

**DRİMAREN BLUE CL-BR TEKSTİL BOYASININ
MİCROCOCCUS SP. İLE RENK GİDERİMİ**

HASAN FİDELİ

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Doç. Dr. Münir TUNCER**

**MERSİN
ARALIK – 2012**

Hasan FİDELİ tarafından Doç.Dr. Münir TUNCER danışmanlığında hazırlanan “Drimaren Blue CL-BR Tekstil Boyasının *Micrococcus* Sp. İle Renk Giderimi” başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Mustafa ÖZYURT

Prof. Dr. Gökhan CORAL

Doç.Dr. Münir TUNCER

Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 28.12.2012 tarih ve 2012-24/792 sayılı kararıyla onaylanmıştır.


Prof. Dr. A. Murat GİZİR
Enstitü Müdürü



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

DRİMAREN BLUE CL-BR TEKSTİL BOYASININ *MICROCOCCUS SP.* İLE RENK GİDERİMİ

Hasan FİDELİ

ÖZ

Bu çalışmada tekstil boyalarının renklerinin giderilmesi amacı ile topraktan 55 adet mezofilik bakteri izole edilmiş ve saflaştırılmıştır. Bu izolatların 22 farklı boya için renk giderim yetenekleri katı ve sıvı besiyerlerinde taranmıştır. Tarama sonuçlarına göre renk giderimini en iyi sağlayacak izolat HF85 ve en fazla renk giderimine uğrayan Drimaren Blue CL-BR boyası seçilmiştir. Çalışmada kullanılan HF85 suşunun en yüksek renk giderim aktivitesi, 10 günlük inkübasyon periyodunun 4. ve 5. günlerinde belirlenmiştir. Çalışmada en yüksek renk giderim aktivitesi, çalışılan parametrelere göre; 0,1g/L boya derişiminde, 30 °C'de, pH 7,0 değerinde ve inkübasyonun 5. gününde olduğu tespit edilmiştir. Karbon kaynağı olarak ayrı ayrı kullanılan buğday ve mısır samanı, kavak ve meşe talaşı ve muz yaprağı samanı renk giderimini negatif yönde etkilediği ve renk giderim yüzdesini düşürdüğü(%12) tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler:Renk giderimi, toprak izolatları, Drimaren Blue CL-BR

Danışman: Doç. Dr. Münir TUNÇER, Mersin Üniversitesi, Biyoloji Ana Bilim Dalı

DECOLORIZATION OF THE DRIMAREN BLUE CL-BR TEXTILE DYE WITH *MICROCOCCUS* SP.

Hasan FİDELİ

ABSTRACT

In this study, 55 mesophilic bacteria were isolated and purified from soil for decolorization of textile dye. Dye decolorization capacity of these isolates were screened on agar plate and liquid culture. Best dye decolorization was provided with HF85 strain and Drimanen Blue CL-BR was selected as maximum decolorized dye. The maximum dye decolorization activity of HF85 strain was found to be 4th and 5th day for the 10 days incubation period. According to the parameters of the study, maximum decolorization activity was obtained from 0,1 g/L dye concentration at 30 °C and pH 7 for the 5th days of incubation period. Using of wheat straw, corn straw, poplar and oak sawdust and banana leaf straw as carbon source was negatively affected the decolorization and decreased the percentage of decolorization.(%12).

Keywords: Decolorization, isolates, Actinobacteria, Drimaren Blue CL-BR

Supervisor: Doç. Dr. Münir TUNÇER, Mersin University, BiologyDepartment

TEŞEKKÜRLER

Öncelikle tez danışmanım Doç. Dr. Münir TUNCER'e katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında yardımcı olan Arş. Gör. Ali Osman ADIGÜZEL'e teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında MEİTAM'da bulunan ilgili tüm makine ve teçhizatın kullanımında yardımcı olan Uz. Engin KAPLAN'a, teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGE VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1. BOYAR MADDELER	3
2.2. TEKSTİL VE KONFEKSİYON SEKTÖRÜNDE EKOLOJİ.....	7
2.2.1. Üretim Ekolojisi	7
2.2.2. Atık Ekolojisi	7
2.2.3. İnsan Ekolojisi.....	8
2.2.3.1. Tekstil boyar maddelerinin ortaya çıkardığı problemler.....	9
2.2.4. AB'nin ve Türkiye'nin ekolojik tekstil konusundaki mevzuatı	11
2.2.4.1. AB mevzuatı.....	11
2.2.4.2. Türkiye'deki mevzuat.....	12
2.3. BOYAR MADDELERİN RENK GİDERİMİ ÇALIŞMALARI.....	13
2.3.1. Kimyasal Yöntemler	13
2.3.1.1. Oksidatif prosesler	13
2.3.1.2. Fenton ayırıcı (H ₂ O ₂ /Fe(II) tuzları)	14
2.3.1.3. Ozonlama	14
2.3.1.4. Fotokimyasal işlemler	15
2.3.1.5. Sodyum Hipoklorit (NaOCl).....	15
2.3.1.6. Elektrokimyasal işlemler.....	15

2.3.1.7. Kimyasal flokleştirme ve çöktürme yöntemi	15
2.3.2. Fiziksel Arıtım	16
2.3.2.1. Membran filtrasyonu	16
2.3.2.2. İyon değıştiriciler	16
2.3.2.3. Adsorpsiyon	16
2.3.2.4. Radyasyon	17
2.3.3. Biyolojik Arıtım	17
2.3.3.1. Biyosorpsiyon	17
2.3.3.2. Aerobik Yöntem	18
2.3.3.3. Anaerobik yöntem	18
2.4. BOYAR MADDELERİN MİKROBİYOLOJİK OLARAK AYRIŞTIRILMASI	20
2.4.1. Funguslar, Algler ve Mayalarla Yapılan Çalışmalar	20
2.4.2. Bakterilerle Yapılan Çalışmalar	23
2.4.2.1. Aktinomisetlerle Boyar Maddelerin Ayrıştırılması	26
2.4.3. Boyar Maddelerin Renk Giderimini Gerçekleştiren Enzimler	28
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	34
3.1. MATERYAL	34
3.1.1. Kimyasallar ve Proteinler	34
3.1.2. Kullanılan Mikrobiyal Suş	34
3.1.3. Cam Malzemeler	34
3.1.4. İnkübatörler	34
3.1.5. Santrifüjer	35
3.1.6. UV/ Visible Spektrofotometre	35
3.1.7. pH Metre	35
3.1.8. Kullanılan Bilgisayar Yazılımları	35
3.2. METOD	35
3.2.1. HF85 suşunun Kültürü ve Muhafazası	35
3.2.2. Substratların Hazırlanması	37
3.2.3. İnokulum Hazırlanışı	37
3.2.4. Drimaren Blue CL-BR Renk Gideriminin Büyüme Döngüsü İle Olan İlişkisi	38
3.2.5. Drimaren Blue CL-BR Renk Giderim Oranın Belirlenmesi	38
3.2.6. Farklı Karbon Kaynaklarının Boya Giderimi Üzerine Olan Etkisi	38
3.2.7. İnkübasyon Süresinin Renk Giderimi Üzerine Etkisi	39
3.2.8. Kültür pH'sının Renk Giderimi Üzerine Olan Etkisi	39

4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	40
4.1. DRİMAREN BLUE CL-BR RENK GİDERİMİNİ GERÇEKLEŞTİREN SUŞLARININ SEÇİMİ	40
4.2. İNKÜBASYON SÜRESİNİN RENK GİDERİMİ ÜZERİNE ETKİSİ	42
4.3. BOYA MİKTARININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ.....	45
4.4. FARKLI KARBON KAYNAKLARININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ.....	46
4.5. İNKÜBASYON SICAKLIĞININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ.....	48
4.6. FARKLI PH DEĞERLERİNİN RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ.....	49
4.7. HF85'İN TANIMLANMASI	51
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ.....	66

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. <i>Trametes versicolor</i> ATCC 20869 suşu tarafından Amaranth boyasının dekolorizasyonunun önerilen mekanizması. Sürekli (—) ve kesikli (...) hatlar ise sırasıyla, lakkaz:MnP aktivitelerinin oranının 30:1'den az ve çok olduğu reaksiyonları temsil etmektedir. Lakkaz:MnP aktivite oranının 30:1'den az olduğu durumda, Amaranth boyasının dekolorizasyonunu gerçekleştiren esas enzim MnPolmaktadır	32
Şekil 4.1. A:Drimaren Blue CL-BR (Kontrol), B:Drimaren Blue CL-BR (10.gün),C:Poly R 478 (Kontrol), D:Poly R 478 (10. gün), E:MethyleneGreen (Kontrol), F:MethyleneGreen (10. gün), G:Procion Marina (Kontrol), H:Procion Marina (10. gün), I:Cibacron Ret C2G (Kontrol), J:Cibacron Ret C2G (10. gün)	40
Şekil 4.2. Çalışmada denenen tekstil boyalarını içeren katı besiyeri üzerinde en aktif HF85, F2616, N4211 ve BT01 izolatlarınınbüyümesi ve oluşturdukları zonlar	41
Şekil 4.3. HF85izolatının 10 günlük inkübsayon süresince göstermiş olduğu renk giderim aktivitesi	42
Şekil 4.4. HF85 izolatının 10 günlük inkübsayon süresince göstermiş olduğu renk giderim aktivitesinin göreceli (%) verimliliği.	43
Şekil 4.5. Boya derişiminin renk giderimi ile ilişkisi.....	45
Şekil 4.6. Farklı karbon kaynaklarının renk giderimine etkisi.....	47
Şekil 4.7. İnkübasyon sıcaklığına bağlı olarak renk giderim yüzdesi.....	49
Şekil 4.8. pH değeri ile renk giderim yüzdesi arasındaki ilişki.....	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Kimyasal yapılarına göre kromofor grupları.....	3
--	---

SİMGE VE KISALTMALAR

AB	: Avrupa Birliği
AKR	: Ardışık Kesikli Reaktör
BPB	: Bromophenol Blue
CR	: Congo Kırmızısı
DB	: Drimaren Blue CL-BR
DV31	: DirectViolet
DB38	: Direkt Black 38
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
kDa	: Kilodalton
LiP	: LigninPeroksidaz
HBS	: Hidrolik Bekleme Süresi
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HÇYR	: Havasız Çamur Yataklı Reaktör
HRP	: Horseradis Peroksidaz Enzimi
mM	: Milimolar
MnP	: Mangan Peroksidaz
nm	: Nano Metre
ppm	: Parts Per Million
RBBR	: Remazol Brilliant Blue R
RB5	: Reactive Black 5
TAA	: Toplam Aromatik Aminler
(w/v)	: Ağırlık / Hacim

1. GİRİŞ

Boyar maddelerinin özellikle tekstil sanayisinde kullanıldığı bilinmektedir. Tekstil ürünlerinin boyama banyolarından çıkan sular, tekstil fabrikası çıkış sularına verilmektedir. Renkli çıkış suyunun, boyama, baskı ve yıkama işlemlerinden kaynaklandığı, renk derecesinin ise boyar madde derişimine ve kullanılan boyar maddenin yapısına bağılı olduğu belirtilmiştir [1].

Su kirliliği; su kaynağının kimyasal, fiziksel, bakteriyolojik, radyoaktif ve ekolojik özelliklerinin olumsuz yönde değışmesi şeklinde gözlenen ve doğrudan veya dolaylı yollarla biyolojik kaynaklarda, insan sağığında, balıkçılıkta, su kalitesinde ve suyun diğere amaçlarla kullanılmasında engelleyici bozulmalar yaratacak madde veya enerji atıklarının boşaltılmasını ifade etmektedir.

1856'da, William Henry Perkin tarafından bulunan "muavine" ilk sentetik boyar maddedir. İlk sentetik boyar maddenin yapılmasından bu güne İngiltere, Fransa, Almanya ve İsviçre'de bu sektör bir endüstri halini almıştır. Günümüzde üretilen boyar maddelerin 100.000'den fazla farklı yapıda olduğu, yıllık üretiminin yaklaşık 7×10^5 ton olduğu ve bu boyar maddelerin %10-15'i atık su ile alıcı ortama deşarj edildiği göz önüne alındığında, boyar madde içeren atık suların arıtımının şart olduğu ortaya çıkmaktadır [2].

Endüstriyel atık sular arasında tekstil ve boyar madde üretim endüstrilerinden çıkan, boyar madde içeren atık sular, arıtılması en güç atık sularındandır. Bunun sebebi, boyar maddelerin genellikle sentetik kaynaklı ve kompleks aromatik molekül yapıya sahip olmaları ve bu yapıların boyar maddeleri daha kararlı ve biyolojik parçalanmaya karşı daha dirençli hale getirmesidir [2]. Tekstil ve boyama endüstrilerinde sentetik boyaların kullanımı bu boyaların sentezinin kolay ve ucuz olması, oldukça dayanıklı ve doğal boyalarla karşılaştırıldığında renklerinin oldukça çeşitli olmaları nedeniyle giderek artmaktadır [3]. Ticari boyar maddelerin renkleri, içerdikleri kompleks kromofor sisteminden kaynaklanmaktadır. Bu boyar maddelerin, güneş ışığına ve yıkama proseslerine oldukça dayanıklı oldukları ve ayrıca mikrobiyal ataklara direnç gösterdikleri belirtilmektedir [4].

Atık sudaki renk gözle görülebilir olduğundan sucul ortamlarda olumsuz bir görünüm yarattığı, suyun geçirgenliğini ve gaz çözünürlüğünü etkilediği belirtilmektedir [5]. Ayrıca, bir çoğu benzidin ve diğer aromatik bileşikler gibi kanserojen maddelerden sentezlendiğinden, boyar madde içeren atık suların arıtılması gerektiği vurgulanmaktadır [5].

Son yıllarda atık sulardaki boyar maddeleri biyolojik parçalanma veya biyosorpsiyon yoluyla giderebilen bazı mikroorganizmalar üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Çeşitli boyar maddeleri renksizleştirebilen birçok bakteri [6], alg [5] ve fungus türü [7, 8] bilinmektedir. Mikrobiyal iyileştirme, sistem tasarımlarının kolay ve maliyetinin düşük olması nedeniyle geleneksel iyileştirme sistemlerinden (fiziksel, kimyasal ve fiziko-kimyasal) daha avantajlı olmaktadır [9].

Çevreye verilen ve çevre kirleticileri olan boyar madde moleküllerinin yapılarına bağlı olarak, uygun mikroorganizma ve uygun ortam koşullarının belirlenmesi gerekmektedir. Uygun maliyet açısından, laboratuvar koşullarında, temel bilim düzeyinde araştırmaların yapılması ve uygun koşulların uygulamaya geçirilmesi gerekmektedir. Geniş miktarda yapısal olarak farklı birçok boyar madde, tekstil sanaysinde olduğu kadar diğer sanayi alanlarında da kullanılmaktadır. Boyar maddelerin biyolojik arıtımlarının temeli ve anahtarı her bir boyar maddeyi etkili bir şekilde renksizleştirecek uygun mikroorganizma türünü saptamaktır [10].

Boyar madde molekülünün yapısı ve mikrobiyal renk giderimi arasında ilişki kurabilmek için ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir. Mikrobiyal renk giderimi, günümüzde kullanılan arıtım proseslerinin yerini alabilecek veya bu prosesleri destekleyecek bir alternatif olarak görülmektedir. Ancak boyar madde içeren atık sulardan mikrobiyal biyokütle ile renk giderimi araştırma aşamasındadır [2].

Bu çalışmada, çevreye zararlı etkileri olan ve tekstil fabrikalarında yaygın olarak kullanılan Drimaren Blue CL-BR (DB) boyar maddesinin topraktan izole edilen ve HF85 olarak kodlanan izolat ile parçalanması ve optimum parçalama seviyesinin çeşitli parametreler kullanılarak, sıvı fazda çalkalamalı olarak renk gideriminin araştırılması ve renk gideriminin optimum seviyesinin tespiti çalışılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. BOYAR MADDELER

Boyar maddeler ışık spektrumunun 400-700 nm arasında görünür ışığı absorbe edebilme yetenekleriyle karakterize edilirler ve ışığı absorbe ederek renkli görünürler. Çok değişik yapıda olan ve değişik amaçlarla kullanılan bu bileşiklerin çeşitli sınıflandırmaları mevcuttur. Renklendiriciler iki büyük gruba ayrılırlar [10].

i. İnorganik boyar maddeler

ii. Organik boyar maddeler

Renklendiriciler ya boyar maddeler ya da pigmentlerdir. Pigmentler su ortamında çözünmemeleriyle karakterize edilirler. Diğer taraftan su ortamında tümüyle çözünebilir boyar maddeler saç, tırnak, deri ve tekstil materyalleri gibi çeşitli maddelere uygulanırlar. Normalde bütün hidrokarbonlar renksizdirler. Ancak bunlara kromofor adı verilen doymamış gruplar bağlanırsa renkli görünürler. Kromofor grup bağlanmış hidrokarbonlara ise “kromojen” adı verilmektedir. Kromofor renk verici anlamındadır ve kimyasal yapılarına göre 7 gruba ayrılırlar (Çizelge 2.1) [10].

Çizelge 2.1: Kimyasal yapılarına göre kromofor grupları.

Kimyasal yapı grupları	İçerdikleri bağlar
Nitroso grubu	-NO (veya =N-OH)
Nitro grubu	-NO ₂ (veya =NO·OH)
Azo grubu	-N=N-
Etilen grubu	=C=C=
Karbonil grubu	=C=O
Karbon-azot grubu	=C=NH ve -CH=N-
Kükürt grubu	=C=S ve ≡C-S-S-

Basit aromatik yapıya renk veren kromofor gruplar yer değiştirebilir ve görünür spektrumda absorbands bantlarının gözlenmesini sağlarlar. Kromoforlar boyaların sınıflandırılmasında oldukça önemlidir. Kromofor gruplar redüksiyona uğrayabilirler. Eğer redüksiyona uğrarlarsa elektron rezoransının kaybolmasından ötürü renk kaybolabilir [11].

Kromojenlerin tam olarak boyar madde özelliği kazanabilmesi için “oksokrom” adı verilen ikinci seri grup moleküllerin bileşiğe bağlanması gerekmektedir. Oksokrom gruplar, kromojene bağlanarak hem renk şiddeti hem de renk derinliğini arttırmaktadır. Bunlar genellikle amino (-NH₂), hidroksil (-OH) gibi tuz oluşturan gruplar veya bunların türevi çözünebilir radikaller olan karboksil (-COOH) veya sülfon (-SO₃H)'dur. Bu oksokromlar, kromoforlar ve kromojenler boyaların sınıflandırılmasında rol oynarlar, fakat -OH, -NH₂, -SO₃H, -COOH gibi aside edici radikaller ise boyaların kimyasal sınıflandırılmasından çok liflerin direk boyanmasından sorumludurlar [11].

Boyar maddeler boyama özelliklerine göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadırlar:

- Bazik (katyonik)
- Asit (anyonik)
- Direkt
- Mordan
- Küp
- İnkişaf
- Metal
- Dispersiyon
- Pigment
- Reaktif

boyar maddeler olarak.

Bazik (katyonik) boyar maddeler; organik bazların hidroklorürleri şeklinde olup, katyonik grubu renkli kısımda taşırlar. Pozitif yük taşıyıcı olarak N(Azot) veya S(Kükürt) atomu içerirler. Yapılarından dolayı bazik (proton alan) olduklarından

anyonik grup içeren liflerle bağlanırlar. Başlıca poliakrilonitril, kısmen de yün ve pamuk elyafın boyanmasında kullanılırlar [12].

Direkt boyar maddeler (substantif boyar maddeler); genellikle sülfonik, bazen de karboksilik asitlerin sodyum tuzlarıdır. Yapı bakımından direkt ve asit boyar maddeler arasında kesin bir sınır bulunmamaktadır.

Mordan boyar maddeleri; asidik veya bazik fonksiyonel gruplar içerirler. Bitkisel ve hayvansal elyaf ile kararsız bileşikler oluştururlar. Mordan sözcüğü, boyar maddeyi elyafa bağlayan madde veya bileşim anlamını taşır. Birçok doğal ve sentetik boyar madde bu sınıfa girmektedir.

Küp boyar maddeleri; karbonil grubu içeren ve suda çözünmeyen boyar maddelerdir. Bunlar indirgeme ile suda çözünür hale getirilirler ve bu halde elyafa çektirilirlar [12].

Elyaf üzerinde oluşturularak son şekline dönüştürülebilien bütün boyar maddeler İnkışaf boyar maddeleridir. Azoik boyar maddeler de denilen bu boyar maddeler ile fitalosiyanın boyar maddeleri de bu sınıfa girmektedirler.

Belirli gruplara sahip bazı azo boyar maddeleri ile metal iyonlarının kompleks oluşturduğu boyar maddeler metal kompleks boyar maddeleridir. Kompleks oluşumunda azo grubu rol oynar. Metal katyonu olarak Co(Kobalt), Cu(Bakır) ve Ni(Nikel) iyonları kullanılmaktadır [12].

Dispersiyon boyar maddeleri; suda eser miktarda çözünebilen, bu nedenle sudaki dispersiyonları halinde uygulanabilien boyar maddelerdir. Bu boyar maddeler, boyama işlemleri sırasında dispersiyon ortamından hidrofob elyaf üzerine difüzyon yolu ile çekilmektedirler.

Pigment boyar maddeler; bağlayıcı madde denilen sentetik reçineler ile elyaf yüzeyine bağlanan boyar maddelerdir [12].

Reaktif boyar maddeler; selüloz fiberlerini boyamak için kullanılan renkli moleküllerdir. Bunlar azot-azot çift bağı ile karakterize edilirler (-N=N- azo bağları). Azo boyalarının rengi azo bağı ve bunlara bağılı kromoforlardan ileri gelir. Boyalar

ilk olarak selüloz üzerinde adsorbe olur ve daha sonra fiberlerle reaksiyona girerler. Reaksiyon, boya molekülü ile fiber arasında dayanıklı bir kovalent bağ oluşumu ile gerçekleşir [13].

