-redüktazın aktif bölgelerini bloke etmesiyle birlikte belirli bakterilere ve/veya yetersiz biyokütle konsantrasyonuna (veya uygun olmayan hücre oranı/boya oranı) bağlı olarak boyaların toksik etkisinden dolayı boya konsantrasyonunun artırılmasıyla birlikte renk giderme hızının da kademeli olarak düştüğünü iddia edilmiştir (Jadhav vd., 2008). Çeşitli reaktif azo boyalarının bakteriyel renk giderimi ile ilgili benzer sonuçlar diğer bazı araştırmacılar tarafından da gözlemlenmiştir (Kalyani vd., 2008). Ayrıca, aromatik halkalar üzerinde sülfonik asit (SO₃H) gruplu “reaktif grup azo boya”nın yüksek boya konsantrasyonlarında mikroorganizmaların büyümesini büyük ölçüde inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Chen vd., 2003; Kalyani vd., 2008). Bununla birlikte, Saratale vd. (2011), saf kültür yerine bakteri eş kültürü kullanıldığında artan konsantrasyon etkisinin azaldığını ve bunun her iki mikroorganizmanın sinerjik etkisinden kaynaklanabileceğini ortaya koymuşlardır. Liu vd. (2006), *Rhodospseudomonas palustris*'in farklı alt türdeki bakterilerinin, azo boyanın rengini 1250 mg/L'e kadar giderebildiğini ve ayrıca spesifik renk giderme oranı ile boya konsantrasyonu arasındaki ilişkinin Michaelis-Menten kinetiği ile açıklanabileceğini göstermiştir.

2.5.5.3 Karbon ve azot kaynaklarının etkileri

Karbon kaynakları bakteriyel büyümede oksidantlar için azot kaynağı ise bilhassa enzim üretimi için gereklidir. Azo boya karbon kaynakları bakımından yetersizdir ve boyaların herhangi bir karbon veya azot kaynağı eklenmeden biyolojik olarak parçalanması çok zordur. Karışık ve saf kültürler yoluyla azo boyaların renk giderimi, genellikle maya ekstraktı, pepton veya kompleks organik kaynaklar ile karbonhidratların bir kombinasyonu gibi kompleks organik kaynaklara ihtiyaç duyar (Khehra vd., 2005).

Azo bağlarının indirgenmesi yoluyla azo boyalarının renksizleştirilmesi sırasında çeşitli karbon kaynaklarından indirgen eşdeğerlerinin boyaya aktarıldığı bildirilmiştir. Ayrıca,

anaerobik asidojenik bakterilerin, karbonhidratlar gibi çözünebilir substratları metanojenik, sülfat indirgeyici ve asetojenik bakteriler için rekabetçi substratlar görevi gören asetik asit ve metanol gibi uçucu organik asitler veya alkollere çevirdiği gözlenmiştir (Georgiou vd., 2004).

Bazı çalışmalar azo boyaların renk giderimini karbon ve azot kaynakları varlığında gerçekleştirmişlerdir. Burada, muhtemelen hücrelerin boya bileşimini karbon kaynağı olarak kullanmaktan ziyade daha çok bunları asimilasyonda kullanmayı tercih etmesinden dolayı karbon kaynaklarının eklenmesinin boya gideriminde çok fazla etkili olmadığı görülmüştür (Saratale vd., 2011). Buna karşılık, pepton, sığır özü, üre, maya özütü ve benzeri organik azot kaynaklarının ilavesiyle azo boyalarının mikroorganizmalar tarafından indirgenmesinde bir elektron vericisi olarak işlev gören NADH'yi yenilediğinden etkili bir renk azalması da gözlemlenmiştir (Chang vd., 2000). Süreci ekonomik olarak uygulanabilir hale getirmek ve pratik olarak uygulanabilir kılmak için, bazı araştırmacılar lignoselülozik (bitki hücrelerini kuvvetlendiren lignin ve selülozun birleşmesi) tarımsal atığı etkin bir renk giderme için ilave bir yardımcı madde olarak kullanmışlardır.

Lignoselülozlar, tarımsal ve orman atıklarının önemli bir bölümünü oluşturmaktadır ve küresel kağıt hamuru/kağıt, gıda ve diğer sanayilerdeki endüstriyel atıklar bu maddeleri yıllık $0,85 \times 10^{11}$ ton'a kadar üretmektedir (Saratale vd., 2011). Lignoselülozik substratların varlığında ligninolitik enzimler arttığı için renk gideriminin daha etkili olduğu gözlenmiştir. Benzer sonuçlar *Comamonas sp.* için de kaydedilmiştir. UVS lignolitik enzimlerin üretimi ile birlikte "Direkt Blue GLL"nin daha etkin bir renk giderimini sağladığını göstermiştir.

Saratale vd. (2011), GR bakteri topluluğu tarafından Scarlet R'nin ve "*Micrococcus glutamicus* NCIM-2168" tarafından Reaktif Green 19A ile renk giderimi ile ilgili olarak renk giderime verimini arttırmak için şeker kamışı küspesi tozu ekstraktları, odun saman ve pirinç kabuğu gibi çeşitli tarımsal atıkları incelemişlerdir.

Bu çalışmalarda, pirinç kabuğu ve pirinç saman özütünün takviyesi, sentetik ortamdaki renk giderme verimini arttıran bir azot kaynağı olarak işlev görmüştür (Saratale vd., 2011).

2.5.5.4 Oksijen ve karıştırmanın etkileri

Azo boyalarının renginin giderilmesi gerçekte farklı tropik bakteri grupları tarafından anaerobik (Metanojenik), fakültatif anaerobik ve aerobik koşullar altında gerçekleşmektedir. Anaerobik koşullar altında glikoz, nişasta, asetat, etanol gibi basit ya da peynir altı suyu ve tapyoka gibi daha karmaşık carbon kaynaklarının bir bakteri kültürü tarafından besin kaynağı olarak kullanılmasının renk giderme işlemini etkileyebildiği ve azo boyalarının aminlere indirgenmesinin büyük bir kısmının aktif bakteri gelişimi sırasında meydana geldiği kaydedilmiştir (Van der Zee ve Villaverde, 2005). Azo boyalarının renginin giderilmesinin kesinlikle anaerobik koşullar altında çok daha üstün olduğu, ancak yarı anaerobik koşullarda da gerçekleştiği gözlenmiştir (Knapp ve Newby, 1995). *Pseudomonas luteola*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas sp.* SUK1 ve *Micrococcus glutamicus* NCIM-2168 gibi saf bakteri türleri üzerinde yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar gözlemlenmiştir (Kalyani vd., 2008).

Anaerobik koşullar altında indirgeyici enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğu, ancak azo boyalarının bozunmasına katılan oksidatif enzimler için az miktarda oksijenin gerekli olduğu kabul edilmektedir. Bazı çalışmalar azo boyalarının bakteriyel bozunması sırasında oksidatif ve indirgeyici enzimlerin rol oynadığını bildirmiştir. Bu önceki sonuçlar etkili renk giderme için solüsyondaki oksijen konsantrasyonunu arttıran havalandırmadan ve çalkalamadan (ajitasyon) kaçınılması gerektiğini ortaya koymuştur (Chang ve Lin, 2001). Ayrıca, oksijenin azoredüksiyon (azoindirgeme) üzerine etkisinin tersinir olmadığını da gözlenmiştir (Pearce vd., 2003).

Escherichia coli NO₃ tarafından C.I. Reaktif Red 22'nin renk giderme işleminde ÇO ile renk giderme oranı arasındaki korelasyonun nicel analizi detaylı olarak incelenmiştir (Chang ve Kuo, 2000). Bu çalışmada, statik koşullar altında (karıştırmadan), 200 rpm (devir/dak.)'lik bir hızla çalkalama sırasında ÇO seviyesi sadece 0.5 mg/L'e düşmesine ve önemli bir renk giderimi gözlenmemesine karşın kültürdeki ÇO seviyesi hızlıca neredeyse sıfıra düşmüş ve renk giderme gerçekleşmiştir. Basit aromatik bileşikler gibi azo boya indirgeme reaksiyonu sırasında oluşan ara maddeler, oksijenin varlığında hidroksilasyon (hidroksilleme) ve halka açılması yoluyla ayrıştırılmaktadır (Pandey vd., 2007). Aerobik koşullar azo boya moleküllerinin tamamen mineralizasyonu için gereklidir. Böylece, en etkili atık su arıtımının sağlanması için aerobik arıtımı

mütakiben bir anaerobik süreç boyaları içeren atık suların renginin giderilmesi ve onların biyolojik bozunabilirliklerinin iyileştirilmesi için kullanılabilir (You ve Teng, 2009).

2.5.5.5 Sıcaklığın etkileri

Mikrobiyal hücre biyokimyasal veya enzimatik mekanizmalar üzerinden adaptasyon yoluyla sıcaklık değişimlerine tepki verdiği için çevre sıcaklığı doğrudan organizma sıcaklığına tesir eder. Sonuç olarak, sıcaklık, su ve toprağın rehabilitasyonu da dahil olmak üzere, mikrobik canlılıkla ilişkili tüm süreçler için en önemli faktördür. Azo boyalarının mikrobiyal yollarla renk gideriminde aktivasyon enerjisiyle ilgili bazı çalışmalarda dar sıcaklık aralıklarının aktif çamuru inhibe eden oldukça kompleks mikroorganizma topluluklarının azo boyalarının renginin giderilmesinde gerekli olduğu belirlenmiştir. Buna ek olarak, mikrobik fizyolojide sıcaklık değişikliklerinin aktivasyon enerjisinin aniden değişmesine yol açtığı da bildirilmiştir (Yu vd., 2001). Azo boyalarının renk giderme hızının optimum sıcaklığa (30-45 °C) kadar yükseldiği ve sonrasında daha yüksek sıcaklıklarda renk giderme aktivitesinde marjinal bir azalmanın olduğu gözlenmiştir. Liu vd. (2006), *Rhodospseudomonas palustris* ile yaptıkları çalışmalarda en iyi renk giderme veriminin 30-35 °C arasında ispatlamışlardır. Daha yüksek sıcaklıktaki bu düşüş, hücre direncinin azalmasına ya da bir azo-redüktaz enziminin yapısının bozulmasından dolayı olabilir (Chang vd., 2001). Bununla birlikte, bazı bakteriyel hücre preparatlarında azo-redüktaz enziminin nispeten ısıya dayanıklı olduğu ve kısa periyotlarda 60 °C sıcaklıklara kadar aktif kalabildiği tespit edilmiştir (Pearce vd., 2003).

