

***Bacillus thuringiensis* İle Çeşitli Boyaların Renk
Giderimlerinin Araştırılması**

**Investigation of Decolorization of Various Dyes by
*Bacillus thuringiensis***

NİLOUFAR BOUSTANABADİMARALAN

Doç. Dr. İŞİL SEYİS BİLKAY

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoteknoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2014

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada:

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlerle bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

30/01/2014

NİLOUFAR BOUSTANABADİMARALAN

ÖZET

***Bacillus thuringiensis* İle Çeşitli Boyaların Renk Giderimlerinin Araştırılması**

NİLOUFAR BOUSTANABADİMARALAN

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İŞİL SEYİS BİLKAY

Ocak 2014, 62 Sayfa

Özellikle tekstil sektöründe yaygın olarak kullanımları söz konusu olan bazı boyar maddeler, boyama işlemlerinin ardından çevreye atılmakta ve canlı organizmalar üzerinde akut veya kronik birçok etkiye yol açmaktadır. Birçoğu toksik ve kanserojen madde içeren boyar maddelerin çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler ile giderimleri mümkündür. Ancak, günümüzde yapılan çalışmalar, boyar maddelerin gideriminde mikroorganizmalar kullanılan yöntemlerin en avantajlı ve ekonomik yöntemler olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda, çalışmamızda *Bacillus thuringiensis* ile çeşitli boya renklerinin giderimi araştırıldı.

Bu kapsamda, Metil Oranj, Akridin Oranj, Anilin Sarısı, Bismarck Brown Y, Evans Blue, Tripan Mavisi, Metilen Mavisi ve Metil Kırmızısı sentetik boyar maddelerinin *Bacillus thuringiensis* suşları tarafından giderimi incelendi. En verimli boya gideriminin Metil Oranj ve Evans Blue boya renklerinin kullanıldığı ortamlarda gerçekleştirildiği saptandı. Tüm boyalar için inkübasyon koşulunun boya giderim veriminde en önemli etken olduğu saptandı. Metil Oranj boyasının gideriminde ise statik inkübasyon koşulunun daha yüksek bir etkinlik gösterdiği belirlendi. Çalışmamızın devamında, Metil Oranj ve Evans Blue boya renklerinin giderimlerinde optimum inkübasyon koşulları belirlendi. En yüksek boya gideriminin sağlandığı pH değerinin Metil oranj boyası için 6,0; Evans Blue boyası için de 7.5 olduğu

belirlendi. Optimum başlangıç boya konsantrasyonları ise, Metil Oranj için 100 ppm; Evans Blue için ise 300 ppm olarak belirlendi. Yukarıda belirtilen koşullara ek olarak, 35°C'lik ortam sıcaklığının her iki boyanın giderimi için de optimum bir sıcaklık olduğu tespit edildi. Bu koşullar altında, 56 saat inkübasyonun sonunda %100 boya giderim verimine ulaşıldı. Çalışmamızın son aşamasında ise Metil Oranj ve Evans Blue boyalarının gideriminde canlı biyokütlenin ölü biyokütleyle kıyasla daha etkili olduğu saptandı.

Anahtar kelimeler: Metil Oranj, Evans Blue, Boya giderimi, *Bacillus thuringiensis*

ABSTRACT

Investigation of Decolorization of Various Dyes by *Bacillus thuringiensis*

NİLOUFAR BOUSTANABADİMARALAN

Master of Science, Department of Biology

Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Dr. IŞIL SEYİS BİLKAY

January 2014, 62 Page

Some dyes widely used especially in textile sector are discharged to the environment following dyeing process, which cause various acute or chronic effects on living organisms. Decolorization of dyes many of which include toxic substances and carcinogens is possible by using various physical and chemical methods. However, recent investigations indicate that the most advantageous and economical methods used in decolorization of dyes are the methods in which microorganisms are used. In this respect, decolorization of various dyes by *Bacillus thuringiensis* has been investigated.

Within this context; decolorization of Methyl Orange, Acridine Orange, Aniline Yellow, Bismarck Brown Y, Evans Blue, Trypan Blue, Methylene Blue and Methyl Red dyes by using *Bacillus thuringiensis* strain has been investigated. It was determined that most efficient decolorization occur in the media containing Methyl Orange and Evans Blue dyes. The effect of incubation conditions has been determined as the most important factor in decolorization efficiency. As for decolorization of Methyl Orange, higher efficiency in static incubation conditions has been observed. Following that, optimum incubation conditions for decolorization of Methyl Orange and Evans Blue dyes were determined. It was determined that the pH value, at which maximum dye decolorization was observed, was 6.0 for Methyl Orange dye and 7.5 for Evans Blue. Optimal initial

dye concentrations were determined as 100 ppm for Methyl Orange and 300 ppm for Evans Blue. In addition to the above mentioned conditions, 35°C has been determined as the optimum ambient temperature for decolorization of both dyes. Under these conditions, after 56 hours of incubation, %100 efficiency was observed. Finally, it was found that, living biomass is more effective when compared with dead biomass in decolorization of Methyl Orange and Evans Blue dyes.

Key Words: Methyl Orange, Evans Blue, Dye decolorization, *Bacillus thuringiensis*

TEŐEKKÜR

Bu tez çalıőmasının gerçekleőtirilmesi sırasında fikirleri ve yardımlarıyla desteğini daima süren, önerileriyle bana yol gösteren değerli hocam Doç. Dr. Işıl Seyis Bilkay'a teőekkür ederim.

Hayatım boyunca hep arkamda olan ve bana hayatı öğreten annem Shamsi Hassanpour ve babam Rasoul Boustanabadimaralan'a içtenlikle teőekkürlerimi sunarım.

Türkiye'ye gelip yüksek lisans yapmam konusunda bana maddi manevi büyük destekleri olan, ancak hak ettiği şekilde bu mutlu günlerimi göremeden bu dünyadan göçüp giden dedem Ahmad Boustanabadimaralan'a da sonsuz sevgiler, saygılar sunarım.

Hayatımın her aşamasında yanımda olup duaları ve dilekleriyle bana enerji veren çok sevgili anneannem Roghayye Amiri'ye çok teőekkür ederim.

Tez yazım aşamasında çok uzak diyarlardan ilgi ve destekleriyle bana moral veren ve beni motive eden kardeőlerim Yaőar, Sanaz ve Amir Boustanabadimaralan'a teőekkür ederim.

Her an yanımda hissetiğim, bir gün bile eksik etmediği destek ve sevgisiyle bana hep cesaret veren eőim Mustafa Said Düz'e teőekkürü bir borç bilirim.

Her zaman abla gibi yanımda olan ve her zor anımda bana destek veren Feride Yıldız'a teőekkür ederim.

Çalıőmalarım boyunca her zor anımda bilgi ve deneyimlerini benimle paylaőarak hiçbir yardımı esirgemeyen Arő. Gör. Gülcan Özbakır'a teőekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TESEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELE.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİ.....	2
2.1. Boyar Maddeler.....	2
2.2. Renk.....	2
2.3. Boyar Maddenin Üretim Tarihçesi.....	4
2.4. Boyar Maddelerin Sınıflandırılması.....	6
2.4.1. Boyar Madde Kaynağına Göre sınıflandırma.....	6
2.4.1.1. Doğal Kaynaklı Boyalar.....	6
2.4.1.2. Sentetik Boyalar.....	7
2.4.2. Kimyasal Yapıya Göre Sınıflandırma.....	8
2.4.2.1. Azo Boyar Maddeler.....	9
2.4.2.1.1. Çalışmada Kullanılan Boyar Maddelerin Özellikleri.....	9
2.5. Boyar Maddelerin Çevre ve Canlılar Üzerine Etkileri.....	12
2.6. Boyar Madde Giderimi.....	12
2.6.1. Kimyasal Yöntemler.....	13
2.6.1.1. Oksidasyon.....	14
2.6.2. Fiziksel Yöntemler.....	14
2.6.2.1. Adsorpsiyon.....	14
2.6.3. Biyolojik Yöntemler.....	15
2.6.3.1. Aerobik Yöntem.....	15
2.6.3.2. Anaerobik Yöntem.....	16
2.6.3.3. Biyolojik Boya Gideriminde Kullanılan Mikroorganizmalar.....	17
2.7. Çalışmada Kullanılan <i>Bacillus thuringiensis</i> 'in Özellikleri.....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22

3.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma.....	22
3.2. Çalışmada Kullanılan Boyalar.....	22
3.3. Mikroorganizmanın Ekim ve Üretimi.....	22
3.3.1. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri.....	22
3.3.2. Ekim vÜretim.....	23
3.3.3. Üremenin Ölçümü.....	23
3.4. Boya Gideriminin Belirlenmesi.....	23
3.5. <i>B. thuringiensis</i> Suşu İle Boya Gideriminde Uygun Boyaların Seçimi.....	24
3.5.1. Çeşitli Boyaların Gideriminde Önkültürasyonun Etkisinin Belirlenmesi.....	24
3.5.2. Çeşitli Boyaların Gideriminde Statik ve Çalkalamalı İnkübasyon Koşullarının Etkisinin Belirlenmesi.....	24
3.5.3. Çeşitli Boyaların Gideriminde İnkübasyon Süresinin Etkisinin Belirlenmesi.....	25
3.6. <i>B. thuringiensis</i> Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Optimum Fizyolojik Koşulların Belirlenmesi.....	25
3.6.1. <i>B. thuringiensis</i> Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Başlangıç Değerinin Etkisinin Belirlenmesi	25
3.6.2. <i>B. thuringiensis</i> Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Farklı Başlangıç Boya konsantrasyonlarının Etkisinin Belirlenmesi.....	25
3.6.3. <i>B. thuringiensis</i> Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde İnkübasyon Sıcaklığının Etkisinin Belirlenmesi.....	25
3.6.4. <i>B. thuringiensis</i> Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde İnkübasyon Süresinin Etkisinin Belirlenmesi.....	25
3.6.5. <i>B. thuringiensis</i> İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyaların Gideriminde Farklı Başlangıç Mikroorganizma Konsantrasyonunun Etkisinin Belirlenmesi....	26
3.7. Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Biyosorpsiyon Yöntemi İle Gideriminin Araştırılması.....	26
3.7.1. Ölü Biyokütle Hazırlanması.....	26
3.7.2. Canlı Biyokütle Hazırlanması.....	26
3.7.3. Biyokütle İle Boya Gideriminin Saptanması.....	26
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	28

4.1.	<i>B. thuringiensis</i> Suşu İle Boya Gideriminde Uygun Boyaların Seçimi.....	29
4.1.1.	Çeşitli Boyaların Gideriminde Önkültürasyonun Etkisinin Belirlenmesi.....	30
4.1.2.	Çeşitli Boyaların Gideriminde Statik ve Çalkalamalı İnkübasyon Koşullarının Etkisinin Belirlenmesi.....	32
4.1.3.	Çeşitli Boyaların Gideriminde İnkübasyon Süresinin Etkisinin Belirlenmesi.....	35
4.2.	<i>B. thuringiensis</i> Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Optimum Fizyolojik Koşulların Belirlenmesi.....	37
4.2.1.	<i>B. thuringiensis</i> Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Başlangıç Değerinin Etkisinin Belirlenmesi	37
4.2.2.	<i>B. thuringiensis</i> Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Farklı Başlangıç Boya konsantrasyonlarının Etkisinin Belirlenmesi.....	39
4.2.3.	<i>B. thuringiensis</i> Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde İnkübasyon Sıcaklığının Etkisinin Belirlenmesi.....	41
4.2.4.	<i>B. thuringiensis</i> Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde İnkübasyon Süresinin Etkisinin Belirlenmesi.....	43
4.2.5.	<i>B. thuringiensis</i> İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyaların Gideriminde Farklı Başlangıç Mikroorganizma Konsantrasyonunun Etkisinin Belirlenmesi.....	44
4.3.	<i>Bacillus thuringiensis</i> Suşu ile Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Biyosorpsiyonun Etkisinin Belirlenmesi.....	47
4.3.1.	Biyokütle İle Boya Gideriminin saptanması.....	47
5.	KAYNAKLAR.....	50
6.	ÖZGEÇMİŞ.....	62

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

ml	Mililitre
g	Gram
nm	Nanometre
rpm	Rate Per Minute

Kısaltmalar

<i>B. thuringiensis</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
max	Maksimum
LB	Luria-Bertani

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1. Renk Üçgeni.....	4
Şekil 2.2. Metil Kırmızısı ve Metil Oranj Monoazo Boyar Maddelerinin Esas Yapıları.....	9
Şekil 2.3. Anilin Sarısı, Bismarck Brown Y, Evans Blue ve Tripan Mavisi Boyar Maddelerinin Yapıları.....	10
Şekil 2.4. Metilen Mevisi Boyar Maddenin Kimyasal Yapısı.....	10
Şekil 2.5. Akridin Oranj Boyar Maddenin Kimyasal Yapısı.....	11
Şekil 2.6. Anaerobik Azo Boyar Madde Redüksiyonunun Hücredeki İşleyişini Gösteren Şema.....	15
Şekil 2.7. Azo Boyar Maddenin Biyolojik Parçalanması; 1. Anaerobik Redüksiyon, 2. Aromatik Aminlerin Aerobik Oksidasyonu.....	16
Şekil 2.8. Biyosorpsiyon Mekanizması (a) Hücre Metabolizmasına Göre Sınıflandırılmış (b) Metal Alımının Gerçekleştiği Bölgeye Göre Sınıflandırılmış.....	20
Şekil 4.1. Çeşitli Boyaların Gideriminde Önkültürasyonun Etkisi.....	31
Şekil 4.2. Çeşitli Boyaların Gideriminde İnkübasyon Koşullarının Etkisi.....	33
Şekil 4.3. Çeşitli Boyaların Gideriminde İnkübasyon Süresinin Etkisi.....	36
Şekil 4.4. Başlangıç pH değerinin Boya Giderimde Etkisi.....	38
Şekil 4.5. Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Boya Giderimde Etkisi.....	40
Şekil 4.6. İnkübasyon Sıcaklığının Boya Gideriminde Etkisi.....	42
Şekil 4.7. İnkübasyon Süresinin Boya Gideriminde Etkisi.....	44
Şekil 4.8. Başlangıç Mikroorganizma Konsantrasyonunun Boya Gideriminde Etkisi.....	46
Şekil 4.9. Biyosorpsiyonun Boya Gideriminde Etkisi.....	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Sentetik Boyar Maddeler ve Kullanım Alanları.....	7
Çizelge 2.2. Boyama Atıksularının Karakteristikleri.....	12
Çizelge 2.3. Çeşitli Azo Boyaların Gideriminde Kullanılan Bakteriler.....	17
Çizelge 2.4. Çeşitli Azo Boyaların Gideriminde Kullanılan Algler.....	18
Çizelge 2.5. Çeşitli Azo Boyaların Gideriminde Kullanılan Funguslar.....	19
Çizelge 3.1. Çalışmada Kullanılan Boyar Maddelerin Ticari İsimleri, Kimyasal Özellikleri ve Maksimum Absorbans Değerleri.....	23

1. GİRİŞ

Günümüzde boyar maddeler tekstil endüstrisinden plastik ve kağıt endüstrisine kadar bir çok alanda kullanılmaktadırlar [1]. Özellikle tekstil sanayisinde kullanılan boyalar, tekstil ürünlerinden ve boyama banyolarından çıkan sular, tekstil fabrikası çıkış sularına boşaltılmaktadır. Boyalı çıkış suyunun, boyama, baskı ve yıkama işlemlerinden kaynaklandığı, renk derecesinin ise boyar madde derişimine ve kullanılan boyar maddenin yapısına bağılı olduğu belirtilmektedir [2].

Yüzey suların renkliliğı içinde bulundurduğu çözünmüş veya askıda katı maddenin çeşidine göre değışmektedir.

Tekstil sanayinde kullanılan boyar maddelerin fabrika atıklarının çevreye verilmesi, sağıksız koşulların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Özellikle boyalı fabrika sularının direkt olarak verildiğı ortamlar; renk, koku, görüntü yönünden doğal ortamı bozmakta ve dolayısıyla söz konusu ortamın doğal florasını ve faunasını yok etmektedir [3].

Kolay ve ucuz yollarla sentezlenebilen sentetik boyalar, doğal boyalarla karşılaştırıldıklarında daha çeşitli renk içeriklerine sahip oldukları için, bu boyaların tekstil ve boyama endüstrilerindeki kullanımları giderek yaygınlaşmaktadır. Sentetik boyalar, başlıca kozmetik, gıda ve tekstil sanayi olmak üzere birçok alanda kullanılmaktadırlar [4].

Ticari olarak kullanılan sentetik boyaların büyük bir kısmını toksik, karsinogenik ve mutajenik özelliklere sahip olan azo boyalar oluşturmaktadır [5]. Bu boyalar içerdikleri azo bağlarından dolayı parçalanmaya karşı dirençli oldukları için çevrede yüksek oranlarda birikim potansiyeline sahiptir. Asidik ve alkali şartlarda kararlı yapı göstermeleri, aerobik parçalanmaya, ısı ve ışığa karşı dayanıklı olmaları bu boyaların klasik arıtma yöntemleriyle arıtılmasını güçleştirmektedir; bu yüzden bazı durumlarda reaktif boyanın sistemden %90 gibi yüksek oranda arıtılmadan çıktığı bilinmektedir [6]. Bu yüzden çöktürme, flokleştirme gibi fiziksel ve kimyasal yöntemlerle birleştirilen biyolojik giderim yöntemleri bu tür boyaların giderilmesinde kullanılmaktadır [7].

Elektrokimyasal işlemler, ozon arıtımı, ters ozmos gibi fiziksel veya kimyasal işlemlerin ikincil bir kirlilik oluşturması ve pahalı olması, buna karşılık bakterilerin bu boyaları oksijenli veya oksijensiz şartlarda parçalayabilmeleri alternatif biyolojik

yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır [8]. Zira, bütün boyar maddeler, toksik olmasa da çevre kirleticisi olarak tanımlanmaktadır [9], [10].

Yaygın olarak kullanılan atıksu arıtım sistemlerinin çıkış suyundaki renk şiddetinin yüksek olması, yeterli düzeyde arıtımın gerçekleşmediğinin bir göstergesidir. Bu durum ise; renk kirliliği ile kendini göstermektedir. Rengin atık sularda özellikle fark edilen bir kirletici olduğu ve alıcı ortamlara deşarj edilmeden önce giderilmesi gerektiği belirlenmiştir[11].

Benzer şekilde boyar maddelerin de sudaki çok düşük derişimlerinde (1 ppm'den az) bile gözle görülebilir olduğu, alıcı ortamlarda görüntüyü bozdukları, suyun ışık geçirgenliği ve gazların çözünürlüklerini etkiledikleri belirlenmiştir [12].

Yapılan bu çalışmada kirleticileri olan çeşitli boyar maddelerin *Bacillus thuringiensis* ile renk giderimlerinin araştırılması amaçlandı.