Reaktif boyaların en önemli özelliği yapılarında kovalent bağ oluşturabilen bir veya iki grup bulunmasıdır [10]. Bu boyaların reaktif sistemleri selüloz substratı üzerindeki iyonize olmuş hidroksil grupları ile ilişkilidir. Bununla birlikte alkali boyama şartlarında boya banyosunda bulunan hidroksil iyonları selüloz substratı ile birlikte fiberle kolayca reaksiyona giremeyen hidrolize olmuş boyalar oluşturabilir. Böylece başlangıç boya yükünün % 10-50'lik kısmı boya banyolarından atık sulara verilerek oldukça renkli atık suların oluşumuna yol açabilirler. Bu boyalar, kimyasal yapıları, molekül boyutu ve yapısı nedeniyle biyolojik indirgenmeye dayanıklıdır. Alıcı ortamlarda kolayca biyolojik indirgenmeye uğramayan reaktif boyalar tekstil atık sularında problem yaratan bileşikler olarak tanımlanırlar [13].

Reaktif boyar maddeler selülozik elyafın boya ve baskısına yarayan çok önemli bir boyar madde grubudur. Ayrıca çok fazla olmamakla beraber yün, ipek, naylon ve deri boyamada da kullanılmaktadırlar. Reaktif boyar maddelerde geniş bir renk serisine sahiptir ve renkleri oldukça parlaktır [14].

Bütün reaktif boyar maddelerin ortak özellikleri, hepsinin kromoforu taşıyan renkli bir grup yanında, bir reaktif bir de moleküle çözünürlük sağlayan grup içermesidir. Kromoforu taşıyan moleküller çoğunlukla azo, antrakinon ve fitalosiyenin türevleridir. Boyar maddenin reaksiyon yeteneğini ve reaksiyon hızını tayin etmesi nedeniyle boyama tekniğinden sorumlu olan grup reaktif gruptur [14].

Reaktif boyar maddenin molekülünde renk verici grup olarak her türlü sınıfa rastlamak mümkün olmaktadır. Ancak genelleme yapıldığında, sarı, turuncu ve kırmızı boyar maddelerin basit mono azo yapısında; mor, koyu kırmızı ve lacivert renklerin bakırlı mono ve disazo yapısında; parlak ve açık mavi renklerin ise antrakinon ve fitalosiyenin türevleri olduğu belirtilmektedir [12].

2.2. TEKSTİL VE KONFEKSİYON SEKTÖRÜNDE EKOLOJİ

“Ekolojik tekstil” veya “ekotekstil” terimi, elyaf halinden bitmiş haldeki ürünün oluşumuna kadar olan tüm işlem basamaklarında çevre gözetilerek üretilmiş, kullanım aşamasında ise kullanıcıya zarar vermeyen, kullanıldıktan sonra atılacak olan ürünün ise geri dönüşümünün olduğunu veya çevreye zararsız ürünlere dönüşebildiğini ifade etmektedir [15].

2.2.1. Üretim Ekolojisi

Tekstil sektörü en fazla su, hava, kimyasal madde ve enerji tüketen endüstri dallarından birisidir. Hammaddeden başlayarak bitmiş ürün haline gelinceye kadar tekstil mamüllerine çeşitli işlemler uygulanmaktadır.

Özellikle terbiye işletmelerinde müşteriler tarafından istenilen özelliklerin (renk, tutum, v.b.) kazandırılması amacıyla tekstil malzemeleri üzerine çeşitli şartlarda muhtelif kimyasal maddeler ve boyar maddeler uygulanmaktadır. Ekotekstiller kavramı içinde kalan üretim ekolojisi; bu işlem aşamalarında ortaya çıkan, insana ve çevreye zararlı atıklarla ilgilenmektedir. Üretim ekolojisinde lif cinsinin önemi büyüktür. Doğal lifler özellikle de pamuk ekolojik tekstil üretiminde tercih edilmektedir [16].

2.2.2. Atık Ekolojisi

İşlevini yerine getiren her malzeme atık olur. Atık ekolojisi kavramı ise kullanımı sona eren tekstil ürünlerinin zararlı maddeler yaymaksızın geri dönüşümü, ayrıştırma yoluyla veya havanın saflığına zarar vermeksizin ısıyla yok edilmesi (termal eliminasyon) esaslarına dayandırılmıştır. Eskiyip çöpe atılan tekstil ürünlerinin, yakılarak, çürümeye bırakılarak, depolanarak veya başka bir şekilde yok edilirken çevreye ve insanlara zarar vermemesi gerekir. Bu alanda en önemli çözüm ise geri dönüşümdür. Yani eskiyen tekstil ürünlerinin liflerinin tekrar kullanılmasıdır [17].

2.2.3. İnsan Ekolojisi

İnsan ekolojisi hazır giyimin, kullanıcılara ve yakın çevresine olan etkilerini kapsar. Normal kullanım koşullarında insanlara zararlı etkileri olduğunu bildiğimiz maddelerin tekstillerde yoğunlaşması önlenmelidir. Bu maddelerin insana verdiği zararlar deri ile temas, solunum ve sindirim yoluyla olabilir [18]. Sentetik boyar maddelerin insan sağlığına ve çevreye olumsuz yönde etkisi, doğal boyar maddelere ilginin artmasına sebep olmuştur. Ancak, boyama bitkisinin üretimi için son derece büyük ekim alanlarına ihtiyaç duyulması veya böceklerden doğal boya üretimi için çok fazla böceğin üretilmesi gerekliliği ekolojiye uygun bir durum değildir.

Sentetik boyar madde üretimine bağlı olarak tekstilde son ürün, ağır metal kalıntılarını içermektedir. Bu nedenle, elde edilen sentetik boyar maddelerdeki düşük metal içeriği, metalin ek bir yöntemle uzaklaştırılması zorunlu olduğu için kalite belirtisidir. İyi bir haslık (dayanıklılık) derecesi elde etmek için metal-kompleks boyar madde kullanma zorunluluğu vardır. Metal, kimyasal olarak boyar madde molekülüne bağlıdır ve boyar madde parçalanmadan ayıramamaktır. Bu durum ekoloji için metal kirliliği açısından olumsuz bir durumdur. Sentetik boyar maddeler toksikolojik olarak incelenmektedir. Bunun için kimyasal maddelerin kalıtsal olarak değişen özelliklerini gösteren "Ames Testi" uygulanmaktadır [19]. Bakteri ırkının gen değişikliğine dayanan bu test, bu gün yeni bir boyar maddenin geliştirilmesinin hazırlık döneminde rutin olarak yapılmaktadır.

Doğal boyar maddeler, genellikle metal içermemektedir; ancak genellikle mordan boyar maddeleri olarak kullanılmaktadırlar. Bu işlem esnasında, ağır metal tuzları büyük oranda kullanılmakta olduğundan, boyama sonrası metal iyonlarının uzaklaştırılması sorunu ortaya çıkmakta ve metallerin uzaklaştırılma prosesi ise fazladan bir çevre yükü meydana getirmektedir.

Günümüzde kullanımda olan boyar maddelerin %70'i azo boyar kromofor grup maddeler sınıfına girerler. Azo boyar maddeleri nispeten kolay üretilmekte ve farklı kullanım amaçları için farklı haslıklarda üretilebilmektedir. Biyolojik sistemlerde enzimlerin etkisiyle organizmada aromatik aminlere indirgenebilmektedir. Bazı aromatik aminler ise kanserojeniktir. Yaklaşık olarak

piyasada bulunan 3.200 adet azo boyar maddesinden 130 tanesinin belirli koşullar altında redüktif parçalanması sonucunda kanserojen arilamin bileşiklerinin oluştuğu saptanmıştır.

Çevre açısından kullanılan boyar maddenin rengi de önemlidir. Bir mamulü koyu renklere boyamak demek daha fazla boyar madde kullanmak, bunun sonucu olarak da daha fazla kimyasal madde ve su kullanmak demektir [20].

2.2.3.1. Tekstil boyar maddelerinin ortaya çıkardığı problemler

Doğal boyar madde uygulamalarının ve araştırmalarının başlangıcı Çin ve Orta Asya'ya dayanmaktadır. Doğal boyar maddeler, doğada mevcut bitkilerin kök, gövde, yaprak, meyve ve meyve kabuklarının yapısında veya hayvanların, genelde ise kabuklu deniz böcekleri, salyangoz ve koşnil yapısında mevcut boyar maddeler olarak tanımlanabilir. Doğal boyar maddeler hayvansal ve bitkisel kökenli olmak üzere kendi içerisinde iki ana grupta incelenir. Bitkisel kökenli doğal boyar maddeler doğada sayıları pek çok olan bitkilerin meyve, kök, yaprak, kabuk, çekirdek gibi kısımlarından elde edilir. Hayvansal kökenli boyar maddeler ise doğada bulunan koşnil, kermes, mureks gibi böceklerden elde edilmektedir.

Son yıllarda artan çevre bilinciyle doğal boyar maddelere doğru bir yönelim vardır. Kimyasal maddelere karşı güvensizlik sonucu doğal boyar maddelerle boyanmış, kısmen daha düşük renk saflıklarına sahip ve yüksek fiyatlı giysileri kabul eden alıcı kesimi mevcuttur. Doğal olarak boyanmış tekstil mamullerine artan bir talep bulunmaktadır.

Sentetik boyar maddeler, 19.yüzyıl ortalarında doğal boyar maddelerin kimyasal esaslarının araştırılması sonucunda geliştirilmişlerdir. Sentetik boyar maddelerin ard arda geliştirilmesi sonucunda doğal boyar maddeler anlamlarını yitirmişlerdir. Sentetik boyar maddeler, doğal boyar maddeye karşın hazır petro kimyasal hammaddelere dayanarak uygun maliyetlerde boyar madde üretimi sağlamıştır. Yüksek saflıklarda boyamalar, doğal boyar maddelerle yapılan pahalı ve ayrıntılı boyama yöntemlerinin sadeleştirilmesini sağlamıştır.

Çok parlak ve saflığı yüksek boyamalar veren krom boyar maddeleri de kanserojen olmaları nedeni ile sağlık açısından zararlıdır. Tekstil endüstrisinde sık sık kullanılan reaktif boyar maddeler de tehlikelidir. Yüksek haslıklara ve parlak renklere sahip olan reaktif boyar maddeler proteinlerle de reaksiyona girebilmekte ve alerjiye neden olmaktadır [20].

Sentetik boyar maddelerin insan sağlığına ve çevreye olumsuz yönde etkisi doğal boyar maddelere ilginin artmasına sebep olmuştur. Ancak bitkisel boyar maddeler, şartlı olarak sentetik boyar maddelere alternatif sayılabilmektedir. Öyle ki boyama bitkisinin üretimi için son derece büyük ekim alanlarına ihtiyaç duyulmaktadır ki, bu durum ekolojiye uygun değildir.

Yalnızca bitkilerden değil aynı zamanda bazı böceklerden de doğal boyar madde elde edilebilir; ancak gerekli boyar madde için çok fazla böceğe ihtiyaç vardır. Bu durum da çevre dostu bir işlem değildir.

Bitki boyar maddeleri ile boyamada, fiksasyon için ağır metal içeren tuzlara gereksinim duyulmaktadır. Ancak, çevre ve insan için ağır metallerin kullanılmaması gerekmektedir. Bunların yerine çevreye daha az yük veren demir sülfat ve şap kullanmak gerekmektedir. Hemen hemen bütün doğal boyar maddelerle boyamada boyar maddenin fikse olabilmesi için mordan kullanılması zorunludur. Mordan maddeleri, lif ile boyar madde arasında bağlayıcı köprü görevi üstlenir. Böylece suda çözünürlüğü olan boyar madde, boya molekülleri ile mordan ve lif arasında kurulan bağlar sayesinde suda çözülmez bir halde, liflerin üzerine sabitlenmiş olur.

Doğal boyar maddeler, genellikle metal içermemektedir; ancak genellikle mordan boyar maddeleri olarak kullanılmaktadırlar. Bu boyamada, ağır metal tuzları büyük miktarda kullanılmakta olduğundan, boyama sonrası metal iyonlarının uzaklaştırılmasının gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Yani fazladan bir çevre yükü getirmektedir.

Boyalı tekstil malzemelerinde iyi veya çok iyi saflıklar istenmektedir. Saflıklar; su, ter, tükürük, sürtme gibi tekstil mamulünün belli şartlar altında ne kadar boyar madde vereceğini görmek için yapılan testlerdir. Saflık ne kadar yüksekse bu

boyar madde molekülünün, tekstil mamulünün lifine o kadar iyi bağlandığını gösterir. Tekstil malzemesine sıkı bağlarla bağlanmış bir madde, insana deri yolu ile geçmemektedir. Bu nedenle de boyalı tekstil malzemelerinde iyi veya çok iyi saflıklar istenmektedir. Bunun da yanı sıra yüksek saflık aynı zamanda mamulün renk bakımından uzun süre rengini muhafaza edeceğini ve kullanım süresinin uzun olacağını ifade eder.

Doğal boyar maddeler ile sentetik boyar maddeleri karşılaştırıldığında ise her iki tip boyar maddelerin de bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır:

i. Doğal boyar maddeleri elde etmek için çok fazla miktarda bitki ve hayvan yetiştirilmesine ve endüstriyel olarak ürün toplama ve ekstraksiyon teknolojisine gereksinim vardır. Yüksek boyar madde verimini yakalayabilmek için boyama bitkisinin yetiştirilmesinin iyileştirilmesi düşünülmelidir.

ii. Endüstriyel arıtma yapılmıyorsa, sentetik boyar maddelerle karşılaştırıldığında doğal boyar maddelerden atık su yükünü çok fazla arttıran döküntü yığınları ortaya çıkmaktadır.

iii. Doğal boyar maddeler zor standardize edilmektedir. Az sayıda renk tonları kullanılabilir. Sentetik lifler için bu zamana kadar hiçbir doğal boyar madde bilinmediğinden yalnızca yün ve pamuk için kullanılabilir.

iv. Doğal boyar maddeler sentetik boyar maddelerden 5-10 kat daha pahalıdır.

v. Şu anda kullanılan doğal boyar maddelerin tekstil maddelerini boyama talebini karşılamaının mümkün olmadığı da göz önüne alınarak, çevreye ve insan sağlığına zararlı olmayan boyar maddelerin üretiminin ve kullanımının her geçen gün artması beklenmektedir [18].

2.2.4. AB'nin ve Türkiye'nin Ekolojik Tekstil Konusundaki Mevzuatı

2.2.4.1. AB mevzuatı

Avrupa Birliği (AB) tekstil ürünlerinde ekoloji konusunu ilk kez 1976 yılında

yayınlanan 76/69/EEC Konsey Direktifi'nde ele almıştır. Söz konusu direktif ile tekstil ürünlerinde kullanılan bazı ürünlerin zararlı olabileceği belirtilmiştir.

19 Temmuz 2002 tarihli, söz konusu direktifin 19. kez değiştirilmiş şekli olan 2002/61/EC Direktifi ile kanserojen olduğu belirlenmiş 22 adet aromatik arilamine parçalanmış azo boyar maddelerin tekstil ve deri ürünlerinde kullanımı ve söz konusu boyar maddelerle boyanmış tekstil ve deri ürünlerinin pazarda yer alması yasaklanmıştır. Söz konusu yasaklanmış arilaminlerin bulunabileceği maksimum derişimleri ise 30 ppm(Parts per million) olarak belirlenmiştir.

6 Ocak 2003 tarihli 2003/3/EC Direktifi ile 611-070-00-2 indeks nolu Blue colourant-mavi boyar maddenin- tekstil ve deri ürünlerini boyamada kullanılması ve pazarda yer alması yasaklanmıştır. 30 Haziran 2004 tarihinden itibaren söz konusu yasaklamamın uygulamaya konacağı belirtilmiştir.

Avrupa Komisyonu 2003/03/EC Direktifi ile 30 Haziran 2004 tarihinden itibaren tekstil ürünlerini boyamada kullanılan krom bazlı azo boyar maddelerin kullanımını ve pazarlamasını yasaklamıştır.

29 Nisan 2004 tarihli Komisyon Tavsiyesi'nde ise asetonitril, akrilamid, akrilonitril, akrilik asit, bütadien, hidrojen florür, hidrojen peroksit, metakrilik asit, metil metakrilat, toluen, triklorobenzen maddelerinin çeşitli üye ülkelerde incelendiği bildirilmiştir.

Metakrilik asitin çevresel olarak, su ekosistemi için belirli bir limit değere ihtiyaç olduğu belirtilmektedir. Toluene maddesi için su ve kara ekosistemi açısından limit değerlerin olması gerektiği belirtilmiştir. Ayrıca 2000/60/EC (Su Çevre Direktifi) Direktifi'nin X. ekinde yer alan öncelikler listesinin tolueni içine alacak şekilde genişletilmesinin göz önüne alınması gerektiği bildirilmektedir. 1,2,4-Triklorobenzen için su ve kara ekosistemler için limit değerler olması gerektiği belirtilmiştir [21].

2.2.4.2. Türkiye'deki mevzuat

İnsan sağlığına zararlı etkilerinin olması sebebiyle, Sağlık Bakanlığının

29.12.1994 tarihli ve 15488 sayılı genelgesi ile bazı arilaminlerin yurt içinde deri, tekstil ve hazır giyim boyahanelerinde boya imalı için kullanılması ve bazı boyar maddelerin yurt içinde deri, tekstil ve hazır giyim ürünlerinde kullanılması 1.3.1995 tarihinden itibaren yasaklanmıştır. Söz konusu olan boyar maddelerin ithali de 1996/16 sayılı ve 31.12.1995 tarihli İthalat Tebliği ile yasaklanmıştır [21].

2.3. BOYAR MADDELERİN RENK GİDERİMİ ÇALIŞMALARI

Tekstil endüstrisi atıksuları çok çeşitli kimyasallardan ve özellikle boyar maddelerden dolayı arıtılması zor olan endüstriyel atıksulardandır. Değişik organik boyar madde, ağır metal, çözülmüş tuzlar, renk, bulanıklık içeren ve değişen pH'larda dış ortama verilen atıksular, birinci derece arıtma ihtiyacı duyulan sulardır. Ülkemizde Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğinde, deşarj standartlarında renkle ilgili parametre olmamasından dolayı, bu atıksuların arıtımında daha çok Kimyasal Oksijen İhtiyacı, Biyolojik Oksijen İhtiyacı ve Askıda Katı Madde giderimi amaçlanmaktadır. Bununla birlikte ABD ve AB ülkelerinde renkle ilgili kesin deşarj sınırlamaları getirildiği için son yıllarda çalışmalar renk giderimi üzerine yoğunlaşmıştır [22,23].

Boyarlar uygulandığı ipliğin tipine göre ve kimyasal yapısına göre farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle literatürde yüzlerce çeşit boyaya rastlanmaktadır. Tekstil fabrikalarında boyama işlemi esnasında birden fazla boyanın ve bazı yardımcı kimyasalların bir arada kullanılması, atıksuyu daha da karmaşık hale getirmektedir [24]. Günümüzde boyar maddelerin gideriminde fiziksel ve kimyasal işlemler kullanılmakta, ancak bu yöntemlerin çoğu ekonomik olarak ve arıtım sonucu ortaya çıkan aktif çamurun uzaklaştırılması gerekliliği gibi bazı dezavantajlara sahiptir. Renk giderim çalışmaları ile ilgili bazı yöntemler ise takip eden alt kısımlarda ele alınmaktadır.

2.3.1. Kimyasal Yöntemler

2.3.1.1. Oksidatif prosesler

Bu işlem, kimyasal maddeler kullanılarak renk gideriminin sağlandığı bir metot olmakla beraber, kimyasal yöntemler içerisinde en fazla uygulanan prostestir. Bu işlemde temel oksitleyici ajan olarak hidrojen peroksit (H_2O_2) kullanılmaktadır.

Oksidatif proseslerde boya molekülündeki aromatik halka kırılarak atıksudan boya artırılmış olur [25].

2.3.1.2. Fenton ayıracı ($H_2O_2/Fe(II)$ tuzları)

Fenton ayıracı yani Fe(II) tuzları ile inhibe edilmiş hidrojen peroksit toksik atıkların oksidasyonu için iyi bir yöntemdir. Bu işlem ön-oksidasyon ve koagülasyon olmak üzere iki adımda gerçekleşir ve renk giderim hızı ilk basamakta daha yüksektir [26]. Atıksularda bulunan renk bileşikleri bu yöntemle yok edilebilir ve özellikle metal-kompleks türündeki boyalardan kaynaklanan ağır metaller, demir oksitlerle birlikte nötralizasyon basamağında çöktürülebilirler. Fenton ayıracı yönteminin KOİ(Kimyasal oksijen ihtiyacı), renk ve toksisite giderimi gibi avantajların yanında floklama prosesinde ortaya çıkan çamur problemi gibi dezavantajları da mevcuttur [27,28].

2.3.1.3. Ozonlama

Ozonlama aromatik hidrokarbonlar, pestisitler, fenoller ve klorlu hidrokarbonların yıkımında, boyar madde ve KOİ gideriminde kullanılan etkili bir yöntemdir [29]. Boyar maddedeki kromofor gruplar genellikle çift bağlı organik bileşiklerdir ve bunların ozonlama ile kırılmaları sonucu renksiz moleküller oluşur [30]. Boyar madde bulunan atığa uygulanacak ozon dozajı toplam renge ve KOİ oranına bağlıdır. Ozonlama işlemi sonucunda çamur oluşumu gözlenmemektedir [31]. Ozonlamanın dezavantajı ise gaz halde uygulanması ve uygulamada suyun hacminin arttırılamamasıdır. Bunlar dışında yüksek maliyetli olması, yarılanma ömrünün kısa olması (20 dk.), pH, sıcaklık ve tuz derişimi gibi değişkenlerden kolayca etkilenmesidir [29]. Ozon, radyasyonla ve membran filtrasyon tekniği ile kullanıldığında iyi sonuç vermekte ancak bu uygulama esnasında kullanılan iyon tutuculardan dolayı ozonlama işleminin renk giderimini üzerine etkisi azalmaktadır [32].