2.5.5.6 pH'nın etkileri

pH, boyaların renginin giderilmesinde büyük bir etkiye sahiptir ve renk gidermede optimum pH genellikle 6.0 ila 10.0 arasındadır (Chen vd., 2003). Renk giderme hızı optimum pH'da daha yüksektir ve güçlü asidik ya da bazik pH'da hızlı bir şekilde azalma eğilimi gösterir. pH'nın etkilerinin renk gideriminde hızı sınırlayıcı adım olarak bilinen boya moleküllerinin hücre zarında taşınması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Kodam vd., 2005). Genellikle pH'ı 7.0-9.5 aralığında değiştirmenin boya indirgeme işlemi üzerine etkisi çok düşüktür. Bununla birlikte Chang vd. (2001), pH'nın 5.0'dan

7.0'a yükselmesiyle boya giderim hızının neredeyse 2.5 kat arttığını fakat 7.0-9.5 aralığındayken etkisiz olduğunu tespit etmişlerdir. Liu vd. (2006), *Rhodopseudomonas palustris* ile yaptıkları çalışmalarda anaerobik koşulların bakteriyel renk giderme için gerekli olduğunu ve optimal pH'nin 8 olduğunu ispatlamışlardır. Jadhav vd. (2008), GB topluluğu (*Galactomyces geotrichum* ve *Bacillus sp.* kombinasyonu) ile "Brillant Blue G"nin renginin giderilmesinde tam bir renk gideriminin yalnızca 5-9 arasındaki pH aralıklarında gerçekleştiğini göstermişlerdir. Kuvvetli asidik (pH 4'te) ve kuvvetli bazik (pH 12'de) koşullarda izole *Citrobacter sp.* CK3 ile "Reaktif Red 190"ın etkili bir şekilde renginin giderildiği de kaydedilmiştir (Wang vd., 2009). Renk giderici bakterilerin pH'a karşı bu toleransları onları boyama tesisi atıksularının pratik biyolojik arıtımında oldukça elverişli bir hale getirir (Aksu ve Dönmez, 2003; Wang vd., 2009).

2.5.5.7 Boya yapısının etkileri

Atıksuların sebep olduğu kirlilik konsantrasyonlardan ziyade atıksuyun içindeki boya­ların dayanıklılığına bağlıdır (Jadhav vd., 2007). Sentetik azo boyalarında değişik yapılar mevcuttur ve kimyasal yapılarda değişiklikler, yani izomerler veya farklı işlevsel grupların varlığı biyolojik bozunabilirliği ve indirgeme reaksiyonları ve dolayısıyla da renk giderme verimini önemli ölçüde etkiler. Azo bağına ve yüksek molekül ağırlıklı boyalarla ilgili olarak fenil halkasındaki -SO₃H, -SO₂NH₂ gibi elektron geri çeken grupların yerini alan boyalar söz konusu olduğunda, boya giderme verimi daha daha düşük iken basit yapılı ve düşük molekül ağırlıklı boya­ların daha yüksek renk giderme verimleri sergilediği kaydedilmiştir (Sani ve Banerjee, 1999; Pearce vd., 2003). Hidroksil veya amino grupları olan azo bileşikleri, metil, metoksi, sülfö veya nitro gruplarına sahip olanlardakine göre daha fazla bozulma eğilimi gösterirler. Azo boyalarının giderimiyle ilişkili olarak hızlı bir elektron transfer reaksiyonu ile anyon radikale indirgeme, bunu takiben stabil dianyon üretmek üzere ikinci ve daha yavaş bir elektron transfer olayı oluşmaktadır (Rau vd., 2002). Böylece azo boyalarının daha yüksek bir elektronik yoğunluğa sahip işlevsel grubu dianyonu oluşturan bu ikinci elektron transferinde uygun olmayacağı için çok daha düşük bir renk giderme verimine neden olur (Pearce vd., 2003). Bundan dolayı, azo boyaların sülfonatlanmış reaktif grubu, karboksilatlanmış azo boyalara kıyasla daha zor ayrışabilir (recalcitrant) olarak kabul edilirken, sülfonatlanmış azo boyaların bakteriyel renk giderim süreci sırasındaki hız sınırlayıcı adım boya­ların bakteriyel hücre zarı içerisinden geçirilmesidir (Kodam

vd., 2005). Buna ek olarak, azo bağ bölgesindeki yüksek elektron yoğunluklu hidrojen bağları da renk giderme verimi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Beydilli vd., 2000).

2.5.5.8 Boyaların ara metabolitlerinin etkileri

Birçok azo boyasının saflaştırılmış formlarının doğrudan mutajenik ve kanserojen olduğu bulunmuştur (Chen, 2002). Azo boyalarının bakteriyel bozunması, üç mekanizma ile gerçekleştirilir: (i) indirgenme sonrasında yalnızca toksik olan azo boyaları ve çoğunlukla bağırsakdaki anaerobik bakteriler vasıtasıyla aromatik aminler vermek üzere azo bağ zincirinin kırılması. Aromatik aminler metabolik olarak DNA'ya kovalent bağla bağlanan elektrofilik türlere okside edilirler; (ii) serbest aromatik amin gruplarını içeren azo boyaları için azo indirgemesi olmayan bir metabolik oksidasyon; ve (iii) azo bağ halkasının yüksek oranda reaktif elektrofilik diazonyum tuzlarına azo boyalarının doğrudan oksidasyonu. Her mekanizma bileşiğe özgü olabildiğinden muhtemelen azo toksisitesine birden fazla mekanizma neden olabilir. Azo boyalarının dönüştürülmüş ara ürünlerinin doğada oldukça toksik ve mutajenik olduğu gözlenmiştir (An vd., 2007; Pandey vd., 2007).

2.5.5.9 Elektron vericilerinin etkileri

Bras vd. (2001), glikoz veya asetat iyonları gibi elektron vericilerinin eklenmesinin, azo bağlarının indirgenerek bölünmesini açıkça uyardığını göstermişlerdir. Farklı elektron veren yarı tepkimelerin termodinamiği farklı olduğundan reaksiyon hızının elektron vericisinin türüne bağlı olması muhtemeldir.

Her bir biyolojik renk giderme işleminde fizyolojik elektron vericisinin belirlenmesi ile boya giderme hızını artırılması ve giderme reaksiyonundan sorumlu enzim yolun ortaya konulması sağlanır. Örneğın, eğer format bileşiği boya molekülüne anaerobik olarak indüklenen (uyarılan) elektron transfer yolunun en etkili elektron vericisi ise o zaman, bu yolun bir format dehidrojenaz enzimi içermesi gerektiği sonucuna varılabilir. Yardımcı substratın konsantrasyonu (orijinal elektron donörü) indirgeme eşdeğerlerinin (ara elektron vericilerinin) oluşum hızını kontrol etmektedir. Yoo vd. (2001), hücre lizisinin ürünlerinin lizis ürünlerini metabolize eden aktif hücreler ile anaerobik azo boya gideriminde elektron vericileri olarak işlev görebileceğini bulmuştur. Organik

maddelerin oksidasyonu ile normal elektron taşınımına dahil olan koenzim indirgeyici eşdeğerleri, azo boya gideriminde elektron vericileri olarak görev yapabilmektedir. Tiyomersal ve p-kloromerkuibenzoat gibi belirli kimyasallar, boya gideriminde indirgeyici eşdeğerleri üretmek için gerekli olan NADH üreten sistemlerin alkol dehidrojenazını inhibe etmektedirler. Bu nedenle, NADH oluşum hızı azo boyalarının giderimimini inhibe ettiklerinden hız sınırlayıcı olabilir (Gingell ve Walker, 1997).

2.5.5.10 Redoks potansiyelinin etkileri

Hız kontrol adımı boya ve hücre dışı indirgeyici ajan arasındaki bir redoks dengesini içerdiğinden renk giderme işlemi elektron vericilerinin ve alıcılarının redoks potansiyellerine bağlıdır (Şekil 2.4). Redoks potansiyeli, bir molekülün elektronları kabul etme ve indirgenebilme kolaylığının bir ölçüsüdür. Bu nedenle, redoks potansiyeli ne kadar pozitif olursa, molekül daha kolaylıkla giderilir (Bragger vd., 1997). Azo substratın yarı dalga potansiyelinin artması (daha pozitif) ile renk giderme veriminin de artacağı gözlenmiştir. Bragger vd. (1997), renk giderme hızının logaritması ile substratın yarı dalga potansiyeli arasında lineer bir ilişki olduğunu göstermiştir.

Boya substratının giderim hızı ile elektrokimyasal özelliği arasındaki bu ilişkisini bakteriyel boya gideriminde hız belirleme adımının seçici membran geçirgenliği veya enzim bağlama gibi yapıya özgü bir fenomeni içermediğini göstermiştir (Dubin vd., 1975). Anaerobik koşullar altında sistem içim düşük oksidasyon-redüksiyon potansiyellerinin (<-400 mV) sağlanması, yüksek renk giderme hızları için gereklidir ve giderim işlemi sırasında üretilen metabolitlerin profilinde etkilidir (Lorenco vd., 2001). Renk giderme hızı sistemin redoks potansiyeli en çok negatif olduğunda en yüksektir ve sistemin redoks potansiyeli arttıkça hız düşer (Bromley-Challenor vd., 2000).