2.GENEL BİLGİ

2.1. Boyar Maddeler

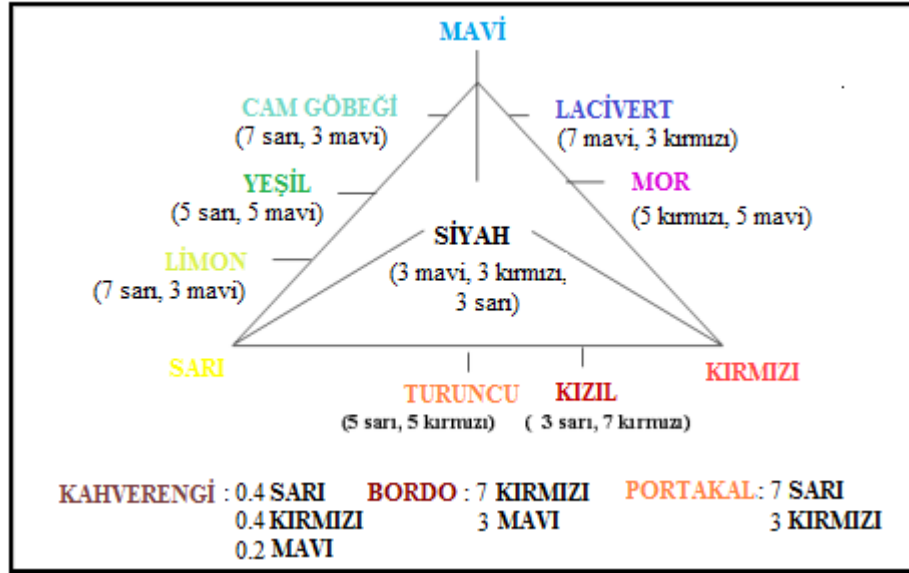
Boyar madde, kimyasal bir bileşik olarak herhangi bir nesneye renk vermek için veya koruma amaçlı olarak uygulanan kaplamaya denir ve hemen hemen tüm malzemelere uygulanabilir. Bir maddenin boyar madde olabilmesi için yapısında renk oluşturan kromofor ile rengi koyulaştıran oksokrom gruplarının bulunması gerekir. Boyar maddenin üretilmesi sırasında içine konulan maddeler; pigmentler, solventler, bağlayıcılar ve katkı (yardımcı) maddeleridir [12], [13]. Pigmentler, tüm nesnelerin rengini oluşturan ve boyar maddeye renk yoğunluğu, fiziksel ve kimyasal dayanıklılık özelliği kazandıran moleküllerdir. Boyanın bir bileşeni olan solventler ise boyaya akışkanlık ve homojen bir özellik kazandırır. Boyanın içine katılan maddelerden bir diğeri olan bağlayıcılar ise reaksiyon sonucu sıvı halden katı hale dönüşen, boya filmini meydana getiren likitlerdir. Son olarak, pigment, solvent ve bağlayıcıların boyaya kazandırdığı özellikler kısıtlı olduğundan, bu maddelerin boyaya kazandırması gereken ancak, kazandıramadığı bazı özellikleri kazandırmak amacıyla boyaya çeşitli katkı maddeleri eklenmektedir [14], [15].

2.2. Renk

Bir maddenin üzerine düşen ışığı kısmen veya tamamen absorplaması (tutması) ya da tümünü yansıtması ile ortaya çıkan bir algılamadır [16].

Bu algılama, ışığın maddeler üzerine çarpması ve kısmen soğurulup kısmen yansıtılması nedeniyle çeşitlilik gösterir ki bunlar renk tonu veya renk olarak adlandırılır. Tüm dalga boyları birden aynı anda gözümüze ulaşırsa bunu beyaz, hiç ışık ulaşmazsa siyah olarak algılarız. İnsan gözü 380nm ile 780nm arasındaki dalga boylarını algılayabilir, bu sebepten elektromanyetik spektrumun bu bölümüne görünen ışık denir [17].

Mavi, sarı ve kırmızı temel renkler olup bu boyaların değişik oranlarda karıştırılması ile ara renkler elde edilmektedirler. Bazı renklerin eldesi aşağıdaki renk üçgeninde gösterilmiştir [18], [19].



Şekil 2. 1. Renk Üçgeni [19]

1. 3. Boyar Madde Üretiminin Tarihçesi

İnsanoğlunun, ilk önceleri, çizilen resimler ve çeşitli eşyaları renklendirmede, renkli toprakları boyar madde olarak kullandığı bilinmektedir. Renkli toprakların boyar madde olarak kullanımı M.Ö. 4000 - 1000 yıllarına ait olduğu ve bugünkü İspanya topraklarında bilinen Lascaus ve Altamira mağaralardaki boyalı resimlerde belirlenmektedir. Daha sonraları renkli topraklar, çanak ve çömleklerin boyanmasında ve süslenmesinde kullanılmıştır. Bu amaçla koşnil ve purpur gibi hayvansal kaynaklı boyar maddeler, sarı çiçek, kök ve indigo gibi doğal bitkilerden elde edilen boyar maddeler ve suda çözünmeyen kurşun tuzları (sarı), bakır tuzları (yeşil ve mavi), mangan tuzları (violet) anorganik boyar maddeler olarak kullanılmıştır [20].

Araştırmacılar doğal boyar maddelerin maliyeti yüksek, az ve genelde kalitelerinin düşük olması nedeniyle bunların yerini alacak kaliteli, düşük maliyetli ve yüksek miktarlarda üretilebilecek sentetik boyar maddelerin araştırılmasına yönlenmişlerdir. Boyar maddelerin endüstriyel boyutta üretilmesi 18. yy' da doğal boyar maddelerin özütlenerek ayrılma tekniklerinin ve boyama yöntemlerinin hızla gelişmeye başlamasıyla birlikte yapılmıştır. Kömür katranı doğal boyar maddelerin yaygın kullanıldığı dönemlerde, aromatik kimyasal maddelerin kaynağını oluşturmuştur. İlk sentetik boyar madde olan mauve, 1856 yılında Perkin

tarafından toludin ile kirlenmiş anilinden kinin sentezi yaparken keşfedilmiş ve birçok kimyagerin, anilinden hareket ederek, boyar madde üretimi ile ilgili araştırmalara yönelmesine yol açmıştır [20], [21].

İlk üretilen boyar maddeler anilinden elde edildiğinden dolayı bütün boyar maddeler ilk zamanlar "anilin boyar maddeler" olarak tanımlanmıştır. Perkin' in keşfinden sonra Ratti ve Stafen tarafından ikinci önemli keşif yapılmıştır. Araştırmacılar, yapısında diklortriazin grubu olan boyaların selüloz ile bazik ortamda tepkimeye girebildiğini, bu şekilde boyanın kovalent bağlarla selüloza bağlandığını ve pamuğun daha dayanıklı boyanmasını sağladığını belirlemişlerdir [22], [23].

1860'lı yıllarda P. Griess, ilk azo boyar maddesini pirimer aromatik aminlerin diazolama çalışmaları sonucunda bulmuştur. 1863 yılında ise Martius tarafından ilk bazik azo boyar maddesi olan Bismark Brown keşfedilmiştir. 1869 yılında Almanya'da Graebe ve Liebermann tarafından kök boyanın önemli boyar maddesi olan Alizarin boyar maddesi bulunmuştur. Boyar maddelerinin keşfi, boyar madde ticaretinde büyük bir patlamaya neden olmuştur. 1870 yılında indigo boyar maddesi Baeyer tarafından bulunmuştur. 1873 yılında ilk kükürt boyar maddesi, Croissart ve Bretonniere tarafından bulunmuştur [24].

1894 yılından sonra Alman boya sanayisi sistematik araştırmalara girerek 1897 yılında indigo boyar maddesini, endüstriyel olarak üretmeye başlamıştır [25]. 1914'te dünya boyar madde gereksiniminin %87'si, Almanlar tarafından karşılanmıştır [26], [27].

1. Dünya savaşı sırasında ABD kendi boyar madde üretiminde kendi işletmelerini kurmuş ve Almanlar boyar madde üretimini durdurmuşlardır 1. Dünya savaşından sonra I. G. Farbenindustrie adı altında birleşen alman firmaları, boyar madde üretimine tekrar başlamış ve 2. Dünya Savaşı'na kadar dünya çapında boyar madde üretim ve teknolojisindeki üstünlüklerini sürdürmüşlerdir. ABD'nin boyar madde pazarları; İsveç, Alman, Japon ve İtalyanlar tarafından kullanılmıştır [27], [28].

Günümüzde, dünyanın boyar madde gereksiniminin büyük bir kısmı Almanya'da Hoechst, BASF, Bayer; İngiltere'de ICI; İsviçre'de Ciba-Geigy, Sandoz, Fransa'da Francolor; İtalya'da Acna-Montedison; Polonya'da Ciech ve Amerika'da Du Pont,

American Cyanamide, General Aniline and Films Corp, Calco Co olarak belirli ülkelere ait birkaç firma tarafından karşılanmaktadır [29].

Türkiye'de, haki boyar madde üretimi ile askeri kumaşları boyamak amacıyla ilk kez boyar madde üretimi 1943 yılında Karabük Demir Çelik Fabrika sahasında, başlanmıştır. 1967 de Tarsus'ta Mensucat Boyaları A.Ş. adı altında İlk boyar madde üretim işletmeleri kurulmuştur. Bu işletmede direk, asit ve kükürt boyar maddeler üretilmiştir [30]. Türkiyede boyar madde gereksiniminin büyük bir kısmının yurt dışında karşılandığı ve kurulu tesisler %16 kapasite ile çalışmakta oldukları belirtilmektedir [30].

2.4. Boyar maddelerin Sınıflandırması

Boyar madde molekülleri, kromojen grupları içermektedir. Kromojen gruplar, kromofor ve oksokrom grupları içeren aromatik yapılardır [20]. Boyar maddeleri sınıflandırırken boyar madde kaynağı, kimyasal yapısı, sanayide kullanım yerleri ve nükleer yapısı gibi çeşitli karakteristikler göz önüne alınabilir. Boyar maddeler nükleer yapılarına göre katyonik ve anyonik olarak 2 gruba ayrıldığı gibi çeşitli farklı özelliklerine göre başka sınıflandırmalar da yapılmaktadır [31].

2.4.1. Boyar Madde Kaynağına Göre Sınıflandırma

2.4.1.1. Doğal Kaynaklı Boyalar

Bazı bitkiler, boya böcekleri ve peliga veya mureks olarak bilinen deniz kabuklularının kullanımı ile elde edilen boyar maddeler doğal organik boyalar olarak bilinir. Bitkilerin kök, gövde, yaprak, çiçek ve meyvelerinin boyar madde ve pigment olarak kullanımı çok eskidir [32]. Ancak 19. yüzyılın ortalarında sentetik boyar maddelerin keşfedilmesi ile doğal kaynaklı boyaların kullanımı azalarak ortadan kalkma noktasına gelmiştir [33]. 1980'li yıllarda sentetik boyar maddelerin birçoğunun toksik, kanserojen ve çevre kirliliğine neden olduğunun tespit edilmesi ile birlikte doğal boyamacılık yeniden önem kazanmıştır. Bunun sonucu olarak birçok ulusal ve uluslararası proje gündeme gelmiştir. Ancak bunlardan sınırlı sayıda proje başarıya ulaşabilmiştir. Doğal bitki örtüsü bakımından dünyanın en

zengin topraklarına sahip olan Türkiye aynı zamanda boya bitkileri bakımından da dünyanın en zengin ülkesidir [34].

2.4.1.2. Sentetik Boyalar

Sentetik organik boyalara 'katran boyları' adı da verilir. Sentetik olarak elde edilen bu boyaların çoğunun ışığa karşı dayanıklılıkları ve yıkandıkları zaman renklerini atmamaları bakımından değerleri, doğal boyalarınkinden yüksektir [35]. Böylece her yıl yeni yeni boyalar piyasaya çıkmaktadır. Otuz yıl önce büyük önemi olan boyalar, bugün yerlerini daha iyi özellikte olanlara bırakmaktadır. Boyar madde üretiminde benzen, toluen, ksilen, naftalin, ftalik asit anhidriti, fenol gibi aromatik yapıllı hidrokarbonlar yer almaktadır. Bunların esas ana kaynağını kömür ve petrol oluşturmaktadır. Sentetik boyalar en fazla, elyaf boyamasında kullanılmaktadır [36].

Çizelge 2.1. Sentetik Boyalar ve Kullanım Alanları [37].

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

Gün geçtikçe dünyada ve ülkemizde boyar madde kullanım alanları ve gereksinimi artmaktadır. Sentetik boyar maddelerin kullanım alanları çok geniştir. %80'i tekstil endüstrisinde; yün, pamuk, ipek, vb. materyallerin boyanması için kullanılmaktadır. Tekstil endüstrisine ek olarak; plastik, deri, sentetik lif üretimi, lastik, kereste, selüloz, kağıt, kozmetik, ilaç, gıda, inşaat, cam, porselen, otomotiv, makine, matbaacılık, güzel sanatlar vb. endüstri ve alanlarda kullanıldığı bilinmektedir [38].

2.4.2. Kimyasal Yapıya Göre Sınıflandırma

Boyar maddeleri kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmasında, molekülün temel yapısı esas alınabildiği gibi, molekülün oksokrom ve kromofor grupları da esas kabul edilebilmektedir [39], [40], [41].

Boyar maddelerin sentez ve pratik uygulamalarına dayalı kimyasal sınıflandırma ve bu sınıflarda yer alan boyar maddeler altta açıklanmıştır:

- Nitro boyalar, yapısında nitro grup olan boyalardır.
- Azo boyalar, yapısında bir veya birkaç azo grup olan bileşiklerdir.
- Nitrozo boyalar, yapısında nitrozo grup olan bileşiklerdir.
- Arilmetan boyalar, yapısında kinoid grup olan diaril ve triarilmetanın türevleridir.
- Kinakridonlar boyalar, yapısında akridon grup olan bileşiklerdir.
- Kinonimin boyalar, oksazinler, tiazinler ve azinlerdir.
- Polisiklik küp boyalar, yapısında en az iki karbonil grubu olan ve birbirleriyle doymamış bağlarla birleşen bileşiklerdir.
- İndigo boyalar, indigo ve tiyoindigo türevleridir [42], [43], [44].

2.4.2.1. Azo Boyar Maddeler

Organik boyar maddelerin en önemli sınıfını oluşturan azo boyar maddelerinin sayısı, diğer bütün sınıflardakinin toplamına eşittir [45]. Küpe ve kükürt boyar maddeleri dışında, diğer tüm boyama yöntemlerinde kullanılan boyar maddelerin yapısında azo grubuna (-N=N-) rastlanır. Bunlar yapılarındaki kromofor grup ile karakterize edilir [46]. Alifatik grup içeren azo boyar maddelerinin renk şiddetleri düşüktür. Renk tonları geniş bir spektruma sahiptir. Doğal boyar maddelerin

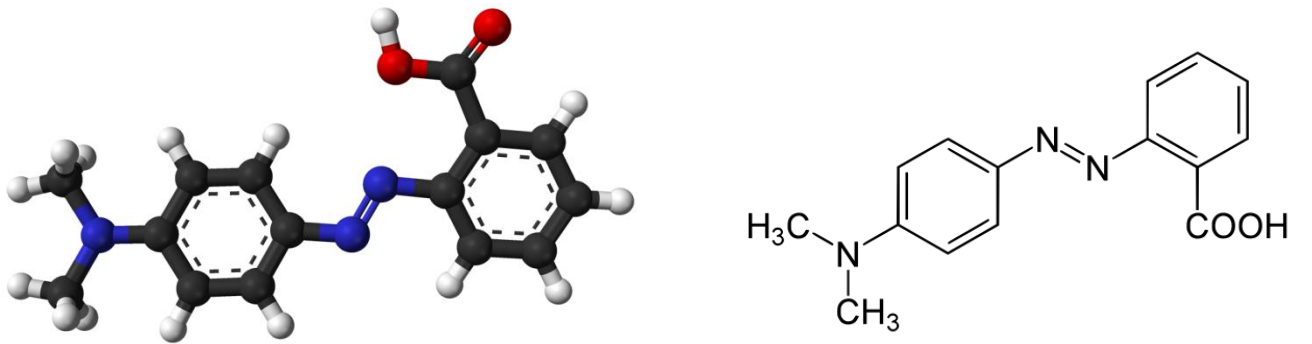
hiçbirinde azo grubuna rastlanmaz. Bu sınıf boyar maddelerin hepsi sentetik olarak elde edilebilir. Azo boyar maddeler, kimyasal yapısındaki azo grubun sayısına bağlı olarak isimlendirilmektedirler [47], [48].

- ✓ Mono - azo boyar maddeler: Bir azo grubu taşır.
- ✓ Di - azo boyar maddeler: İki azo grubu taşır.
- ✓ Tri - azo boyar maddeler: Üç azo grubu taşır.
- ✓ Poli - azo boyar maddeler: Üçten fazla azo grubu taşır.

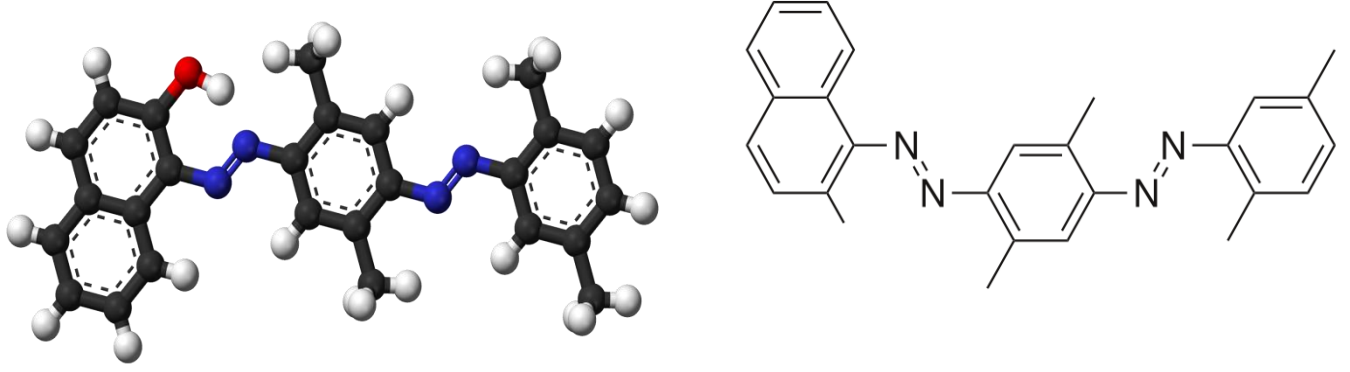
2.4.2.1.1. Çalışmada Kullanılan Boyar Maddelerin Özellikleri

Çalışmamızda Metil Oranj, Akridin Oranj, Anilin Sarısı, Bismark Brown Y, Evans Blue, Tripan Mavisı, Metilen Mavisı ve Metil Kırmızısı boyaları kullanıldı. Kullandığımız boyalar kimyasal yapılarına göre azo (monoazo ve diazo), tiazin ve akridin boya gruplarına aittirler [49], [50], [51].

Metil Kırmızısı ve Metil Oranj kimyasal yapılarında tek bir azo grubu içerdikleri için monoazo; Anilin Sarısı, Bismarck Brown Y, Evans Blue ve Tripan Mavisı boyaları ise kimyasal yapılarında 2 azo grubu içerdikleri için diazo grubu içerisinde yer almaktadırlar [52].