2.3.1.4. Fotokimyasal işlemler

Bu metod ile boyar madde H_2O_2 varlığında UV ile birlikte karbondioksit ve suya parçalanmaktadır [30]. Parçalanma sonucu yüksek derişimde hidroksil radikalleri üretilmektedir. UV-hidrojen peroksit ile renk giderimi, UV ışığının yoğunluğuna, ortamın pH'sına ve boyar maddenin yapısına bağlıdır [33]. Renk giderim işleminin süresi ortamda bulunan metallere, inorganik asitlere, organik aldehitlere ve organik asitlere bağlıdır [34]. Fotokimyasal işlemlerin en önemli avantajı ise arıtım sonucunda çamur oluşmaması ve kötü kokulara neden olan organiklerin azalmasına neden olmasıdır [25].

2.3.1.5. Sodyum hipoklorit (NaOCl)

Ortamdaki klor derişimine bağlı olarak, renk giderim hızının değişiklik gösterdiği bir yöntemdir. Bu metotta, kullanılan kimyasaldaki klor, boyar maddelerin amino gruplarını etkilemektedir ve boyar maddenin azo grupları kırılmaktadır. Bu metod dispers boyar maddeler için uygun değildir. Metotta klorun kullanılması ve fazla klorun atıksuda kalması, işlemi dezavantajlı duruma sokar. Ayrıca reaksiyon sonucu karsinojenik ve aromatik aminlerin oluşması bir diğer olumsuz yanıdır [33].

2.3.1.6. Elektrokimyasal işlemler

Boyar madde gideriminde kimyasal maddenin oldukça az kullanıldığı, arıtım sonucunda etkili bir boya gideriminin sağlandığı ve çamurun oluşmadığı bir yöntemdir. Ancak bu yöntemin uygulanmasında tehlikeli bileşiklerin oluşumu söz konusudur [25].

2.3.1.7. Kimyasal floklaştırma ve çöktürme yöntemi

Kimyasal maddelerin yardımı ile floklaşma ve çökeltmenin sağlandığı bir yöntemdir. En çok kullanılan kimyasallar arasında, $Al_2(SO_4)_3$, $FeCl_3$, $FeSO_4$ ve kireç sayılabilir. Tünay ve ark. (1996) tarafından yapılan çalışmada asit boya içeren bir atıksuda kimyasal çöktürme, kimyasal oksidasyon ve adsorpsiyon yöntemleri

denenmiş ve yöntemler renk giderim verimlilikleri açısından incelenmiştir. Bu yöntemin kullanılması ekonomik açıdan dezavantaja sahiptir. Ayrıca, floklaştırıcı maddelerin ve oluşan çamurun uzaklaştırılması açısından da dezavantaja sahiptir [35].

2.3.2. Fiziksel Arıtım

2.3.2.1. Membran filtrasyonu

Bu metod atıkların arıtımında, konsantre edilmesinde, en önemlisi sürekli şekilde boyar maddeleri atıksudan ayırabilmesi ile karakterizedir [29, 36]. Bu metodun en önemli avantajı, diğer yöntemlerden farklı olarak sıcaklık değişimine, kimyasal çevreye ve mikrobiyal, aktiviteye karşı dirençli olmasıdır [25,37]. En büyük dezavantajı ise oldukça yüksek yatırım maliyetinin olmasıdır. Sistemde atıksuyun membrandan dışarı çıkabilmesi için kimyasal potansiyel, basınç, elektrik gibi zorlayıcı kuvvetler uygulanmaktadır. Ayrıca sistemin atıksudan KOİ gideriminde de etkili olduğu rapor edilmiştir [38, 39].

2.3.2.2. İyon değiştiriciler

Bu yöntemde, atıksu, mevcut değişim bölgeleri doygunluğa erişene kadar iyon değiştirici reçineler üzerinden geçer. Böylelikle atıksudaki hem anyonik hem de katyonik boyalar uzaklaştırılabilmektedir. Dispers boyalar için uygun olmayan bu yöntemin maliyetinin oldukça yüksek olmasının yanında, boyar maddelerin çok farklı kimyasal yapıya sahip olması bu metodun kullanımını sınırlar [28].

2.3.2.3 Adsorpsiyon

Adsorpsiyon yönteminin işleyişi, boya etkileşimi, adsorbanın yüzey alanı, tanecik büyüklüğü, sıcaklık, pH ve temas süresi gibi birçok fiziko-kimyasal etkiye bağlıdır. Metot oldukça etkili olup, maliyeti de uygundur. Adsorpsiyonla renk gideriminde en fazla kullanılan yöntem aktif karbon yöntemi olup, katyonik, mordant ve asit boyalar için oldukça etkili; dispers, direkt, pigment, vat ve reaktif boyalar için etkisi azdır. Metodun performansı kullanılan karbonun tipine ve atıksuyun

karakteristiğine bağlıdır. Ayrıca rejenerasyon ve tekrar kullanım performansta azalmaya neden olur, bu nedenle aktif karbon miktarı arttırılmalıdır. Bu durum ise maliyeti yükseltmektedir. Adsorban olarak kullanılan diğer bir malzeme bataklık kömürüdür. Bataklık kömürü boya içeren atıksulardaki polar organik bileşikleri ve geçiş metalleri absorblayabilmektedir. Bu yöntem özellikle bataklık kömürünün bol bulunduğu İrlanda ve İngiltere gibi ülkelerde uygulanabilir. Bunlar dışında, ağaç kırıntıları, uçucu kül ve kömür karışımı, silika jeller, doğal killer, mısır koçanı gibi malzemeler de adsorban olarak kullanılabilir [28].

2.3.2.4. Radyasyon

Organik maddelerin radyasyonla parçalanabilmesi için uygun miktarda çözünmüş oksijen gereklidir. Ortama verilen oksijen ise hızla tüketilir ve tekrar verilmesi gerekir. Boyar maddelerin parçalanmasını sağlayan bu yöntem yalnızca laboratuvar koşullarında uygulanabilmektedir [40].

2.3.3. Biyolojik Arıtım

Biyolojik arıtım endüstriyel atıkların giderimi için en önemli yöntemdir. Fiziksel ve kimyasal yöntemlerin yüksek maliyet gerektirmeleri ve her boya için kullanılamıyor olması, uygulamaların sınırlı olmasına neden olmuştur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, birçok boya türünü atıksudan giderebilme yeteneğine sahip yaygın mikroorganizma türlerinin varlığını tespit etmiş ve biyoteknolojik uygulamaları ön plana çıkarmıştır. Bu uygulamalar, arıtım sonucu az çamur üretilmesi, maliyetinin düşük olması, zararlı yan ürünlerin oluşmaması gibi nedenlerden ötürü dikkat çekicidir [25].

2.3.3.1. Biyosorbsiyon

Kimyasal maddelerin mikrobiyal kütle tarafından adsorbsiyonu veya kütlede birikimi olarak ifade edilir. Bu yöntem için ölü bakteriler, mayalar ve mantarlar kullanılmaktadır. Tekstil boyalarının çok çeşitliliğe sahip olması, mikroorganizma ile boyanın etkileşimini etkiler. Bu nedenle mikroorganizmanın cinsine göre ve boyaya bağlı olarak farklı bağlanma hızları ve kapasiteleri söz konusu olmaktadır. Boyar

madde içeren atıksu çok toksik olduğunda, biyosorpsiyon avantajlı bir yöntemdir [28].

2.3.3.2. Aerobik yöntem

Endüstriyel atıkların arıtılmasında yaygın olarak kullanılan geleneksel aktif çamur sistemleri için tekstil endüstrisindeki birçok boya bileşiği biyolojik olarak çok zor indirgenebilmekte ya da inert kalmaktadır. Mikroorganizmalar, suda çözünebilen bazik, dispers ve azo boyaları biyolojik olarak indirgeyememekte fakat boyanın bir kısmını adsorbe ederek atıksuyun rengini almakta ve renk giderimi sağlanabilmektedir. Sentetik boyaların aerobik ortamda parçalanmaya karşı dirençli olmalarının nedeni boya malzemelerinin ışık, kimyasal kaynaklı oksidatif etkiler sonucu renklerinin solmayacak şekilde sentezlenmeleridir [41,42]. Atıksudaki azo boyar maddeler gibi reaktif boyaların ortalama %10'unun aerobik biyokütleyle adsorbe olduğunu, geri kalanının ise aktif çamur tesisinden herhangi bir değişime uğramadan geçtiğini belirtmişler ve azo boyar madde içeren tekstil atıksularının renginin giderilmesinde aerobik arıtmanın yetersizliğini vurgulamışlardır [28].

Fakat son yıllarda bazı boyalarla ilgili çalışmalar, boyaların aerobik olarak da parçalandığını göstermiştir. Odunsu bitkilerde bulunan polimer lignini parçalayabilen bazı bakteriler ve funguslar lignin peroksidaz ya da mangan peroksidaz gibi enzimler kullanarak boyalarda renk giderilebildiği gösterilmiştir [28,43].

2.3.3.3. Anaerobik yöntem

Boyar maddelerle yapılan çalışmalar özellikle suda çözünebilen azo-reaktif boyalar üzerine yoğunlaşmıştır. Bu boyalar aerobik ortamda parçalanmamaktadır. Anaerobik ortamda bu boyaların parçalanabilmesi mümkündür, ancak bunun için ilave karbon kaynağına ihtiyaç vardır. İlave karbon kaynağı metabolik faaliyet sonucu metan ve karbondioksit dönüşmekte ve elektronlar açığa çıkmaktadır. Bu elektronlar ise elektron taşıma zincirinden son elektron alıcısına yani azo-reaktif boyaya taşınmakta ve boya ile reaksiyona girerek azo bağındaki indirgenmektedir. Bu olay oksijen tarafından inhibe edilmektedir. Bu nedenle, boya arıtımında ilk adım azo bağlarının

kırıldığı anaerobik yöntem olmalıdır [28]. Reaktif Black 5 ve Synozol Red boya larını anaerobik ortamda renksizleştirebilmek için yapılan bir çalışmada, kullanılan boya derişimine ve mikroorganizma kültürüne bağı olarak %23 ile %78 arasında değışen KOİ giderme verimlerinin elde edilebileceğı belirtilmiştir. Rengin tamamen giderilebilmesi azo bağıının (N=N) anaerobik ortamda parçalanması ile mümkün olmuştur. KOİ'nin tamamen giderilememesi ise meydana gelen ara ürünlerin anaerobik ortamda parçalanamamasındandır [44].

Aromatik aminler gibi ara-ürünler sitotoksik, mutajenik ve kanserojenik özellik gösterebilmektedirler. Boya maddesi normalde toksik özellikte olmasa bile anaerobik ortamda son derece toksik aminlerin oluşması mümkündür. Bu nedenle, anaerobik sistemler aerobik arıtmadan önce yer alan bir ön-arıtım yöntemi olarak önerilmektedir. Çünkü aromatik aminler, aromatik bileşimin halkasının açılması ve hidroksilasyonla (OH grubunun ayrılması) aerobik ortamda mineralize olabilmektedirler. Böylece boyar madde atık suların anaerobik-aerobik proseslerle arıtılması ile anaerobik basamakta etkili bir renk giderimi, aerobik sistemde ise anaerobik sistemde oluşan parçalanmaya dirençli aminlerin yıkımı söz konusudur [45].

Yapılan bir çalışmada, pamuklu tekstil fabrikasının atıksuyunu temsil eden örnek atıksuyun anaerobik/aerobik ardışık bir biyolojik sistemle verimliliğı araştırılmıştır. Bu çalışmada, anaerobik reaktörde 2,8 günlük bir hidrolik bekleme süresi(HBS) ve 1,13 kg/m³ günlük organik yükleme hızında %67 KOİ giderilirken, renk tamamen giderilmiştir. Aerobik reaktörde ise 10 günlük HBS ve 0,104 kg/m³ günlük organik yükleme hızında %77 KOİ giderim verimi elde edilirken, toplam sistemde %92 KOİ giderimi gözlenmiştir. Toplam aromatik aminler (TAA) anaerobik kademedede birikirken, aerobik kademedede %50'si parçalanabilmiştir. Toplam sistemde ise KOİ ve renk giderimi etkin olarak giderilmiştir [46].

2.4. BOYAR MADDELERİN MİKROBİYOLOJİK OLARAK AYRIŞTIRILMASI

2.4.1. Funguslar, Algler ve Mayalarla Yapılan Çalışmalar

Kâğıt ve kâğıt hamuru atığının 1980'lerin başında *Phanerochaete chrysosporium* ve *Tinctoporia* sp. fungusları ile renk-giderimi, renk-giderimi çalışmalarının temelini oluşturmaktadır [47]. Daha sonraki çalışmalar renk-giderimi mekanizmasının lignin peroksidaz (LiP), mangan peroksidaz (MnP) ve lakkaz enzimleri ile ilişkili olduğunu ispatlamıştır [48]. *Phanerochaete chrysosporium*'un veratril alkol varlığında birçok boyayı ayrıştırdığı gösterilmiştir. Veratril alkolün ligninaz aktivitesini uyardığı bilinmektedir. Renk-giderimi yeteneğine sahip birçok yeni funguslarla fazla sayıda çalışmalar mevcuttur. Lakkaz, MnP ve LiP enzimlerini üreten yeni mantar türleri izole edilerek renk-giderim verimlilikleri arttırılmaya çalışılmıştır. Bazı funguslar ile yapılan adsorbent çalışmalarında, örneğin *Rhizomucor pusillus* fungusunun adsorbent olarak kullanılması ile kâğıdın beyazlatılmasında %48-%50 değerinde sonuçlar elde edilmiştir [49].

Fungusların ölü biyokütelleri ile yapılan adsorbsiyon çalışması ile enzimatik ayrıştırmanın (degradasyon) karşılaştırıldığı bir çalışmada, *Trametes vesicolor* fungusu kullanılmış ve biyomasın hem adsorbent ile hem de enzimatik ayrıştırma ile boyanın %90'ının elimine olduğu belirtilmiştir [50].

Funalia trogii fungusunun biyokütlesi ile yapılan bir çalışmada ise Astrozon Red boyasının %55'inin absorbe olup, ayrıştırıldığı belirtilmiştir. Bu çalışmada, yüksek biyokütle miktarının iyi bir renk-giderimiyle ilişkili olduğu ve renk-giderimini arttırabileceği rapor edilmiştir [51].

Beyaz çürükçül bir fungus olan *Thelephora* sp. suşu ile Orange G, Congo Red ve Amido Black 10 B boyalarının renk-giderimi amacıyla yapılan bir çalışmada ise, bu fungal suşun gerçekleştirdiği renk-giderim oranlarının sırasıyla % 33.3; 97.1 ve 98.8 olduğu belirtilmiştir [52].

Boyar maddelerin biyolojik parçalanması amacıyla aerobik/anaerobik reaktörde *Phanerachyta chrysosporium* ve *Coriolus versicolor* fungusları ile yüksek parçalanma verimlilikleri elde edilmekte ancak aerobik sistemde, renk-giderimi

absorbsiyonla gerçekleştiğinden etkili bir yöntem olmamaktadır. Ayrıca, *P. chrysosporium* ve *C. versicolor* funguslarının özel besin ihtiyaçları, çevre şartlarına karşı hassas olmaları ve düşük pH değerlerinde (pH = 4,5) renk-giderimi yapmalarından dolayı arıtma tesislerinde uygulanabilirliği oldukça zordur [53,54]. Ancak anaerobik çalışmalarda daha iyi sonuçlar mevcuttur. Azo indirgenmesi elektokimyasal bir reaksiyondur ve azo boyar maddeler mikroorganizmalar tarafından elektron taşıma zincirindeki son elektron alıcı olarak kullanılmaktadırlar. Bu olay sırasında elektron taşıma zincirindeki elektron taşıyıcılar karbon kaynağına bağlı olarak yeniden oluşarak, azo halkalarını indirger ve boyar madde çekirdeğini kırarlar. Bu olayın oksijen tarafından inhibe edildiği de belirtilmiştir [53].

Türkiye’de tekstil atıksularının arıtımı için işletilmekte olan aktif çamur sistemlerinin önüne kurulacak anaerobik reaktörün, alıcı ortamların kalitesi açısından olumlu etkiler meydana getireceği kanaatine varılmıştır [53,54].

Yapılan başka bir çalışmada, Direct Violet (DV31) ve Remazol Black (RB5) reaktif tekstil boyalarının ortadan kaldırılması ile ilgili biyotik ve abiyotik adsorban çalışmasında 2, 4, 24 ve 48 saatlik inkübasyon deneyleri yapılmıştır. Çalışmanın amacı boyaların ortadan kaldırılması için ucuz ve yenilenebilir kaynakların kullanımınıdır. Biyotik ajanlar olarak *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium commune*, *Aspergillus terreus*, *Eurotium repens*, *Penicillium fregii*, *Penicillium alli* ve bu suşların karışımından oluşan funguslar kullanılmıştır. Abiyotik ajan olarak ise talaş, pirinç samanı, kömür ve şekerpancarı kullanılmıştır [55].

Fungus suşları arasından DV31 boyası için en iyi biyotik adsorbanın 2 saatlik inkübasyon sonucunda *Penicillium commune*, *P. fregii* ve *P. alli* fungusları olduğu tespit edilmiştir. Bunlardan sırasıyla %96, %64 ve %65 oranlarında verim elde edilmiştir. *P. fregii* hariç aynı suşlar RB5 boyasını büyük oranda ortadan kaldırmışlardır. Abiyotik ajanlardan pirinç samanı ile iyi bir adsorban gerçekleştiği belirtilmiştir. Ancak adsorban, boyaların degradasyonu ile karşılaştırıldığında verimli bir arıtım olmamaktadır [55, 56].

Phanerochaete chrysosporium ile ilgili yapılan bir diğer renk-giderim çalışmasında ise azo boyar maddelerinden olan Remazol Blue RR Gran, Remazol

Red RR Gran, Remazol Yellow RR Gran'ın belli oranlarda karıştırılmasıyla elde edilen model atıksuda biyolojik parçalanma verimleri araştırılmıştır. Çeşitli konsantrasyonlardaki renk, KOİ, bakır ve aromatik grup giderim verimleri incelenmiştir. Deneysel çalışmaların sonuçlarına göre, renk giderimi başarılı olsa dahi, rengi oluşturan bileşenlerden olan aromatik grubun belli oranlarda atıksu içerisinde bozunmamış halde kaldığı belirlenmiştir. Degradasyon oranları Remazol Yellow, Remazol Red ve Remazol Blue için sırasıyla % 55, % 33, % 12'dir.[57].

Tekstil atığı ile kirlenmiş topraktan izole edilen karışık kültüre dayalı anaerobik-aerobik arıtım prosesi Remazol Brilliant Orange 3R. Remazol Black B ve Remazol Brilliant Violet 5R reaktif azo boyalarının degradasyonu için çalışılmıştır. *Paenibacillus* ve *Pseudomonas* fungus cinsleri ile çalışılan ardışık anaerobik-aerobik arıtım prosesi rengin büyük bir kısmının anaerobik sistemde gerçekleştiğini kanıtlamıştır. KOİ büyük bir kısmının ise aerobik sistemde ortadan kaldırıldığı gösterilmiştir. Sonuçlar azo boyaların anaerobik sistemde aromatik aminlere indirgenmediğini ve aromatik aminlerin bakteri biyoması tarafından üretildiğini göstermektedir. İkinci bir basamak olan aerobik sistemde ise bu aromatik aminler aynı izolatlarla parçalandığı gösterilmiştir. Fakat bu boyaların ayrışma oranları farklıdır ve yeterli değildir. Bunun sebebinin boyaların moleküler ya da kimyasal yapılarından kaynaklandığı belirtilmiştir [58].

Boyar maddelerin renklerinin giderilmesinde alglerin kullanıldığı çalışmaların sayısı ise oldukça sınırlıdır. İlk kez 1978 yılında kâğıt hamurunun beyazlatılması gibi çalışmalarla renk-giderim yeteneği rapor edilmiştir [59]. Saf ve karışık alg kültürleri ile 3 aylık inkübasyon süresinde %50-70 oranında renk-giderimleri gözlenmiştir. Rengin ortadan kaldırılmasında üç mekanizma gözlenmiştir. Bunlar; algal biyokütlesinin büyümesi için kromoforların asimilasyonu; renkli bileşiklerin CO₂ ve H₂O'ya transformasyonu ile renksiz hale gelmesi ve algal biyokütlenin kromoforları adsorbe etmesidir. Algal renk-gideriminin azo redüktazlar ile gerçekleştiği çalışmalar da gösterilmiştir [60]. *Chlorella andoscellotaria* alginin aromatik aminleri basit organik yapılara ve CO₂'ye indirgediği gösterilmiş, hatta bazı türlerinde azo boyaları karbon ve azot kaynağı olarak kullandığı da rapor edilmiştir [61].

Wasniewska (1985) tarafından kırmızı oksidatif mayalarla Kristal Violet boyasının biyolojik ayrıştırmasının amaçlandığı çalışmada, *Rhodotorula* sp. ve *Rhodotorula rubra*'nın Kristal Violet'i parçalayabilme yeteneğinde olduğunu belirtilmiştir. Bir başka çalışmada fermantasyon yeteneğinde sahip *Saccaromyces cerevisiae*'nin Kristal Violet'i parçalayamadığı gözlenmiştir. Bunun nedeninin ise kesinlikle boyar maddenin toksik etkisinden kaynaklanmadığı belirtilmiştir. Nedeni ise, organizmanın hem kontrol hem de test erlenlerinde iyi gelişme göstermiş olmasındandır [62].