2.5.5.11 Redoks araçlarının etkileri

Yüksek derecede yüklü sülfonatlanmış azo boyaların hücre zarı boyunca geçmesi ihtimali düşük olduğu için, boya giderme reaksiyonu ekstra bir hücresel giderme aktivitesini içermelidir (Keck vd., 1997). Bu giderme aktivitesi, hücre dışı azo boya'nın enzimatik olmayan giderim faaliyetini kolaylaştırmak için flavinler gibi redoks aracı bileşiklerinin kullanılması ile sağlanır (Plumb vd., 2001). Bu elektron transferinin

gerçekleşmesi için çok küçük bir redoks aracı konsantrasyonu yeterlidir. Redoks araçları, -200 ila -350 mV arasında değişen bir redoks potansiyeline sahiptir (Semde vd., 1998). Sentetik elektron taşıyıcılarının eklenmesi, azo boyalarının bakteri hücreleri tarafından indirgenme oranını arttırmaktadır. Quinone-hidrokuinon redoks çiftlerinin redoks araçları gibi davrandığı bilinmektedir (Keck vd., 1997). Kuinonlar, hidrokuinon radikalleri için bir elektron indirgemesine veya hidrakinonlara iki elektron indirgemesine maruz kalırlar. Azo boyalarının indirgenmesi için anyon radikaline indirgenme, hızlı bir tek elektron aktarım reaksiyonu ve bunu takiben kararlı dianyonu üretmek için daha yavaş bir elektron transfer olayı ile gerçekleşir (Keck vd., 2002).

Hidraquinone daha sonra doğrudan bir kimyasal reaksiyonda boya tarafından oksitlenir (Van der Zee vd., 2001). Lawsone gibi doğal biyobozunur kuinonların uygulanmasında renk giderme hızı çevresel açıdan sorunlu herhangi bir madde eklemekten artırıldığından renk giderme işlemleri için teknik bir potansiyele sahiptir (Keck vd., 2002).

BÖLÜM III

MATERYAL ve METOT

3.1 Kullanılan Cihaz, Araç ve Gereçler

Masa üstü santrifüj (nüve NF 615): Ekstraksiyon için gerekli olan örneğin peletini ayırmak için kullanılmıştır.

Mikrosantrifüj (MIKRO 22): Günlük olarak alınan örneklerdeki peletlerin çöktürülmesinde kullanılmıştır.

Elektronik hassas terazi (Mettler Toledo GB802-S): Hazırlanacak boyar madde ve falkon ve mikrofüj tüplerinin daralarının alınmasında, bakteri ağırlıklarını belirlenmesinde kullanılmıştır.

UV – visible spektrofotometre (Selecta): Bakterilerin OD'lerinin ve boyar madde miktarlarının OD ölçümlerinde kullanılmıştır..

3.2 Bakteri Kültivasyonu

Bu çalışmada, daha önce bir tez çalışmasında izole edilip tanımlanmış *Rhodopseudomonas palustris* 51ATA suşu kullanılmıştır. Bakterinin gelişme ortamı olarak modifiye sentetik AT besiyeri, katı veya sıvı olarak kullanılmıştır (Selimoğlu vd., 2011).

İz element ve vitamin karışımı için bir litre besiyerine 3333 IU A vitamini, 20 mg B₁ vitamini, 5 mg B₂ vitamini, 11,6 mg kalsiyum D-pantotenat, 10 mg B₆ vitamini, 5 mcg B₁₂ vitamini, 150 mg C vitamini, 500 IU D₂ vitamini, 10 IU E vitamini, 250 mcg D-biotin (H vitamini), 50 mg nikotinamid, 1 mg folik asit, 10 mg demir, 23,8 mg fosfor, 51,3 mg kalsiyum, 21,2 mg magnezyum, 0,5 mg mangan, 1 mg bakır, 0,5 mg çinko, 0,1 mg molibden ile hazırlanan vitamin çözeltisinden 1 mL konulmuştur. İz element ve vitamin karışımı 0,2µm por çaplı membran filtre ile sterilize edilerek besiyerine eklenmiştir. Katı besiyeri için ise bu maddelere ek olarak agar hazırlanmıştır.

Besiyerinde kullanılan maddeler ayrı çözeltiler halinde hazırlanmış ve otoklavda 121°C’de 15 dakika sterilize edilip daha sonra aseptik koşullar altında birleştirilerek hazırlanmıştır. Katı besiyeri oluşturmak amacıyla besiyerleri içerisine % 1.0 oranında agar eklenmiş ve saflık için tek koloni düşürmek amacıyla “roll tube dilution” metodu kullanılmıştır (Dönmez ve Öztürk, 1999). Bu besiyerinin pH değeri 8-8,5 arasındadır. Tek başına boya maddesinin dekolorizasyonunda karbon kaynağı olan asetat çıkarılıp yerine boyar madde konulmuştur.

Çizelge 3.1. Bakteri MAT besiyeri içeriği

MAT Besiyeri İçeriği	Birim	Konsantrasyon
NaHCO ₃	g/L	3,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	g/L	1,0
CaCl ₂ .H ₂ O	g/L	0,1
NaCl	g/L	1,0
KH ₂ PO ₄	g/L	1,0
MgCl ₂ .6H ₂ O	g/L	0,5
Sodyum asetat	g/L	1,0
Maya özütü (yeast ekstrakt)	g/L	0,1
İz element ve vitamin karışımı	ml	1,0

R. palustris 51ATA şusu MAT soft besiyerinde “roll tube dilution” metodu kullanılarak tek düşürülüp saflaştırılmıştır. İnkübasyon oda sıcaklığında (20-25°C) gerçekleştirilmiştir. 15-20 günlük inkübasyonlar sonucunda elde edilen aktif bakteri kültürü 5000 rpm’de 10 dakika santrifüj yoluyla pelet olarak toplanıp, boyar madde ve farklı yardımcı substrat (asetat, melas, glikoz) içeren mineral besi ortamına belirli miktarlarda aktarılmıştır.

Bu çalışma için, üç farklı yardımcı substrat olarak glikoz, asetat ve melas kullanılmıştır. Bakterinin gelişme pH’sı olan 8’e ayarlanıp, hazırlanacak mineral besi ortamına boya dışında yardımcı substrat belli miktarlarda ve ayrı besiyerlerine ilave edilmiştir. Kontrol olarak boya içermeyen ve karbon kaynağı olarak sadece boyar madde içeren kültür ortamları kullanılmıştır. Sadece boya içeren ortamlar ise her bir yardımcı substrat için

de hazırlanarak ışığın dekolorizasyon açısından etkisi belirlenmiştir. Tüm çalışmalar paralel olarak hazırlanan test ortamlarında gerçekleştirilmiştir. Boyar maddenin dekolorizasyonu belirli zaman aralıklarıyla spektrofotometrik olarak (530 nm dalgaboyunda) takip edilmiştir. Ayrıca bakterinin gelişme miktarları her test ortamından alınan örneklerden elde edilen biyokütle miktarı olarak tespit edilmiştir. Hazırlanan test ortamlarından belirli günlerde alınan bakteriyel örnekler santrifüjlenerek süpernatant ve pelet olarak ayrılmıştır. Ayrılan süpernatant kısmı dekolorizasyonun tespitinde, kalan pelet ise biyokütle miktarındaki artışın belirlenmesinde kullanılmıştır.

3.3 Boyar Maddenin Hazırlanışı

Dekolorizasyon çalışmasında kullanılmak üzere astrazon red boyasının stok solusyonu 0.1 g/10 mL olarak hazırlanmış ve filtrasyonla (0.2 µm'lik por çaplı tek kullanımlık steril filtrelerle) sterilize edilmiştir. Aseptik şartlar altında deneme ortamlarına boyanın son konsantrasyonu 100 mg/L olacak şekilde ilave edilmiştir.

3.4 Dekolorizasyon Test Ortamlarının Hazırlanması

R. palustris 51ATA şusu MAT besiyerinde saflaştırıldıktan sonra 75 wat'lık ışık kaynağı kullanılarak 10-25°C sıcaklık aralığında üretilmiştir. 15-20 günlük inkübasyonlar sonucunda elde edilen bakteri santrifüj yoluyla toplanarak boya ve farklı yardımcı substrat içeren mineral besi ortamında aktarılmıştır. Kullanılan bakteri miktarı dekolorizasyon çalışmalarında, her bir 100 mL'lik dekolorizasyon test ortamına son konsantrasyon 1.0 g/L olacak şekilde dağıtılmıştır.

Dekolorizasyon çalışmasında her bir yardımcı substrat ve tek başına boyanın ettiğini ortaya koyabilmek için yardımcı substrat olarak glikoz, asetat ve melasın kullanıldığı MAT sıvı besiyeri içeren 100 mL'lik şişelere hazırlanmış ve son konsantrasyonu 100 mg/L olacak şekilde boya ilave edilmiştir. Test ortamları paraleller halinde hazırlanmıştır.

Çalışmada, üç farklı yardımcı substrat olarak glikoz, asetat ve melas kullanılmıştır. Bakterinin gelişme pH'sı olan 8'de hazırlanacak mineral besi ortamına boya dışında yardımcı substrat konsantrasyonu 1.0 g/L olacak şekilde ilave edilmiştir. Yardımcı

substratların her biri boya ile beraber kullanıldığı gibi ayrı ayrı olarak da denenmiştir. Besiyerlerine aseptik koşullarda bakteri inoküle edildikten sonra 75 Wattlık ışık kaynağına 15-25 cm uzaklıkta bir sonraki ölçüme kadar inkübasyona bırakılmıştır (Şekil 3.1). Test ortamlarındaki dekolorizasyon zamana bağlı olarak 530 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak takip edilmiştir.