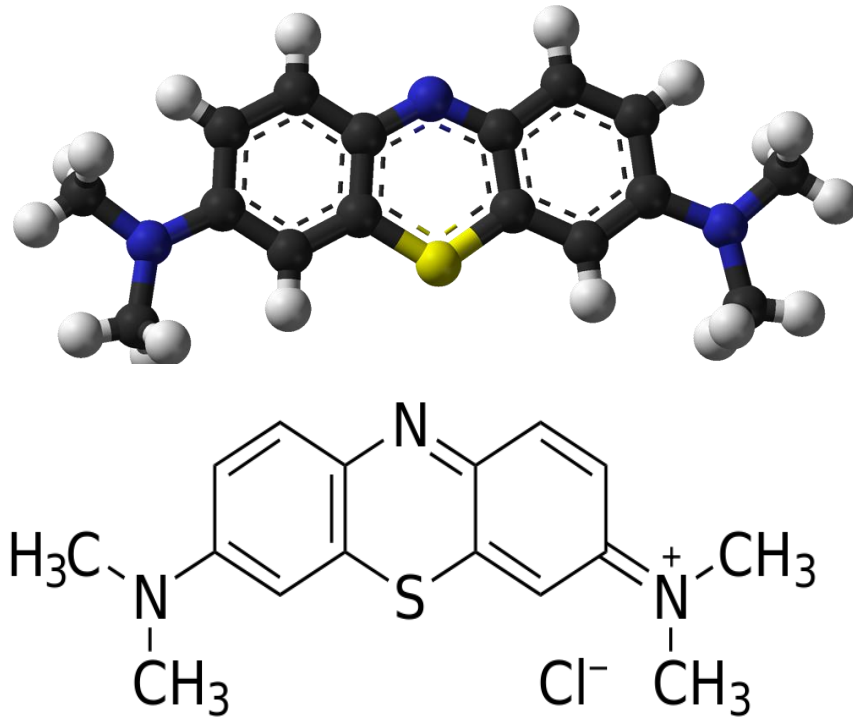


Şekil 2.2. Metil Kırmızısı ve Metil Oranj Monoazo Boyar Maddelerinin Esas Yapıları [53].



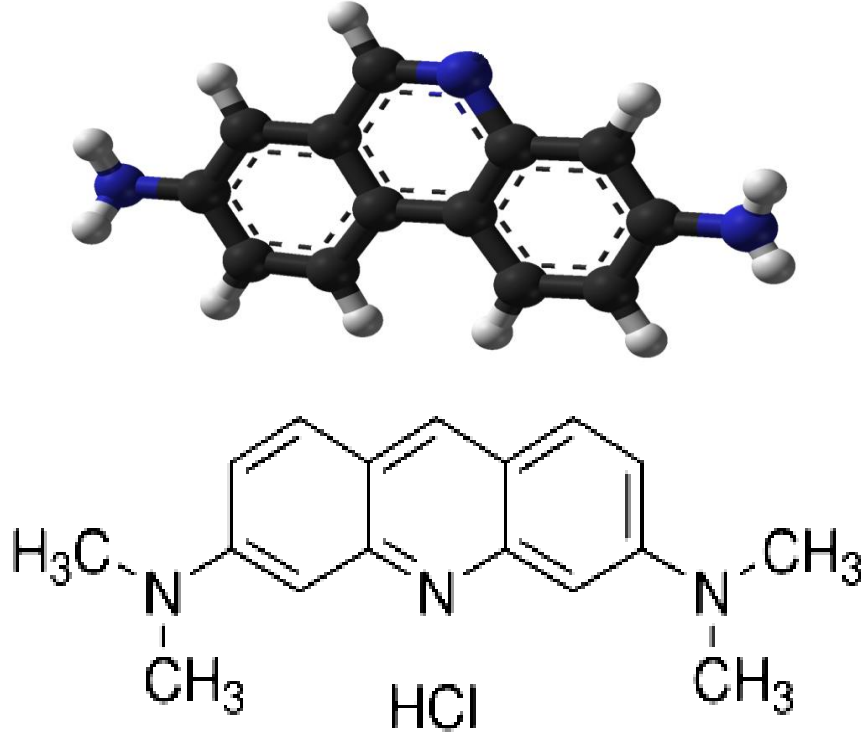
Şekil 2.3. Anilin Sarısı, Bismarck Brown Y, Evans Blue ve Tripan Mavisi Diazo Boyar Maddelerinin Esas Yapıları [53].

Metilen Mavi boyar maddesi altılı halka yapısına sahip üç heterosiklik bileşikten oluşmaktadır. Bu üç izomer bileşikten en önemli olanı 1,4 tiyazinin bir türevi olan fenotiyazin, metilen mavisi gibi birçok boya maddesinin yapısında yer almaktadır [54].



Şekil 2.4. Metilen Mavisi Boyar Maddenin kimyasal yapısı [54].

Çalışmamızda kullandığımız Akridin Oranj boyar maddesi üçlü halka içeren ($C_{13}H_9N$), heterosiklik bir organik bileşiktir. Hücre döngüsünün aşamalarını belirlemede kullanılır [55].



Şekil 2.5. Akridin Oranj Boyar Maddenin Kimyasal Yapısı [55].

2.5. Boyar Maddelerin Çevre ve Canlılar Üzerine Etkileri

Tekstil endüstrisi atık sularında tanımlanmış olan ilk kirletici, kullanılan boyar madde kaynaklı renktir. Boyar maddeler içeren atık sular doğal bir su ortamına karıştıkları zaman ışığın yansımaya sebep oldukları için ışığın suya girişini engellerler ve sudaki doğal ekolojik dengeyi bozarlar. Böylece fotosentez solunum dengesi bozulmaktadır. Sonuçta da çözünmüş oksijen seviyesi azalmakta ve aerobik organizmaları etkilemektedir. Bu nedenlerden dolayı alıcı ortama verilmeden önce mutlaka boyar maddelerin giderilmesi gerekmektedir [56].

Boyar maddelerin bir kısmının içerdikleri katkı maddelerinden dolayı mutajen etkilerinin olduğu da saptanmıştır [57]. Boyar maddelerinin liflere fikse etmesine aracılık eden ajanların oluşturduğu kirleticiler ise toksisite etkisinden dolayı doğal

ortamlarında toplu balık ölümleri gibi yaşamakta olan canlılara etki ederek ortamın florasının ve faunasının değişmesine sebep olmaktadır [58], [59].

Memeli hayvanlarda azo boyalarının indirgenmesi bağırsaktaki bazı bakteriler ve karaciğerdeki hepatik enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir. İndirgenme sonucu ortaya çıkan aromatik yapıdaki moleküller canlıya karşı kanserojen ve mutajen etkisi bulundurmaktadır [60].

2.6. Boyar Madde Giderimi

Boyar maddelerin çevrede çok düşük konsantrasyonlarda bile bulunması istenmeyen bir durumdur. Bundan dolayı tekstil gibi sektörlerde kullanılan boyar maddelerin boya giderim süreçleri ekolojik açıdan önem kazanmaktadır [61].

Günümüzde boyar madde giderimi büyük oranda fiziksel ve kimyasal yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Bu boyar madde giderim yöntemleri oldukça maliyetli olmalarından ve her boya için kullanılabilir olmamalarından dolayı, boyar maddelerin gideriminde zaman zaman problemlere yol açmaktadır. Bu nedenle boyar maddelerin etkili ve ekonomik bir şekilde giderilmesi için biyolojik sistemler gibi alternatif yöntemlere gereksinim vardır [62].

Çizelge 2.2. Boyama Atıksularının Karakteristikleri [62].

Boya türü	Elyaf çeşidi	Renk ADMI
Asit	Poliamid	4000
1:2 Metal kompleks	Poliamid	370
Bazik	Akrilik	5600
Direkt	Viskoz	12500
Reaktif, kesikli	Pamuklu	3890
Reaktif, sürekli	Pamuklu	1390
Vat	Pamuklu	1910
Dispers, yüksek sıcakta	Polyester	1245

ADMI: Amerikan Boya İmalatçıları Enstitüsü renk birim

2.6.1. Kimyasal Yöntemler

Boyaların kimyasal yöntemlerle arıtılması uzun yıllardan beri en çok ilgi gören yöntemler olmuştur [63]. Tekstil endüstrisinde kullanılan boya maddelerin giderimi için en yaygın olarak kullanılan kimyasal yöntem oksidasyon yöntemidir [64].

2.6.1.1. Oksidasyon

Kimyasal yöntemler içinde en yaygın olarak kullanılan boya giderme yöntemi, olmasının en büyük nedeni uygulanmasının basit oluşudur. Kimyasal oksidasyonda boya molekülündeki aromatik halkasının kırılması, boya maddeyi giderir. Kullanılan kimyasal süreçler;

- Fenton Ayırıcı
- Ozonlama
- Fotokimyasal
- Sodyum hipoklorit (NaOCl)
- Cucurbituril
- Elektrokimyasal yıkım olarak sınıflandırılabilir [65], [66].

2.6.2. Fiziksel Yöntemler

Fiziksel olaylardan yararlanmak ya da onları uygulayarak sıvı atıkların içindeki yabancı unsurların giderilmesi fiziksel yöntemlerdendir. Tekstil endüstrisinde kullanılan boya maddelerin giderimi için en çok tercih edilen fiziksel yöntem adsorpsiyon yöntemidir [67], [68].

2.6.2.1. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon yüksek kalitede ürün oluşumu sağlayarak ekonomik açıdan makul bir yöntemdir . Adsorpsiyon süreci, boya/sorbent etkileşimi, adsorbanın yüzey alanı, tanecik büyüklüğü, sıcaklık, pH ve temas süresi gibi pek çok fiziko-kimyasal faktörlerden etkilenir. Aktif karbon yöntemi adsorpsiyonla boya gideriminde en çok kullanılan yöntemdir [69]. Aktif karbonla boya giderimi özellikle katyonik, mordant ve asit boyalar için etkiliyken, dispers, direkt, vat, pigment ve reaktif boyalar için daha az boya giderimi sağlamaktadır. Metodun performansı kullanılan karbonun tipine ve boyanın özelliklerine bağlıdır. Dezavantajı olan rejenerasyon ve tekrar

kullanım ile performansta azal, aşırı miktarda aktif karbon kullanılmasıyla giderilebilir. Ancak aktif karbon pahalı bir malzemedir. Bataklık kömürü adsorban olarak kullanılabilen diğer bir malzemedir. Bataklık kömürü, boyar maddelerdeki polar organik bileşikleri ve geçiş metallerini adsorplayabilmektedir. Bataklık kömürünün kullanımı özellikle bol bulunduğu İrlanda ve İngiltere gibi ülkelerde adsorban olarak görülmektedir. Bataklık kömürü aktif karbona göre maliyeti daha düşüktür ancak aktif karbonun toz haldeki yapısından kaynaklanan geniş yüzey alanı daha yüksek bir adsorpsiyon kapasitesini sağlamaktadır. Boya gideriminde ağaç kırıntıları, uçucu kül+kömür karışımı, silika jeller, doğal killer, mısır koçanı gibi malzemeler de, adsorban olarak kullanılabilir. Bunların ucuz ve elde edilebilir oluşu boyar madde giderimindeki kullanımını ekonomik açıdan cazip kılmaktadır [70], [71].

2.6.3. Biyolojik Yöntemler

Biyolojik yöntemler, endüstriyel süreçlerden alıcı sistemlere taşınan boyar maddeler için en önemli giderim prosesidir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile birçok boya türünü giderebilme yeteneğine sahip mikroorganizma türlerinin mevcut olduğu vurgulanmış ve biyolojik yöntemleri ön plana çıkarmıştır. Biyolojik yöntemleri ile boya gideriminin maliyetinin daha düşük olması ve alıcı ortamlar için zararlı yan ürünler oluşturmaması gibi özelliklerinden dolayı boyar maddelerin giderimi için iyi bir çözüm olarak kabul edilmektedir [72].

Mikroorganizmalar, boya giderimi sırasında enerji kaynağı olarak O₂ kullanıyorsa "Aerobik boya giderimi"; O₂ kullanmıyorsa "Anaerobik boya giderimi"; boyar maddeler mikrobiyal kütle tarafından kütlede biriktirilirse biyosorpsiyon ile boya giderimi yapılması söz konusudur [73], [74].

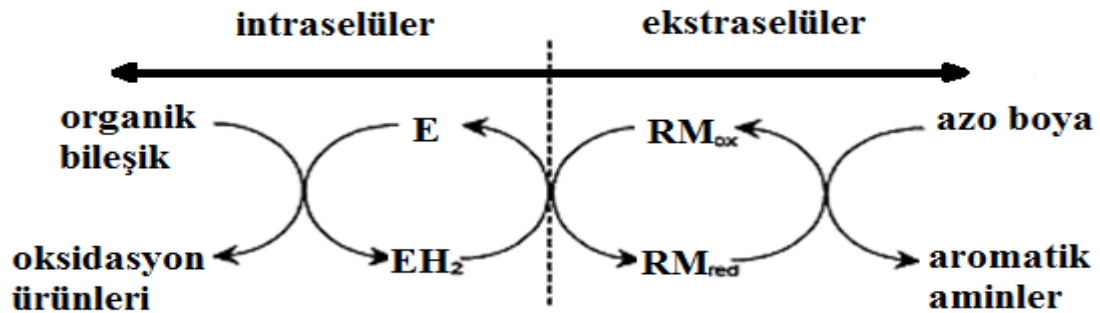
2.6.3.1. Aerobik Boyar Madde Giderimi

Mikroorganizmalar sahip oldukları enzimler ile hidroliz, oksidasyon ve redüksiyon yapabilirler. Oksidasyon-redüksiyon işlemi hem oksijen varlığı, hem de eksikliğinde mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilebilir [75]. Fakat, tekstil endüstrisindeki bir çok boya bileşiği biyolojik olarak çok zor indirgenebilir veya değişmeden kalır [76]. Azo boyar maddeler gibi sentetik boyaların aerobik şartlar altında mikrobiyel

parçalanmaya karşı dirençli olmalarının nedeni boyar maddelerin kimyasal ve ışık kaynaklı oksidatif etkiler sonucu renklerinin solmamasını sağlayacak şekilde üretilmeleridir. Boyar maddelerin aerobik parçalanmasını zorlaştıran başka bir neden ise moleküler ağırlıklarının yüksek olması nedeniyle biyolojik hücre zarından geçişlerinin zor olmasıdır [77],[78]. Buna karşılık, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Escherichia sp.* ve *Sphingomonas* gibi bakteri türleri aerobik şartlarda boyar maddeleri parçalayabilirler [79], [80], [81]. Aynı şekilde, funguslar da aerobik koşullarda birçok boyar maddeyi giderebilirler. Örneğin, odunsu bitkilerde bulunan, yapısal polimer lignini parçalayabilen ve ksenobiyotik maddelerin parçalanması amaçlı çalışmalarda çok yaygın olarak kullanılan beyaz çürükçül *Phanerochaete chrysosporium*'un, boyar maddeleri lignin peroksidaz, manganze bağlı peroksidaz gibi enzimleri kullanarak parçalayabildiği bilinmektedir [82].

2.6.3.2. Anaerobik Boyar Madde Giderimi

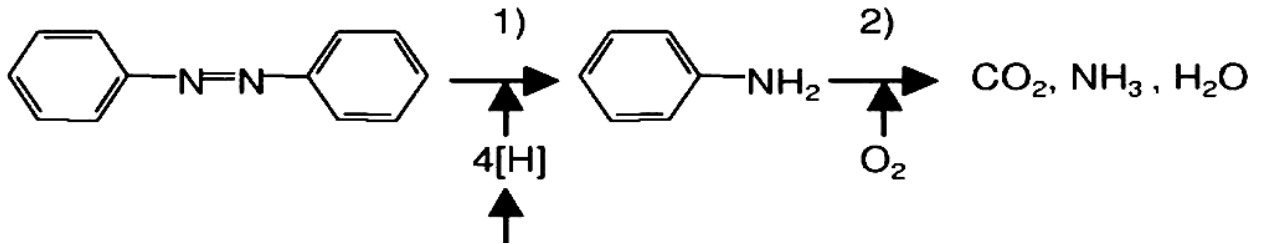
Çift bağlı azot halkasına bağlanan azo boyar maddelerinin aerobik proseslerle indirgenmesinin zor olması, anaerobik boya gideriminin bazı boyalar için ön giderim sürecinde kullanılmasını gerektirmektedir [83]. Boya gideriminin anaerobik olarak gerçekleşebilmesi için ilave karbon kaynağına ihtiyaç vardır. İlave karbon metan ve karbondioksit'e dönüştürülür ve elektronlar açığa çıkar. Bu elektronlar elektron taşıma zincirinden son elektron alıcısına yani azo-reaktif boyaya taşınır ve boyayla reaksiyona girerek azo bağını indirger. Böylece anaerobik parçalanma sonucunda azo boyar maddelerdeki renkten sorumlu azo bağının kırılmasıyla boya giderimi sağlanır. Bu olay oksijen tarafından inhibe edilir. Bu nedenle bazı boyar maddelerin daha kolay giderilmesi için ilk adım olarak anaerobik koşullar altında azo köprüsünün indirgenerek parçalanması gerekir [84].



Şekil 2.6. Anaerobik Azo Boya Redüksiyonunun Hücredeki İşleyişini Gösteren Şema [84].

Yapılan bir çalışmada ilave karbon kaynağı olarak kullanılan optimum miktardaki nişastanın boya giderme sürecinin kapasitesini arttırdığı vurgulanmıştır [85]. Sponza ve Işık [86] tarafından yapılan bir diğer çalışmada anaerobik arıtma ile Reaktif Black 5 ve Synozol Red boyalarının giderilebildikleri, kullanılan mikroorganizma türüne ve boya derişimine bağı olarak %23 ile %78 arasında olarak belirlenmiştir. Rengin tamamının giderilmesi için anaerobik kültür tarafından azo boyar maddelerine renk veren N=N yapısının parçalanması ile mümkün olmuştur. Anaerobik olarak parçalanamayan aromatik aminler de azo bağıının kırılmasıyla oluşabilmektedir. Normalde sitotoksik, mutajenik veya kanserojenik olmayan boyar maddelerden anaerobik parçalanma sonucu oluşan aminler bu özellikleri gösterebilmektedir. Böylece boyar maddeler kombine anaerobik-aerobik süreçlerle giderilir. Sonuç olarak, ilk adımda etkili bir renk giderimi sağlanmakta ve anaerobik ortamda dirençli olan aromatik aminler aerobik sürecinde giderilebilmektedir [87]. Ancak farklı mikroorganizmalar kullanırken biyolojik süreçte boya giderimi yapılmaktadır. Bu bağlamda pek mikroorganizma araştırılmaktadır.

Şekil 2.7.'de Azo boyaların iki adımda gerçekleşen biyolojik parçalanmanın şematik gösterimi sunulmuştur.



Şekil 2.7. Azo Boyanın Biyolojik Parçalanması; 1. Anaerobik Redüksiyon, 2. Aromatik Aminlerin Aerobik Oksidasyonu [88].

2.6.3.3. Biyolojik Boya Gideriminde Kullanılan Mikroorganizmalar

Literatürde biyolojik boya giderimi incelendiğinde; bakteri, alg ve fungus türlerinin bir çok biyolojik boya giderimi çalışmasında kullanıldıkları belirlendi [89]. Bu

amaçla en çok kullanılan bakteri, alg ve fungus (çizelge 2.3, 2.4, 2.5) gösterilmektedir:

Çizelge 2.3. Çeşitli Azo Boyaların Gideriminde Kullanılan Bakteriler [91].