2.4.2. Bakterilerle Yapılan Çalışmalar

Çok sayıda bakterinin renk-giderme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir [61]. Azo boyaları ayrıştırabilen bakterilerin izolasyonu ile ilgili çalışmalar önceleri *Bacillus subtilis*, *Aeromonas hydrophilia*, *Bacillus cereus* suşlarının, ardından da *Klepsiella* sp. ve *Streptomyces* sp. suşlarının izolasyonu ile devam etmiştir [63-65]. Karışık bakteri kültürleri ile diazo yapısındaki kromoforların 15 gün içinde parçalandığı belirtilmiştir [66]. Banat ve ark. (1996), anaerobik bakterilerle çeşitli destek materyalleri üzerinde biyofilmler ya da serbest halde büyüyen hücreleri kullanılarak, 24-30 saat içinde boya karışımının renk-gideriminin sağlandığını belirtmişlerdir. Aerobik koşullarda yapılan bir çalışmada ise Malaşit yeşili, Fast yeşili, Brilliant yeşili, Congo kırmızısı ve Metilen mavisi boyalarının pH 6-8, sıcaklığın ise 30-40 °C olduğu koşullarda %30-70 oranlarında renk-giderimine uğradıkları belirtilmiştir [67]. *Pseudomonas* sp. ve *E. coli* ile yapılan çalışmalarda ise Congo kırmızısı ve Direct Black 38 boyalarının anaerobik, aerobik ve mikroaerofilik ortamda renk-giderim deneylerinde *E. coli* ile yalnızca anaerobik ortamda %72-98 oranlarında verim alınırken, aerofilik ortamda renk-giderimi gözlenmemiştir. Ayrıca *Pseudomonas* sp. ile mikroaerofilik ortamda %98-100 oranlarında boya ayrıştırması gözlenmiştir [68].

Işık ve Sponza (2003), Türkiye'de tekstil endüstrisinde kullanılan iki azo boya olan Congo Kırmızısı (CR) ve Direkt Black 38'in (DB38) parçalanması için *E. coli* ve *Pseudomonas* sp.'nin fakültatif suşlarını kullanarak anaerobik ve aerobik şartlarda çalışmıştır. Mikroorganizmaları 5 gün boyunca 100 mg/L boya ve 1000 mg glikoz-

KOİ/L içeren numunede inkübe etmişlerdir. CR ve DB38 boyalarından meydana gelen renklerin, *E-coli* kullanılan anaerobik şartlarda, sırasıyla %98 ve %72; *Pseudomonas sp.* kullanılan anaerobik şartlarda ise sırasıyla %100 ve %83 verimle giderildiğini tespit etmişlerdir. Ancak, aerobik inkübasyon sonucunda renk giderimi olmadığı gösterilmiştir [68].

Chen ve ark. (1999), *Proteus mirabilis* kullanarak 100 mg/L boya derişiminde 20 saat içinde (Red RBN) kırmızı azo boyanın %95 civarında indirgendiğini bulmuşlardır [69].

Sani ve Banerjee (1999), gram pozitif bir bakteri olan *Kurthia sp.* kullanarak, Magenta, Crystal Violet ve Malaşit yeşili boyalarında %92-96 arasında renk giderimi elde etmişlerdir. Ayrıca, çalışmada KOİ için yüksek oranlarda giderim verimi (%56-85) gözlenmiştir [70].

Çetin ve Dönmez (2005) yapmış oldukları bir çalışmada, tekstil boya atıksularından izole edilerek melasda büyütülmüş karışık kültürlerle (*Synechococcus* ve *Gloecapsa* cinslerine ait termofilik siyanobakteriler ile *Phormidium*, *Oscillatoria* ve *Lyngbya* cinslerine ait filamentli termofilik fotosentetik siyanobakteriler) kesikli bir anaerobik sistemde tekstil atıksularından yüksek renk giderimi için optimum şartları belirlemişlerdir. Burada bulunan mikrobiyal biyokütle, düşük kapasite ile boya maddelerini parçalamakta ya da hücrelerinde biriktirilerek atıksulardan uzaklaştırmaktadır. Renk giderimi için optimum pH değeri bütün boya numuneleri için 8 olarak tespit edilmiştir. 24 saatlik inkübasyon süresi temel alınarak yapılan uygulamada, karışık kültürlerin en yüksek renk giderme oranı Reaktif Red RB için %94.9, Reaktif Black B için %91, Remazol Blue için %63.6 olarak bulunmuştur. 12 saat inkübasyon süresi ve 35°C'de Reaktif Red RB için renk giderimi %82-98 civarında elde edilmiştir. Çalışma ile anaerobik şartlar altında karışık kültürlerin atıksulardan reaktif boya gideriminde etkili olarak kullanılabileceği belirtilmiştir [71].

Karışık anaerobik bakteri topluluklarının kesikli denemelerde iki azo tekstil boyasının (mono azo boya ve diazo boya) renk giderimi üzerine etkileri laboratuvar ölçekli metanojenik havasız çamur yataklı reaktörde (HÇYR) araştırılmış ve başlangıç karbon kaynağı olarak asetat kullanıldığında 24 saat HBS'de her iki boya

için de %88'den daha yüksek giderim verimi elde edildiği tespit edilmiştir [72]. Kapdan ve Öztekin (2003), fakültatif anaerobik bakterileri (*Alcaligenes faecalis* ve *Commomonas acidovarans*) kesikli beslemeli reaktörde 1-5 mg/L aşırı konsantrasyonuyla kullanarak, Reaktif Orange 16 boyasının rengini oda sıcaklığında (19 °C) ve nötral pH'da %90 verimle gidermişlerdir. 50-300 mL/saat aralığında farklı debilerin, 50-600 mg/L arasında boya konsantrasyonlarının test edildiği çalışmada, 350 mg/L boya konsantrasyonu ve 200 mL/saat besleme debisinde en yüksek verimi belirlemişlerdir. Fakat KOİ'nin ortadan kaldırılma verimliliğinin düşük olduğu belirtilmiştir [73].

Işık ve Sponza (2004), pilot ölçekli HÇYR'de renk ve KOİ giderimi üzerine tuzluluk konsantrasyonunun etkisini araştırdıkları çalışmada, tuz konsantrasyonunun artmasının metan ve KOİ giderim verimini etkilediğini ancak, renk gideriminde olumsuz bir etki oluşturmadığını belirlemiştir. Çalışmada 20 saat HBS kullanılmış, tuzluluk konsantrasyonu artırıldığında KOİ giderim verimi %80'den %18'e düşerken renk giderimi %100 olarak gözlenmiştir [74].

Panswad ve Luangdilok (2000), tekstil atıksularından 4 farklı boyar maddenin (bisazo vinilsülfonil, anthraquinon vinilsülfonil, anthraquinon monoklorotriazenil ve oksazin) giderimi için anaerobik/aerobik AKR (ardışık kesikli reaktör) sistemini kullanmışlar ve 1000 mg KOİ/L karbon kaynağı ile 20 mg/L boyar madde konsantrasyonunu ilk üç boya için ortalama %64 civarında gidermişlerdir. Oksazin boyasının renginin güvenli bir şekilde tespit edilemediği çalışmada boya gideriminde anaerobik fazın etkili olduğu ifade edilmiştir [75].

Ertuğrul ve ark. (2008), termofilik siyanobakteriyel bir suş olan *Phormidium* sp. ile yapmış oldukları çalışmada Remazol Blue ve Reactive Black B ayrıştırma oranları belirlenmiştir. Termofilik koşullar altında yapılan bu deneyde pH 8,5'de, farklı konsantrasyonlarda bulunan boyalar (9,1 mg/L'den 82,1 mg/L'ye kadar), *Phormidium* sp. suşunun sabitlendiği kalsiyum alginat 45 °C'de yüksek derecede dekolorizasyon göstermiştir. Tüm boya konsantrasyonlarındaki verimlilik %50 ile %88 arasındadır. Deneyde kalsiyum alginata sabitlenen *Phormidium* mikroorganizmasının serbest haldeki *Phormidium*'a göre daha verimli olduğu tespit edilmiştir [76].

Khehra ve ark. (2004) ise yaptıkları bir çalışmada anaerobik-aerobik reaktör kullanılarak, Acid Red 88 (AR-88) azo boyasının ayrıştırılmasını çalışmışlardır. Kullanılan mikroorganizmalar tekstil atığı ile kirlenmiş bölgelerden izole edilmişlerdir. Bu suşların *Stenotrophomonas* sp., *Pseudomonas* sp. ve *Bacillus* sp. suşlarına ait oldukları tespit edilmiştir. Bu deneyde AR-88 azo boyasının anaerobik ortamda oluşan aromatik metabolitleri ise aerobik ortamda aromatik olmayan aminonaftaline transforme edilmiştir. KOİ ve renk ise sırayla %95 ve %98 oranlarında ortadan kaldırılmıştır. Çalışmada oksijenli arıtımda bakterilerin aktivitelerinin artırılması ile ilgili daha fazla çalışmaların yapılması gerektiği belirtilmiştir [77].

Tekstil atığı ile kirlenmiş ortamdan alınan suşlardan boyayı en iyi ayrıştıran bakterinin seçilmiş olduğu çalışmada fakültatif olarak büyüeyebilen *Aeromonas hydrophila* bakterisi kullanılmıştır. Bu bakteri en iyi dekolorizasyonu anaerobik ortamda gerçekleştirmiştir. Red RBN boyasının %90'ı pH 5.5-10.0 ve 20-30°C'de dekolorize uğramıştır. Ayrıca bu bakterinin karışık boya içeren besi ortamında ise 2 günde dekolorizasyon gerçekleştirdiği belirtilmiştir. Makalede azot kaynaklarının dekolorizasyonu attırdığı, glikozun ise anaerobik ortamda organik asite dönüşerek pH'ı düşürdüğü belirtilmiştir. Böylece bu durumun hücre büyümesini ve dekolorizasyonu arttırdığı belirtilmiştir [76].

2.4.2.1. Aktinomisetlerle boyar maddelerin ayrıştırılması

Aktinomisetler, çoğunlukla toprakta, kompostlarda ve su çevrelerinde bolca bulunan, lignoselülozik bitki atıklarını, tarımsal ve şehir atıklarını dekompoze eden geniş bir çeşitliliğe sahip mezofilik ve termofilik suşları olan mikroorganizmalardır. Aktinomisetlerin en önemli özellikleri antibiyotik üretme yeteneğine sahip olmalarıdır [78]. Aktinomisetler O, N ve S oksidasyonları ve O- ve N- dealkilasyon reaksiyonları gibi hidroksilasyonları katalizlerler [79]. Bakteriyel sitokrom P₄₅₀'nin bu reaksiyonların çoğunu katalizlediği tahmin edilmektedir [80]. Volatilizasyon, kompostlama proseslerinde belirli pestisitlerin uzaklaştırılmasının belirlenmesinde önemli bir metot olarak görülmektedir [81]. Aktinomisetler, özellikle streptomisetler lignin degradasyonunda rol alan ekstraselüler peroksidaz üretirler. Bu prokaryotik

peroksidaz, ligninin birincil oksidasyonunu sağlayarak suda çözünen çeşitli polimerik bileşenlerin üretimine katılır. Aktinomisetler ayrıca hidroksilasyon, oksidasyon ve dealkilasyon reaksiyonlarını katalizleme yeteneğine sahiptir [82].

Bir aktinomiset üyesi olan streptomisetler doğada geniş bir yayılma alanına sahiptir. Doğada, özellikle de karasal ortamlarda sayıca bol miktarda bulunurlar. Bu sayı saprofit organizmalar olmaları ile ilişkili olup, ortamdaki organik madde içeriğine bağlıdır. Bunun yanında streptomisetler, tatlı su ve deniz suyu ortamlarında da dağılım gösterirler. Araştırmacılar bu doğal ortamlardan sayısız streptomiset izole etmişlerdir [83].

Aktinomisetlerin tekstil boyalarının renklerini giderebilme yetenekleri ilk olarak 1989'da Ball ve arkadaşları tarafından çalışılmıştır. Aktinomisetlerin geniş bir tür aralığını kapsayan 20 suşunu araştırarak, onların Poly-R boyalarını renksizleştirme yeteneklerini saptamışlardır [84]. Bu çalışmada kullanılan 20 suştan sadece üçünün; *Streptomyces badius* 252, *Streptomyces* sp. EC22 ve *Thermomonospora fusca* MT800 polimerik boyayı tam olarak parçalayabilmiştir. Daha sonraları 1993'te Zhou ve Zimmermann 159 aktinomiset üzerinde çalışmış ve belirli derişimlere sahip farklı boyaları parçalayıp parçalayamadıklarını araştırmışlardır. Bu araştırmacılar yaptıkları tarama çalışmalarında kullanılan aktinomisetlerin azo bileşikli Reactive Red 147'den Fitalosiyanin Reactive Blue 116'ya kadar pek çok farklı boyayı çeşitli oranlarda renksizleştirbildiklerini gözlemlemişlerdir. Bu çalışma sonrasında 89 suшта pozitif sonuçlar elde etmişlerdir [85].

Pasti ve ark. 1991'de yaptıkları renk-giderim çalışmalarında termofilik *Streptomyces* suşları kullanılmıştır. Kùltürler 37 °C'de 15 gün boyunca çalkalamalı olarak inkübe edilmişlerdir. *Streptomyces* suşlarının delignifikasyon yeteneği ile Remazol Brilliant Blue R (RBBR), Poly B-411 ve Poly R-478 boyalarının bu suşlar tarafından renk-giderim ile ilişkisi çalışılmıştır. Fermantasyon esnasında lignoselüloz ağırlığındaki düşüş ile RBBR ve Poly B-411 boyalarının renk-giderimi arasında güçlü bir korelasyon olduğu belirtilmiş olup, ancak Poly R-478 ile bu korelasyonun daha düşük olduğu belirtilmiştir. Besi ortamına ilave edilen mısır koçanının ise bir suş hariç, diğer suşların renk-giderim yeteneğini arttırdığı gözlenmiştir. Bu üç boyanın ticari olarak elde edilmiş bayır turpu (horseradis) peroksidaz enzimi (HRP) ile

oksidasyonu *Streptomyces* suşlarının ürettiği peroksidazla analiz edilmesinin uygun olduğunu göstermiştir. Çalışmanın sonucunda ise RBBR ve Poly B-411 boyaalarının *Streptomyces* suşları tarafından üretilen peroksidaz enzimi için uygun substratlar olduğunu göstermişlerdir [86].

Burke ve Crawford (1998) streptomiset türlerinin gerçekleştirdiği boya dekolizasyonuna katılan peroksidaz sınıfını belirlemek amacıyla *S. viridosporus* T7A'nın ekstraselüler peroksidazını saflaştırmışlardır [87]. *S. viridosporus* T7A peroksidazının ise fungal Mn-peroksidaza benzer substrat spesifitesi gösterdiği, hem-peroksidazın inhibitörü olan potasyum siyanid ile inhibe olmadığı bulunmuştur [88]. Buna ek olarak, *S. viridosporus* T7A peroksidazının N-terminal aminoasit sekansı fungal Mn-peroksidaz ve aktinomiset kaynaklı selüloz ile homoloji göstermektedir. Daha sonra yapılan çalışmalar saflaştırılan peroksidazın biyokimyasal yapısını doğrulamaktadır. Bu peroksidazın katıldığı moleküler mekanizma ayrıca çalışılmış ve oksijen stresini regüle eden proteini kodlayan *oxyR* geninin düzenleyici rolü olduğu bulunmuştur [89].

Aktinomisetlerin polimerik bir boya olan Poly R ile ilgili renk-giderim çalışmasında *Streptomyces viridosporus*, *Streptomyces badius* ve *Thermomonospora mesophila* türleri en iyi suşlar olarak belirlenmişlerdir. Çalışmada maksimum dekolizasyon oranı 37°C'de, 0-48 saatte gerçekleşmiştir. Çeşitli lignoselülozik substratlı ortamda büyüyen mikroorganizmalardan alınan ekstraselüler fraksiyonların Poly R boyasını dekolize ettiğini ve bu molekülün kütesinin ise 30 kilodalton (kDa) olduğunu ve bu aktinomisetlerden ise en iyi dekolizasyon yeteneğinin *S. viridosporus* olduğunu belirtmişlerdir [90].

2.4.3. Boyar Maddelerin Renk-Giderimini Gerçekleştiren Enzimler

Birçok araştırmacı boyar maddelerin oksidatif yıkımının bazı indüklenmiş enzimlerle mümkün olabileceğini belirtmişler ve sentetik boyaaların renk-gideriminde pratik bir endüstriyel uygulama alanı olabileceğini göstermişlerdir [91-93]. Boyar maddelerin yapılarındaki aromatik ve fenollerin renk-giderimi, lignin peroksidaz, mangan peroksidaz ve lakkaz gibi enzimleri üreten ligninolitik aktiviteye sahip

mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilmektedir. Bunların dışında azo redüktaz enziminin de renk-giderimi yeteneğine sahip olduğu belirtilmiştir.

Boyaların mineralizasyonunu gerçekleştiren enzimlerle ilgili olarak yapılan çalışmalar bu prosesin bazı mikroorganizmaların ligninolitik enzimleri ile ilişkili olduğunu kanıtlamıştır. İlk olarak *Phanerochaete chrysosporium* fungusuna dayalı olarak başlayan enzim çalışmaları, ilgili enzimlerin odaklama kromatografisi (chromatofocusing) yöntemi ile ayrıştırılması ve saflaştırılması ile renk-giderim mekanizması çalışılmıştır. Optimum pH değerlerinde çeşitli enzimler gözlenmiştir. Yapılan bir çalışmaya göre ham enzim preparasyonlarının veya saflaştırılmış izoenzimlerin farklı boya yapılarına göre farklı verimliliklere sahip oldukları belirtilmiştir [94]. Bayır turpu peroksidazlarının, azo boyaların çökmesi ve dekompozisyonları için uygun pH'da iyi bir ayrıştırmaya sahip oldukları belirtilmiştir [79]. Biyoteknolojik uygulamalarda ise peroksidaz enzimlerinin, indirgeyici bir elektron vericisinin olduğu durumlarda ise oldukça geniş bir kullanım alanı bulabileceği vurgulanmaktadır. Lignin ayrıştırması ile ilgili olan mangan peroksidazın ve/veya lignin peroksidazın, sentetik boyaların oksidatif proseslerinde kullanılabilirliği ise birçok çalışmada gösterilmiştir. Bitkilerden elde edilen bayır turpu peroksidazı fenol gibi parçalanmaya dirençli bileşikleri ayrıştırabilmektedir. Bhunia ve ark. (2002) yaptıkları bir çalışmada HRP'nin Remazol Blue, Cibacron Red gibi boyar maddeleri parçaladığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmada, HRP aktivitesinin $\text{pH} \geq 6,0$ değerinde düştüğü, fakat pH değerinin azalmasıyla boyanın ayrıştırılmasının arttığı belirlenmiştir. HRP'nin Remazol Blue ve Cibacron Red boyalarını ayrıştırma oranı ise substrat olarak fenolün kullanıldığı deneye göre daha yavaş olduğu belirlenmiştir. HRP aktivitesinin ise boyanın çeşidine, pH değerine ve ortamdaki hidrojen peroksit (H_2O_2) oranına bağlı olarak değiştiği gösterilmiştir. Bu durum endüstriyel kullanımda sınırlamalar getirmektedir [92]. Yapılan bir çalışmada *Bjerkandera adusta* kaynaklı lignin peroksidazın azo boyalara ve fitalokyanin boyalara karşı düşük ayrıştırma sağladığı belirtilmiş olup, ortama veratril alkol eklendiğinde ise ayrıştırma verimliliğinin arttığı belirtilmiştir [95].

Benzer bir araştırmada ise, bir ligninolitik enzim olan lakkaz enziminin RBBR boyasını dekolorize edemediği, ancak ortama mediatör olarak violurik asit ilavesi ile ayrıştırmanın gerçekteştiği belirtilmiştir [96].

Young ve atk., (1997) azo, indigo, antrakinan ve metal-kompleks yapılar içeren boyaların dekolorizasyonunda beyaz çürükçül funguslar kullanmışlar ve oksidasyon prosesinin peroksidaz enzimleri ile gerçekteştiğini göstermişlerdir [97].

İlk ligninolitik peroksidazlar *Phanerochaete chrysosporium*'dan izole edilmiş ve LiP ve MnP olarak adlandırılmıştır [98,99]. Lignin peroksidazlar, veratril alkol gibi fenolik olmayan aromatik aminleri katalizlerler. MnP ise Mn⁺², Mn⁺³, oksitler ve Mn⁺³ birçok fenolik bileşiğin oksidasyonunda görev alır [100, 101].

Birçok araştırmacı *P. chrysosporium*'dan elde edilen LiP ve MnP'nın çok çeşitli ksenobiyotik bileşiğin ve boyar maddelerin ayrıştırılmasında rol aldığını gözlemlemiştir. İki azo boyar maddenin LiP tarafından parçalanmasını, reaksiyon karışımındaki veratril alkolün stimüle ettiği saptanmıştır [102].

Diğer taraftan Ollikka ve ark. (1993), *P. chrysosporium*'dan elde edilen LiP izoenzimlerinin değişik yapısal sınıflardaki boyar maddeler için özgülükler gösterdiğini saptamışlardır [94].