Şekil 3.1. Dekolorizasyon deney düzeneği (a: boya dekolorizasyon ortamının ilk günü, b: boya dekolorizasyon ortamının son günü)

Deney setlerinin paralelleri hazırlanmış üç farklı ortam kullanılmıştır. Dekolorizasyon denemesi için hazırlanan bu ortamlar:

1. Dekolorizasyon Test Ortamı (Bakterinin boyayı dekolorizasyonu için hazırlanan yardımcı substrat ve boyanın birlikte bulunduğu besiyortamı)
2. Pozitif Kontrol Ortamı (Boya içermeyen sadece bakterinin gelişmesinin gerçekleştirileceği, karbon kaynağı olarak sadece yardımcı substrat içeren besiyortamı)
3. Negatif kontrol Ortamı (Sadece boyanın bulunduğu ancak bakterinin bulunmadığı besiyeri ortamı)

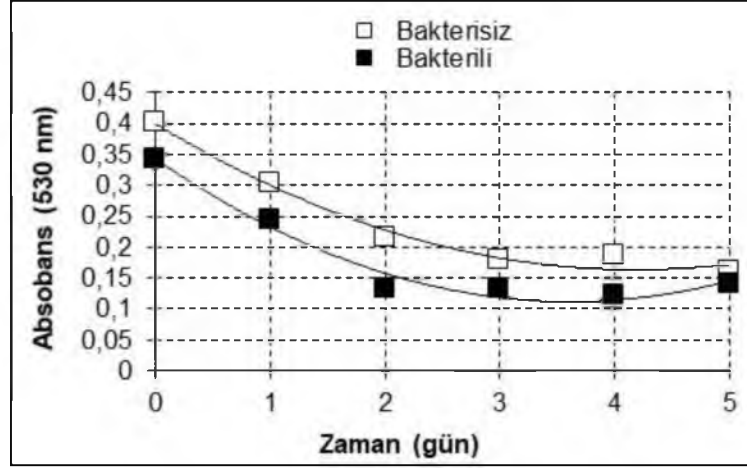
Bakteri gelişimini takip etmek belirli zaman aralıklarında kültür alınıp, santrifüj edilmiş (10000 rpm'de 5 dakika) ve sıvı kısım dekolorizasyonun belirlenmesinde kullanılmıştır. Pelet ise sıvıdan ayrılıp, havada ağzı açık olarak kurutulmuştur. Bu peletler kuru ağırlıkları alınarak bakteriyel gelişimin belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır.

BÖLÜM IV

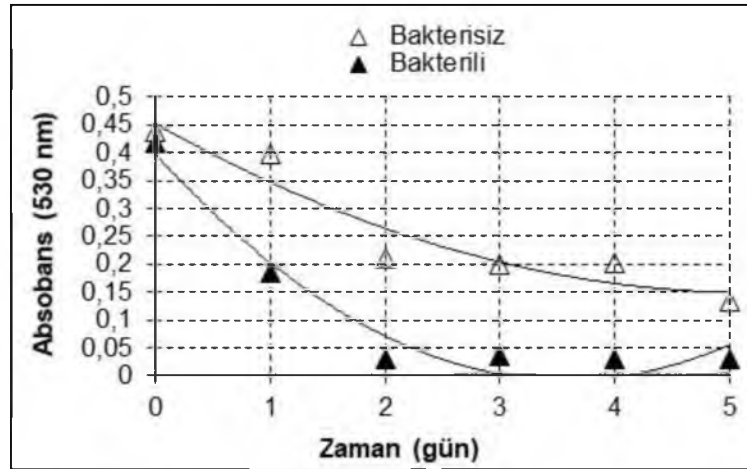
BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Dekolorizasyon Deneylerinin Sonuçları

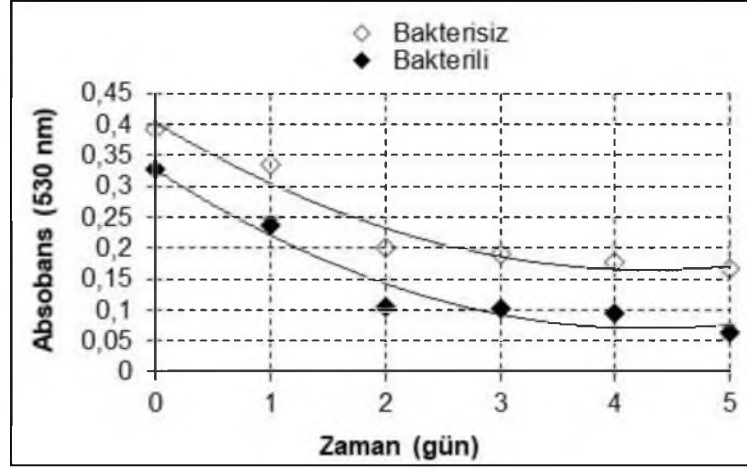
Astrazon red ile hazırlanan pozitif ve negatif kontrol ortamının dahil olduğu yardımcı substratsız ve yardımcı substratlı dört farklı ortamdaki deneysel bulgular paralel çalışmaların ortalama absorbans değerleri olarak kaydedilmiş ve bulgular kıyaslanmıştır.



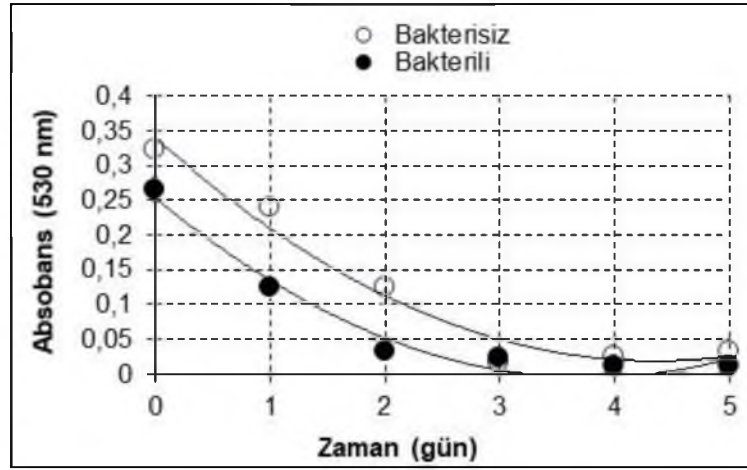
Şekil 4.1. Yardımcı substrat olmaksızın boyanın dekolorizasyonu



Şekil 4.2. Glukozun kullanıldığı ortamda boyanın dekolorizasyonu

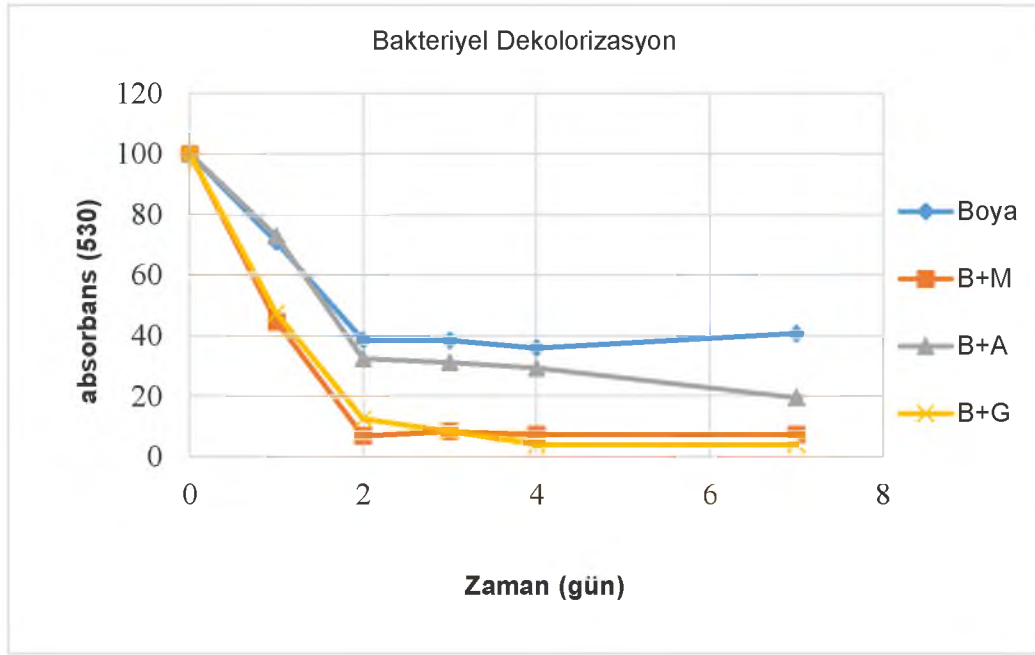


Şekil 4.3. Asetatın kullanıldığı ortamda boyanın dekolorizasyonu



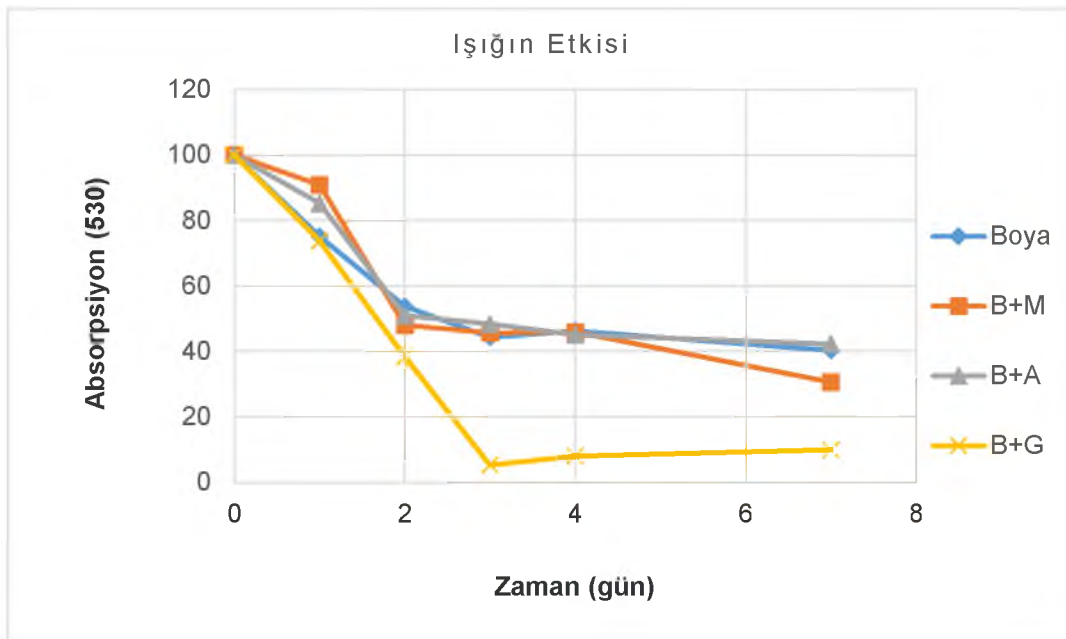
Şekil 4.4 Melasın kullanıldığı ortamda boyanın dekolorizasyonu