Bakteri Türü	Azo Boya	Giderim (%100)
<i>Corynebacterium sp.</i>	Reactive Black 5	%68
	Yellow 15	%80
<i>Pseudomonas sp.</i>	Diamira Brilliant Orange	%90
	Reactive Red 195	%70
	Congo Red	%83
	Reaktive Red 22	%99.9
	Direct Black 38	%74
<i>Bacillus sp.</i>	Direct Red 22	%95
	Reactive Red 2	%20
	Metanil Yellow	%85
	Methyl Red	%98
	Congo Red	%95
	Methyl Orange	%98
<i>Sphingomonas sp.</i>	Naphthalenesulfonic Acid	%98.7
<i>Escherichia sp.</i>	Congo Red	%72
	Direct Black 38	%75

Bakteri Türü	Azo Boya	Giderim (%100)
<i>Agrobacterium sp.</i>	Crystal Violet	%100
	Anthraquinone-2-sulfonate	%18
<i>Streptomyces sp.</i>	Orange I	%45
	Orange II	%56
	Acid Orange 12	%76
	Acid Yellow 9	%87
<i>Mycobacterium sp.</i>	Methyl Violet	%72
<i>Aeromonas sp.</i>	Reactive Black 5	%67
	Reactive Blue 171	%45
	Reactive Red 198	%77
	Direct Yellow 86	%34

Çizelge 2.4. Çeşitli Azo Boyaların Gideriminde Kullanılan Alglerle [92],[93], [94].

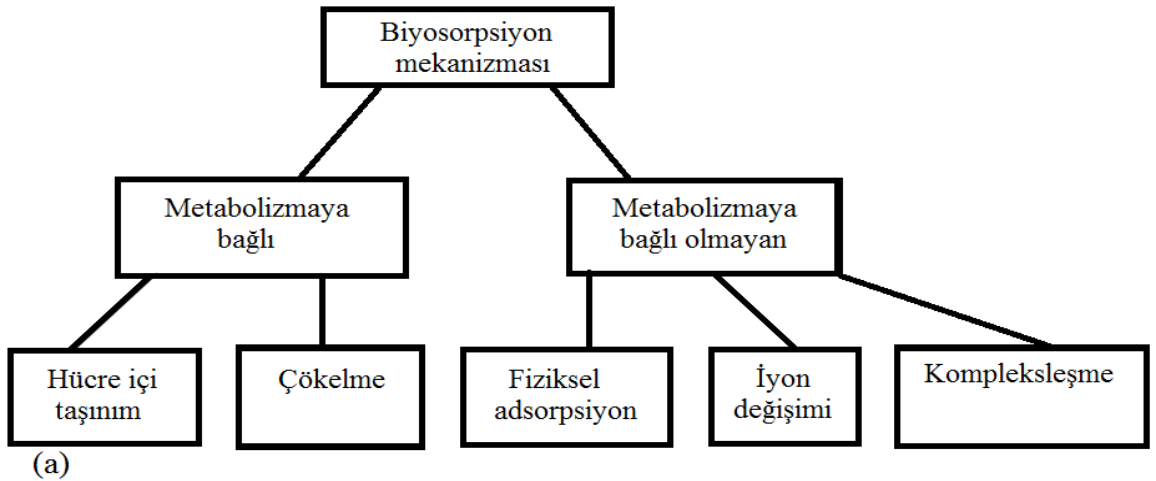
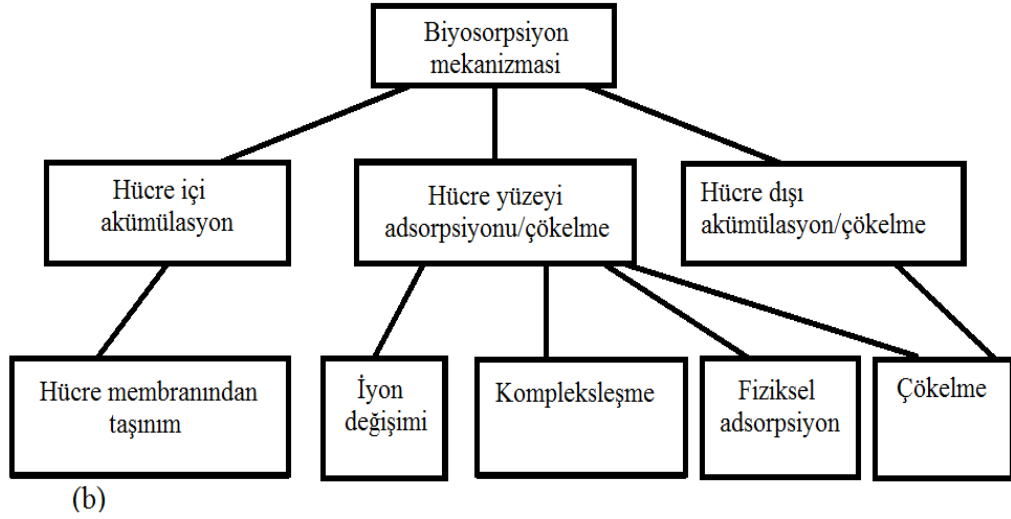
Alg Türü	Azo Boya
<i>Chara sp.</i>	Malaşit Yeşil
<i>Cladophora sp.</i>	Malaşit Yeşil
<i>Stoechospermum sp.</i>	Acid Blue 25
	Acid Orange 7
	Acid Black

Çizelge 2.5. Çeşitli Azo Boyaların Gideriminde kullanılan Funguslar [95].

Fungus Türü	Azo Boya
<i>Candida sp.</i>	Reaktif Blue 19 Reaktif Black 5 Reaktif Blue 19 Reaktif Red Asit Orange 7 Azobenzenosülfat
<i>Kluyveromyces sp.</i>	Reaktif Blue 19 Remazol Black B Remazol Red Remazol Turkuaz Blue
<i>Pichia sp.</i>	Dispers Red 15
<i>Saccharomyces sp.</i>	Reaktif Blue 19
<i>Funalia sp.</i>	Reactive Black 5
<i>Trametes sp.</i>	Benzenesulfonic Acid Acid Orange 51
<i>Pleurotus sp.</i>	Direct Blue 14
<i>Humecola sp.</i>	Methyl Orange

2.4.3.4. Biyosorpsiyon

Kimyasal maddelerin mikrobiyal kütle tarafından adsorpsiyonu veya kütlede birikimine biyosorpsiyon denir. Boyar madde renginin giderilmesinde ölü bakteriler, maya ve mantarlar kullanılabilir. Endüstride kullanılan boyaların kimyasal yapısı geniş bir yelpazede değişiklik gösterdiği için, mikroorganizmalarla olan etkileşimler boyanın kimyasına ve mikrobiyal kütlenin kimyasına bağlıdır. Bu nedenle farklı bağlanma hızları ve kapasiteleri, kullanılan mikroorganizmanın cinsine ve boyaya bağlıdır. Boyar madde çok toksik olduğu durumlarda biyosorpsiyon avantajlı olmaktadır [95].



Şekil 2.8. Biyosorpsiyon Mekanizması (a) Hücre Metabolizmasına Göre Sınıflandırılmış (b) Metal Alımının Gerçekleştiği Bölgelere Göre Sınıflandırılmış [97].

2.7. Çalışmada Kullanılan *Bacillus thuringiensis*' in Özellikleri

Çalışmamızda kullanılan *Bacillus thuringiensis* fakültatif anaerob, gram pozitif bir bakteri türüdür. *B. thuringiensis*'in spor formuna dönüşerek sentezlediği kristalize protein, özellikle Coleoptera, Diptera ve Lepidoptera sınıfı omurgasızlara karşı zehirleyici etki gösterir [98].

Bacillus thuringiensis halen kullanılmakta olan bioinsektisitlerin en tanınanı ve önemlisidir. İlk defa 1901 yılında Japonya'da ipek böcekleri üzerinde keşfedilmiştir; daha sonra 1911 yılında Almanya'da Thuringia kentinde yeniden keşfedilerek, ismini oraya ithafen almıştır. *B. thuringiensis* toprak kaynaklı bir bakteridir. Bu bakteri türünden fermantasyon yolu ile elde edilen toksik yapılar sadece hedeflenen organizma üzerinde etkilidirler ve bunun dışında yakın akraba canlılara bile etki gösteremezler. Günümüzde gelişen, tarımda böceklerle savaşta bize yardımcı olan bu özelliği son derece önemlidir. Bunun yanında, bir diğer önemli avantajı da, doğadan elde edilmiş olan bu bakterinin insanlara karşı herhangi bir etkisi olmamasıdır [99], [100].

Söz konusu bakteri daha çok mikrobiyal böcek öldürücü yapımında kullanılmaktadır ve boya giderimi ile ilgili çalışmalarda sadece Metilen Mavisinin *B. thuringiensis* ile giderimi araştırılmıştır [101].

Azo boyaları parçalaması bakımından, *B.thuringiensis*, diğer *Bacillus* türleriyle benzerlik göstermektedir. Sentetik bir besiyerinde gelişen saf *Bacillus subtilis* kültürünün bulunduğu ortamda, dispers ve basit bir azo boyar maddesi olan p-aminobenzen'in biyolojik parçalanmaları ile araştırılmıştır. Araştırma sonucunda, p-aminobenzeninin ko-metabolize olmasına yol açtığı ve azot-azot çift bağının kopması sonucunda anilin ve p-fenilendiamine dönüştüğü saptanmıştır. Aynı araştırmacılar p-aminobenzenin anaerobik ve aerobik koşullarda da parçalanmasına yol açan *Bacillus subtilis*'in olduğunu belirtmişlerdir [102].

3. Materyal ve Yöntem

3.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma

Çalışmamızda, çeşitli boyalarının giderimi amacıyla gram pozitif bir bakteri türü olan *B. thuringiensis* suşu kullanıldı. Kullanılan bu mikroorganizma Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Anabilimdalı Mikrobiyal Taksonomi ve Kültür Koleksiyonları Laboratuvarı'ndan temin edildi. Söz konusu bakteriye ait örnekler, Nutrient agar besiyerine ekilerek 37°C'de 20 saat inkübe edildi. İnkübasyonu tamamlanan kültürler çalışmamızda kullanılmak üzere +4°C de buzdolabında saklandı. Bu şekilde saklanan suşların pasajları düzenli olarak ayda bir tekrarlandı.

3.2. Çalışmada Kullanılan Boyalar

Çalışmamızda toz halinde Metil Oranj (Methyl Orange), Akridin Oranj (Acridine Orange), Anilin Sarısı (Aniline Yellow), Bismark Kahverengi Y (Bismarck Brown Y), Evans Mavisi (Evans Blue), Tripan Mavisi (Trypan Blue), Metilen Mavisi (Methylen Blue) ve Metil Kırmızısı (Methyl Red) boyları kullanıldı (Çizelge 3.1.). Kullanılan bu boyar maddeler distile su ile karıştırılarak ml'de 100ppm olacak şekilde boya solüsyonları elde edildi. Boya solüsyonları sterilizasyon sonrası her bir boya giderim besiyerine 1'er ml olacak şekilde ilave edildi [103].

3.3. Mikroorganizmanın Ekim ve Üretimi

3.3.1. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri

B. thuringiensis suşu için önkültürasyon yapmak amacıyla Nutrient broth besiyeri hazırlandı ve 250 ml hacimli erlenmayerlere 100'er ml olacak şekilde dağıtıldı [104]. Devamında pH'sı 7,0±0,2 olarak ayarlanan besiyerleri 121 °C' de 15 dakika otoklavda sterilize edildi.

Çalışmamızda boya giderimi yapmak amacıyla Luria–Bertani besiyeri kullanıldı. Bu besiyeri bileşimi (g/L): maya özütü 5,0; pepton 10,0; NaCl 10,0 şeklindedir [105]. Söz konusu besiyeri 250 ml hacimli erlenmayerlere 50'şer ml olacak şekilde dağıtıldı. Devamında pH'sı 7,0±0,2 olarak ayarlanan besiyerleri 121 °C' de 15 dakika otoklavda sterilize edildi

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan boyar maddelerin ticari isimleri, kimyasal özellikleri ve maksimum absorbands değerleri

Boyar Madde	Ticari İsmi	Kimyasal Formülü	Molekül Ağırlığı(g/mol)	Max Absorbans Değeri (nm)
Metil Oranj	Methyl Orange	$C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$	327.33	466
Anilin Sarısı	4-Aminoazobenzene	$C_6H_5N=NC_6H_4NH_2$	197.24	550
Bismarck Brown Y	Bismark Brown Y (G)	$C_{21}H_{24}N_8$	388.47	457
Evans Blue	Evans Blue	$C_{34}H_{24}N_6Na_4O_{14}S_4$	960.81	615
Tripan Mavisı	Trypan Blue	$C_{34}H_{28}N_6O_{14}S_4$	872.88	600
Metilen Mavisı	Desmoid Piller	$C_{16}H_{18}ClN_3S$	319.86	655
Metil Kırmızısı	Fast Red BBM	$C_{15}H_{15}N_3O_2$	269.30	415

3.3.2. Ekim ve Üretim

Çalışmada kullanılan boya giderim besiyerine McFarland 0.5 bulanıklığına göre ayarlanan 10^8 mikroorganizma/ml olan suspansiyondan 1 ml olacak şekilde ekildi. Üretimler, $37^\circ C$ 'de, 48 saatte gerçekleştirildi.

3.3.3. Üremenin Ölçümü

B. thuringiensis suşunun üremesinin ölçümü için; inkübasyon $37^\circ C$ 'de 40 saatte gerçekleştirildi. Söz konusu ortamlardan belirli zaman aralıklarında örnek alınarak

ve bu örneklerin 460 nm dalga boyunda absorbands değerleri ölçülerek, üreme miktarı saptandı.

3.4. Boya Gideriminin Belirlenmesi

Çalışmamızda boya giderimi analizleri için kültürler 2.000 rpm'de 15 dakika santrifüj (MIKRO 220 Hettich) edildi. Elde edilen süpernatantların, boyar maddelerin maksimum absorbands verdiği dalga boyundaki absorbands değerleri spektrofotometrede (UV.1700 pharmaspec SHIMADZU) okundu.

Boya giderim ortamlarında ilk absorbands değeri ile, inkübasyon sonrası son absorbands değeri arasındaki fark belirlenerek boya miktarındaki azalma yüzdesi hesaplandı. Kör olarak boyar madde içermeyen besiyeri kullanıldı.

Boya giderimi ölçümünün Hesaplanması:

$$\text{Boya giderim \%} = \frac{\text{Başlangıç absorbands} - \text{Son absorbands}}{\text{Başlangıç absorbands}} \times 100$$

3.5. *B. thuringiensis* Suşu İle Boya Gideriminde Uygun Boyaların Seçimi

B. thuringiensis Suşu İle boya gideriminde uygun boyaların seçiminde 3 kriter temel alındı.

3.5.1. Çeşitli Boyaların Gideriminde Önkültürasyonun Etkisinin Belirlenmesi

Çeşitli boyaların gideriminde önkültürasyonun etkisinin belirlenmesi için *B. thuringiensis* suşu iki paralel grup olacak şekilde ekildi. Birinci grup örnekler önkültürasyon sonrası, diğer grup örnekler ise direkt olarak stok kültüründen 1'er ml olacak şekilde ekim yapıldı ve 37°C'de ayarlanmış inkübatörde 48 saatte üretim gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası, üretim ortamlarında boyaların giderimi saptandı.

3.5.2. Çeşitli Boyaların Gideriminde Statik ve Çalkalamalı İnkübasyon Koşullarının Etkisinin Belirlenmesi

Çeşitli boya ların gideriminde statik ve çalkalamalı inkübasyon koşullarının etkisinin belirlenmesi için *B. thuringiensis* suşu iki paralel grup olacak şekilde ekildi. Birinci grup örnekler; 150 rpm döngüsel çalkalama hızına sahip inkübatörde, diğer grup örnekler ise; statik koşulda 37°C'de ayarlanmış inkübatörlerde 48 saatte üretim gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası, üretim ortamlarında boya ların giderimi saptandı.

3.5.3. Çeşitli Boyaların Gideriminde İnkübasyon Süresinin Etkisinin Belirlenmesi

Çeşitli boya ların gideriminde inkübasyon süresinin etkisinin belirlenmesi için *B. thuringiensis* suşu boya giderim besiyerine ekildi ve 37°C'de ayarlanmış inkübatörde 48 saatte üretim gerçekleştirildi . 24. ve 48'inci saatler sonunda, üretim ortamlarından alınan örneklerde boya ların giderimi saptandı.

3.6. *B. thuringiensis* Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Optimum Fizyolojik Koşulların Belirlenmesi

3.6.1. *B. thuringiensis* Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Başlangıç pH Değ erinin Etkisinin Belirlenmesi

Farklı başlangıç pH' larının etkisinin belirlenmesi amacı ile diğer tüm fizyolojik koşullar sabit tutulmak şartıyla, besiyerlerinin başlangıç pH' ları 5,5-8,0 arasında olacak şekilde ayarlandı. Ardından besiyerlerine boya eklendi ve boyalı besiyerlerine; *B. thuringiensis* suşu ekildi. 37°C'de 48 saatte üretim gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası, sıvı kültürlerden alınan örnekler; 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve supernatantların absorbans değ erleri ölçülerek boya giderimi saptandı.

3.6.2. *B. thuringiensis* Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Farklı Başlangıç Boya konsantrasyonlarının Etkisinin Belirlenmesi

Başlangıç boya konsantrasyonunun boya giderimine etkisinin belirlenmesi amacı ile diğer tüm fizyolojik koşullar sabit tutulmak şartıyla besiyerlerine 50-300 ppm arasında hazırlanmış olan boya solüsyonu eklendi ve boyalı besiyerlerine; *B. thuringiensis* suşu ekildi. 37°C'de 48 saatte üretim gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası, sıvı kültürlerden alınan örnekler; 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve supernatantların absorbans değerleri ölçülerek boya giderimi saptandı.

3.6.3. *B. thuringiensis* Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde İnkübasyon Sıcaklığının Etkisinin Belirlenmesi

Farklı sıcaklık değerlerinin boya giderimine etkisinin belirlenmesi amacı ile diğer tüm fizyolojik koşullar sabit tutulmak şartıyla besiyerlerine boya eklendi ve boyalı besiyerlerine; *B.thuringiensis* suşu ekildi. Statik koşulda 25-45°C arasında ayarlanmış olan inkübatörde 48 saatte üretim gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası sıvı kültürlerden alınan örnekler; 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve supernatantların absorbans değerleri ölçülerek boya giderimi saptandı.

3.6.4. *B. thuringiensis* Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde İnkübasyon Süresinin Etkisinin Belirlenmesi

İnkübasyon süresinin boya giderimine etkisinin belirlenmesi amacı ile diğer tüm koşullar sabit tutulmak şartıyla, besiyerlerine boya eklendi ve boyalı besiyerlerine; *B. thuringiensis* suşu ekildi. 37°C'de 56 saatlik inkübasyonda sıvı kültürlerden 12., 24., 36., 48. ve 56. saatlerde alınan örnekler; 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve supernatantların absorbans değerleri ölçülerek boya giderimi saptandı.