Mangan-bağımlı peroksidaz aynı zamanda lignin ve bir grup fenolik lignin model bileşiklerinin de hidrojen peroksit aracılığı ile oksidasyonunu ve depolimerizasyonunu katalizlemektedir. MnP, fenolik organo-kirletici substratlara ve azo-boyalara karşı da katalitik aktivite göstermektedir. MnP'nin aktivitesinin şekli, adından da anlaşılacağı üzere, mangan iyonlarının varlığına bağlıdır.

Tanınım olarak lakkazlar, her ne kadar gerçekte substrat özgülükleri çoğu kez oldukça geniş ve enzim kaynağına göre değişkenlik gösterse de (*p*-difenol:oksijen oksidoredüktaz; EC 1.10.3.2) *p*-difenollerin oksidasyonunu ve aynı zamanda meydana gelen dioksijenin suya indirgenmesini katalizlerler. Lakkazlar çok büyük bir çoğunlukla, 60 ile 80 kDa arasında değişen moleküler ağırlıkları ile bakır içeren ekstraselüler glikoproteinlerdir [103].

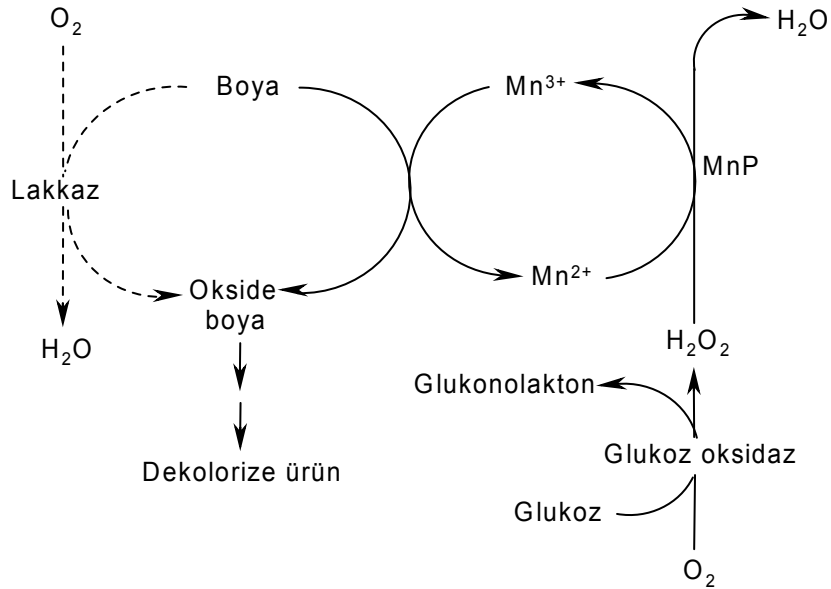
Lakkaz, bazı basidiomiset ve askomiset bireylerinde tesbit edilmiştir [103,104]. Çoğu beyaz çürükçül fungus, *P. chrysosporium* hariç olmakla birlikte, ekstraselüler lakkazlar üretirler. Bu enzimin lignin degradasyonuna [105, 106], fenolik bileşiklerin detoksifikasyonuna ve bazı klorofenolik bileşiklerin deklorize edilmesine karıştığına inanılmaktadır [107-108].

Bir çalışmada bitkilerden elde edilen ve lignin biyosentezini gerçekleştiren bayır turpu peroksidaz (HRP) enzimi, azo boyaların parçalanabilmesi için bir alternatif olarak gösterilmiştir. HRP, fenol içeren çeşitli aromatik bileşiklerin oluşturdukları serbest radikal bileşikleri katalizleyebilmektedir. Remazol Blue ile ilgili çalışmada degradasyonun gerçekleşmesi için büyük miktarda H₂O₂ gerekli olduğu tespit edilmiş ve boyada çökme ve degradasyon oranların enzim varlığında oldukça yükselmiş olduğu belirtilmiştir. Boya oranının da endüstriyel uygulamalarda enzim için önemli bir sınırlayıcı etken olduğu gösterilmiştir [109].

Irpex lacteus fungusu tarafından üretilen MnP enzimi ile sentetik boyaların degradasyonu ile ilgili çalışmada, sentetik boyaların ve manganezin MnP üzerine etkisi araştırılmıştır. 2,9 milimolar (mM) Mn(II) içeren besi ortamında çeşitli MnP izoenzimlerinin üretildiği gözlenmiştir. Çeşitli yapıdaki sentetik boyaların eklenmesiyle ise [Reactive azo orange (RO16), Remazol Brilliant Blue (RBBR) ve Bromophenol Blue (BPB)] yüksek miktarda Mn(II) bulunan fungal besi ortamında düşük pH'daki MnP izoenzimlerinin üretimini etkilediği belirlenmiştir. Çalışmada BPB boyasının yeni MnP izoenzimlerinin üretimini indüklediği tespit edilmiş ve bunun sonucunda bu enzimlerin RBBR boyasının daha iyi dekolorize edildiği belirtilmiştir. Besi ortamındaki Mn derişimlerine bağlı olarak boyaların üretilen izoenzimler üzerine etkisi oldukça farklı olmuştur. Bu nedenle degradasyonu etkileyen faktörlerin sadece degradasyon enzimleri değil, aynı zamanda boyaların da olduğu belirtilmiştir [110].

Trametes versicolor ATCC 20869 fungusu ile yapılan bir degradasyonda ise MnP ve lakkaz enzimlerinin üretildiği; ancak lignin peroksidaz, sellobiyoz dehidrogenaz ve mangana bağımlı olmayan peroksidazların yer almadığı bu çalışmada; saflaştırılan MnP ile Amaranth, Reactive Black 5 (RB5) ve Cibacron Brilliant Yellow boyalarının dekolorizasyona uğradığı, Remazol Brilliant Blue R

boyasının ise dekolorizasyona uğramadığı belirtilmiştir. Lakkaz enziminin ise RBBR boyasını en iyi parçaladığı, eklenen bir redoks mediatörünün (2,2-azino-bis) ise dekolorizasyon oranını arttırmadığı belirtilmiştir. Amaranth ve RB5 boya ları *orto* pozisyonunda hidroksil gruplar içerdiğinden ve azo bağıyla ilişkili *meta* pozisyonunda sülfonat grubu içerdiklerinden, MnP tarafından hızlı bir şekilde parçalanmışlardır. Aktivitedeki MnP/Lakkaz oranlarının ise 10/1 ve 20/1 arasında olduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada, Amaranth boyasının MnP tarafından parçalanmasının aynı boyanın lakkaz tarafından parçalanmasına göre 30-kat daha fazla gerçekleştiği belirtilmiş ve bu nedenle de dekolorizasyonda MnP'in daha etkili olduğu vurgulanmıştır (Şekil 2.1.) [111].



Şekil 2.1. *Trametes versicolor* ATCC 20869 suşu tarafından Amaranth boyasının dekolorizasyonunun önerilen mekanizması. Sürekli (—) ve kesikli (...) hatlar ise sırasıyla, lakkaz:MnP aktivitelerinin oranının 30:1'den az ve çok olduğu reaksiyonları temsil etmektedir. Lakkaz:MnP aktivite oranının 30:1'den az olduğu durumda, Amaranth boyasının dekolorizasyonunu gerçekleştiren esas enzim MnP olmaktadır [124].

Delignifikasyon aktivitesinden sorumlu enzimlerden biri olan lakkaz enzimi ile ilgili bir çalışma da *Trametes hirsuta* fungusunun kırpılmış-kâğıt kültürlerinde ve arpa kepeği ile desteklenmiş katı besiyeri ortamında, lakkaz aktivitesi ve boya dekolorizasyon yeteneği çalışılmıştır. Bu çalışmada, iki farklı yapıdaki İndigo

Carmine ve Lissamine Green B boyalarının kırılmış-kâğıt besiyeri ortamında daha verimli bir şekilde parçalandığı belirtilmiş, farklı olarak lakkaz enziminin pH 7'den daha yüksek bir değerde de dekolorizasyon yeteneğine sahip olduğuna dikkat çekilmiştir [112]. Daha önceki çalışmalarda örneğin; Remazol Blue R sentetik boyasının *Plerotus ostreatus* fungusundan elde edilen lakkaz izoenzimleri ile asidik ortamda degrede olabildiği belirtilmiştir [113]. Daha başka bir çalışmada ise Remazol Blue R boyasının pH 4-6'da lakkaz ile verimli bir şekilde dekolorize edildiği, pH \geq 7'de ise hiçbir dekolorizasyon aktivitesinin gerçekleşmediği belirtilmektedir [114].

Boya dekolorizasyonu ve ekstrasellüler enzimlerin üretimine besi ortamındaki bileşenlerin etkisi ile ilgili bir çalışmada ise *Lentinus edodes* fungusu kullanılmıştır. Besi yerinde kullanılan farklı karbon kaynakları (amonyum klorid, pepton ve malt ekstrakt) Lakkaz ve MnP enzimlerinin üretimini arttırmakla kalmayıp, aynı zamanda dekolorizasyonu da etkilediği belirtilmiştir. Örneğin 8 mM Azot bulunan ortamda, MnP enziminin üretimi, ayrıca bu enzimin Poly R-478 ve Orange II boyalarının dekolorizasyonunu inhibe ettiği de gösterilmiştir. Ortama eklenen meşe talaşı ve buğday samanı MnP üretimini arttırmış olduğu gözlenmiştir [115].

Streptomyces psammoticus MTCC 7334 suşundan elde edilen, ekstrasellüler bir enzim olan lakkaz ve enzimin üretiminde etkilendiği proseslerin çalışıldığı makalede kahve hamuru ve maya ekstraktı en iyi substratlar olarak belirtilmiştir. Çalışmada pirogallol ve *para*-anisidin bileşenlerinin bakteride lakkaz üretimini arttırdığı ve 10 günlük çalkalamalı inkübasyonda RBBR boyasının %80 oranında parçalandığı belirtilmiştir [116].

3. MATERYAL ve METOT

3.1. MATERYAL

3.1.1. Kimyasallar ve Proteinler

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar, aksi belirtilmediği sürece, Sigma (Sigma Chemical Co., St. Louis, USA) ve Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) firmalarından ve mevcut olan en yüksek saflık derecesinde temin edilmiştir.

3.1.2. Kullanılan Mikrobiyal Suş

Çalışmada kullanılan HF85 izolatu, topraktan izole edilen izolatlar arasından amaca uygun olarak gerçekleştirilen tarama deneyleri sonucunda seçilmiştir.

3.1.3. Cam Malzemeler

Kullanılan bütün cam malzemeler deterjanla yıkandıktan sonra, önce şehir şebeke suyu ile birkaç kez durulanmış ve ardından son bir defa da distile su ile durulanarak kullanıma hazır hale getirilmiştir. Besiyeri içeren erlenler otoklavda 121 °C’de 0,124 MPa basınç altında 15 dk süre ile steril edilerek kullanılmıştır. Katı besiyerleri için kullanılan petri kapları ise besiyeri dökülmeden önce Pasteur fırınında 200 °C’de 2 saat süre ile steril edilmişlerdir.

3.1.4. İnkübatörler

HF85 izolatının kültürünün yapılması amacıyla kullanılan katı ortamların inkübasyonu, Nüve marka EN400 model (Nüve Sanayi Malzemeleri İmalat ve Ticaret A.Ş., Ankara, Türkiye) bir inkübatör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mikroorganizmanın oksijen ile temasını için kullanılan sıvı kültür ortamlarının inkübasyonunda ise J.P. Selecta marka Rotabit model (J.P. Selecta, Barcelona, İspanya) orbital çalkalamalı inkübatör kullanılmıştır.

3.1.5. Santrifüjler

HF85 izolatının kültür sıvısından biyomasın ayrılarak süpernatant sıvısının elde edilmesi sırasındaki santrifüjleme işlemlerinde Eppendorf marka 5804 model (Eppendorf, Hamburg, Germany) bir santrifüj kullanılmıştır.

3.1.6. UV/Visible Spektrofotometre

Drimaren Blue CL-BR reaktif boyasının çalkalamalı HF85 kültürleriyle inkübasyonu sonucunda gerçekleşen dekolorizasyon oranlarının ölçülmesinde dalga boyu taramaları ve absorbans değerlerinin elde edilmesi için Perkin Elmer marka Lambda EZ 210 serisi bir UV/Visible spektrofotometre (Perkin Elmer Instruments, Norwalk, USA) kullanılmıştır.

3.1.7. pH Metre

Hazırlanan besiyerlerinin, tamponların ve çözeltilerin pH'sı Hanna marka HI 2210 model (Hanna Instruments, Washington, ABD) pH ölçerle hesaplanmıştır.

3.1.8. Kullanılan Bilgisayar Yazılımları

Tez hazırlanırken metin düzenleyicisi olarak Word (v12, Microsoft Corporation, Washington, ABD) yazılımları kullanılmıştır. Çalışmalar sırasında elde edilen verilerin grafiklere dönüştürülmesi için ise Excel (v12, Microsoft Corporation, Washington, ABD) yazılımlarından yararlanılmıştır.

3.2. METOT

3.2.1. HF85 İzolatının Kültürü ve Muhafazası

HF85 izolatı, izole edildikten sonra ISP4 katı besi yeri üzerine ekimleri yapılarak 72 saat 30 °C'de inkübe edildi. Daha sonra 3 °C'de muhafaza edilerek belirli periyotlarla suşlar yenilendi. %20 gliserol içerisinde -50°C'de, sporelerden oluşan bir süspansiyon halinde muhafaza edilmişlerdir.

A. Katı Besiyerleri

ISP4 (Inorganic salts-starch agar) besiyerinin bileşimi:

K ₂ HPO ₄	1 g.
MgSO ₄ 7H ₂ O	1 g.
NaCl	1 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g.
CaCO ₃	2 g
İz element solüsyonu	1 mL.
Distile su	1 L
Nişasta solüsyonu (%2 w/v)	500 mL
Agar	20 g.
Distile su	500 mL

İz element solüsyonu:

FeSO ₄ 7H ₂ O	0,1 g
MnCl ₂ 4H ₂ O	0,1 g
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,1 g.
Distile su	100 mL.

Besiyeri otoklavlamadan önce, NaOH ve HCl (1M) kullanılarak pH 7,0'ye ayarlanmıştır.

B. Sıvı Besiyeri (MS-YEM)

HF85 izolatının sıvı besiyerlerinde üretimi ve Drimaren Blue CL-BR reaktif boyasının dekolorizasyonunu sırasında erlenler kullanılmıştır. 250 mL hacme sahip erlenler için 50 mL, 100 mL hacimli erlenler için ise 20 mL besiyeri kullanılmıştır. Her deney grubu için tek tip erlen kullanılmıştır. 10 günlük inkübasyonlar sırasında 250 mL'lik erlenler kullanılırken, 5 günlük inkübasyonlar için 100 mL'lik erlenler tercih edilmiştir. Sıvı kültürler için kullanılan besiyerinin bileşimi:

Drimaren Blue CL-BR	100 mg
Maya ekstraktı	6 g.
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,1 g.

NaCl	0,3 g.
MgSO ₄ 7H ₂ O	0,1 g.
CaCO ₃	0,02 g
İz element solüsyonu	1 mL
Distile su	1 L

Karbon ve enerji kaynağı olarak Drimaren Blue CL-BR reaktif boyasına ilaveten, ilave karbon ve enerji kaynağının dekolorizasyon üzerine olan etkisini belirlemek amacıyla kültür ortamına öğütülmüş buğday, mısır samanı ; kavak, meşe talaşı ve muz yaprağı [%1 (w/v)] ilave edilmiştir.(1 L besiyerine 10 gr eklendi.)

İz element solüsyonu:

FeSO ₄ 7H ₂ O	1 g
ZnSO ₄ 7H ₂ O	0,9 g
MnSO ₄ 7H ₂ O	0,2 g.
Distile su	1 L.

Besiyeri otoklavlamadan önce, NaOH ve HCl (1M) kullanılarak pH 7,0'ye ayarlanmıştır.

3.2.2. Substratların Hazırlanması

Substratlar, blender ile iyice parçalanarak toz haline getirildikten sonra 500 µm por çapına sahip laboratuvar eleğinden geçirilerek (Alfa Laboratuvar Malzemeleri, Ankara, Türkiye) mümkün olduğunca küçük partikül yapısına sahip olan saman ve talaş partikülleri kullanılmıştır.

3.2.3. İnokulum Hazırlanışı

HF85 izolatının geliştirildiği agarlı besiyeri üzerinden öze ile alınan biyokütle 10 mL steril fizyolojik tuzlu su (%0,9 NaCl) içerisine karıştırılmış, aseptik koşullar altında solüsyonları hazırlanmış ve bu solüsyon inokulum olarak kullanılmıştır. Hazırlanan bu inokulum solüsyonu her bir erlene, erlendeki besiyeri hacminin %2'sine denk gelen hacim kadar ilave edilmiştir. İnokulasyondan sonra kültürler 30°C'de amaca uygun olarak 10 gün süre ile 150 rpm'de inkübe edilmiştir.

3.2.4. Drimaren Blue CL-BR Renk Gideriminin Büyüme Döngüsü İle Olan İlişkisi

Bu çalışmada kullanılan HF85 izolatu tarafından sıvı besiyerinde bulunan Drimaren Blue CL-BR reaktif boyasının renk gideriminin büyüme döngüsüne bağlı olarak nasıl değişim gösterdiğini belirlemek için, organizmalar karbon ve enerji kaynağı olarak yalnızca Drimaren Blue CL-BR reaktif boyası içeren MS-YEM sıvı besiyerinde; ya da Drimaren Blue CL-BR boyasının yanı sıra ilave karbon ve enerji kaynağı olarak arpa samanı (%1, (ağırlık/hacim) w/v), buğday samanı (%1, w/v), muz yaprağı samanı (%1, w/v) meşe ve kavak talaşı (%1, w/v) ile desteklenen MS-YEM sıvı besiyerinde, 30 °C'da, 10 gün boyunca, çalkalamalı (150 rpm) olarak inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresince, 24 saat aralıklarla sıvı kültürlerden alınan örnekler Drimaren Blue CL-BR dekolorizasyon oranının belirlenmesinde kullanılarak, organizmaların büyüme döngüsü boyunca dekolorizasyon verimlilikleri belirlenmiştir. Kontrol olarak ise tüm besiyeri bileşenlerini içeren, fakat mikrobiyal izolatla inoküle edilmemiş olan kültürler kullanılmıştır. Tüm çalışmalar üçer tekrarlı olarak yapılmış ve tekrarlamalı sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.

3.2.5. Drimaren Blue CL-BR Renk Giderim Oranının Belirlenmesi

Drimaren Blue CL-BR reaktif boyası içeren veya ilave karbon ve enerji kaynağı olarak Drimaren Blue CL-BR boyasına ilaveten arpa, buğday veya muz yaprağı samanı, meşe veya kavak talaşı içeren kültür ortamlarından 24 saat aralıklarla 1'er mL kültür sıvısı alınmıştır. Biyomas içeren bu kültür sıvıları 10.000 g'de 5 dk. süreyle santrifüjlenerek katı partiküllerden ve hücre kalıntılarından arındırılmıştır. Elde edilen kültür sıvılarındaki Drimaren Blue CL-BR reaktif boyasının dekolorizasyon oranını belirlemek amacıyla, kültür sıvılarının 593 nm'deki absorbans değerleri (A_{593}) spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

3.2.6. Farklı Karbon Kaynaklarının Boya Giderimi Üzerine Olan Etkisi

Bu çalışmada kullanılan HF85 izolatu tarafından boya dekolorizasyonu üzerine farklı karbon ve enerji kaynaklarının etkilerini belirlemek amacıyla organizmalar, %1 (w/v) arpa samanı veya öğütülmüş buğday samanı, %1(w/v) meşe

veya kavak talaşı, %1 (w/v) muz yaprağı samanı içeren sıvı MS-YEM besiyerlerinde 30 °C’de, 10 gün, 150 rpm’de inkübe edilmişlerdir. Bu çalışmalar ile organizmaların dekolorizasyon aktivitelerinin maksimuma ulaştığı inkübasyon süresinin belirlenmesi amaçlanmıştır. İnkübasyon süresi boyunca 24 saat aralıklarla farklı karbon kaynaklarının olduğu sıvı kültürlerden alınan örnekler spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve farklı karbon kaynaklarının dekolorizasyon üzerine etkisi tespit edilmeye çalışılmıştır. Tüm çalışmalar üçer tekrarlı olarak yapılmış ve tekrarlamalı sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.

3.2.7. İnkübasyon Süresinin Renk Giderimi Üzerine Etkisi

Bu çalışmada kullanılan Drimaren Blue CL-BR boyasının HF85 izolatu ile günlük olarak dekolorizasyon ilişkisinin belirlenmesi amacıyla, boya içerene sıvı besiyerine inoküle edilen mikroorganizmaların inkübasyonuna 10 gün boyunca devam edilmiştir. 10 Günlük inkübasyon periyodu boyunca, 24 saat aralıklarla alınan sıvı kültür örneği ise spektrofotometrik olarak incelenmiştir.

3.2.8. Kültür pH’sının Renk Giderimi Üzerine Olan Etkisi

HF85 izolatu tarafından gerçekleştirilen renk giderimi üzerine, kültür pH’sının etkisini belirlemek için organizmalar, pH değerleri 5,0-9,0 arasında değişen, karbon ve enerji kaynağı olarak sadece Drimaren Blue CL-BR’nin (% 0,01 w/v) içeren MS-YEM sıvı besiyerinde, 30 °C’de 120 saat süreyle, 150 rpm’de inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon süresinin sonunda sıvı kültürlerden alınan örnekler, renk yoğunluğu bakımından spektrofotometrik olarak analiz edilmiştir. Tüm çalışmalar üçer tekrarlı olarak yapılmış ve tekrarlamalı sonuçların aritmetik ortalamaları alınmıştır.