Yardımcı substrat kullanımı olmadığında Şekil 4.1 ve yardımcı substrat olarak glukoz, asetat ve melas kullanıldığında Şekil 4.2., Şekil 4.3 ve Şekil 4.4 incelendiğinde bakterilerin boya üzerindeki dekolorizasyon etkinliğinin ışık etkisi karşılaştırıldığında daha fazla olduğu görülmektedir. Yardımcı substrat açısından karşılaştırıldığında en iyi dekolorizasyonun melas ve glukozun kullanıldığı dekolorizasyon ortamlarında belirlenmiştir. En az dekolorizasyon ise tek başına boyanın olduğu ve yardımcı substratın yer almadığı dekolorizasyon ortamında tespit edilmiştir (Şekil 4.5). Dekolorizasyonda ışığın etkisini belirlemek için de ölçümler alınmış ve ışıkta renk gideriminde ne kadar etkili olabileceği tespit edilmiştir (Şekil 4.6).



Boya: Sadece boya içeren dekolorizasyon ortamı, B+M: Boya ve melas içeren dekolorizasyon ortamı, B+A: Boya içeren asetatlı dekolorizasyon ortamı, B+G: Boya içeren glikozlu dekolorizasyon ortamı

Şekil 4.5. Boyanın % bakteriyel dekolorizasyonunda yardımcı substrat etkisi



Boya: Sadece boya içeren ortam, B+M: Boya ve melas içeren ortam, B+A: Boya içeren asetatlı ortam, B+G: Boya içeren glikozlu ortam

Şekil 4.6. Boyanın % dekolorizasyonunda ışığın etkisi

Şekil 4.6' dan da görüldüğü gibi, yardımcı substrat varlığında ışığın dekolorizasyondaki etkisi incelendiğinde, glikoz içeren ortamda, melas ve asetat içeren ortamlardan daha etkin olduğu görülmektedir. Yardımcı substrat kullanılmadığında ise ışığın boyanın dekolorizasyon etkinliğinde diğer ortamlardan çok farklı olmadığı görülmektedir.

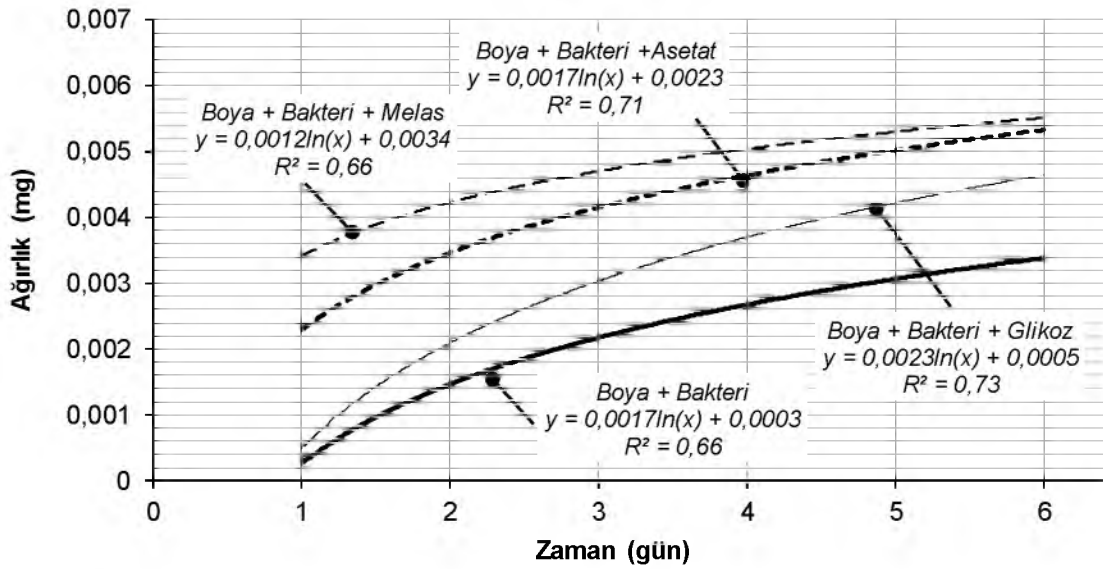
Daha önce yapılmış çalışmalarda ışığın boya gideriminde etkili olduğu belirtilmektedir (Wu vd., 2012; Abou-Gamra ve Ahmed, 2016; Khalik vd., 2017). Bu durumda ışıkla bakteriyel dekolorizasyon yapmanın tek başına etkili olduğu anlamına gelmemektedir. Boyaların özellikle azo boyar maddelerin degradasyonu sonucu toksik ama renksiz pek çok bileşene ayrıldığı da bilinmektedir (Rauf ve Ashraf, 2009; Pandit vd., 2015; Molla vd. 2017). Hatta yapılmış çalışmalarda dekolorizasyon ortamına katılan çeşitli maddelerin dekolorizasyonu değiştirebildiği de belirtilmektedir (Behnajady vd., 2005; Qamar vd., 2005; Fabbri vd., 2006). Khalik ve arkadaşlarının fotokatalitik hücrelerin elektrik üretiminde kullanılması ve ve azo boyar maddelerden olan reaktif black 5 degradasyonunun etkisinin incelendiği bir çalışmada güneş ışığının degradasyonu artırmakla birlikte voltaj üretimini de artırdığı belirlenmiştir. Boyar maddenin azo bağlarının ve aromatik halkanın kırıldığını da göstermişlerdir (Khalik vd., 2017). “Methyl orange” ve “Orange II” boyar maddelerinin metalli nanopartiküller ile gideriminde floresan ışığın etkisi incelendiğinde de benzer bir sonuç elde edilmiştir (Molla vd., 2017). Çelik vd. (2012), yaptığı çalışmalarda ve *R.palustris* ile ilgili aromatik halkalı bileşiklerin degradasyonu (Pandey vd., 2007) ve tamamen gideriminde görülen potansiyel ele alındığında, bu tez kapsamında elde edilen sonuçlar ışığın dekolorizasyon etkisinin bakteriyel degradasyonda kolaylaştırıcı ve tümüyle boyar maddelerin sulardan arıtılabileceği ve bu konuda *R. palustris* bakterilerinin çevre dostu bakteriler olarak kullanılmasının mümkün olacağını göstermektedir.

4.2 Dekolorizasyonda Bakteriyel Gelişme Sonuçları

Yapılan bilimsel çalışmalarda glukoz, nişasta, asetat, etanol ve daha kompleks yapıdaki substratlar yaygın olarak kullanılmaktadır (Yoo vd., 2001). Amaral vd. (2004), tarafından yapılan çalışmalarda *Trametes versicolor*'ın sentetik atık su ve gerçek tekstil atık suyundaki renk giderimi araştırılmıştır. Glukoz'un varlığında sürdürülen bu çalışmalarda farklı boya konsantrasyonları (0, 50, 100 ve 300 mg/L) test edilmiştir.

Trametes versicolor'un karbon kaynağı olarak glukoz kullanıldığında Reaktif Blue 4 ve Reaktif Red 2 boya renklerinin giderildiği gözlenmiştir (Nilsson vd., 2006).

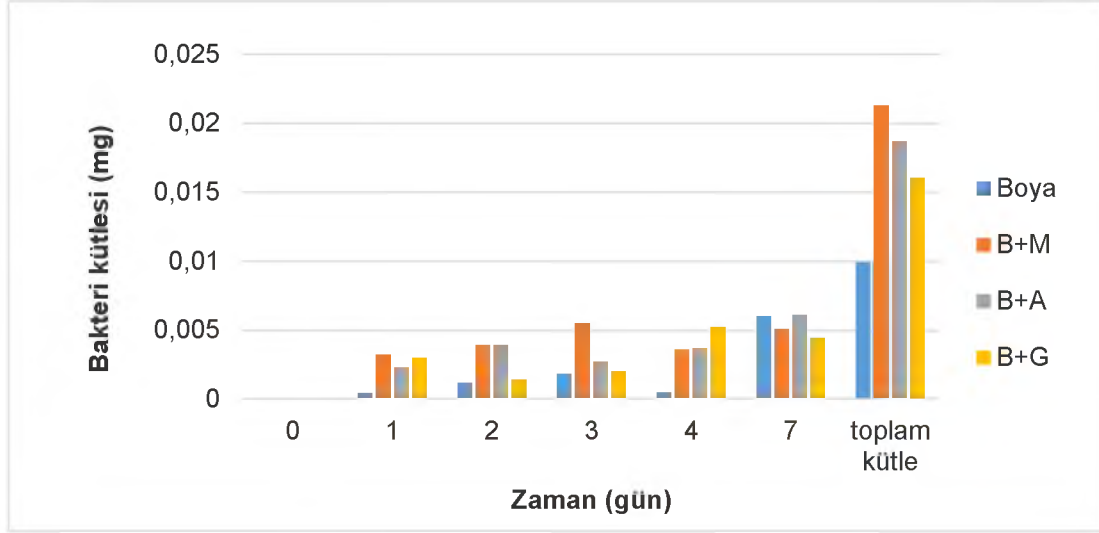
Bu çalışmada boya varlığının ve yardımcı substratların bakteriyel gelişmeyi arttırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Bakteriler yardımcı substratları ve aynı zamanda boyayı karbon kaynağı olarak kullanabilmişlerdir. Çalışmamızda yardımcı substrat olarak şeker endüstrisinin atığı olarak çıkan melasın dekolorizasyonda etkili olabilmesi ilerde atık arıtımında ekonomi ve atıkların değerlendirilmesi açısından önemli olacaktır. Şekil 4.7. ve şekil 4.8. incelendiğinde tüm yardımcı substratların boya varlığında bakteriyel gelişmeyi teşvik ettiği görülmektedir. Yardımcı substratın olmadığı ve sadece boyanın substrat olarak yer aldığı gelişme ortamının toplam biyokütle üretimine katkısı olmakla beraber diğerleri ile kıyaslandığında en az olduğu görülmüştür (Şekil 4.8).