3.6.5. *B. thuringiensis* İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyaların Gideriminde Farklı Başlangıç Mikroorganizma Konsantrasyonunun Etkisinin Belirlenmesi

Başlangıç mikroorganizma konsantrasyonunun boya giderimine etkisinin belirlenmesi amacı ile diğer tüm fizyolojik koşullar sabit tutulmak şartıyla

besiyerlerine boya eklendi ve boyalı besiyerlerine; McFarland 0.5-4 arası ayarlanan bulanıklıklara göre uygun bulanıklıklardaki kültürlerden *B. thuringiensis* suşu ekildi. 37°C'de 48 saatte üretim gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası, sıvı kültürlerden alınan örnekler; 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve supernatantların absorbans değerleri ölçülerek boya giderimi saptandı.

3.7. *Bacillus thuringiensis* Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Biyosorpsiyonun Etkisinin Belirlenmesi

3.7.1. Ölü Biyokütle Hazırlanması

Ölü biyokütlenin hazırlanması için mikroorganizmamız, pH'sı 7,0±0,2 olan 50 ml'lik Nutrient broth besiyerinde, 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda sıvı kültürlerin 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edilmeleriyle elde edilen biyokütle, 121°C'de 15 dakika otoklavlandı. Biyosorpsiyon çalışmalarında kullanılacak bu biyokütle 0.3 g olacak şekilde hazırlandı.

3.7.2. Canlı Biyokütle Hazırlanması

Canlı biyokütlenin hazırlanması için mikroorganizmamız , pH'sı 7,0±0,2 olan Nutrient broth besiyerinde, 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda sıvı kültürler 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi. Biyosorpsiyon çalışmalarında kullanılacak bu biyokütle 0.3 g olacak şekilde hazırlandı.

3.7.3. Biyokütle İle Boya Gideriminin Saptanması

Çalışmamızda canlı ve ölü biyokütlenin boya giderimine etkisinin belirlenmesi amacı ile, boya giderim besiyerlerine Metil Oranj ve Evans Blue boyaları 50 mg/l olacak şekilde eklendi. Bu boyalı besiyerleri iki paralel grup olacak şekilde hazırlandı. Birinci grup örneklerde; canlı biyokütle, diğer grup örneklerde ise; ölü biyokütle eklendi. 37°C'de 48 saatlik inkübasyon sonrası sıvı kültürlerden alınan örnekler; 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve supernatantların absorbans değerleri ölçülerek boya giderimi saptandı.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Son yıllarda çevre kirliliği kontrolü büyük önem kazanmıştır. Alıcı ortamlara verilen boyar maddelerin çok düşük konsantrasyonlarda bulunması bile istenmeyen bir durumdur. Çeşidine göre bu boyalar toksik ve mutajenik özelliklere sahiptir. Bütün boyar maddeler toksik olmasa da çevre kirleticisi olarak tanımlanmaktadır [106].

Boya giderimi için önerilen fiziksel ve kimyasal yöntemlerin pahalı olmaları, her boya için kullanılamıyor olmaları ve alıcı ortamlar için zararlı yan ürünler oluşturuyor olmaları gibi özellikler, söz konusu fiziksel ve kimyasal yöntemlerin uygulanmalarının sınırlı olmalarına sebep olmuştur [106], [107]. Son yıllarda yapılan çalışmalar; bazı mikroorganizma türlerinin, atıksularda bulunan birçok boya türünü giderebilme yeteneğine sahip olduklarını vurgulamaktadır. Çöktürme, flokleştirme gibi fiziksel ve kimyasal yöntemlerle birleştirilen biyolojik arıtım yöntemleri, boyaların giderilmesinde kullanılmaktadır [108]. Biyolojik yöntemler, maliyetinin daha düşük olması veya alıcı ortamlar için toksik ürün oluşturmaması nedeniyle, bir çok çalışmada ön plana çıkmaktadır [109]. Son yıllarda bakteri kullanılarak atıksuların renk kirliliğinin giderilmesi konusunda yapılan çalışmalarda; B15 isimli tekstil boyasının *Pseudomonas aeruginosa* ve *Pseudomonas oleovorans* suşları tarafından sırasıyla %98 ve %94 oranlarında giderildiği belirlenmiştir [108].

Yapılan bir diğer çalışmada ise, *B. cereus*, *P. putida*, *P. fluorescence* ve *S. acidaminiphila* bakterileri ile beş farklı azo boyasının (AR-97, AR-119, AB-113, RR-120, AR-88) gideriminin %95 ile %100 arasında değiştiği gözlemlenmiştir [101].

Literatürde biyolojik boya giderimi ile ilgili çalışmalar incelendiğinde; bakteri, maya ve küflerin bir çok çalışmada biyolojik boya gideriminde kullanıldıkları belirlendi. *Trametes*, *Phanerochaete chrysosporium* gibi küfler; *Candida*, *Debaryomyces*, *Saccharomyces* ve *Issatchenkia* gibi mayalar ve *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, *Cytophaga*, *Escherichia* ve *Pseudomonas* gibi bakterilerin farklı türleri, boya giderimi araştırmalarında kullanılmıştır [106], [107], [108]. Ancak *Bacillus thuringiensis* suşu ile literatürde sadece Metilen Mavi boyasının gideriminin araştırıldığına rastlandı [17].

Çalışmamız kapsamında; *Bacillus thuringiensis* bakterisi ile çeşitli boyaların giderimleri araştırıldı.

4.1. *Bacillus thuringiensis* Suşu İle Boya Gideriminde Uygun Boyaların Seçimi

Boyaların *Bacillus* suşları ile giderilebilirliği incelenirken Metil Oranj, Metilen Mavi, Metil Red, Azobenzene, Orange G, Congo Red gibi birçok boyanın gideriminin araştırıldığı belirlendi [104], [110], [111], [112]. Azo boyaların genellikle bakteriyel biyodegradasyona karşı dirençli olmalarından ötürü, araştırmacılar azo boyalarının bakteriyel degradasyonu üzerine daha yüksek oranda yoğunlaşmışlardır. Bu bağlamda, çalışmamızda *B. thuringiensis* ile boya gideriminde azo boyalar tercih edildi [101].

Mikroorganizmalar ile boya giderimi çalışmalarında kullanılan besiyerinin içeriği önemli rol oynamaktadır [112]. Yapılan bir çalışmada, tekstil atık sularının bakteriler tarafından arıtımının, sadece glukoz ve maya ekstraktı varlığında gerçekleştirilebildiği, *Bacillus subtilis* suşunun ise, glikoz varlığındaki aerobik üremesi sırasında p-aminobenzeni aniline indirgeyebildiği belirlendi [113]. Bu bağlamda çalışmamızda diğer boya giderim çalışmalarında da kullanımı söz konusu olan ve içeriğinde pepton, maya özütü ile sodyum klorid bulunan; Luria Bertani Ortamı (LB besiyeri) kullanıldı [106], [114], [115].

Literatürde boya rengini giderebilen ve boyayı parçalayabilen bakteriler ile ilgili çalışmaların çoğunda inkübasyonun 25°C-40°C aralığında gerçekleştirildiği belirtilmektedir [115], [116], [117], [118]. Çalışmamızda da ön seçim için inkübasyon sıcaklığı olarak 37°C tercih edildi.

Literatürde boya giderimi amaçlı yapılan çalışmalarda bir çok parametrenin boya giderimini etkilediği saptandı [104], [101], [110], Örneğin; *E.coli* ile yapılan bir çalışmada Reactive Red 22 boyasının çalkalamalı koşullar altında dekolorize edilmediği; fakat aynı boyanın 10 saatlik statik inkübasyon sonucu tamamen

dekolorize edildiği belirlendi [106]. Bu bağlamda, çalışmamızda tüm boyaların gideriminde statik ve çalkalamalı inkübasyon koşulları dikkate alındı.

Çalışmamızda, tüm boyaların gideriminde 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri ile incelendi. Bu bağlamda, *B. thuringiensis* ile çeşitli boyaların gideriminin araştırılması amacıyla önkültürasyonun uygulanması; 24-48 saatlik farklı inkübasyon süreleri, statik ve çalkalamalı farklı inkübasyon koşulları olmak üzere, üç farklı kriter temel alındı. Bu doğrultuda, en yüksek boya giderimi elde edilen uygun boyaların seçimi üç kriter ile değerlendirilmesi ile oldu.

Çalışmamız; *B.thuringiensis* suşu ile Metil Oranj, Akridin Oranj, Anilin Sarısı, Bismarck Brown Y, Evans Blue, Tripan Mavisi, Metilen Mavisi ve Metil Kırmızısı boyları kullanıldı. Boya giderimi değerlerinin saptanması için absorbans değerleri çizelge 3.1.'de verilen dalga boylarında ölçüldü.

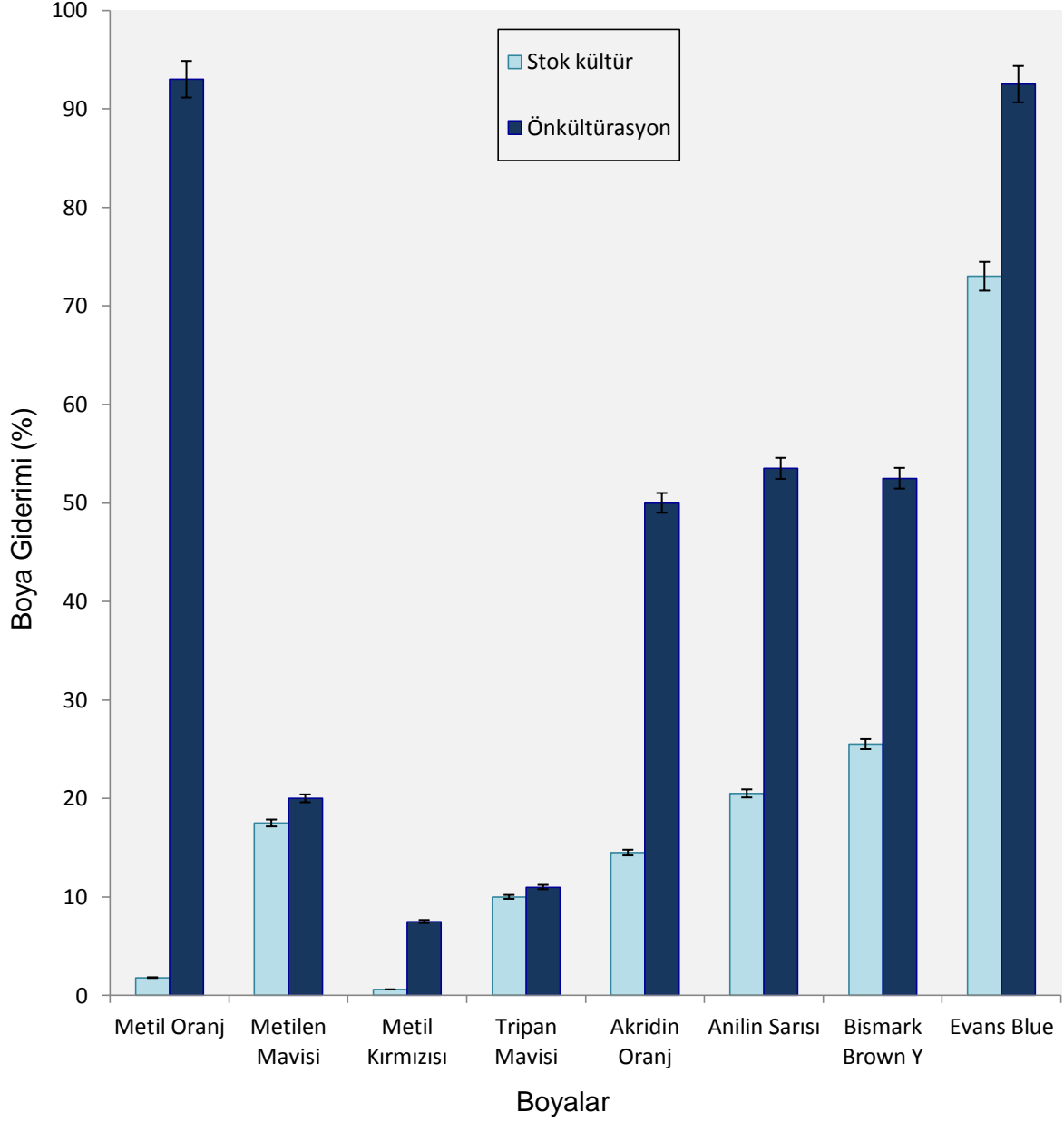
4.2. Çeşitli Boyaların Giderimlerinde Önkültürasyonun Etkisinin Belirlenmesi

Uygun boya seçimi için ilk kriter olarak önkültürasyonun etkisi incelendi. Önkültürasyonun etkisinin belirlenmesi için *B.thuringiensis* suşu iki paralel grup olacak şekilde ekildi. Birinci grup örnekler; önkültürasyon sonrası, diğer grup örnekler ise direk olarak stok kültürden 1'er ml olacak şekilde ekildi ve ekilen örnekler, 37°C'de 48 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, üretim ortamlarında şekil 4.1'de de gösterildiği gibi önkültürasyonun tüm boyaların giderimini olumlu yönde etkilediği belirlendi. Metil Oranj, Akridin Oranj, Anilin Sarısı ve Bismarck Brown gibi boylar için ise önkültürasyonun çok etkili olduğu saptandı.

Boya gideriminin önkültürasyon sonucunda daha yüksek olması, logaritmik üreme fazında olan aktif hücrelerin varlığı ile açıklanabilir.

Yapılan benzer çalışmalarda Metil Oranj boyasının giderimi için önkültürasyon kullanıldığı saptandı [104]. *Acinetobacter baumannii*, *Corynebacterium* sp., *Cytophaga columnaris*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescence* ve *Pseudomonas luteola*, *Bacillus* sp.suşlarının önkültürasyonu ile yüksek boya giderimi sonuçları elde edildiği saptandı [106], [111], [113].

Benzer bir diğ er ç alışmaya göre ise; *Bacillus sp.* suşu ve Metil Oranj boyası ile yapılan ç alışmalarda önkültürasyon uygulanan kültürlerde, 3 gün içerisinde %98 oranında boya giderimi elde edildiği bildirilmiştir [104].



Şekil 4.1. Çeşitli Boyaların Gideriminde Önkültürasyonun Etkisi

Üretimler bölüm 3.3.3.'te anlatıldığı şekilde gerç ekleştirildi. Sonuç lar üç ç alışmanın ortalamasıdır ve standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

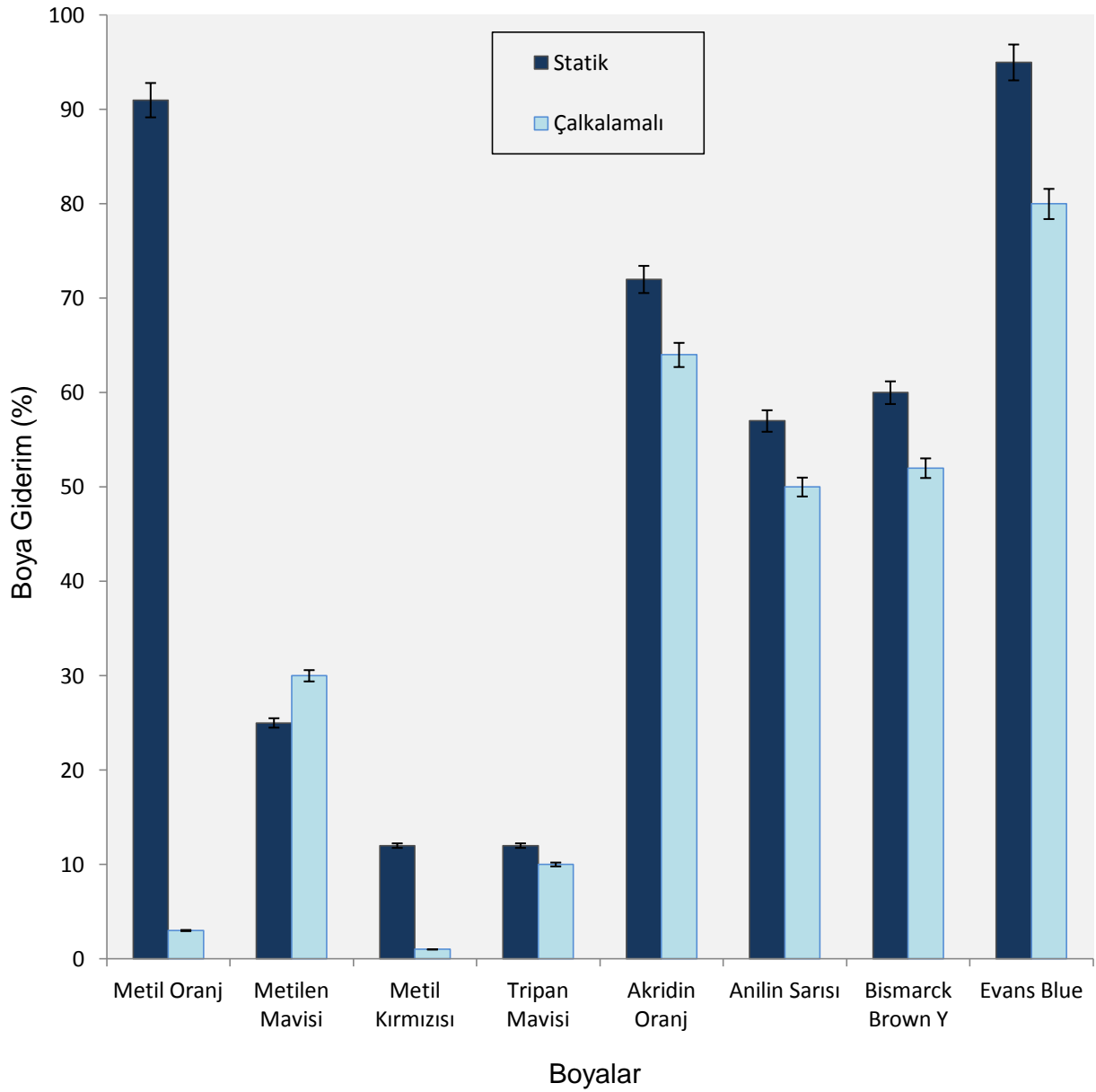
Bazı araştırmacılara göre ise; önkültürasyon işleminin boya gideriminde etkisi olmadığı belirtilmektedir [120]. Bu bağlamda *Bacillus cereus* stok kültürleri ile yapılan bir çalışmada, Reactive Black B boyasının söz konusu mikroorganizma tarafından 4 gün içerisinde %99.9 oranda giderilebildiği bildirilmektedir [121].

4.2.2. Çeşitli Boyaların Giderimlerinde Statik ve çalkalamalı İnkübasyon Koşullarının Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmamızda *Bacillus thuringiensis* suşu ile boya giderimi çalışmalarının devamı için uygun boyaların seçiminde ikinci kriter olarak statik ve çalkalamalı koşullarının etkisi incelendi. Bu amaçla *Bacillus thuringiensis* suşu iki paralel grup olacak Şekilde ekildi. Birinci grup örnekler; 150 rpm döngüsel çalkalama hızına sahip inkübatörde, diğer grup örnekler ise; statik koşulda 37°C'de 48 saat boyunca inkübe edildi. Bu süre sonunda Metilen Mavisini dışındaki boyalar için statik inkübasyon koşulunun, çalkalamalı inkübasyon koşuluna kıyasla daha yüksek oranda boya giderimine sebep olduğu belirlendi (Şekil 4.2). Tüm boyalardan farklı olarak, Metil Oranj boyası için ise, statik inkübasyon koşulunun boya gideriminde kullanılması gerektiği saptandı.