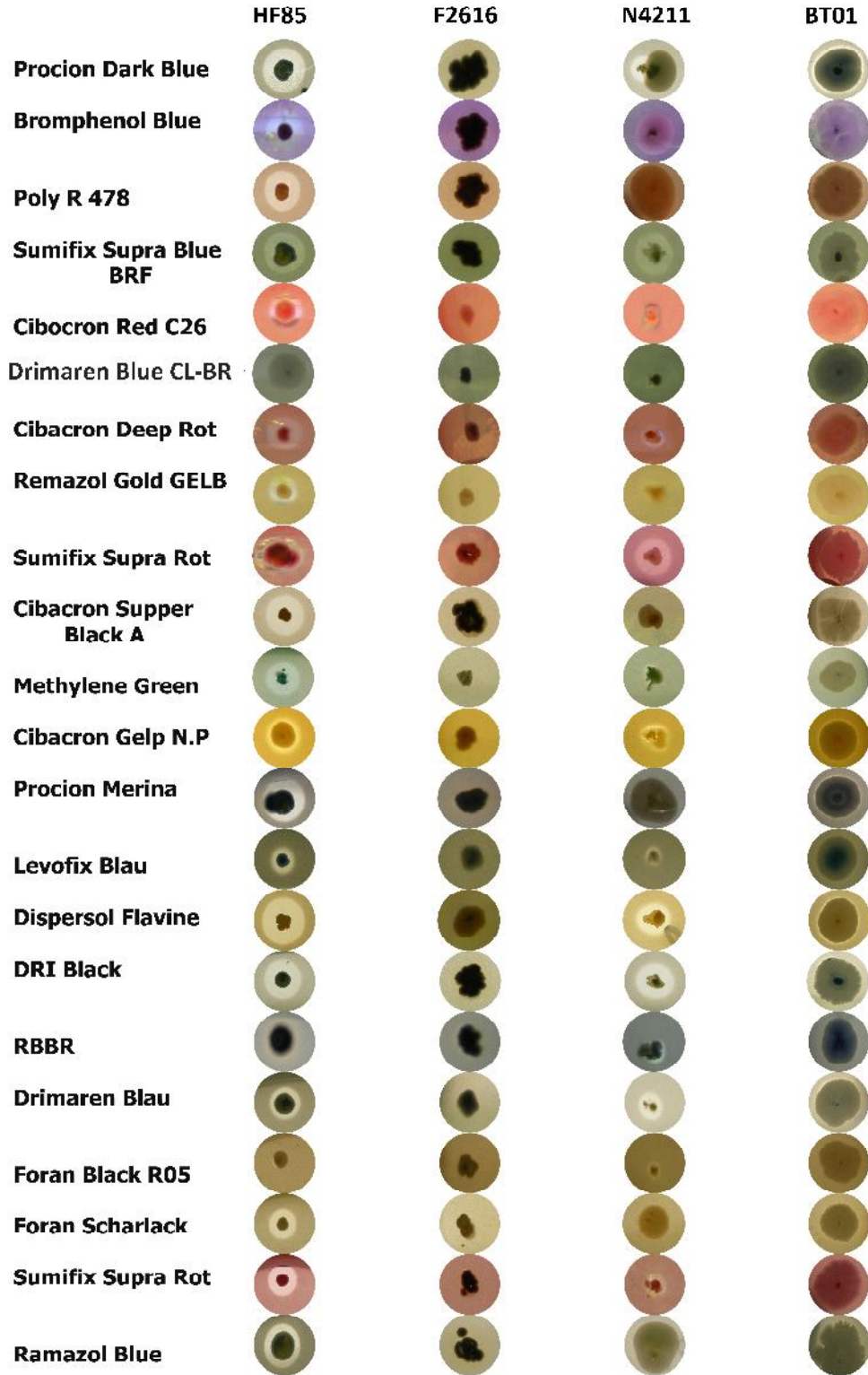
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. DRİMAREN BLUE CL-BR RENK GİDERİMİNİ GERÇEKLEŞTİREN SUŞLARININ SEÇİMİ.

Yapılan çalışmada öncelikle 50 adet Actinobacteria üyesi olan *Streptomyces* sp. suşlarının ve topraktan izole edilen suşların 22 farklı tekstil boyasını içeren katı besi yeri üzerindeki büyüme, absorpsiyon ve renk giderim yetenekleri incelenmiştir. Kullanılan tekstil boyaalarının renk giderimleri ise farklı boyalar ve farklı suşlar tarafından gerçekleştirilmiştir. İzole edilen suşların renk giderim potansiyelleri %0,01'lik boya içeren katı besiyerine nokta ekim yapmak suretiyle araştırılmıştır. Suşlar arasında en iyi sonuç veren 4 izolatin 22 farklı boya için katı besiyerinde oluşturdukları hidroliz zonu karşılaştırılmıştır. Katı besiyerleri üzerindeki büyüme, absorpsiyon ve renk giderim aktivitelerine bağlı olarak seçilen suşlar (Şekil 4.1), aynı tekstil boyaalarını içeren sıvı kültürlerle alınmış ve buradaki renk giderim aktiviteleri belirlenmiştir. Karşılaştırma sonucunda en iyi sonuç veren HF85 izolatu boya içeren sıvı kültürlerle aktarılmış ve bu çalışmada kullanılmak üzere seçilmiştir. HF85 izolatının 22 farklı boya üzerine parçalayıcı etkisi 10 gün boyunca düzenli olarak spektrofotometrik ölçümlerle takip edilmiştir. Daha sonra çalışmada kullanılmak üzere belirlenen Drimaren Blue CL-BR üzerinde, HF85 izolatu ile optimizasyon çalışmaları yapılmıştır (Şekil 4.2).



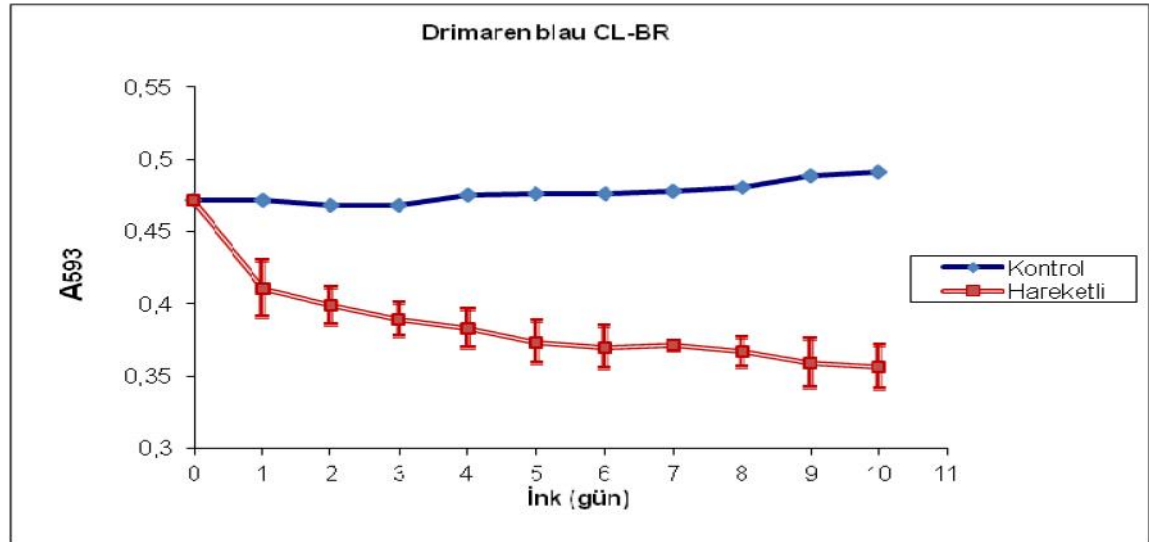
Şekil 4.1: A: Drimaren Blue CL-BR (Kontrol), B: Drimaren Blue CL-BR (10.gün), C: Poly R 478 (Kontrol), D: Poly R 478 (10. gün), E: Methylene Green (Kontrol), F: Methylene Green (10. gün), G: Procion Marina (Kontrol), H: Procion Marina (10. gün), I: Cibacron Ret C2G (Kontrol), J: Cibacron Ret C2G (10. gün).



Şekil 4.2. Çalışmada denenen tekstil boyalarını içeren katı besiyeri üzerinde en aktif HF85, F2616, N4211 ve BT01 izolatlarının büyümesi ve oluşturdukları zonlar.

4.2. İNKÜBASYON SÜRESİNİN RENK GİDERİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Bu çalışmada öncelikle toprak kaynaklı olan mezofilik HF85 izolatu tarafından fenolik bir yapıya sahip olan Drimaren Blue CL-BR boyar maddesinin renginin giderilmesi ile mikroorganizmaların büyüme döngüleri arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla, boya içeren sıvı besiyerlerinde mikroorganizmaların 10 günlük inkübasyonları gerçekleştirilmiştir. 10 Günlük inkübasyon periyodu boyunca, 24 saat aralıklarla alınan sıvı kültür numuneleri ise renk yoğunluğunun kaybolup kaybolmadığını belirlemek için analize tabi tutulmuştur (Şekil 4.3). Kültür sıvısından alınan numunelerin renk yoğunlukları spektrofotometrik olarak Drimaren Blue CL-BR'in maksimum absorpsiyon gösterdiği 593 nm dalga boylarındaki absorpsiyonlarının belirlenmesi ile ölçülmüştür.



Şekil.4.3: HF85 izolatının 10 günlük inkübasyon süresince göstermiş olduğu renk giderim aktivitesi.

Karbon ve enerji kaynağı olarak sadece polimerik bir boya olan Drimaren Blue CL-BR'in varlığında, HF85 izolatu normal gelişimlerini göstererek inkübasyon süresinin 5. gününde maksimum biyokütleyle ulaşmıştır (Şekil 4.4). Renk gideriminin özellikle HF85 izolatının büyüme döngüsünün ekponansiyel büyüme fazına denk gelmesi, büyüme fazının sona ermesi ile birlikte durgun ve ölüm fazları boyunca görülen renk giderimlerinin de kararlı bir şekilde sabit kaldığı görülmektedir. Renk

giderimlerinin özellikle eksponansiyel büyüme fazında meydana gelmesi ise çalışmada kullanılan HF85 izolatının boyar maddenin dekolorizasyonundan sorumlu olan metabolik sistemlerinin birincil metabolizmada rol aldığına işaret etmektedir. Organizmaların büyümeleri sırasında gerekli olan enerjinin ve karbonun temin edilebilmesi için gerekli olan metabolik yollar çalıştırılarak yapısal enzimlerin üretilmesi sonucunda boyar maddenin parçalanması gerçekleştiriliyor olabilir. HF85 izolatı ise büyüme fazlarının sonuna ulaşmış, durgun faza geçtiklerinde ise daha fazla enzim üretilmediklerinden boyar maddenin daha fazla parçalanması gerçekleştirilemediği tahmin edilmektedir.



Şekil.4.4. HF85 izolatının 10 günlük inkübsasyon süresince göstermiş olduğu renk giderim aktivitesinin göreceli (%) verimliliği.

On günlük inkübasyon sonunda elde edilen grafiklerden de görüldüğü üzere (Şekil 4.3), Drimaren Blue CL-BR'in biyolojik olarak renk gideriminin en yüksek olduğu periyot HF85 izolatının büyüme döngüsünün eksponansiyel fazında gerçekleşmiştir. Absorbanstaki azalışın maksimum olduğu aralık; 3. ve 5. günler arasındadır. Absorbanstaki azalışın minimum olduğu aralıklar ise büyüme döngüsünün durağan fazında gerçekleşmiş olup, bu 6-8. günler arasındadır.

Başlangıçta 593 nm'deki absorbans 0,472 iken (%100) 10. gün sonunda 0,361'e (%76) düşmüştür. İnkübasyonun sıfırıncı anındaki absorbans %100 olarak kabul edilmiştir. Boyanın renk gideriminin inkübasyon süresine göre en verimli olduğu aralık ise inkübasyonun 0-5. günleri arasında olup, 5. günün sonundaki renk giderim verimi %24 olarak hesaplanmıştır.

Pasti ve Crawford [86], *Streptomyces* ile yaptıkları çalışmada Remazol Brilliant Blue R, Poly-B411 ve Poly-R478'i dekolorize etmişlerdir. Elde ettikleri verileri *P. chrysosporium* ile kıyasladıklarında, *Streptomyces* suşların boyaları parçalamada funguslar kadar başarılı olmadıklarını saptamışlardır. Bu çalışma esnasında boyaların (RBBR ve Poly-B411) ve lignoselülozun parçalanması arasında bir korelasyonun olduğu gözlenmiştir. Lignoselülozun degradasyonunun daha fazla olduğu *Streptomyces* suşlarıyla yapılan çalışmada renk gideriminin daha etkili şekilde gerçekleştiği gözlenmektedir [86].

Poly-R478'in parçalanması ile lignoselüloz degradasyon aktivitesi arasında çok zayıf bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda aynı açıklama, Ball ve ark. [84] tarafından *Streptomyces badius* 252 için yapılmış ve Poly-R dekolorizasyonu ile ligninolitik aktivitesini ölçmek amacıyla kullanılan yöntemlerin (veriatril alkol ile oksidasyon, şirincik veya kumarik asit kullanımı) hiçbiri arasında korelasyon bulunmadığı saptanmıştır [84].

Pasti ve Crawford [86], bir çalışmada kara turp peroksidaz (HRP) tip-2 ile Poly-R478'i inkübe ettiği zaman, RBBR ve Poly-B411'in aksine hiçbir şekilde dekolorizasyonun gerçekleşmediğini gözlemişlerdir. Aynı zamanda Mn(II) peroksidazın da bu boyayı minimum koşullarda parçaladığı belirlenmiştir [86].

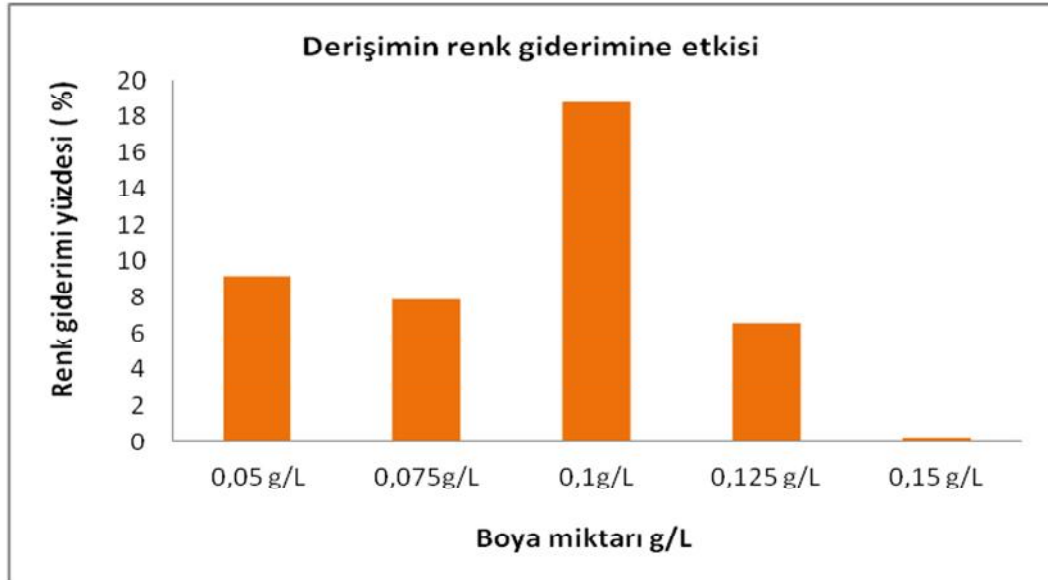
Barbosa ve Hardy [117], 3 askomiset; *Aspergillus* sp., *Botryosphaeria* sp. ve *Conichaeta* sp. ile yaptıkları çalışmalarda ise her üç organizmanın da %0,01 (w/v) Poly-R478'i inkübasyonun 4. gününde tamamen dekolorize ettiklerini saptamışlardır. Bütün funguslar, ilk olarak boyayı misellerine adsorbe etmişler ve daha sonra tamamen parçalamışlardır. *Aspergillus* sp. izolatları ile yapılan bir çalışmada ise bu izolatların Poly-R478'i dekolorize ederken lakkaz, MnP veya LiP üretmedikleri,

dolayısı ile boya dekolorizasyonu ile ligninin parçalanması arasında bir korelasyonun bulunmadığı rapor edilmiştir.

4.3. BOYA MİKTARININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Çalışmada kullanılan HF85 izolatı ile Drimaren Blue CL-BR'in renginin giderilmesinin üzerine boya miktarının etkisinin belirlenmesinde, karbon ve enerji kaynağı olarak Drimaren Blue CL-BR boyası miktarı 0,05 g/L ile 0,15 g/L arasında ayarlanarak incelenmiştir (1 g Drimaren Blue CL-BR boyası 10 mL distile su ile karıştırılarak hazırlanmış ve stok olarak kullanılmıştır). Drimaren Blue CL-BR MS-YEM besiyeri büyüme ortamı olarak kullanılmış ve inkübasyon 30°C sıcaklıkta, 150 rpm'de, 120 saat süreyle gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmalar sırasında kullanılan HF85 izolatı, en yüksek dekolorizasyon aktivitesini 0,1 g/L derişim değerinde göstermiştir (Şekil 4.5). Boya miktarının 0,1 g/L olduğu koşullarda renk gideriminin inkübasyonun 5. gününde % 19 olduğu tespit edilmiştir. (Şekil 4.5).



Şekil 4.5: Boya derişiminin renk giderimi ile ilişkisi.

Dekolorizasyon seviyesinin 0,05g/L ve 0,075g/L değerlerinde düşük çıkmasının karbon kaynağı olarak kullanılan Drimaren Blue CL-BR boyasının yetersiz olduğundan meydana geldiği tahmin edilmektedir. Diğer taraftan 0,125g/L ve 0,150g/L değerlerinde de dekolorizasyon seviyesinin düşük çıkmasının sebebinin Drimaren Blue CL-BR boyasının miktarının fazla olmasından kaynaklı olarak toksik etki yarattığı düşünülmektedir.

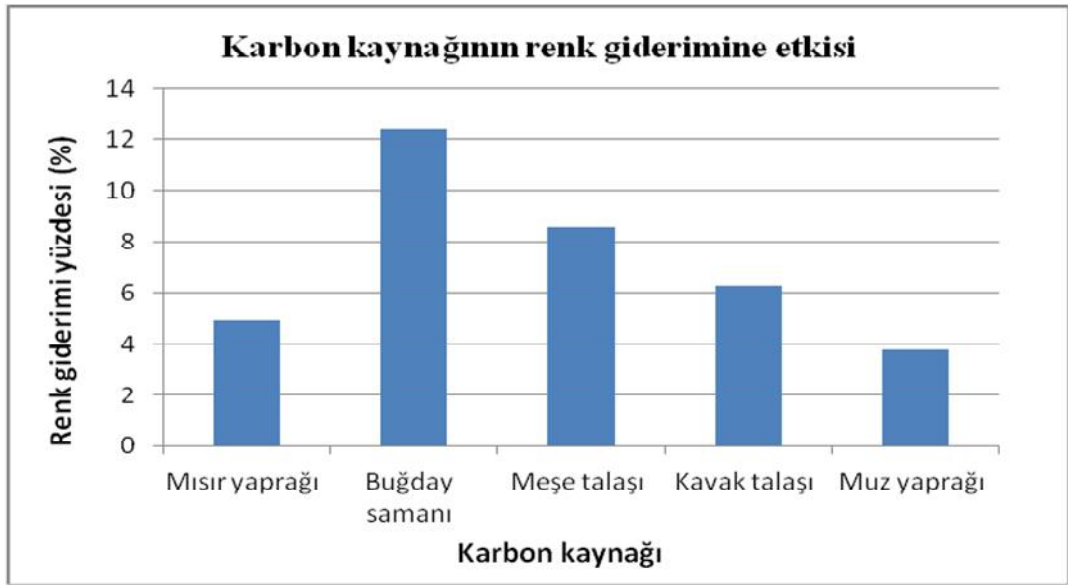
Kolekar ve ark. [118] tarafından en yüksek renk giderimi inkübasyonun 6. gününde besiyerindeki boyanın başlangıç derişiminin 0,5 g/L olduğu koşullarda elde edilmiştir. Bu oran Tripati ve ark. [119] tarafından 0,1 g/L, Moosvi ve ark. [120] tarafından 100 ppm, olarak tespit edilmiştir. Saratale ve ark [121] ise optimum başlangıç boya derişiminin belirlenmesi ile ilgili çalışmalarında en iyi sonucu 50-150 mg/L olarak tespit etmişlerdir.

4.4. FARKLI KARBON KAYNAKLARININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Farklı karbon kaynaklarının renk giderimi üzerine olan etkisini araştırmak için, karbon ve enerji kaynağı olarak Drimaren Blue CL-BR boyasına ilaveten öğütölmüş buğday ve arpa samanı, meşe ve kavak talaşı ve muz yaprağı samanı (10 g/L) ayrı ayrı hazırlanarak sıvı MS-YEM besiyeri kullanılmıştır. Karbon kaynaklarına ilaveten Drimaren Blue CL-BR boya maddesi içeren sıvı besiyerine organizma inoküle edilerek, 30 °C sıcaklıkta, 150 rpm'de çalkalamalı olarak 120 saat boyunca inkübe edilmişlerdir. 120 saat sonunda alınan sıvı kültür numuneleri ile renk yoğunluğunun kaybolup kaybolmadığı alınan numunelerin 593 nm dalga boyundaki absorbansların belirlenmesi ile ölçölmüştür.