Şekil 4.7. Boya ve yardımcı substratların bakteriyel gelişmeye etkisi

Dekolorizasyon çalışmalarıyla beraber ele alındığında *R. palustris* aromatik maddeleri parçalayacak kritik popülasyona eriştikten sonra aromatik maddeleri kolaylıkla substrat olarak kullanıp hücresel yapısını üretmekte kullandığı görülmektedir. Doğada çok az canlı aromatik benzen halkasına sahip hidrokarbonları parçalayarak kullanma yeteneğine sahiptir. Hem fotosentetik olması ve zararlı maddeleri tüketerek yok edebilmesi ve toksik bileşik üretmemesi *Rhodospseudomonas*ların çevre teknolojilerinde kullanılma olasılığını artırmaktadır. Bu konuda en önemli engel benzen halkası içeren boyar maddelerin 100 mg/L üzerindeki konsantrasyonlarda bu bakterilerin yaşamsal

aktivitelerinin olumsuz olarak etkilenmesidir (Pandey vd., 2007). Bu konuda entegre arıtım ve ışık gibi degradesyonu kolaylaştırıcı faktörlerin de atıksu arıtımında kullanılmasının uygun olacağı düşünülmektedir.



Boya: Sadece boya içeren dekolorizasyon ortamı, B+M: Boya ve melas içeren dekolorizasyon ortamı,
B+A: Boya içeren asetatlı dekolorizasyon ortamı, B+G: Boya içeren glikozlu dekolorizasyon ortamı,

Şekil 4.8. Biyokütle artışının toplamdaki yeri

BÖLÜM V

SONUÇLAR

Bu çalışmada degradasyon yeteneklerinin yüksek olduğu bilinen *Rhodopseudomonas palustris* türüne ait 51ATA suşunun astrazon red boyasının dekolorizasyonunda yardımcı substrat etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir. Anerobik koşullarda degradasyona uğradığı tespit edilen boyar maddelerin, renksiz maddelere dönüştükleri bilinmektedir. Bakteriyel dekolorizasyon sürecinde melas, asetat ve glikoz gibi çeşitli yardımcı substratların kullanımının, bakterilerin etkinliğini artırdığı ve dekolorizasyon işlemini hızlandırdığı tespit edilmiştir. Bu yardımcı substratlar içerisinde değerlendirilebilmesi için özellikle glikoz, asetat ve melas gibi karbonhidratlar açısından zengin atık maddeler tercih edilmiştir. Yardımcı substratlar karbon ve enerji kaynağı olarak mikroorganizmaların gelişmesine ve biyokütle miktarının artmasını sağlamıştır. Çalışmada azo boyar maddelerin renginin giderilmesi ile arıtımı hem ekonomik hem de kolay temin edilebilir olan melas gibi yardımcı substratlarla sağlandığından çalışmadan elde edilen sonuçların bilim ve çevre açısından son derece faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Abou-Gamra, Z.M., Ahmed, M.A., Synthesis of mesoporous TiO₂-curcumin nanoparticles for photocatalytic degradation of methylene blue dye, *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology* 160, 134–141, (2016).
- Acuner, E. and Dilek, F. B., “Treatment of tectilon yellow 2g by *Chlorella vulgaris*”, *Process Biochem.* 39, 623, 2004.
- Adav, S.S., Lee, D.J. and Lai, J.Y., “Treating chemical industries influent using aerobic granular sludge: recent development,” *J. Taiwan Inst. Chem. Engrs.* 40, 333, 2009.
- Aksu, Z. and Dönmez, D., “A comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for remazol blue reactive dye”, *Chemosphere* 50, 1075, 2003.
- Alaton, A., Balcioglu, I.A. and Bahnemann, D.W., “Advanced oxidation of a reactive dyebath effluent: comparison of O₃, H₂O₂/UV-C and TiO₂/UV-A processes”, *Water Res.* 36, 1143-1154, 2002.
- Amaral, P.F.F., Fernandes, D.L.A., Tavares, A.P.M. and Xavier, A.B.M.R., “Decolorization of dyes from textile wastewater by *Trametes versicolor*”, *Environmental Technology* 25(11), 1313-1320, 2004.
- Anjaneyulu, Y., Sreedhara Chary, N. and Raj, S.S.D., “Decolourization of industrial effluents-available methods and emerging technologies-a review”, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 4, 245, 2005.
- An, Y., Jiang, J., Cao, J., Geng, C. and Zhong, L., “Sudan 1 induces 4 genotoxic effects and oxidative dna damage in HepG2 cells”, *Mutat. Res.* 627, 164, 2007.
- Bajaj, M., Gallert, C. and Winter, J., “Effect of co-substrates on aerobic phenol degradation by acclimatized and non-acclimatized enrichment cultures”, *Eng. Life Sci.* 8 (2), 125-131, 2008.

Behnajady, M.A., Modirshahla, N. and Shokri, M., "Photodestruction of acid orange 7 (AO7) in aqueous solutions by UV/H₂O₂: influence of operational parameters", *Chemosphere* 55, 129-134, 2005.

Beydilli, M. Pavlostathis, I.S.G. and Tincher, W.C., "Biological decolorization of the azo dye reactive red 2 under various oxidation-reduction conditions", *Water Environ. Res.* 72, 698, 2000.

Bragger, J.L., Lloyd, A.W., Soozandehfar, S.H., Bloomfield, S.F., Marriott, C. and Martin, G.P., "Investigations into the azo reducing activity of a common colonic microorganism", *International Journal of Pharmaceutical* 157, 61-71, 1997.

Bras, R., Ferra, I.A., Pinheiro, H.M. and Goncalves, I.C., "Batch tests for assessing decolourisation of azo dyes by methanogenic and mixed cultures", *Journal of Biotechnology* 89, 155-162, 2001.

Bromley-Challenor, K.C.A., Knapp, J.S., Zhang, Z., Gray, N.C.C., Hetheridge, M.J. and Evans, M.R., "Decolorization of an azo dye by unacclimated activated sludge under anaerobic conditions", *Water Resources* 34, 4410-4418, 2000.

Carliell, C.M., Barclay, S.J., Naidoo, N., Buckley, C.A, Mulholl, D.A. and Senior, E., "Microbial metabolism of homocyclic and heterocyclic aromatic compound under anaerobic conditions", *Microbiol. Rev.* 51, 43-59, 1995.

Chang, J. and Lin, C., "Decolorization kinetics of a recombinant escherichi coli strain harboring azo-dye-decolorizing determinants from *Rhodococcus sp.*", *Biotechnol. Lett.* 23, 631, 2001.

Chang, J. S. and Kuo, T.S., "Kinetics of bacterial decolorization of azo dye with *Escherichia coli* NO₃", *Bioresour. Technol.* 75, 107, 2000.

Chang, J. S., Chen, B.Y. and Lin, Y.S., "Stimulation of bacterial decolorization of an azo dye by extracellular metabolites from *Escherichia coli* strain NO₃", *Bioresour. Technol.* 91, 243, 2004.

Chang, J. S., Chou, Y.P. and Chen, S.Y., “Decolorization of azo dyes with immobilized *Pseudomonas luteola*”, ***Process Biochem.*** 36, 757, 2001.

Chang, J. S., Kuo, T.S., Chao, Y.P., Ho, J.Y. and Lin, P.J., “Azo dye decolorization with a mutant *Escherichia coli* strain”, ***Biotechnol. Lett.*** 22, 807, 2000.

Chen, B.Y., “Understanding decolorization characteristics of reactive azo dye by *Pseudomonas luteola*: toxicity and kinetics”, ***Process Biochem.*** 38, 437, 2002.

Chen, B. Y. and Chang, J.S., “Assessment upon species evolution of mixed consortia for azo dye decolorization”, ***J. Chin. Inst. Chem. Engrs.*** 38, 259, 2007.

Chen, B.Y., Chen, W.M., Wu, F.L., Chen, P.K. and Yen, C.Y., “Revealing azo-dye decolorization of indigenous aeromonas hydrophila from fountain spring in northeast taiwan”, ***J. Chin. Inst. Chem. Engrs.*** 39, 495, 2008.

Chen, K.C., Huang, W.T., Wu, J.Y. and Houng, J.Y., “Mikrobial decolorization of azo dyes by *proteus mirabilis*”, ***J and Microbial Biotehnlol.*** 23 (1), 686, 1999.

Chen, K.C., Wu, J.Y., Liou, D.J. and Hwang, S.C.J., “Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains”, ***J. Biotechnol.*** 101, 57, 2003.

Chequer, F.M.D., Dorta, D.J. and Oliveira, D.P., “Azo dyes and their metabolites: does the discharge of the azo dye into water bodies represent human and ecological risks?, *Advances in Treaing Textile Effluent* (Edit. Peter Hauser), ISBN 978-953-307-704-8, Publisher in Tech, 154 pages, October, 2111.