Yapılan bazı literatür araştırmalarında boya gideriminde, azoredüktaz enziminin etkili enzim olduğu, diğer araştırmalarda ise, oksijenaz enziminin etkili olduğu savunulmaktadır [105],[119],[123]. Bilindiği üzere, azoredüktaz enzimi, anaerob veya oksijenin az olduğu koşullarda aktive olmakta; buna karşılık, oksijenaz enzimi ise, adından da anlaşılabilir olduğu üzere oksijen oranının yüksek olduğu koşullarda aktive olmaktadır. Çalışmamızda, statik inkübasyon koşullarında boya gideriminin daha yüksek olduğu tespit edildi.(Şekil 4.2), Bu bağlamda, kullandığımız mikroorganizmadaki azoredüktaz enziminin oksijenaz enzimine kıyasla boya gideriminde daha etkili olduğu sonucuna varıldı.

Çalışmamız sonuçlarıyla paralel olarak, yapılan bir çalışmada; *Pseudomonas* bakterisinin iki suşunda da Orange II boyasının gideriminin başlangıcından, azoredüktaz enziminin sorumlu olduğu ve bu enzimin azo boyaların kimyasal yapılarındaki azo gruplarının yerine geçmek suretiyle degradasyona yol açtığı bulgusuna ulaşılmıştır [33].



Şekil 4.2. İnkübasyon Koşullarının Boya Gideriminde Etkisi.

Üretimler bölüm 3.3.3.'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

E.coli ile yapılan diğer bir çalışmada ise, Reactive Red 22 içeren besiyerinin çalkalamalı koşullarda dekolorize edilmediği; fakat aynı boya çözeltisinin 10 saatlik statik inkübasyon sonucu tamamen dekolorize edildiği, ilave olarak, ortamdaki oksijen miktarının söz konusu suşun azoredüktaz aktivitesini etkilediği

bildirilmektedir [106]. İlave olarak, Reactive Black 5 boyası ile yapılan bir diğer çalışmaya göre, söz konusu boyanın, *Funalia trogii* fungusu pelletleri ile giderimi, statik inkübasyon koşulunda gerçekleştirilmiş olup %90 oranında boya giderimi sağlanmıştır. Söz konusu çalışmaya göre çalkalamalı ortamda yer alan oksijenin azoredüktazı inhibe ettiği sonucuna varılmıştır [122].

Bacillus subtilis ile Azobenzene, Metil Kırmızısı, Orange G, Congo Red azo boya ların giderimi, statik koşullarda ve 48 saat içerisinde %98'e ulaşmıştır. Bu çalışmaya göre azoredüktaz enziminin aktivitesi arttıkça, boya giderim hızı da artmaktadır [123].

Yapılan bir diğer araştırmada ise, renk giderme kapasitesini kaybetmiş olan mutant *Rhodococcus sp.* suşunun azoredüktaz enzimini kodlayan DNA fragmanları klonlanmış ve kimyasal yapısında sülfü grubu içeren ve söz konusu suşun, birçok bakteri tarafından degrade edilmeyen Orange II ile Amido Black boya larını yüksek oranlarda gidermeyi başardığı saptanmıştır [126].

Funguslarla ilgili yapılan çeşitli araştırmalara göre ise, çalkalamanın boya gideriminde rol oynayan lignolitik sistemi baskıladığı ortaya çıkarılmıştır [127].

Ancak çalışmamızın aksine bazı araştırmacılar çalkalamalı inkübasyon koşulu ile artan oksijen transferinin, boya gideriminde aktif rol oynayan oksidatif enzimlerin ekstrasellüler aktivitesini optimum seviyeye taşımasına bağlı olarak, boya gideriminde daha etkili olduğunu savunmaktadır [117].

P. fluorescence ve *A. baumannii* suşları ile yapılan çalışmada; Metil Oranj boyasının çalkalamalı inkübasyon koşulunda daha yüksek seviyede dekolorize olduğu saptanmıştır.[119]

4.2.3. Çeşitli Boyaların 24 ve 48 Saatlik İnkübasyon Sürelerinde Giderimlerinin Belirlenmesi

Bakteri ile yapılan çeşitli boya giderim çalışmalarına bakıldığında en yüksek oranda dekolorizasyonun gerçekleştiği inkübasyon süresinin bakteri suşu ve

boyanın yapısına bağlı olarak çeşitlilik gösterdiği ve bir çok farklı çalışmada boyaların gideriminin 48 saatte tamamlandığı görülmektedir [101], [119], [123].

Çalışmamızda *B. thuringiensis* suşu ile boya giderimi çalışmaları için uygun boyaların seçiminde üçüncü kriter olarak 24 ve 48 saatlik inkübasyon sürelerinde çeşitli boyaların giderimi belirlendi. Bu amaçla *B. thuringiensis* suşu boya giderim besiyerine ekildi, 37°C’de 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri sonunda boyaların giderimi belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre Anilin Sarısı, Metil Oranj, Evans Blue boyalarının giderimi ilk 24 saatte diğer boyalara kıyasla daha yüksek olduğu saptandı. Tüm boyaların 48 saat inkübasyonda 24 saat inkübasyona göre daha yüksek oranlarda boya giderimleri olduğu saptandı.(şekil 4.3)

B.subtilis, Metil Kırmızısı boyasını 48 saat sonunda %98’e varan oranda gidermeyi başarmış; benzer bir şekilde *Pseudomonas fluorescences* ile boya giderim çalışmasında inkübasyon süresi 48 saat olarak belirlenmiştir [106], [123].

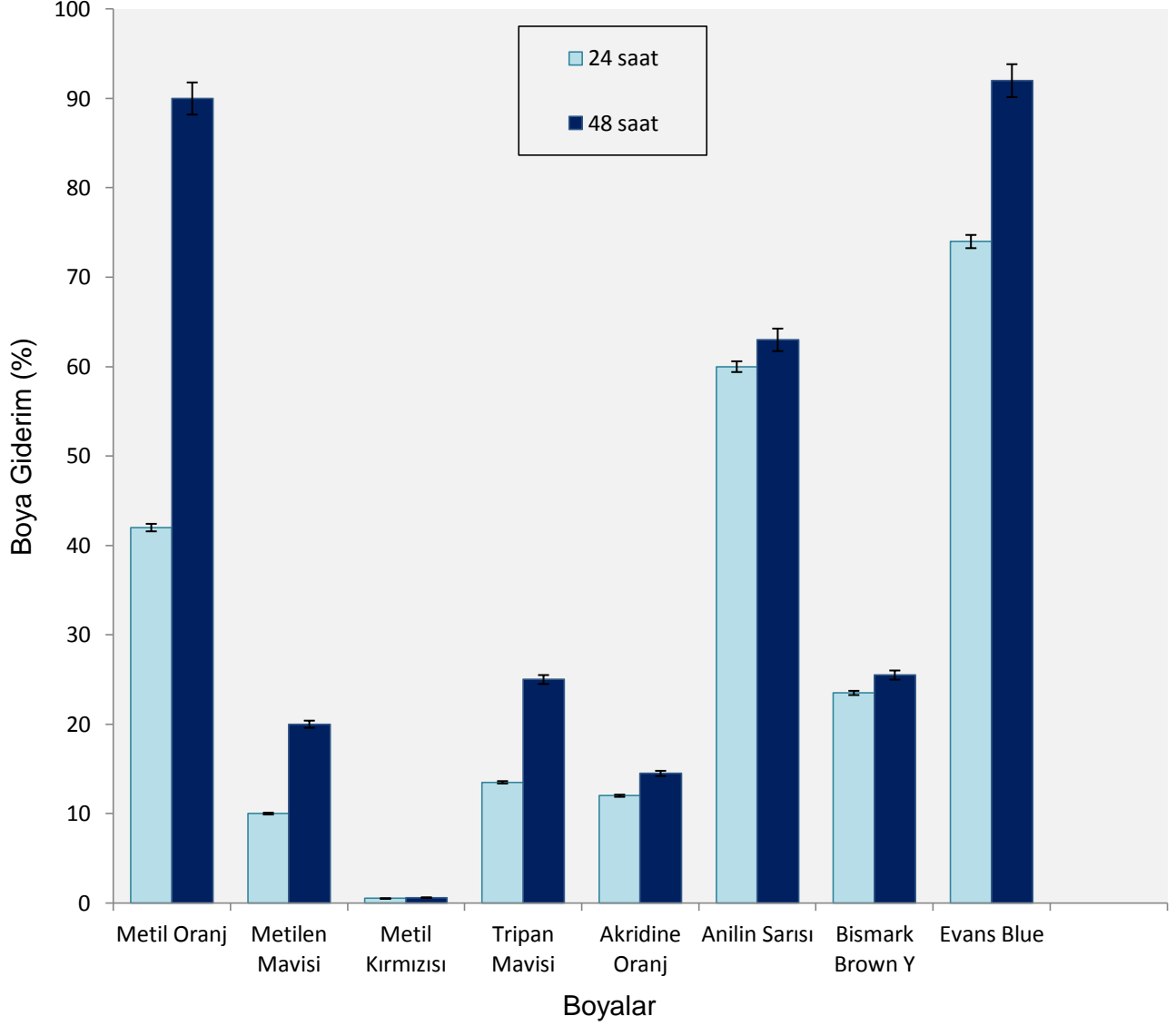
Çalışmamız boyunca; farklı kimyasal yapıya sahip Metil Oranj, Akridin Oranj, Anilin Sarısı, Bismarck Brown Y, Evans Blue, Tripan Mavisi, Metilen Mavi ve Metil Kırmızı boyar maddelerin *B.thuringiensis* tarafından renk giderimi denendiğinde *B.thuringiensis*’in boya giderim yeteneğinin boya eşitidine göre değiştiği gözlendi.

Çalışmamızda söz konusu boylarla denenen üç kriter göre renk giderimi açısından en iyi sonuç gösteren boyaların Metil Oranj ve Evans Blue olduğu saptandı. (şekil 4.1, 4.2 ve 4.3). Çalışmamıza bu boyaların renk giderimi ile devam edildi. Yapılan literatür taramalarında dahance *B.thuringiensis* suşu ile Metilen Mavisi dışında başka boyalarının giderim çalışmalarına rastlanmadı [101].

4.3. Reaksiyon Ortamında *Bacillus thuringiensis* Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Optimum Fizyolojik Koşulların Belirlenmesi

Boya giderim çalışmasında kültür ortamının başlangıç pH’sı, inkübasyon şekli,üretim sıcaklığı gibi fizyolojik koşulların tümü boya giderim miktarını etkilemektedir.

Bu nedenle *Bacillus thuringiensis* suşu ile boya giderim miktarını artırmak amacıyla çalışmamızda üretim ortamındaki en uygun fizyolojik koşullar saptandı.



Şekil 4.3. İnkübasyon Süresinin Boya Gideriminde Etkisi.

Üretimler bölüm 3.3.3.'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Çalışmamız boyunca şekil 4.2.'de de gösterildiği üzere statik inkübasyon koşulu çalkalamalı duruma kıyasla daha yüksek boya giderimi sağladığından, üretimler tüm deneylerde statik inkübatörde gerçekleştirildi.

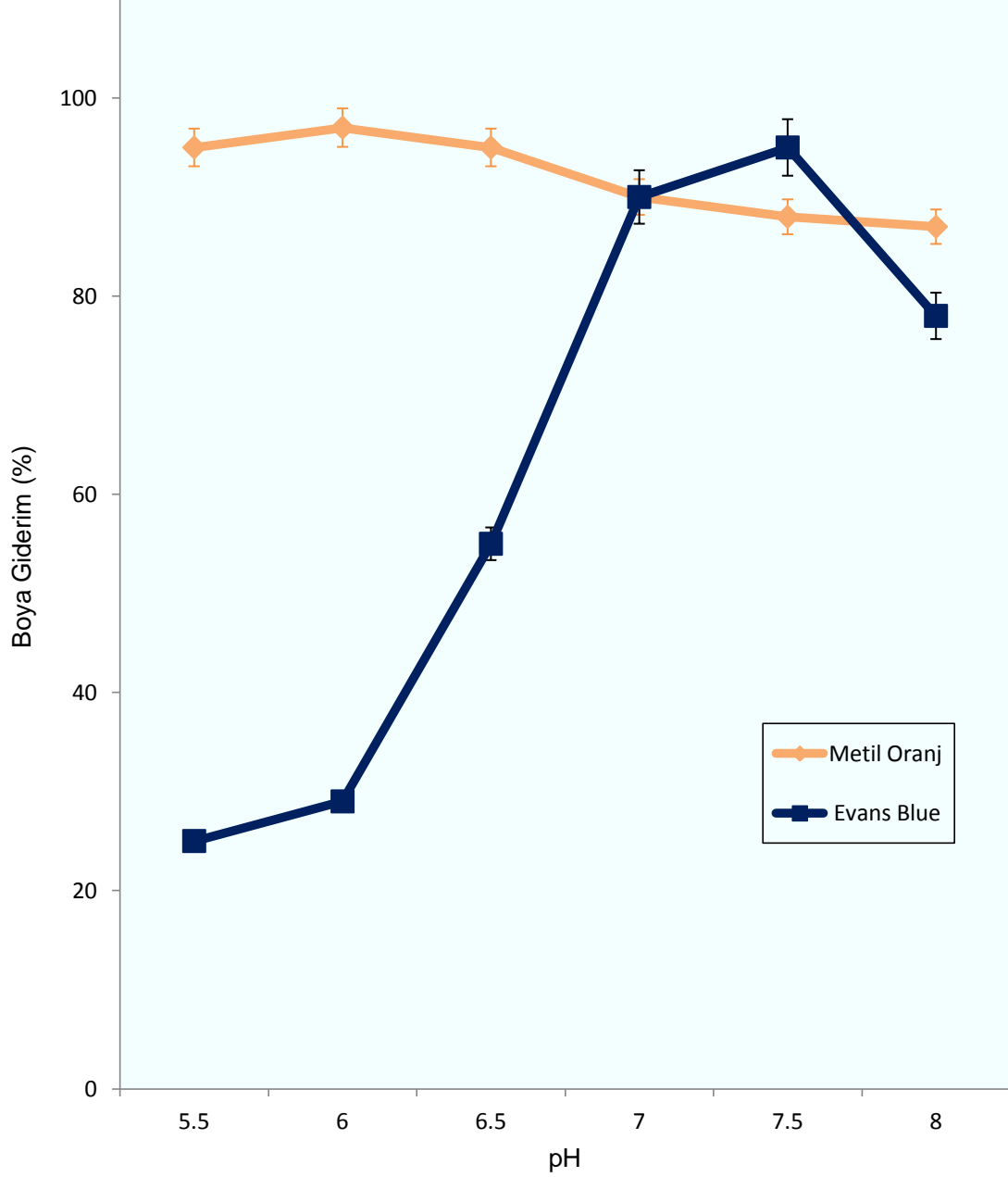
4.3.1. *Bacillus thuringiensis* Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Başlangıç pH Değerinin Etkisinin Belirlenmesi

Çalışmamızda ilk olarak boya giderimi için uygun başlangıç pH'sı saptandı. Farklı başlangıç pH'larının boya giderimine etkisinin belirlenmesi amacı ile diğer tüm fizyolojik koşullar sabit tutulmak şartıyla, besiyerlerinin başlangıç pH'ları 5,5-8,0 arasında olacak şekilde ayarlandı. Ardından boya giderim besiyerlerine; *B. thuringiensis* suşu ekildi. 37°C'de 48 saatte üretim gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası, sıvı kültürlerden alınan örnekler 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve boya giderim değerleri belirlendi. Bu bağlamda Metil Oranj boyası için pH'ın 6.0 ve Evans Blue boyası için pH'ın 7.5 olduğu ortamlarda boya gideriminin en fazla olduğu saptandı (Şekil 4.4). Elde edilen sonuçlara göre, Evans Blue boyasının gideriminin değişik pH değerlerine göre ciddi oranda değişkenlik gösterdiği, ancak Metil Oranj boyasının gideriminin pH değerindeki değişikliklerden çok fazla etkilenmediği gözlemlendi.

Yapılan benzer çalışmalarda *Bacillus sp.* suşu ile Metil Oranj boyasının gideriminde optimum pH değeri 8.5 olarak saptanmıştır.[104]

Çalışmamızdaki bulgulara benzer olarak başka bir çalışmada *Pseudomonas* bakterisi ile Metil Oranj boyasının giderimi pH 6-10 arası denenmiş ve optimum pH 8.0 olarak gerçekleştirilmiş olup; *E.coli* ile Reactive Red boyasının giderimi için optimum pH 7.0 olarak belirlenmiştir [128], [106].

Tekstil atıksuları kaynaklı bakterilerin boyar madde arıtımı çalışmasında bakteriler tarafından en iyi boya gideriminin pH 8'de gerçekleştiği ve dolayısıyla bu bakterilerin alkali özellik gösteren tekstil atıksularına genellikle uyumlarının kolay olacağı öngörülmüştür [121].



Şekil 4.4. Başlangıç pH Değerinin Boya Gideriminde Etkisi.

Üretimler bölüm 3.3.3.'te anlatıldığı şekilde gibi gerçekleştirildi. Sonuçlar 3 çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Azo boyanın bakteriyel giderimini etkileyen faktörlerin incelendiği çalışmalarda pH değeri 7.0 elde edilmiş [79], [110], [117], [116] ; indigo boyaları için ise hiçbir pH ayarlaması yapılmadan yüksek boya giderimi sonuçları elde edilmiş ve pH değişiminin boya giderimine etki etmediği saptanmıştır [129].

4.3.2. *Bacillus thuringiensis* Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Farklı Başlangıç Boya konsantrasyonlarının Etkisinin Belirlenmesi

Başlangıç boya konsantrasyonunun boya giderimine etkisinin belirlenmesi amacı ile diğer tüm fizyolojik koşullar sabit tutulmak şartıyla boya giderim besiyerlerine 50-300 ppm arasında hazırlanmış olan boya solüsyonları eklendi ve boyalı besiyerlerine; *B. thuringiensis* suşu ekildi. 37°C'de 48 saatte üretim gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası, sıvı kültürlerden alınan örnekler; 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve süpernatantların boya giderim değerleri belirlendi. Bu bağlamda Metil Oranj giderimi için 100 ppm ve Evans Blue için 300ppm olan ortamların boya giderimi açısından daha verimli olduğu saptandı. Ancak çalışmamız sonuçlarına göre saptanan optimum boya konsantrasyonlarından daha düşük veya daha yüksek miktarlardaki boyalar, renk gideriminde azalmaya sebep olmaktadır (Şekil 4.5).