Lignoselöloz olarak öğütölmüş farklı karbon kaynakları kullanılarak yapılan indökleme çalışmaları sırasında bunlar içerisinde en yüksek renk giderim aktivitesi, %12 ile buğday samanı , bunu takiben %9 ile meşe talaşı , %6 ile kavak talaşı, %5 ile mısır yaprağı samanı ve %4 ile muz yaprağı samanı takip etmiştir (Şekil 4.6). Organizmanın karbon ve enerji kaynağı olarak sadece Drimaren Blue CL-BR boyasını kullandığı besi yerinde renk gideriminin %25 olmasına rağmen farklı

karbon kaynaklarının ilave edilmesi sonrası en fazla renk gideriminin %12 ile buğday samanı olan besiyerinde görülmesi ek karbon kaynaklarının renk giderimini negatif yönde etkilediğini göstermektedir. Bunun sebebi olarak da organizmanın besin ve karbon kaynağı olarak Drimaren Blue CL-BR boyasını değil de ilave karbon kaynaklarını kullanmasından dolayı olduğu tahmin edilmektedir. Buradan da anlaşıldığı üzere farklı karbon ve enerji kaynaklarının HF85 suşu ile Drimaren Blue CL-BR boyasının renk giderimi için kullanışlı olmadıkları tespit edilmiştir.



Şekil 4.6: Farklı karbon kaynaklarının renk giderimine etkisi.(10g/L)

Tekstil atığı giderimi ile ilgili birçok çalışma, biyolojik arıtım muamelesinin birçok dış parametreden etkilendiğini kanıtlamaktadır. Ortamın oksijen seviyesi, sıcaklık, sistemin redoks potansiyeli ve pH, boya renginin indirgenmesinde önemli dış faktörlerdendir. Elektron verici derişimi ve redoks mediatörü sistemdeki biyomas ve boya miktarı ile dengede olmalıdır. Saydığımız bu etkenlerin hepsi boya indirgenmesine hız veren ya da redüksiyonu inhibe eden faktörler olabilmektedir [122].

Penicillium sp. fungusları ile yapılan degradasyon çalışmasında dört farklı abiyotik ajan kullanılmıştır. Şekerkamışı melası, talaş, pirinç samanı ve kömürün kullanıldığı çalışmada *Penicillium commune*, *P. fregii*, ve *P. alli* funguslarının Direk

Violet boyasını sırayla %96, %64 ve %65 oranında dekolorize ettiği ve abiyotik ajan olarak pirinç samanının varlığında, melas ve talaş atığına göre daha etkili bir renk giderimi olduğu sonucuna varılmıştır [123].

Al-Duri ve arkadaşlarının Basic Blue 69 ve Acid Blue 25 boyalarının tekstil atığı içerisinde arıtılması için aktive edilmiş karbon kaynağı yerine şeker kamışı melası kullanılmasının daha avantajlı bir yöntem olduğu belirtilmiştir [124]. El-Geundi ve arkadaşlarının yapmış oldukları başka bir çalışmada ise renk gideriminde karbon ilavesi olarak zirai atıklardan mısır koçanı ve arpa atığının renk gideriminde kullanılabilmesi belirtilmiştir [125]. Bizim çalışmamızda ise en iyi renk giderimi karbon kaynağı olarak sadece boya kullanıldığında elde edilmiştir. İnkübasyon süresince HF85 izolatu boyanın yapısındaki aromatik halkaları kırarak karbon kaynağı olarak kullanmış olabileceği düşünülmektedir.

4.5. İNKÜBASYON SICAKLIĞININ RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Farklı inkübasyon sıcaklığının renk giderimi üzerine olan etkisini araştırmak için, karbon ve enerji kaynağı olarak Drimaren Blue CL-BR boyası ile hazırlanarak sıvı MS-YEM besiyeri kullanılmıştır. Kullanılan bu besiyeri 20-60 °C arasında 5 farklı sıcaklık değerinde sıvı besiyerine organizmalar inoküle edilerek, 150 rpm'de çalkalamalı olarak 120 saat boyunca inkübe edilmişlerdir. 120 saat sonunda alınan sıvı kültür numuneleri ile renk yoğunluğunun kaybolup kaybolmadığı alınan numunelerin 593 nm dalga boyundaki absorbansların belirlenmesi ile ölçülmüştür.

Yapılan spektrofotometrik ölçümlerde en fazla renk gideriminin 30 °C'de %25 renk giderimi ile olduğu tespit edilmiştir. Bunu takiben 20 °C'de %18, 40 °C'de %15, 50 °C'de %4 ve 60 °C'de %1 renk gideriminin olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.7). Yapılan çalışmada en fazla renk gideriminin 30 °C'de olmasının sebebinin HF85 izolatının mezofilik olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.7: İnkübasyon sıcaklığına bağlı olarak renk giderim yüzdesi.

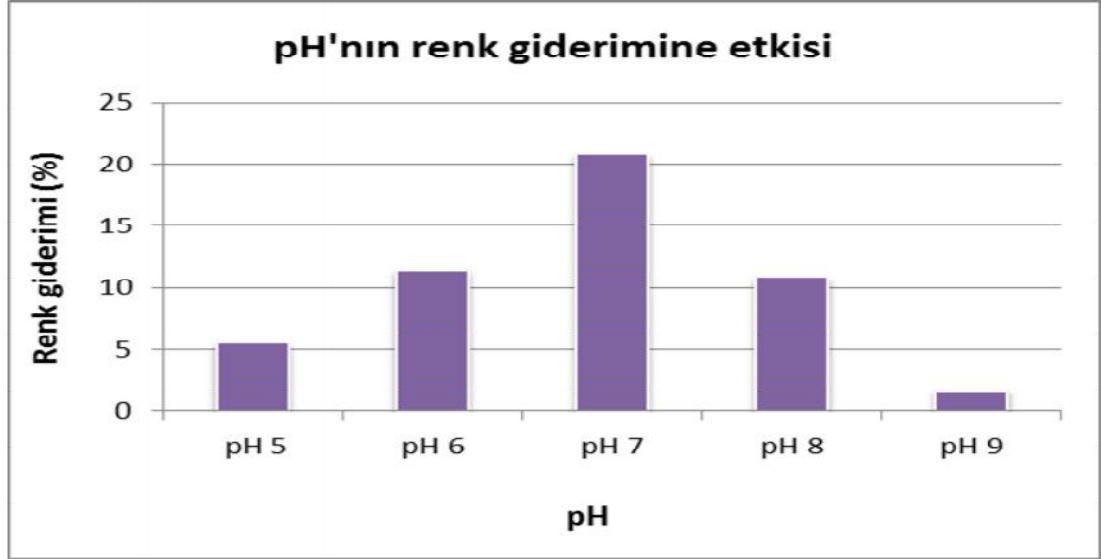
4.6. FARKLI PH DEĞERLERİNİN RENK GİDERİMİ ÜZERİNE OLAN ETKİSİ

Çalışmada kullanılan HF85 izolatu ile Drimaren Blue CL-BR'in renginin giderilmesinin üzerine kültür pH'sının etkisinin belirlenmesi, kültür ortamının pH'sı 5,0 ile 9,0 arasında ayarlanarak incelenmiştir. Çalışmada karbon ve enerji kaynağı olarak 0,1 g/L Drimaren Blue CL-BR içeren MS-YEM besiyeri büyüme ortamı olarak kullanılmış ve inkübasyon 30°C sıcaklıkta, 150 rpm'de, 120 saat süreyle gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmalar sırasında kullanılan HF85 izolatu, en yüksek dekolorizasyon aktivitesini % 21 ile pH 7,0'de göstermiştir. Diğer pH değerlerine ise; pH 5,0 de %13, pH 6,0 da % 15, pH 8,0 de %17 ve pH 9,0 da %11 renk giderimi gerçekleştirmiştir (Şekil 4.8).

Chen ve Liou [126] ise bakteriler üzerinde yaptıkları çalışma sonrasında *Aeromonas hydrophila*'nın aerobik ortamda iyi üreme göstermesine rağmen, bu bakterinin maksimum renk giderimini anaerobik koşullarda gerçekleştirdiğini rapor etmişlerdir. *Aeromonas hydrophila*'nın tekstil sanayinde sıklıkla kullanılan

boyalardan biri olan Red RBN'nin 3000 mg/L konsantrasyonunu, 8 gün içinde %90 oranında parçaladığı belirlenmiştir. Bu çalışmada uygun pH da araştırılmış ve sonuçta *Aeromonas hydrophila*'nın pH 5,5 ile pH 10 arasında maksimum renk giderimi sergilediği belirlenmiştir. Buna ek olarak kültür ortamının pH'sı 4,5'e ayarlandığında ise organizmanın boyayı tamamen adsorbe ettiğini bildirmişlerdir.



Şekil 4.8: pH değeri ile renk giderim yüzdesi arasındaki ilişki.

Zhang ve ark. [127] tarafından yapılan bir çalışmada ise beyaz çürükçül funguslarla renk gideriminde, optimum pH aralığının 4 ile 5 arasında olduğu rapor edilmiştir. Radha ve ark. [128] tarafından yapılan bir başka çalışmada ise *P. chrysosporium* ile 7 farklı boyar maddenin renk giderimi araştırılmıştır. Bu çalışmada, optimum pH'nın saptanması amacıyla 2,0 ile 7,0 arasında değişen pH'lar çalışılmış ve kullanılan boyar maddelerden 4'ünün pH 5,0'de, 2'sinin ise pH 2,5'de, birisinin ise pH 3,0'de dekolorize edildiği rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızdaki en iyi sonuç pH'ın 7 olduğu koşullarda elde edilmiştir. Elde edilen sonuç daha önce mantarlarla yapılan çalışmalarla kıyaslandığında daha düşüktür fakat mantarlarla yapılan renk giderim çalışmalarında hem inkübasyon süresi daha uzun hem de pH'ı düşüktür. Düşük pH'larda ağartmanın dezavantajı ise proses sırasında kullanılan araç gerecin zarar görmesidir.

4.7. HF85'İN TANIMLANMASI

VITEK 2 sistemi'nde organizmaların identifikasyonu için biyokimyasal test ve seçici besiyerlerini mikrolitre oranlarında içeren çok küçük özel plastik kartlar tasarlanmıştır.

VITEK 2 (bioMèrieux) otomasyonu, başlangıç inokulum dilüsyonu, dansite değişimi, ve kart doldurma işlemlerini içeren örnek işlemini içermektedir. VITEK 2 kartları 64 kuyucuktan oluşmaktadır. Bu kartlar barkodlama sistemi ile seviyelendirilmiş ve cihaza girmeden önce kartları alıp tanımlayan “smart taşıyıcı” bilgisayar çipi kullanmaktadır. Cihaz otomatik olarak kartlarını dolun yerinden okuyucu-inkübatöre taşır ve testin sonunda bir kutuya atmaktadır. VITEK 2 bir defada toplam 60 tane duyarlılık veya identifikasyon kartını uygulamaktadır.

HF85 izolatının VITEK 2 analizi sonucunda *Micrococcus* sp. olduğu tespit edilmiştir. Bakterinin gram boyaması sonucunda Gram pozitif, kok şeklinde ve katalaz pozitif olduğu tespit edilmiştir. Morfolojik olarak jelimsi yapıda ve sarı renktedir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, tekstil fabrikalarında yaygın olarak kullanılan Drimaren Blue CL-BR boyar maddesinin HF85 izolatu tarafından sıvı kültür ortamında değişik parametreler kullanılarak 240 saatlik inkübasyonu boyunca optimum renk giderim verimlilikleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Tekstil fabrika sularının verildiği ortamlarda çevre kirliliği oluşmaktadır. Bunun sonucunda doğal flora ve fauna yok olmaktadır. Çevre kirliliğinin önlenmesi için boyar maddelerin çeşitli yöntemlerle ortamdan uzaklaştırılması zorunludur. Daha önceden de belirtildiği gibi boyar maddeler ortamdan uzaklaştırılmasında çeşitli yöntemler geliştirilmiş bulunmaktadır. Ancak her hangi bir boyama işlemi esnasında birden çok ve yapıları birbirinden oldukça farklı boyar madde bir arada kullanıldığından, tek bir metot yeterli olamamaktadır. Aynı zamanda kullanılan fiziksel ve kimyasal metotlar, çok fazla atık oluşturduklarından ve ana maliyetleri yüksek olduğundan, daha ekonomik ve daha az atık oluşturan yöntemler geliştirilmek zorunda kalmıştır. Bunun başında ise biyolojik yöntemler gelmektedir. Yine de çok fazla boyar madde bir arada kullanıldığı için bu yöntem de yeterli değildir. Etkili bir arıtım için çoğunlukla anaerobik ve aerobik prosesler bir arada kullanılmaktadır.

Anaerobik biyolojik yöntemin uygulandığı proseste ilave karbon kaynağına ihtiyaç vardır. İlave karbon metan ve karbondioksit dönüştürülmekte ve elektronlar açığa çıkmaktadır. Bu elektronlar elektron taşıma zincirinden son elektron alıcısına yani azo-reaktif boyaya taşınmakta ve boyayla reaksiyona girmekte, böylece renkten sorumlu olan azo bağları kırılmaktadır. Azo bağlarının kırılmasını O₂ inhibe etmektedir. Bu nedenle boya degradasyonunun gerçekleşmesinde ilk adım azo köprüsünün kırıldığı anaerobik yöntem olmalıdır. Azo bağlarının kırılmasıyla ortaya çıkan aromatik aminler, aromatik bileşiğin halkasının açılması ve hidroksilasyonla aerobik ortamda mineralize edilebilmektedirler. Ayrıca yapılan aerobik mikrobiyal proseslerde azo bağlarının kırılmış olmamasından dolayı büyük moleküller halinde hücre içine giremeyeceği bu nedenle bu çalışmalarda daha çok adsorpsiyonun meydana geldiği gözlenmiştir. Bu nedenle tekstil atığının arıtım muamelesinde ilk

olarak azo bağının kırılıp daha sonra da aerobik ortamda aminlerin parçalanabildiği anaerobik/aerobik reaktör sistemlerinin kullanılması önerilmiştir.

Yapılan çalışma aerobik koşullarda gerçekleştirilmiş olup ilave edilen farklı karbon ve enerji kaynaklarının Drimaren Blue CL-BR boya degradasyonunu olumsuz yönde etkilediği ve renk giderim yüzdesini düşürdüğü tespit edilmiştir.

Bu tezle ortaya konulan çalışmada, izole edildikleri ortamlar göz önüne alındığında, iyi derecede boya degradasyonu potansiyeline sahip olabileceği düşünülen HF85 izolatu seçilmiştir. Bu suşun lignoselüloz degradasyonunda rol alan ekstraselüler enzimlerinin üretim seviyeleri ise inkübasyon ortamının pH'ının, sıcaklığının, derişiminin değiştirilmesinin yanı sıra, farklı karbon kaynaklarının farklı konsantrasyonlarının kullanılması ile daha önce yapılmış olan çalışmalar ile optimize edilmiştir. Bu çalışmalar sonucunda boya degradasyon aktivitelerinin en yüksek değerlerine logaritmik büyüme fazının sonunda ulaştıkları belirlenmiştir.

Boyar maddelerin biyolojik parçalanmasında en çok çalışılan mikroorganizmalar; bakteriler, aktinomisetler ve funguslardır. Fungusların üremesi için gereken pH aralığı, üreme zamanı gibi etkenler bu organizmaların kullanılmasındaki dezavantajlardır. Bunun yanı sıra boyaların degradasyonunu gerçekleştiren enzim ve enzim sistemlerinin aktinomisetler tarafından birincil metabolizma sonucunda oluşturulması ve bu mikroorganizmaların genellikle alkali ortamlarda optimal olarak büyüebilmeleri bir avantaj oluşturmaktadır. Dolayısıyla aktinomisetlerle tekstil sanayi atıklarından renk giderimi ve boyaların parçalanmasında rol alan enzimlerin optimum olarak üretilebilmesi için gerekli olan çevresel koşulların araştırılarak, daha verimli proseslerin geliştirilmesi için çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

- [1] APHA,. “Standart Methods for Examination of Water and Wastewater”, American Public Assoc. ,16th Ed. ,Washington D.C. (1985)
- [2] Fu, Y. and Viraraghavan, T. “Fungal decolorization of dye wastewaters: a review”, Bioresource Technol., 79: 251-262, (2001).
- [3] Wong, P.K. and Yuen, P.Y. “Decolorization and biodegradation of methyl red by *Klebsiella pneumoniae* RS-13”, Water Res., 30: 1736-1744, (1996).
- [4] Pagga, U. and Brown, D. “The degradation of dyestuffs : part II behaviour of dyestuffs in aerobic biodegradation tests”, Chemosphere, 15: 479-491,(1986).
- [5] Banat, I.M., Nigam, P., Shing, D. and Marchant, R. “Microbial decolorization of textile dye-containing effluents: a review”, Bioresource Technol., 58: 217-227, (1996).
- [6] Yu, J., Wang, X. and Yue, P.L. “Optimal decolorization and kinetic modeling of synthetic dyes by pseudomonas strains”, Water Res., 35: 3579-3586, (2001).
- [7] Shin, K.S., Oh, I.K. and Kim, C.J. “Production and purification of remazol brilliant blue r decolorizing peroxidase from the culture filtrate of *Pleurotus ostreatus*”, Appl. Environ. Microb., 63: 1744-1748, (1997).
- [8] Yesilada, O., Cing, S. and Asma, D. “Decolourisation of the textile dye astrazon red fbl by *Funalia trogii* pellets”, Bioresource Technol., 81: 155-157, (2002).
- [9] Nigam, P., McMullan, G., Banat, I.B. and Marchant, R. “Decolorization of effluent from the textile industry by a microbial consortium”, Biotechnol. Lett., 18: 117-120, (1996).
- [10] Zollinger, H. “Color Chemistry”, VCH, Weinheim, Germany, 496 s., (1991).
- [11] Shreve, R.N. and Brink, J.A. “Chemical Process Industries”, McGraw-HillBook Company, 867s., (1977).
- [12] Baser, İ. ve İnancı, Y. “Boyarmadde kimyası”, Marmara Üniv.Teknik EğitimFak.Yayın No: 2, İstanbul, s.47-52, 103-115, (1990).

- [13] Al-Degs, Y., Khraisheh, M.A.M., Allen, S.J. and Ahmad, M.N. "Effect of carbon surface chemistry on the removal of reactive dyes from textile effluent" *Water Res.*, 34(3): 927-935, (2000).
- [14] Özcan, Y. "Tekstil elyaf ve boyama tekniği", İstanbul Üniv. Yayın., 2557: 311-335, (1978).
- [15] Çoban, S. , "Neden eko tekstil", *Eko Tekstiller Eki*, Yıl 5, Sayı 1, (1995).
- [16] Demircanlı, Ü., "Ekolojik üretim ve çevre ilişkileri", *Tekstil ve Konfeksiyon*, No:2, (1998).
- [17] Çakıroğlu, F./İhracatçı Gözüyle Ekolojik Tekstilde Alınması Gereken Tedbirler", *Tekstil Terbiye ve Teknik*, Tanıtım Sayısı (2003).
- [18] Seventekin, N."İnsan ekolojisi", *Eko Tekstiller Eki*, Yıl 5, Sayı 1, (1995).
- [19] Ames, B., F. Lee, and W. Durston. "An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 70: 782-786, (1973).
- [20] Seventekin, N. "Boyarmadde Kimyasına Giriş", Bornova-İzmir, (1988).
- [21] Bayraktar, T., İTKİB, Genel Sekreterliği, İTKİB AR&GE ve Mevzuat Şubesi, (2005).
- [22] Tatlı, A. "Çesitli Tekstil Boyarmaddelerinin Adsorbdiyon/Biyosorbsiyonunun Karşılaştırılması Olarak İncelenmesi", Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, (2003).
- [23] Tezer, S., "Tekstil endüstrisi atıksularında yer alan reaktif boyaların biyosorbsiyonunun incelenmesi". , Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, (2002).
- [24] Correia, V.M., Stephenson, T. and Judd, S.J. "Characterisation of textile wastewaters-a review, *environmental technology*", 15: 917-929, (1994).
- [25] Kocaer, F.O.,ve Alkan, U., "Boyarmadde içeren tekstil atıksularının arıtım alternatifleri", *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 7: (1), 47-55, (2002).
- [26] Kang, S.F. and Chang, H.M "Coagulation of textile secondary effluents with fenton's reagent, *water science and technology*", 36: (12) 215-222, (1997)
- [27] Sewekow, U. "Treatment of reactive dye effluents with hydrogen peroxide/iron(II) sulphate, *melliand textilberichte*", 74: 153-156, (1993).