Christian, V., Shrivastava, R., Shukla, D., Modi, H.A. and Vyas, B.R.M., “Degradation of xenobiotic compounds by lignin-degrading white-rot fungi: enzymology and mechanisma involved”, ***Ind. J. Exp. Biol.*** 43, 301, 2005.

Chung, K.T. and Cerniglia, C.E., “Mutagenicity of azo dyes: Structure-activity relationships”, ***Mutation Research*** 277, 201-220, 1992.

Churchley, J.H., "Removal of dye waste colour from sewage effluent-the use of a full-scale ozone plant", *Wate Sci. Tehnol.* 30, 275-284, 1994.

Çelik, L., Öztürk, A. and Abdullah, M.I., "Biodegradation of reactive red 195 azo dye by the bacterium *Rhodopseudomonas palustris* 51ATA", *African Journal of Microbiology Research* 6 (1), 120-126, 2012.

Delée, W., O'Neill, C., Hawkes, F.R. and Pinheiro, H.M., "Anaerobic treatment of textile effluents: a review", *J Chem Technol Biotechnol.* 73, 323-335, 1998.

Donlon, B., Flores-Razo, e., Luijten, M., Swarts, H., Lettinga, G. and Field, J., "Detoxification and partial mineralization of the azo dye mordant orange 1 in continuous upflow anaerobic sludge-blanket reactor", *Applied Microbial Biotechnol.* 47, 83-90, 1997.

Dönmez, G.Ç. and Öztürk, A., "Biodegradation of homocyclic and heterocyclic aromatic compounds by *Rhodopseudomonas palustris* strains", *Tr. J. Of Biology* 23, 507-511, 1999.

Dubin, P. and Wright, K.L., "Reduction of azo food dyes in cultures of *Proteus vulgaris*", *Xenobiotica* 5, 563-571, 1975.

Fabrizi, D., Prevot, A. B. and Pramauro, E., "Effect of surfactant microstructures on photocatalytic degradation of phenol and chlorophenols", *Applied Catalysis B: Environmental* 62, 21-27, 2006

Forgacs, E., Cserhati, T. and Oros, G., "Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review", *Environ. Int.* 30, 953, 2004.

Georgiou, D., Metallinou, C., Aivasidis, A., Voudrias, E. and Gimouhopoulos, K., "Decolorization of azo-reactive dyes and cotton-textile wastewater using anaerobic digestion and acetate-consuming bacteria", *Biochem. Eng. J.* 19, 75, 2004.

Ghodake, G.S., Telke, A.A., Jadhav, J.P. and Govindwar, S.P., “Potential of *Brassica juncea* in order to treat textile effluent contaminated sites”, *Int. J. Phytoreme.* 11, 1, 2009.

Gingell, R. and Walker, R., “Mechanisms of azo reduction by *Streptococcus faecalis* II. The role of soluble flavins”, *Xenobiotica* 1(3), 231-239, 1997.

Harwood, C.S. and Gibson, J., “Anaerobic and aerobic metabolism of diverse aromatic compounds *Rhodospseudomonas palustris*”, *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (3), 712-717, 1988.

Holliger, C., Wohlfarth, G. and Diekert, G., “Reductive dechlorination in the energy metabolism of anaerobic bacteria”, *FEMS Microbiol. Rev.* 22, 383-298, 1999.

Jadhav, J. P., G. K. Parshetti, S. D. Kalme, and S. P. Govindwar, “decolourization of azo dye methyl red by *Saccharomyces cerevisiae* MTCC463”, *Chemosphere* 68, 394, 2007.

Jadhav, S.U., Jadhav, M.U., Kagalkar, A.N. and Govindwar, S.P., “decolorization of brilliant blue g dye mediated by degradation of the microbial consortium of *galactomyces geotrichum* and *Bacillus sp.*”, *J. Chin. Inst. Chem. Engrs.* 39, 563, 2008.

Joshi, T., Iyengar, L., Singh, K. and Garg, S., “Isolation, identification and application of novel bacterial consortium tj-1 for the decolourization of structurally different azo dyes”, *Bioresour. Technol.* 99, 7115, 2008.

Kagalkar, A.N., Jagtap, U.B., Jadhav, J.P., Bapat, V.A. and Govindwar, S.P., “Biotechnological strategies for phytoremediation of the sulfonated azo dye direct red 5b using *blumea malcolmii* hook’”, *Bioresour. Technol.* 100, 4104, 2009.

Kalme, S.D., Jadhav, S.U., Parshetti, G.K. and Govindwar, S.P., “Biodegradation of green HE4B: co-substrate effect, biotransformation enzymes and metabolite toxicity analysis”, *Indian J. Microbiol* 50 (2), 156-164, 2010.

Kalyani, D.C., Telke, A.A., Dhanve, R.S. and Jadhav, J.P., “Ecofriendly biodegradation and detoxification of reactive red 2 textile dye by newly isolated *Pseudomonas sp.* SUK1”, *J. Hazard. Mater.* 163, 735, 2008.

Keck, A., Klein, J., Kudlich, M., Stolz, A., Knackmuss, H.J. and Mattes, R., “Reduction of azo dyes by redox mediators originating in the naphthalenesulfonic acid degradation pathway of *Sphingomonas sp.* strain BN6”. *Applied and Environmental Microbiology* 63 (9), 3684-3690, 1997.

Keck, A., Rau, J., Reemtsma, T., Mattes, R., Stolz, A. and Klein, J., “Identification of quinoide redox mediators that are formed during the degradation of naphthalene-2-sulfonate by *Sphingomonas xenophaga* BN6”, *Appl. Environ. Microbiol.* 68, 4341-4349, 2002.

Khalik, W.F., Ho, L.N., Ong S.A., Voon, C.H., Wong, Y.S., Yusoff, N.A., Lee, S.L. and Yusuf, S.Y., “Optimization of degradation of reactive black 5 (RB5) and electricity generation in solar photocatalytic fuel cell system”, *Chemosphere* 184, 112-119, 2017.

Khehra, M.S., Saini, H.S., Sharma, D.K., Chadha, B.S. and Chimni, S.S., “Comparative Studies on Potential of Consortium and Constituent Pure Bacterial Isolates to Decolorize Azo Dyes”, *Water Res.* 39, 5135, 2005.

Knapp, J. S. and Newby, P.S., “The Microbiological decolorization of an industrial effluent containing a diazo-linked chromophore”, *Water Res.* 29, 1807, 1995.

Kodam, K.M., Soojhawon, I., Lokhande, P.D. and Gawai, K.R., “microbial decolorization of reactive azo dyes under aerobic conditions”, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 21, 367, 2005.

Kudlich, M., Keck, A., Klein, J. and Stolz, A., “Localization of the enzyme system involved in anaerobic reduction of azo dyes by *Sphingomonas sp.* strain BN6 and effect of artificial redox mediators on the rate of azo dye reduction”, *Appl. Environ. Microbiol.* 63(9), 3691-3694, 1997.

Kumar, K.V. and Sivanesan, S., “Isotherms for malachite green onto rubber wood (*Hevea brasiliensis*) sawdust: comparison of linear and non-linear methods”, *Dyes and Pigments* 72 (1), 124-129, 2007.

Lee, E.G., Mueller, J.C. and Walden, C.C., “Decolorization of bleached kraft mill effluents by algae”, *Tappi J.* 61(7), 59-62, 1978.

Liu, G., Zhou, J.T., Wang, J. and Qv, Y.Y., “Bacterial decolorization of azo dyes by *Rhodopseudomonas palustris*”, *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 22(10), 1069-1074, 2006.

Lorenco, N.D., Novais, J.M. and Pinheiro, H.M., “Effect of some operational parameters on textile dye biodegradation in a sequential batch reactor”, *Journal of Biotechnology* 89, 163 -174, 2001.

Mbuligwe, S. E., “Comparative treatment of dye-rich wastewater in engineered wetland systems (EWSs) vegetated with different plants”, *Water Res.* 39, 271, 2005.

Metcalf, E., *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*’, 4th ed., *McGraw-Hill*, New York, USA, 2003.

Mohan, S.V., Rao, C.N., Prasad, K.K. and Karthikeyan, J., “Treatment of simulated reactive yellow 22 (azo) dye effluents using spirogyra species”, *Waste Manage.* 22, 575, 2002.

Mohana, S., Desi, C. And Madamwar, D., “Biodegradation and decolourization of anaerobically treated distillery spent wash by a novel bacterial consortium”, *Bioresorce Technol.* 98, 333-339, 2007.

Molla, A.I., Furukawa M., Tateishi I., Katsumata H., Suzuki T. and Kaneco, S., “Photocatalytic decolorization of dye with self-dye-sensitization under fluorescent light irradiation”, *Chem Engineering* 1 (8), 1-10, 2017.

Moosvi, S., Keharia, H. and Madamwar, D., “Decolourization of textile dye reactive violet 5 by a newly isolated bacterial consortium RVM 11.1”, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 21, 667, 2005.

Morawski, B., Quan, S. and Arnold, F.H., “Functional expression and stabilization of horseradish peroxidase by directed evolution in *Saccharomyces cerevisiae*”, *Biotechnol. Bioeng.* 76, 99, 2000.

Myslak, Z.W. and Bolt, H.M., “Occupational exposure to azo dyes and risk of bladder cancer”, *Zbl. Arbeitsmed.* 38, 310, 1998.

Nachiyar, C.V. and Rajkumar, G.S., “Degradation of Tannery and textile dye, navian fast blue S5R by *Pseudomonas aeruginosa*”, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 19, 609, 2003.

Nachiyar, C.V. and Rajkumar, G.S., “Purification and characterization of an oxygen insensitive azoreductase from *Pseudomonas aeruginosa*”, *Enzyme Microb. Technol.* 36, 503, 2005.

Nigam, P., Banat, I.M., Singh, D. and Marchant, R., “Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes”, *Process Biochem.* 31, 435, 1996.

Nilsson, I., Möller, A., Mattiasson, B., Rubindamayugi, M.S.T. and Welander, U., “Decolorization of synthetic and real textile wastewater by the use of white-rot fungi”, *Enzyme and Microbial Technology* 38, 94-100, 2006.