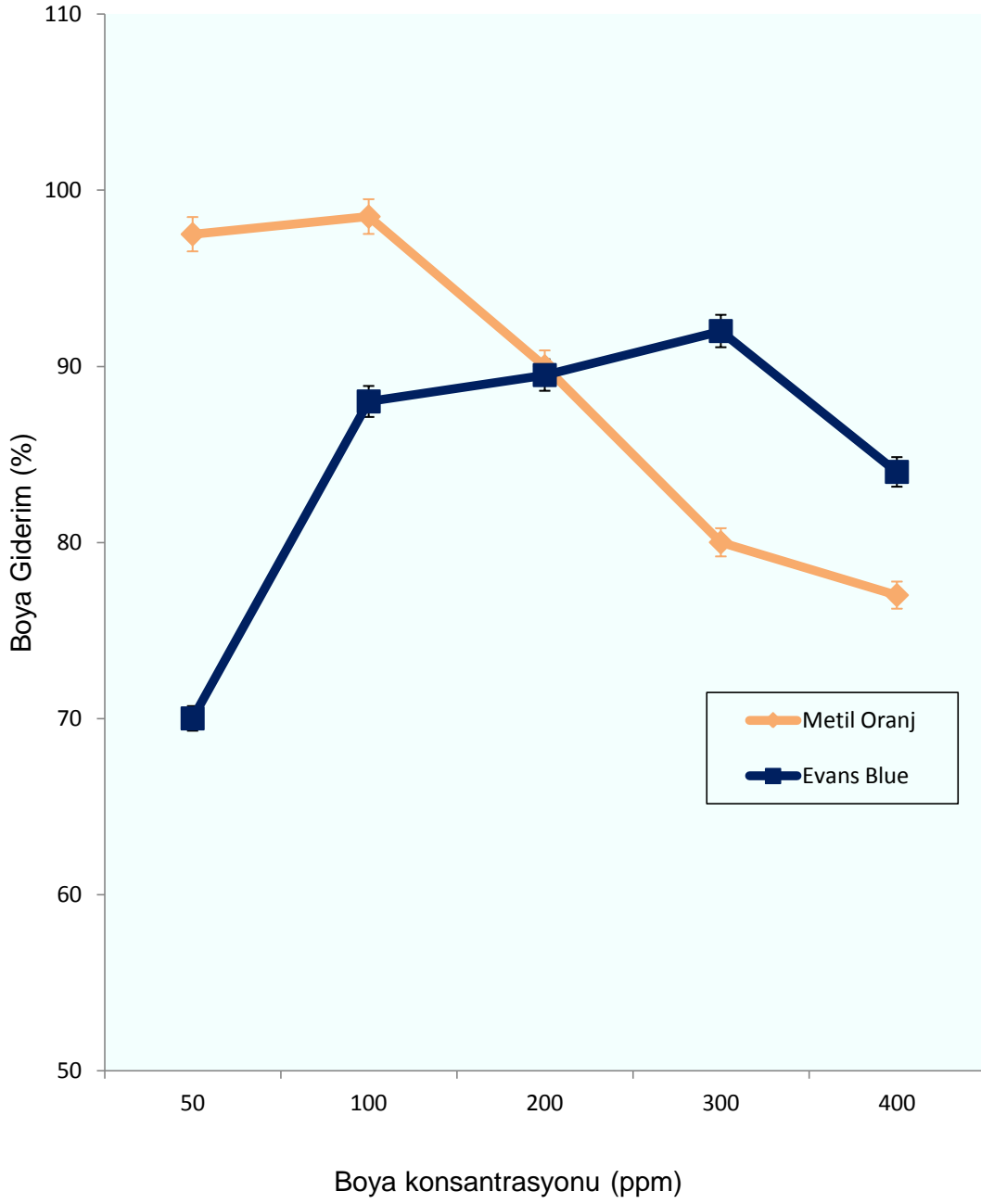
Uygun başlangıç boya konsantrasyon miktarlarının üzerindeki boya konsantrasyonları renk gideriminde azalmaya neden olduğu gibi bakteriyel inhibisyona da neden olabilir.

Benzer çalışmalarda *Pseudomonas* bakterisi ile Metil Oranj boyasının giderimi başlangıç boya konsantrasyonu 400 ppm olup, *Bacillus sp.* aynı boyayı 1000 ppm başlangıç konsantrasyonu ile 7 gün içerisinde %98'e kadar gidermeyi başarmıştır [104], [128].

Tekstil atıksuyu kaynaklı bakterilerin 50-400 ppm arasında değişen başlangıç Remazol Blue konsantrasyonlarında en iyi boya giderim verimi, 50 ppm'de 87.4% oranında saptanmıştır [113].

4.3.3. *Bacillus thuringiensis* Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde İnkübasyon Sıcaklığının Etkisinin Belirlenmesi

Farklı sıcaklık değerlerinin boya giderimine etkisinin belirlenmesi amacı ile diğer tüm fizyolojik koşullar sabit tutulmak şartıyla besiyerlerine boya giderim



Şekil 4.5. Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Boya Gideriminde Etkisi.

Üretimler bölüm 3.3.3.'te anlatıldığı gibi gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

besiyerlerine; *B.thuringiensis* suşu ekildi. Statik koşulda 25-45°C arasında ayarlanmış olan inkübatörlerde 48 saatte üretim gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası sıvı kültürlerden alınan örnekler; 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve süpernatantların absorban değerleri ölçülerek boya giderimi saptandı. Bu

bağlamda en yüksek boya giderimi aktivitesine 35°C'de inkübe edilen ortamlarda rastlandı ve bu sıcaklığın yükseldiği ve azaldığı ortamlarda boya gideriminin azaldığı gözlemlendi (şekil 4.6).

Literatürde boya giderebilen ve boyayı parçalayabilen bakteriler ile ilgili çalışmaların çoğunda inkübasyonun 25°C - 40°C aralığında gerçekleştirildiği belirtilmektedir [117], [79], [116].

Metil Oranj boyasının giderimi için yapılan çalışmada *Bacillus sp.* ile 30°C'de, %98'e varan oranda boya giderimi gerçekleşirken, *Pseudomonas sp.* ve *Proteus sp.* suşları ile en iyi sonuç 37°C'de elde edildiği belirlendi [104], [110], [128],

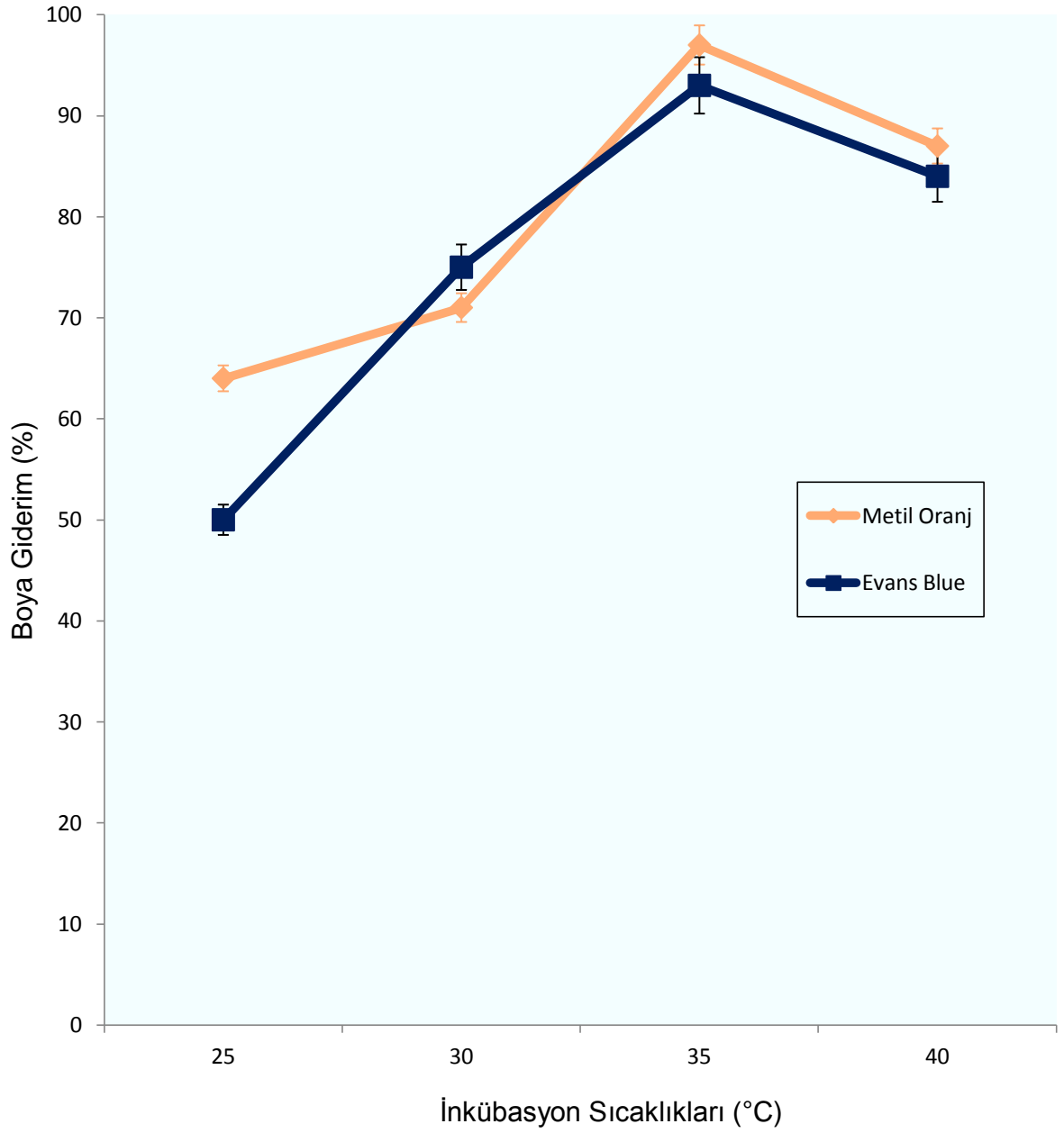
Çalışmamıza benzer olarak başka bir çalışmada Metil Oranj boyasının maksimum renk gideriminin 35°C' de olduğu, 40°C' de renk gideriminin düştüğü belirtilmiştir [128].

Ancak çalışmamızın aksine 20-35°C arasında renk gideriminin gerçekleştirildiği bir çalışmada, en düşük renk gideriminin 35°C'de olduğu ve bunun nedeninin bu sıcaklıkta renk gideriminde görevli olan enzimin aktivitesinin düşmesi olduğu saptanmıştır [117].

Enterobacter agglomerans suşunda boya gideriminde etkili olan azoredüktaz enziminin, 40°C üzerindeki sıcaklıklarda aktivitesinin azalması, bulgularımızı desteklemektedir [125].

4.3.4. Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde İnkübasyon Süresinin Etkisinin Belirlenmesi

İnkübasyon süresinin boya giderimine etkisinin belirlenmesi amacı ile diğer tüm koşullar sabit tutulmak şartıyla, boya giderim besiyerlerine; *B. thuringiensis* suşu ekildi. 37°C'de üretilen sıvı kültürlerden 12., 24., 36., 48. ve 56. saatlerde alınan



Şekil 4.6. İnkübasyon Sıcaklığının Boya Gideriminde Etkisi.

Üretimler bölüm 3.3.3.'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Sonuçlar 3 çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

örnekler; 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve süpernatantların boya giderim değerleri belirlendi. Şekil 4.7' de de görüldüğü gibi ilk 24 saatte Evans Blue boyası, Metil Oranj boyasına göre daha verimli giderildi ancak çalışmamız sonuçlarına

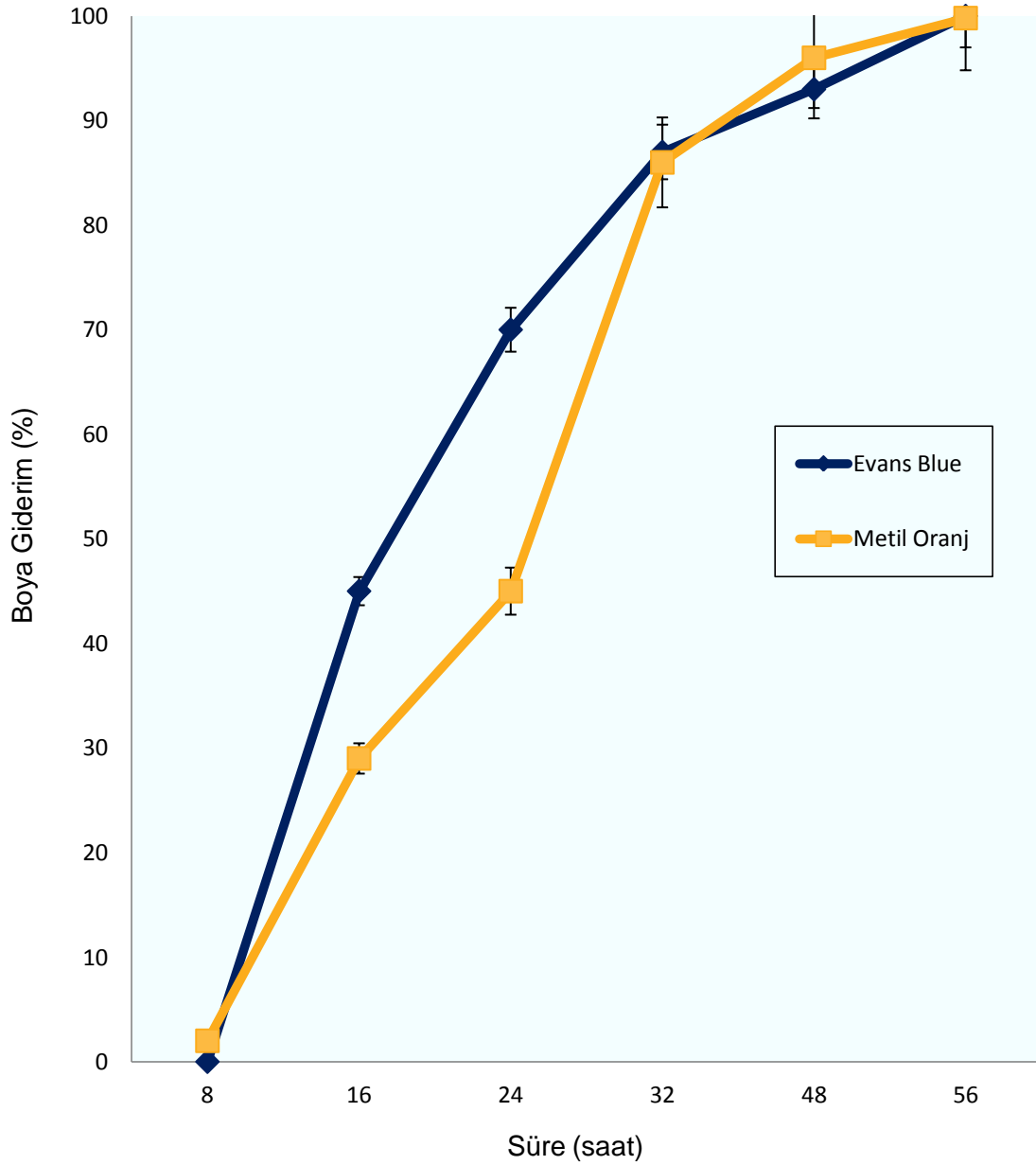
göre boya giderimi miktarının 56. saatte en yüksek olduğu ve bu sürede her iki boya için de %100 verim elde edildiği (Şekil 4.7).

Bakteri ile yapılan çeşitli boya giderim çalışmalarına bakıldığında en yüksek oranda boya giderimi gerçekleştiği inkübasyon süresinin bakteri çeşidi ve boyanın yapısına bağlı olarak farklılık gösterdiği görüldü [121].

Bacillus türüleri incelendiğinde, Metilen Mavisinin *B.thuringiensis* tarafından giderilmesinin 48 saatte gerçekleştiği; *Bacillus sp* ile Metanil Yellow boyasının giderim süresi 78-84 saat arası olduğu gözlemlendi. [119], [17], [127]. *Bacillus cereus* suşu reactive black B boyasını 12 gün sonunda gidermiş olup, Bacillus türünün başka bir suşunda ise Metil Red boyasının 48 saat sonunda %98'e varan boya giderimi gerçekleştirdiği gözlenmiştir [123], [26] Bizim çalışmamızda da 56. saatte tüm boya giderilmesine rağmen, 48 saate boya gideriminde yüksek verime ulaşıldığı için *B. thuringiensis* suşları ile çalışmanın avantajlı olduğunu belirtebiliriz. (Şekil 4.7.)

Diğer çalışmalar incelendiğinde, *Pseudomonas spp* tarafından boya gideriminin 4 günde; *Pseudomonas fluorescense* ve *Acinetobacter baumannii* suşları tarafından Metil Oranj, 55 ile 60'ıncı saatler arasında giderildiği saptandı; [128], Atıksu kaynaklı bakteri kültürü incelendiğinde ise Remazol Blue boyasının giderimi 72. saat sonunda gerçekleştirildiği görüldü [121].

Başka bir çalışmada ise; *Bacillus sp.* ile Metanil Yellow boyasının giderimindeki en uygun inkübasyon süresi 78-84 saat arası olarak gözlenmişken, aynı çalışmaya göre, *Bacillus cereus* suşu, Reactive Black B boyasını 12 gün sonunda giderebilmiştir [115], [120].



Şekil 4.7. İnkübasyon Süresinin Boya Gideriminde Etkisi.

Üretimler bölüm 3.3.3.'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

4.3.5. *Bacillus thuringiensis* Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Farklı Başlangıç Mikroorganizma Konsantrasyonlarının Etkisinin Belirlenmesi

Başlangıç mikroorganizma konsantrasyonunun boya giderimine etkisinin belirlenmesi amacı ile diğer tüm fizyolojik koşullar sabit tutulmak şartıyla boya

giderim besiyerlerine; McFarland 0.5-4 arası ayarlanan bulanıklıklara göre *B. thuringiensis* suşu ekildi. 37°C'de 48 saatte üretim gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası, sıvı kültürlerden alınan örnekler 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve süpernatantların boya giderim değerleri belirlendi. Metil Oranj giderimi için McFarland 3 ve Evans Blue için McFarland 4 bulanıklıklarına göre ayarlanan çözeltilerden alınan örneklerin boya giderimi miktarlarının daha yüksek olduğu saptandı (Şekil 4.8). Yani başlangıç mikroorganizma konsantrasyonu arttıkça boya gideriminde daha verimli sonuçlar elde edildi.