- [28] 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, bioresource technology", 77:, 247-255, (2001).
- [29] Xu, Y. and Lebrun, R.E. "Treatment of Textile Dye Plant Effluent by Nanofiltration Membrane", Separ. Sci. Technol. 34: 2501-2519, (1999).
- [30] Peralto-Zamora, P., Kunz, A., Gomez de Morales, S., Pelegrini, R., Capos M.P., Reyes, J. and Duran, N. "Degradation of Reactive Dyes I. A Comparative Study of Ozonation, Enzymatic and Photochemical Processes", Chemosphere, 38: 835-852, (1999).
- [31] Ince, N.H. and Gonenc, D.T. "Treatability of a textile azo dye by UV/H₂O₂", Environ. Technol., 18: 179-185, (1997).
- [32] Ölmez, T., Kabdaslı, I. ve Tünay, O., "Tekstil endüstrisi reaktif boya banyolarında ozon ile renk giderimine etki eden faktörlerin belirlenmesi". SKKD ,13:(1), 19-24, (2003).
- [33] Slokar, Y.M. and Le Marechal, A.M. "Methods of decoloration of textil wastewaters", Dyes Pigments, 37: 335-356, (1997).
- [34] Yang, Y., Wyatt, D.T. and Bahorsky, M. "Decolorization of dyes using uv/h₂o₂ photochemical oxidation", Text. Chem. Color., 30: 27-35, (1998).
- [35] Tünay, O., Kabdaslı, I., Eremektar, G. and Orhon, D. "Color removal from textile wastewaters", Water Sci. Technol., 34: (11) 9-16, (1996).
- [36] Misra, G. and Tripathy, M. "A critical review of the treatments for decolourization of textile effluent", Colourage, 40: 35-38, (1993).
- [37] Machenbach, I, "Membrane technology for dyehouse effluent treatment, membrane technology", 96: 7-11. (1998).
- [38] Lopez, C., Mielgo, I., Moreira, M.T., Feijoo, G. and Lema J.M. "Enzymatic membrane reactors for biodegradation of recalcitrant compounds. application to dye decolourisation", J. Biotechnol., 99: 249-257, (2002).
- [39] Ckhakraborty, S., Purkait, M.K., DasGupta, S., De, S. and Basu, J.K. "Nanofiltration of textile plant effluent for color removal and reduction in COD", Separat. and Purific. Tech., 31: 141-151, (2003).
- [40] Hosono, M., Arai, M., Yamamoto, I., Shimizu, K. and Sugiyama, M. "Decoloration and degradation of azo dye in aqueous solution of super

- saturated with oxygen by irradiation of high-energy electron beams”, Appl. Radiat. Isotopes, 44: 1199-1203, (1993).
- [41] Willmott, N., Guthrie, J. and Nelson, G. “The biotechnology approach to colour removal from textile effluent, journal of the society of dyers and colorists”, 114: 38-41, (1998).
- [42] Oneill, C., Hawkws, F. R., Hawkws, D. L., Esteves, S. and Wilcox, S. J., “Anaerobic-aerobic biotreatment of simulated textile effluent containing varied ratios of starch and azo dye”, Water Research, 34: (8) 2355-2361. (2000a).
- [43] Palma, C. Moreira, M.T. Mielgo, I. Feijoo, G. and Lema, J. M. “Use of fungal bioreactor as a pretreatment or post treatment step for continuous decolorisation of dyes”, Water Science and Technology, 40: (8), 131-136, (1999).
- [44] Sponza D., Işık M., Atalay H., "İndigo boyar maddelerinin anaerobik arıtılabilirliklerinin incelenmesi", DEÜ Mühendislik Fakültesi Fen Mühendislik Dergisi, 2: (3), 23-34 Ekim (2000).
- [45] Oneill, C., Lopez, A., Esteves, S., Hawkes, F. R., Hawkes, D.L. and Wilcox, S. “Azo dye degradation in an anaerobic-aerobic treatment system operating on simulated textile effluent”, Applied Microbiology and Biotechnology, 53: 249-254, (2000b).
- [46] Işık, M., ve Sponza, D.T., “Simüle tekstil atıksuyunun anaerobik/aerobik arıtımı”, Ekoloji Dergisi, 14: 53, 1-8 (2004).
- [47] Anjaneyulu, Y., Chary, N.S., and Raj, D.S.S.,” Decolourization of industrial effluents – available methods and emerging technologies a review”, Reviews in Environmental Science and Bio/Technology 4: 245–273, (2005).
- [48] Michael FC Jr, Dass SB, Grulke EA and Reddy CA “Role of Mn Peroxidase and lignin peroxidases of *Phanerochaete chrysosporium* in the decolourization of Kraft bleaching plant effluent”. Appl. Environ. Microbiol. 57: 2368–2375, (1991).
- [49] Christov LP, Driessel VB and Plessis CAB “Fungal biomass from *Rhizomucor pusillus* as adsorbent of chromophore from a bleach plant effluent”. Proc. Biochem. 35: 91–95 (1999).

- [50] Aretxage A, Romero S, Sarra M and Vincent T “Adsorption step in the biological degradation of textile dye”. *Biotech. Prog.* 17: 664–668 (2001).
- [51] Yesilada O, Cing S and Asma D “Decolorization of the textile dye Astiazon Red FBL by *Funalia trogii* pellets”. *Biores. Technol.* 81: 155–157, (2002).
- [52] Selvam K, Swaminathan K and Chae KS “Decolourization of azo dyes and a dye industry effluent by a white rot fungus *Thelephora sp.*”, *Biores. Technol.* 88: 115–119, (2003).
- [53] Manu B., Chaudhari S., "Anaerobic decolorisation of simulated textile wastewater containing azo dyes", *Bioresource Technology*, 82: 225-231, (2002).
- [54] Kapdan İ.K., ve Alparslan S. "Tekstil endüstrisi atıksularından anaerobik-aerobik ardışık reaktör sisteminde KOI ve renk giderimi", *ÇEVRE 2004 I. Ulusal Çevre Kongresi Cumhuriyet Üniversitesi, Ekim*, 217-223. (2004).
- [55] Kaykıoğlu, G., ve Debik, E., “Anaerobik Arıtım Prosesleri ile Tekstil atıksularından Renk Giderimi”, *Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 4:59-68, (2006).
- [56] El-Rahim, W.M.A “Assessment of textile dye remediation using biotic and abiotic agents”, *J. Basic Microbiol.* 46: (4) 318–328, (2006).
- [57] Demir, G. Özcan, H.K., Elmaslar, E., ve Borat, M. “bir beyaz çürükçül mantar türü Olan *Phanerochaete chrysosporium* ile azo boyar maddelerinde renk giderimi”, *Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi*, 3: 74-85(2006).
- [58] Supaka, N., Juntongjin, K., Damronglerd, S., Delia, M.L., and Strehaiano, P., “Microbial decolorization of reactive azo dyes in a sequential anaerobic–aerobic system”, *Chemical Engineering Journal* 99: 169–176. (2004).
- [59] Lec EGH, Muller JC and Walden CC “Decolorization of bleached Kraft mill effluent by algae”. *TAPPI* 61: 7–59 (1978).
- [60] Jinqui L. and Houtian L., “Degradation of azo dyes by algae”. *Environ. Pollut.* 75: 273–278 (1992)
- [61] Banat ME, Nigam P, Singh D ve Marchant R “Microbial decolorization of textile dye containing effluents, a review”. *Biores. Technol.* 58: 217–227, (1996).

- [62] Wasniewska, K. "Biodegradation of Crystal Violet (hexamethyl-p-rosaniline chloride) by oxidative red yeast.", Bull. Environ. Contam. Toxicol., 34: 323-330, (1985).
- [63] Horitsu H, Takada M, Idaka E, Tomoyda M and Ogewa T "Degradation of *p*-amino azo benzene by *Bacillus subtilis*". Eur. J. Appl. Microbiol. 4: 217–224, (1977)
- [64] Idaka E and Ogewa Y "Degradation of azo compounds by *Aeromonas hydrophilia* var. 2413", J. Soc. Dye. Colorist. 94: 91–94, (1978).
- [65] Wuhrmann K., Mechsner K. and Zkappeler T. "Investigation on rate determining factors in the microbial reduction of azo dyes". Environ. J. Appl. Microbiol. 9: 325–338, (1980).
- [66] Nagarathnamma R, Bajpai P and Bajpai KP "Studies on decolorization and detoxification of chlorinated lignin compounds in Kraft bleaching effluent by *Ceripriopsis Subvermisporre*". Proc. Biochem. 334: 939–948, (1999).
- [67] Mali PL, Mahajan MM, Patil DP and Kulkarni MV "Biodecolorists of members of Triphenyl methane and azo group of dyes". J. Sci. Ind. Res. 59: 221–224, (2000)
- [68] Isik M and Sponza DT "Effect of oxygen on decolorization of azo dyes by *E. coli* and *Pseudomonas sp.* and fate of aromatic amines", Proc. Bioch. 38: (8) 1183–1192, (2003).
- [69] Chen KC., Huang WT., Wu JY., and Houngh JY., "Microbial decolorization of azo dyes by *Proteus mirabilis*", J Ind Microbiol Biotechnol., 23: (1), 686-690, (1999).
- [70] Sani RK., and Banerjee UC., "Decolorization of triphenylmethane dyes and textile and dyestuff effluent by *Kurthia sp.* ", Enzyme Microb Technol., 24: 433-437, (1999).
- [71] Çetin D. ve Donmez G., "Decolorization of reactive dyes by mixed cultures isolated from textile effluent under anaerobic conditions", Enzyme and Microbial Technology, 38:(7), 926-930, (2006).
- [72] Br'as, R., Gomes, A., Ferra, M.I.A., Pinheiro, H.M., and Gonçalves, I.C., "Monoazo and diazo dye decolourisation studies in a methanogenic UASB reactor", Journal of Biotechnology 115: 57–66, (2005).

- [73] Kapdan İ.K. and Oztekin R., "Decolorization of textile dyestuff Reactive Orange 16 in fedbatch reactor under anaerobic condition", *Enzyme and Microbial Technology*, 33: 231– 235, (2003).
- [74] Işık M., "Efficiency of simulated textile wastewater decolorization process based on the methanogenic activity of upflow anaerobic sludge blanket reactor in salt inhibition condition", *Enzyme and Microbial Technology*, 35: 399–404, (2004).
- [75] Panswad T., Luangdilok W., "Decolorization of reactive dyes with different molecular structures under different environmental conditions", *Wat. Res.*, 34: (17) 4177- 4184 (2000).
- [76] Ertugrul, S., Bakır, M., and Dönmez, G., "Treatment of dye-rich wastewater by an immobilized thermophilic cyanobacterial strain: *Phormidium* sp". *ecological engineering* 32: 244–248. (2008).
- [77] Khehra, M.S., Saini, H.S., Sharma, D.K., Chadha, B.S., and Chimni, S.S., "Biodegradation of azo dye C.I. Acid Red 88 by an anoxiceaerobic sequential bioreactor" *Dyes and Pigments* 70: 1-7. (2006).
- [78] Crawford, D.L. "Biodegradation of agricultural and urban wastes", p.433-459. In M. Goodfellow, S.T. Williams, and M. Mordanski (ed.), "Actinomycetes in biotechnology", Academic Press, Inc. , San Diego, (1988)
- [79] Sariaslami, F., Traver M.K. and Buchholz, S.E. "Xenobiotic transformations by *Streptomyces griseus*.", *Dev. Int. Microbiol.*, 30: 161-171, (1989).
- [80] Black S.D. "P-450 cytochromes: structure and function", p.35-87. In P.R. Ortiz de Montellano (ed.), "Cytochrome P-450: structure, mechanism, and biochemistry", Plenum Press, New York, (1986).
- [81] Fogarty, A.M. and Tuovinen, O.H. "Microbial degradation of pesticides in yard waste composting.", *Microbiol. Rev.*, 55: 225-233, (1991)
- [82] Goszcznski, S., Paszcznski, A., Pasti-Grigsby, M.B., Crawford, R.L., and Crawford, D.L. "New pathway for degradation of sulfonated azo dyes by microbial peroxidases of by *Phanerochaete chrysosporium* and *Streptomyces chromofuscus*." *J. Bacteriol.*, 176:1339-1347, (1994).
- [83] McCarthy, A.J. and Williams, S.T. "Methods for studying the ecology of actinomycetes", *Methods in Microbiology*, 22: 533-563, (1990).

- [84] Ball, A.S., Betts, W.B. and McCarthy, A.J. "Degradation of lignin-related compounds by actinomycetes", *Appl Environ Microbiol.*, 55: 1642-1644, (1989).
- [85] Zhou, W., Zimmermann, W. "Decolorization of industrial effluents containing reactive dyes by actinomycetes." *FEMS. Microbiol. Lett.*, 107: 157-162,(1993).
- [86] Pasti, M. B., and D. L. Crawford. "Relationships between the abilities of *Streptomyces* to decolorize three anthron-type dyes and to degrade lignocellulose", *Can. J. Microbiol.*, 37:902-907, (1991).
- [87] Burke, N.S., and Crawford, D.L. "Use of azo dye ligand chromatography for the partial purification of a novel extracellular peroxidase from *Streptomyces viridosporus* T7A." *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 49: 523-530, (1998).
- [88] Manguson, T.S. "Biochemical and genetic studies on the ligninocellulose degradation system of *Streptomyces viridosporus* T7A" Ph.D. Thesis, University of Idaho, (1996).
- [89] Ramachandran, S., Manguson, T.S., and Crawford, D.L. "Isolation and analysis of three peroxidase sensor regulatory gene homologs ahpC and oxyR in *Streptomyces viridosporus* T7A- a lignocellulose degrading actinomycete." *DNA Sequence*, 11: 51-60, (2000).
- [90] Ball, A.S. and Colton, J. "Decolorization of the polymeric dye Poly R by *Streptomyces viridosporus* T7A", *J.Basic Microbiol.*, 36: 13-18, (1996).
- [91] Shin KS. and Kim CJ., "Decolorization of artificial dyes by peroxidase from the white-rot fungus, *Pleurotus ostreatus*", *Biotechnol. Lett.*, 20: 569–572. (1998).
- [92] Bhunia A, Durani S and Wangikar P "Horseradish peroxidase catalyzed degradation of industrially important dyes". *Biotechnol. Bioeng.*, 72: 562–567, (2002).
- [93] Yang Q, Yang M, Pritsch K, Yediler A, Hagn A, Achloter M and Kettrup A "Decolorization of synthetic dyes and production of manganese-dependent peroxidase by new fungal isolates", *Biotechnol. Lett.*, 25: 709–713 (2003).
- [94] Ollikka P, Alhonmäki K, Leppänen VM, Glumoff T, Rajola and T, Suominen I. "Decolorization of azo, triphenyl methane, heterocyclic, and

- polymeric dyes by lignin peroxidase isoenzymes from *Phanerochaete chrysosporium*”, Appl Environ Microbiol 59: 4010–4016, (1993).
- [95] Heinfling A, Martinez MJ, Martinez AT, Bergbauer M, and Szewczyk U. “Transformation of industrial dyes by manganese peroxidases from *Bjerkandera adusta* and *Pleurotus eryngii* in a manganese-independent reaction”, Appl Environ Microbiol; 64:2788– 2793, (1998).
- [96] Soares GMB, de Amorim MTP. And Costa-Ferreira M., “Use of laccase together with redox mediators to decolourize Remazol Brilliant Blue” R. J Biotechnol; 89:123– 129. (2001).
- [97] Young H and Yu J “Ligninase catalyzed decolorization of synthetic dyes”, Water Res., 31(5): 1187–1193, (1997).
- [98] Glenn, J.K., Morgan, M.A., Mayfield, M.B., Kuwahara, M. and Gold, M.H. . “An extracellular H₂O₂-requiring enzyme preparation involved in lignin biodegradation by the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*”, Biochem. Biophys. Res. Commun., 114: 1077-1083, (1983).
- [99] Tien, M. and Kirk, T.K. “Lignin-degrading enzyme from hymenomycete *Phanerochaete chrysosporium*.”, Burds. Science, 221: 661-663, (1983).
- [100] Kuwahara, M., Glenn, J.K., Morgan, M.A. and Gold, M.H. “Separation and characterization of two extracellular H₂O₂-dependent oxidases from ligninolytic cultures of *Phanerochaete chrysosporium*.”, FEBS Lett., 169: 247-250, (1984).
- [101] Glenn, J.K., Akileswaran, L. and Gold, M.H. “Mn(II) oxidation is the principal function of the extracellular Mn-peroxidase from *Phanerochaete chrysosporium*”, Arch. Biochem. Biophys., 251: 688-696, (1986).
- [102] Paszczyński, A. and Crawford, R.L. “Degradation of azo compounds by ligninase from *Phanerochaete chrysosporium*.”, Biochem. Biophys. Res. Commun., 178: 1056-1063, (1991).
- [103] Yarapolov, A.I., Skorobogatko, O.V., Vartanov, S.S. and Varfolomeyev, S.D. “Laccase properties, catalytic mechanism and applicability.”, Appl. Biochem. and Biotechnol., 49: 257-279, (1994).
- [104] Thurston, C. F. “The structure and function of fungal laccase.”, Microbiology, 140: 19–26, (1994)

- [105] Bourbonnais, R. and Paice, M.G. "Oxidative enzymes from the lignin-degrading fungus *Pleurotus sajorcaju*.", In Plant Cell IVall Polymers Biogenesis and Biodegradatwn (ed). Lewis, N.G. and Paice, M.G. pp. 473-481 Washington, DC: American Chemical Series, (1989).
- [106] Gold, M.H. and Alic, M. "Molecular biology of the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*.", Microbiology Reviews, 57: 605-622, (1993).
- [107] Bollag, J.M., Shuttlevvorth, K.L. and Anderson, D.H. "Laccase-mediated detoxification of phenolic compounds", Applied and Environmental Microbiology, 54: 3086-3091, (1988).
- [108] Roy-Arcand, L. and Archibald, F.S. "Direct dechlorination of chlorophenolic compounds by laccases from *Trametes (Coriolus) versicolor*", Enzyme Microbiology and Technology ,13: 194-203, (1991).
- [109] Bhunia, A., Durani, S., Wangikar, P.P., "Horseradish peroxidase catalyzed degradation of industrially important dyes" Biotechnology and Bioengineering, 72:(5), 562-567,(2001).
- [110] Martin Susla,M., and Svobodova, K., "Effect of various synthetic dyes on the production of manganes dependent peroxidase isoenzymes by immobilized *Irpex lacteus*", World J. Microbiol. Biotechnol., 24: 225–230, (2008).
- [111] Champagne, P.P.,and Ramsay, J.A., "Contribution of manganese peroxidase and laccase to dye decoloration by *Trametes versicolor*", Appl. Microbiol. Biotechnol., 69: 276–285, (2005).
- [112] Couto, S. R., "Laccase from *Trametes hirsuta* grown on paper cuttings: application to synthetic dye decolorization at different pH values" Eng. Life Sci., 7:(3), 229–234, (2007).
- [113] Palmieri, G. Cennamo, and G. Sannia, "Remazol Brilliant Blue R decolourisation by the fungus *Pleurotus ostreatus* and its oxidative enzymatic system", Enzyme Microb. Technol., 36: 17–24. (2005).
- [114] Zouari-Mechichi, H., Mechichi, T.,Dhouib, A., Sayadi, S., and Martínez, A.T., Martínez, M. J., "Laccase purification and characterization from *Trametes trogii* isolated in Tunisia: decolorization of textile dyes by the purified enzyme," Enzyme Microb. Technol., 39: 141–148 (2006).

- [115] Hatvani, N., and Me'cs, I., "Effect of the nutrient composition on dye decolorisation and extracellular enzyme production by *Lentinus edodes* on solid medium" *Enzyme and Microbial Technology*, 30: 381–386, (2002).
- [116] Niladevi, K.N., Prema, P., "Effect of inducers and process parameters on laccase production by *Streptomyces psammoticus* and its application in dye decolourization" *Bioresource Technology*, 99: (11), 458
- [117] Barbosa, A.M., Dekker, R.F.H. and Hardy, G.E. "Veratryl alcohol as an inducer of laccase by an ascomycete *Botryosphaera* sp. When screened on the polymeric dye Poly-R 478", *Lett. in Appl. Microbiol.*, 23: 93-96, (1996).
- [118] Yogesh M. Kolekar , Kisan M. Kodam. Decolorization of textile dyes by *Alishewanella* sp. KMK6. *Appl Microbiol Biotechnol* 95:521–529 (2012)
- [119] A.Tripathi, S.K. Srivastava Ecofriendly Treatment of Azo Dyes: Biodecolorization using Bacterial Strains *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, Vol. 1, No. 1,(2011)
- [120] Safia Moosvi, Xama Kher, Datta Madamwar. Isolation, characterization and decolorization of textile dyes by a mixed bacterial consortium JW-2. *Dyes and Pigments*, 74: 723-729 (2007)
- [121] R.G. Saratale , G.D. Saratale , J.S. Chang , S.P. Govindwar . "Ecofriendly degradation of sulfonated diazo dye C.I. Reactive Green 19A using *Micrococcus glutamicus* NCIM-2168", *Bioresource Technology*, 100: 3897–3905 (2009)
- [122] Pearce, C.I., Lloyd, J.R., and Guthrie, J.T., "The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review", *Dyes and Pigments* 58: 179–196, (2003).
- [123] Abd El Rahim, W.M., "Assessment of textile dye remediation using biotic and abiotic agents", *J. Basic Microbiol.*, 46: 4, 318–328, (2006).
- [124] Al-Duri, B., Mckay, G., El-Geundi, M.S. and Wahab, M.Z.A., "Three-resistance transport model for dye adsorption onto bagasse pith. J. 92" *Environmental Engineering*, 116: 487–502, (1990).
- [125] El-Geundi, M.S., "Color removal from textile effluents by adsorption techniques", *Water Res.*,25: 271–273, (1991).

- [126] Chen, K. Wu, J., Liou D. and Hwang, S.J. “ Decolorisation of the textile dyes by newly isolated bacterial strains”, *Journal of Biotechnol.*, 101: 57-68, (2003).
- [127] Zhang, F., Knapp, J.S. and Tapley, K.N., “ Decolorization of cotton bleaching effluent with wood rotting fungus”, *Water Res.*, 3(4): 919-929, (1996).
- [128] Radha, K.V., Regupathi, I., Arunagiri, A., and Murugesan, T., “Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics”, *Process Biochem.*, 40: 3337-3345, (2005).

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Adı Soyadı: Hasan FİDELİ

Doğum Tarihi: 17/07/1985

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise	Fen	Salim Yılmaz Lisesi	1998-2001
Lisans	Biyoloji Bölümü	Mersin Üniversitesi	2002-2007
Yüksek Lisans	Biyoloji Bölümü	Mersin Üniversitesi	2009-2013

(Varsa) Görevler:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl

ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

1. Adıgüzel. A. O., Fideli, H. And Tuncer, M. “Yaygın kullanımı olan bazı tekstil boyalarının aerobik renk giderimlerinde kullanılabilir bakterilerin taranması”, 21. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Kitabı, İzmir, (2012), (Poster Sunumu)