Nosheen, S., Nawaz, R., Arshad, M. And Jamil, A., “Biodecolorization of reactive dyes with added nitrogen and carbon sources”, *Int. J. Agric. Biol.* 12 (3), 426-430, 2010.

Pandey, A., Singh, P. and Iyengar, L., “Bacterial decolorization and degradation of azo dyes”, *Int. Biodeter. Biodegrad.* 59, 73, 2007.

Pandit, V.K., Arbut, S.S., Pandit, Y.B., Naik, S.D., Rane, S.B., Mulik, U.P., Gosavic, S.W. and Kale, B.B., “Solar light driven dye degradation using novel organo–inorganic (6,13-Pentacenequinone/TiO₂) nanocomposite”, *RSC Adv.* 5, 10326-10331, 2015.

Patil, P., Desai, N., Govindwar, S., Jadhav, J.P. and Bapat, V., “Degradation analysis of reactive red 198 by hairy roots of *Tagetes Patula L. (Marigold)*”, *Planta* 230, 725, 2009.

Pearce, C.I., Lloyd, J.R. and Guthrie, J.T., “The Removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review”, *Dyes Pigments* 58, 179, 2003.

Plumb, J.A., Bilsland, A. and Kakani, R., Zhao, J., Glasspool, R.M., Knox, J., Evans, T.R. and Keith, W.N., “Telomerase-specific suicide gene therapy vectors expressing bacterial nitroreductase sensitize human cancer cells to the pro-drug CB1954”, *Oncogene* 20, 7797-7803, 2001.

Qamar, M., Saquib, M. and Muneer, M., “Photocatalytic degradation of two selected dye derivatives: chromotrope 2B and amido black 10B in aqueous suspensions of titanium dioxide”, *Dyes and Pigments* 65, 1-9, 2005.

Rai, H., Bhattacharya, M., Singh, J., Bansal, T.K., Vats, P. and Banerjee, U.C., “Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: a review of emerging techniques with reference to biological treatment”, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 35, 219, 2005.

Ramakrishna, K.R. and Viraraghavan, T., “Dye removal using low cost adsorbents”, *Water Sci. Technol.* 36, 189, 1997.

Ramalho, P.A., Cardoso, M.H., Cavaco-Paulo, A. and Ramalho, M.T., “Characterization of azo reduction activity in a novel ascomycete yeast strain”, *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 2279, 2004.

Rau, J., Knackmuss, H.J. and Stolz, A., “Effects of different quinoid redox mediators on the anaerobic reduction of azo dyes by bacteria”, *Environ. Sci. Technol.* 36, 1497, 2002.

Rauf, M.A. and Ashraf S.S., “Fundamental principles and application of heterogeneous photocatalytic degradation of dyes in solution”, *Chemical Engineering Journal* 151, 10-18, 2009.

Rhalkar, S.B., Joshi, S.R. and Shivaram, N., “Photometabolism of aromatic compounds by *Rhodopseudomonas palustris*”, *Current Microbiology* 26 (1), 1-9, 1993.

Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R. and Nigam, P., “Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative”, *Bioresour. Technol.* 77, 247, 2001.

Russ, R., Rau, J. and Stolz, A., “The function of cytoplasmic flavin reductases in the reduction of azo dyes by bacteria”, *Applied and Environmental Microbiology* 66 (4), 1429 -1434, 2000.

Sani, R. K. and Banerjee, U.C., “Decolorization of triphenylmethane dyes and textile and dyestuff effluent by *Kurthia sp*”, *Enzyme Microb. Technol.* 24, 433, 1999.

Saratele, R.G., Saratele, G.D., Chang, J.S., Govindwar, S.P., “Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review”, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 42, 138-157, 2011.

Sarayu, K. and Sandhya, S., “Aerobic Biodegradation Pathway for Remazol Orange by *Pseudomonas aeruginosa*”, *Appl. Biochem. Biotechnol.* 160, 1241, 2010.

Sasikala, C., Ramana, C.V. and Rao, P.R., “Photometabolism of heterocyclic aromatic compound by *Rhodopseudomonas palustris* OU11”, *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 2187-2190, 1994.

Selimoğlu, H., Öztürk, A., Arisoy, M. And Abdullah, M.I., “Biosorption of dichlorvos by the anaerobic photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas palustris* NU51”, *Fresenius Environmental Bulletin* 20 (5), 1183-1189, 2011.

Semde, R., Pierre, D., Geuskens, G., Devleeschouwer, M. and Moes, A.J., “Study of some important factors involved in azo derivative reduction by *Clostridium perfringens*”, *Int. J. Pharm.* 161, 45-54, 1998.

Semple, K.T., Cain, R.B. and Schmidt, S., “Biodegradation of aromatic compounds by microalgae”, *FEMS Microbial Letters* 170, 291-300, 1999.

Sheth, N.T. and Dave, S.R., “Optimisation for enhanced decolourization and degradation of reactive red BS C.I.111 by *Pseudomonas aeruginosa* NGKCTS”, *Biodegradation* 20, 827-836, 2009.

Solis, M., Sols, A., Perez, H.I., Manjarrez, N. A-and Flores, M., “Microbial decolouration of azo dyes”, *Process Biochemistry* 47, 1723-1748, 2012.

Stolz, A., “Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes”, *Applied Microbiology and Biotechnology* 56, 69-80, 2001.

Subramaniam, S., Sivasubramanian, S., Swaminathan, K. and Lin, F.H., “Metabolically inactive trichoderma harzianum mediated adsorption of synthetic dyes: equilibrium and kinetic studies”, *J. Taiwan Inst. Chem. Engrs.* 40, 394, 2009.

Tony, B.D., Goyal, D. and Khanna, S., “Decolorization of textile azo dyes by aerobic bacterial consortium”, *Int. Biodeter. Biodegr.* 63, 462, 2009.

Van der Zee, F.P., “Anaerobic azo dye reduction”, *PhD Doctoral Thesis*, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, 2002.

Van der Zee, F. P. and Villaverde, S., “Combined anaerobic–aerobic treatment of azo dyes-a short review of bioreactor studies”, *Water Res.* 39, 1425, 2005.

- Van der Zee, F.P., Lettinga, G. and Field, J.A., "Azo dye decolourisation by anaerobic granular sludge", *Chemosphere* 44, 1169-1176, 2001.
- Vandevivere, P.C., Bianchi, R. and Verstraete, W., "Treatment and reuse of wastewater from the textile wet-processing industry: review of emerging technologies", *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 72, 289-301, 1998.
- Verma, P. and Madamwar, D., "Decolorization of synthetic dyes by a newly isolated strain of *Serratia maerascens*", *World J. Microbiol. Biotechnol.* 19, 615, 2003.
- Vijayaraghavan, K. and Yun, Y.S., "Utilization of fermentation waste (corynebacterium glutamicum) for biosorption of reactive black 5 from aqueous solution", *J. Hazard. Mater.* 141, 45, 2008.
- Wang, R.C., Fan, K.S. and Chang, J.S., "Removal of acid dye by ZnFe₂O₄/TiO₂-immobilized granular activated carbon under visible light irradiation in a recycle liquid-solid fluidized bed", *J. Taiwan Inst. Chem. Engrs.* 40, 533, 2009.
- Wang, X., Chen, X., Sun, D. And Qi, H., "Biodecolorization and partial mineralization of reactive black 5 by a strain of *Rhodopseudomonas palustris*", *J. Environ. Sci.* 20, 1218-1225, 2008.
- Wu, W.T., Kuo, S.F. and Chien, T.H., "Light-emitting diode effect on bacterial decolorization", 21-23 April 2012, *2nd International Conference on Consumer Electronics, Communications and Networks (CECNet)*, China.
- Wuhrmann, K., Mechsner, K. and Kappeler, T., "Investigations on rate determining factors in the microbial reduction of azo dyes", *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 9, 325, 1980.
- Yan, H. and Pan, G., "Increase in biodegradation of dimethyl phthalate by closterium lunula using inorganic carbon", *Chemosphere* 55, 1281, 2004.

Yang, Q.M., Yang, K., Pritsch, A., Yediler, A., Hagn, M., Schloter, A. and Kettrup, S., “Decolorization of synthetic dyes and production of manganese-dependent peroxidase by new fungal isolates”, *Biotechnol. Lett.* 25, 709, 2003.

Yeşilada, Ö., Asma, D. and Cing, S., “Decolorization of textile dyes by fungal pellets”, *Process Biochem.* 38, 93-938, 2003.

Yoo, E.S., Libra, J. and Adrian, L., “Mechanism of decolorization of azo dyes in anaerobic mixed culture”, *J. of Environmental Engineering* 127 (9), 844-844, 2001.

You, S. J. and Teng, J.Y., “Anaerobic decolorization bacteria for the treatment of azo dye in a sequential anaerobic and aerobic membrane bioreactor”, *J. Taiwan Inst. Chem. Engrs.* 40, 500, 2009.

Yu, J., Wang, X. and Yue, P., “Optimal decolorization and kinetic modeling of synthetic dyes by *Pseudomonas* strains”, *Water Res.* 35, 3579, 2001.

Zhang, F., Yediler, A., Liang, X. and Kettrup, A., “Effects of dye additives on the ozonation process and oxidation by-products: a comparative study using hydrolyzed CI reactive red 120”, *Dyes Pigments* 60, 1, 2004.

Zollinger, H., “Colour Chemistry-Synthesis, Properties of Organic Dyes and Pigments”, p. 92, *VCH Publishers*, New York, USA, 1987.

Zollinger, H., “Colour Chemistry: Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments”, 5th Edition, p. 187, *VCH Publishers*, Weinheim, Germany, 1991.

ÖZGEÇMİŞ

Nur Tunçsiper 03.09.1975 tarihinde Sivas'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Sivas'ta tamamladı. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü bitirdi. Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde yüksek lisansını tamamladı.