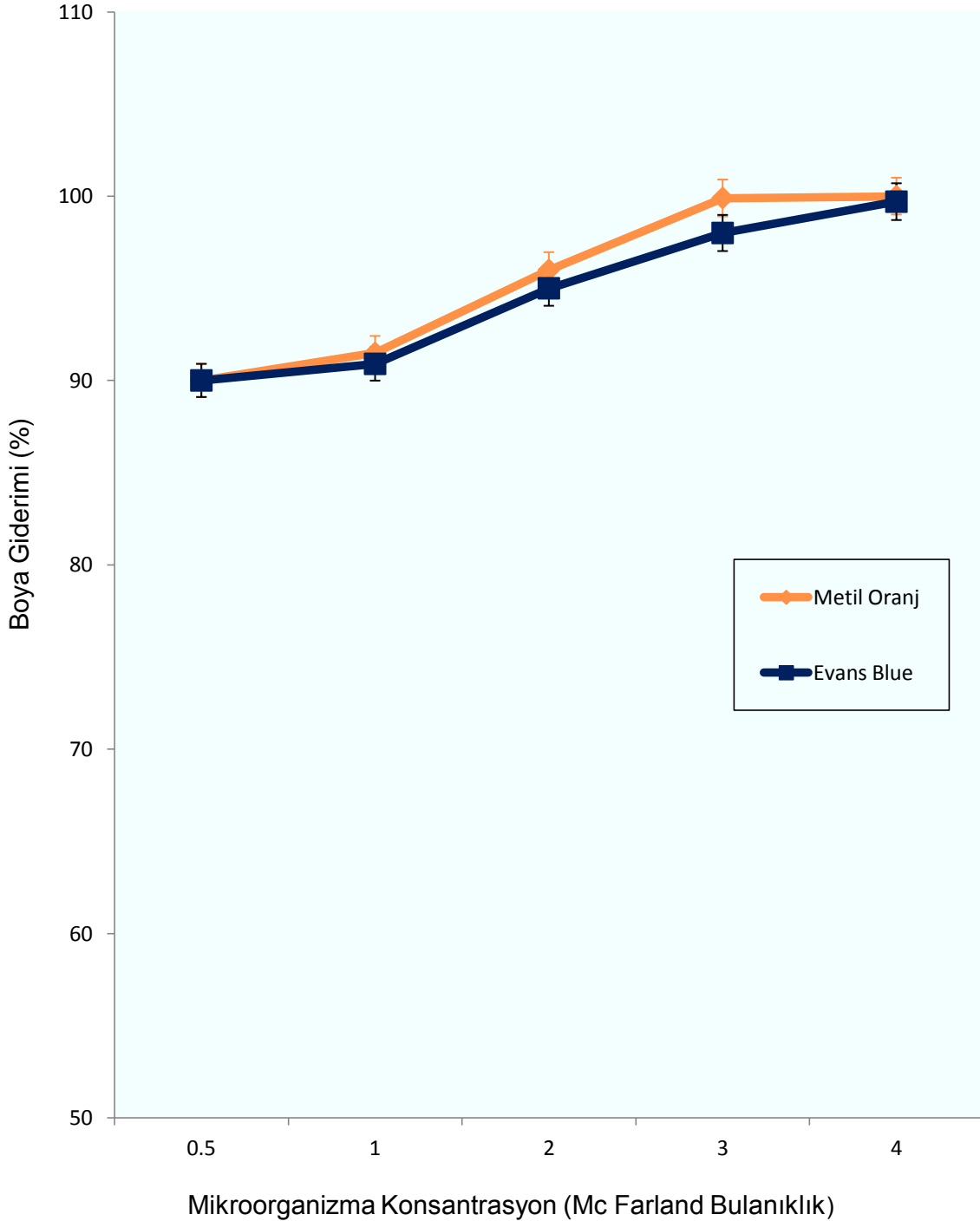
Bacillus thuringiensis suşu ile bir çalışmada, başlangıç mikroorganizma konsantrasyonu 0.5 McFarland olarak ayarlanmış olup; iyi sonuçlar elde edilmiştir [29]. Ancak bazı araştırmalarda ise mikroorganizmalar katı besiyerinde izole edilmiş ve oluşan koloniler öze yardımıyla boya giderim ortamına inoküle edilmiştir [115].

4.4. *Bacillus thuringiensis* Suşu İle Metil Oranj ve Evans Blue Boyalarının Gideriminde Biyosorpsiyonun Etkisinin Belirlenmesi

4.4.1. Biyokütle ile Boya Gideriminin Saptanması

Çalışmamızda canlı ve ölü biyokütlenin boya giderimine etkisinin belirlenmesi amacı ile, boya giderim besiyerleri iki paralel grup olacak şekilde hazırlandı. Birinci grup örneklerde; canlı biyokütle, diğer grup örneklerde ise; ölü biyokütle eklendi. 37°C'de 48 saatlik inkübasyon sonrası sıvı kültürlerden alınan örnekler; 2.000 rpm'de 20 dakika santrifüj edildi ve süpernatantların boya giderim değerleri belirlendi.

Ölü ve Canlı biyokütle ile gerçekleştirilen boya giderimi denemeleri sonucunda; canlı biyoküttele yapılan boya gideriminin daha yüksek olduğu ve ölü hücrelerle yapılan boya gideriminin yok denecek kadar az olduğu saptandı. Bu da, çalışmamız kapsamında kullanılan mikroorganizma ile gerçekleşen boya gideriminin biyoparçalanma ile ilgili olduğunu düşündürmektedir (Şekil4.9).



Şekil 4.8. Başlangıç Mikroorganizma Konsantrasyonunun Boya Gideriminde Etkisi. Üretimler bölüm 3.3.3.'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Mikroorganizmalarla elde edilen renk gideriminin adsorpsiyon ya da biyoparçalanma ile ilgili olduğu konusuna açıklık getirmek amacıyla yapılan bir diğer çalışmada, *B. cepacia*, *E. aerogenes*, *P. agglomerans*, *P. vulgaris*

mikroorganizmalarının ölü ve canlı hücreleriyle gerçekleştirilen boya giderimi denemelerinin sonucunda, canlı hücrelerle yapılan boya gideriminin daha yüksek olduğu saptanmıştır [132]. Bu da bizim bulgularımıza paraleldir.

Ölü biyokütle ile yapılan çalışmamız, hücrelerin otoklavlanmasından sonra yapılarının bozulması nedeni ile boyaların bağlanabileceği alanın azalması sonucuna varılabilir [131].

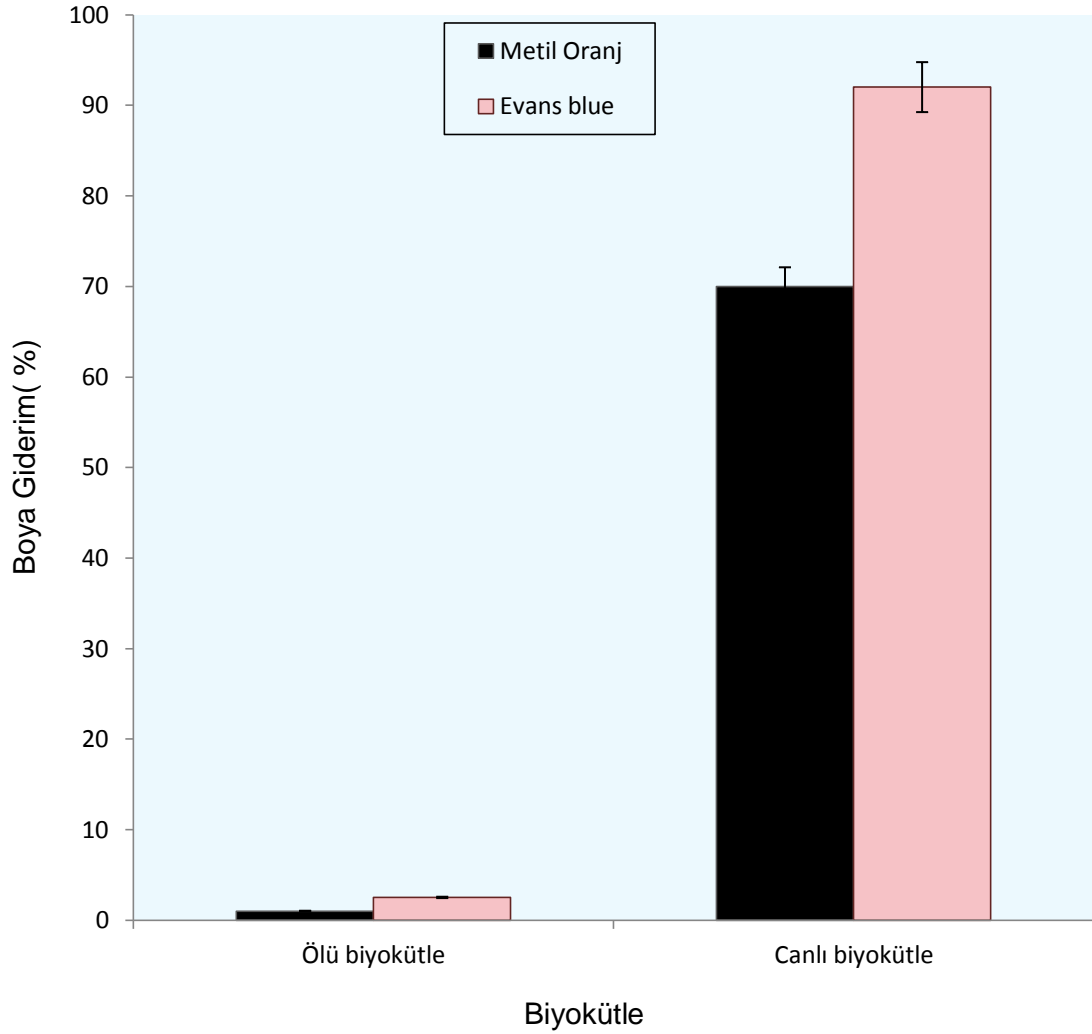
Reaktif boyaların gideriminde ise bisorpsiyon ve biyoparçalanmayı karşılaştırmak amacıyla 3 farklı gram negatif bakteri suşu olarak *Aeromonas sp.*, *Pseudomonas luteola* ve *E. coli*, ve iki farklı gram pozitif bakteri suşu olarak *B. subtilis* ve *S. aureus* seçilmiş ve iki grupta da reaktif boyaların giderimi karşılaştırılmıştır. Bu araştırmaya göre gram negatif bakterilerde biyosorpsiyon ile boya gideriminin biyolojik parçalanmaya kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır [133].

Funguslarla yapılan bir çalışmada ise *Humecola sp.* ile Metil Oranj boyasının gideriminin ölü biyokütle ile daha yüksek olduğu saptanmışken; yapılan bir diğer çalışmada da *Aspergillus sp.*, *Trichoderma sp.* ve *Fusarium sp.* ile aynı boyanın giderimi için ölü biyokütle uygun görünmüştür [104], [134].

Çalışmamıza benzer olarak *Pleurotus ostreatus* ile deri endüstrisinde kullanılan birçok boyanın giderimi için gerçekleştirilen denemeler sonunda canlı misellerle % 97 renk giderimi elde edilmişken ölü misellerle % 15 gibi düşük derecelerde renk giderimi saptanmıştır [135]. Bu sonuçlar azo boya renginin gideriminde mikrobiyal aktivitenin rol oynadığına dair düşüncemizi kuvvetlendirmektedir .

Sonuç olarak, tüm boyalar için statik ve çalkalamalı inkübasyon koşulunun etkisinin boyaların gideriminde en önemli etken olduğu saptandı. Metil Oranj boyasının gideriminde ise statik inkübasyon koşulunun daha yüksek bir etkinlik gösterdiği belirlendi. Çalışmamızın devamında, Metil Oranj ve Evans Blue boyalarının giderimlerinde optimum inkübasyon koşulları belirlendi. En yüksek boya gideriminin sağlandığı pH değerinin Metil oranj boyası için 6,0; Evans Blue boyası için de 7.5 olduğu belirlendi. Optimum başlangıç boya konsantrasyonları ise, Metil Oranj için 100 ppm; Evans Blue için ise 300 ppm olarak belirlendi. Yukarıda belirtilen koşullara ek olarak, 35°C'lik ortam sıcaklığının her iki boyanın giderimi

için de optimum bir sıcaklık olduğu tespit edildi. Bu koşullar altında, 56 saat inkübasyonun sonunda %100 boya giderim verimine ulaşıldı.



Şekil 4.9. Biyosorpsiyonun Boya Gideriminde Etkisi

Üretimler bölüm 3.7.'de anlatıldığı şekilde gerçekleştirildi. Sonuçlar 3 çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılan *B.thuringiensis* suşunun, kısa sürede ciddi oranda boya giderimi gerçekleştirmesinin yanı sıra, statik inkübasyon ortamının da çeşitli boyar maddelerin giderilmesine çalkalamalı ortama kıyasla çok daha fazla katkıda bulunduğu saptandı. Literatürde , söz konusu bakteri suşu aracılığıyla bugüne kadar sadece Metilen Mavi boyasının giderilebildiğine rastlanmış olması çalışmamızın özgün nitelikte olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada elde edilen bulguların ışığı altında, boya giderimi denemelerinde kullanılan *B.thuringiensis*'in Metil Oranj ve Evans Blue azo boyalarının boya giderim değerlerinin yüksek olması bu mikroorganizmanın endüstriyel uygulamalarda kullanılabilirliğini göstermektedir. Ancak *B.thuringiensis*'in çeşitli boyları giderme yetenekleriyle ilgili mekanizmaların aydınlatılması için daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır. Çalışma bulgularımızın bu araştırmalar için temel olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Shreve., Brick., *Industrial chemistry*, 207 Patton Ave, Shreveport, LA71105, Year for Built:1938; Last Sold:Jun **1995**
- [2] Fu, Y. and Viraraghavan, T., Fungal Decolorization of Dye Wastewaters:a Review, *Bioresource Technol.*, 79: 251-262, **2000**
- [3] Chung, K.T. and Stevens, S.E., Degradation of Azo Dyes by Environmental Microorganisms and Helminths, *Environ. Toxicol. And, Chem.* 12: 2121- 2132, **1993**
- [4] Aksu Z., Application of Biosorption For the Removal of Organic Pollutants: a review, *Process Biochem.*, 40, 997-1026, **2005**
- [5] Seesuriyachana, P., Takenakab, S., Kuntiyaa, A., Klayraungc, S., Murakamib, S. and Aokib, K., Metabolism of Azo Dyes by *Lactobacillus casei* TISTR 1500 and effects of various factors on decolorization. *Jurnal of Water Research*, 41: 985 – 992, **2007**
- [6] Lucas, MS,. Dias, AA., Sampaio, A., Amaral, C., Peres, JA., Degradation of a Textile Reactive Azo Dye by a Combined Chemical-Biological Process: Fenton Reagent-Yeast., *Jurnal of Water Res*, 41:1103-09, **2007**
- [7] Sun, JH., Sun, SP., Sun, JY., Sun, RX., Qiao, LP., Guo, HQ., Fan, MH., Degradation of Azo Dye Acid Black 1 Using Low Concentration Iron of Fenton Process Facilitated by Ultrasonic Irradiation. *J. Ult Sonochem*, 14:761-766, **2007**
- [8] Brown, D., Hitz, H.R. and Schafer, L., The Assessment of the Possible Inhibitory Effect of Dyestuff on Aerobic Wastewater Bacteria: experience with a screening test., *Jurnal of Chemosphere*, 10: 215-261, **1981**
- [9] Meyer, U., Biodegradation of synthetic organic colorants, *FEMS Symp* ,12: 371-385, **1981**
- [10] Banat, I.M., Nigam, P., Singh, D. and Marchant, R., Microbial Decolorization of Textile Dye Containing Effluents: A Review, *Jurnal of Bioresource Technology*, 56: 217-227, **1996**
- [11] Harmer, C., Bishop, P., Transformation of Azo Dye AO-7 by Wastewater Biofilms, *Jurnal of Water Science and Technology* , 636, **1992**
- [12] Balter, M., Clothes Make the (Hu) Man, *Jurnal of Science*, 325(5946):1329.doi:10.1126/science.325_1329a PMID , 19745126 **2009**

- [13] Hunger, K., ed. *Industrial Dyes. Chemistry, Properties, Applications. Weinheim: Wiley-VCH. 2003.*
- [14] Öktemer, A., Kocabaş, H., Kınayoğlu, N., Demir, İ., *Organik Kimya Ve Uygulaması*, M. E. B., Devlet Kitapları, Çınar Ofset, **1992.**
- [15] Shreve, Norris., Brink, A., Joseph (çeviri: Çataltaş A.İhsan), *Kimyasal Proses Endüstrileri 1*, İnkılâp-Aka Basımevi, İstanbul, **1983.**
- [16] Craig F., Bohren., *Fundamentals of Atmospheric Radiation: An Introduction with 400 Problems.* Wiley-VCH. ISBN 3-527-40503-8. **2006.**
- [17] Berlin, B., Kay, P., *Basic Color Terms: Their Universality And Evolution*, Berkeley: University of California Press, **1969.**
- [18] Hermann von Helmholtz, *Physiological Optics The Sensations of Vision*, 1866, as translated in *Sources of Color Science*, David L. MacAdam, ed., Cambridge: MIT Press, **1970.**
- [19] Judd, Deane, B., Wyszecki, Günter., *Color in Business, Science and Industry.* Wiley Series in Pure and Applied Optics (third ed.). New York: Wiley-Interscience. p. 388. ISBN 0-471-45212-2. 1975.
- [20] Fairchild, M.D., *Color Appearance Models*, 2nd Ed., Wiley, Chichester, **2005.**
- [21] Zollinger, H., *Color Chemistry, Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments*, 3rd ed. Weinheim: Wiley-VCH, **2003**
- [22] Koçak, G., *Bacillus subtilis İle Reaktif Black 5 Boyar Maddesini Renk Giderim Kinetiğinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, **2011.**
- [23] Garfield, S., *How One Man Invented a Color That Changed the World*, Faber and Faber. ISBN 0-393-02005-3, 2000.
- [24] Duarte F. J., Hillman L. W., (Eds.), *Dye Laser Principles*, Academic, New York, **1990.**
- [25] Kurbanova, R., Mirzaoğlu R., Ahmedova, G., Şeker, R., Özcan, E., *Boya ve Tekstil Kimyası ve Teknolojisi*, 1. Baskı, Konya, **1998.**
- [26] Austin, G. T., *Shrieve's Chemical Process Industries*, fifth edition, McGraw- Hill, 772-794, **1984.**

- [27] Seventekin, N., *Boyar Madde Kimyasına Giriş*, 1. Baskı, Bornova, **1998**
- [28] Tekstilde Boya ve Boyar Maddeler <http://www.tekstilokulu.net/smfforum/index.php?topic=118.0> (**Ocak, 2014**)
- [29] Koçak, P., *Bazı Siyanobakterilerin Organik Kirletici Giderim, Etkinliklerinin Araştırılması*, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2009**.
- [30] Karaca, H., *Tekstil Boyar Maddelerinin Mikrobiyal Renk Giderimi*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, **2006**.
- [31] Kiernan, JA., *Classification & Naming of Dyes, stains and fluorochromes*, Sep-Nov;76(5-6):261-78, **2001**.
- [32] Rogers, Walton, P., *Dyes and Dyeing*, In Jenkins, pp. 25–29. **2001**.
- [33] Dorothy, M., Miriam, C., Rice and Mushrooms for Color, *Turkey Red Journal*, pp. 201-14, **2008**.
- [34] Munro, John, H., *Medieval Woollens: Textiles, Technology, and Organisation*, In Jenkins, pp. 214–15. **2003**.
- [35] Hunger, K., *Industrial Dyes Chemistry, Properties, Applications Jurnal of Chemistry Properties*, **2003**.
- [36] Weinhei., Wiley, VCH., Garfield, S., *Color Chemistry, Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments*, 3rd ed. ISBN 0-393-02005-3. **2000**.
- [37] Perkin, W.H., On Mauveine & Allied Colouring Matters, *Jurnal of Chemistry Soc. Trans.*,717–732. DOI: 10.1039/CT8793500717,**1879**.
- [38] Ramchandani, S., DAS, M., Khanna, S.K., Fd., Effect of Metanil Yellow, Orange II & Their Blend on Hepatic Xenobiotic Metabolizing Enzymes in Rats. *Fd. Chem. Toxic.* 32: 559-563, **1994**.
- [39] <http://global.britannica.com/EBchecked/topic/174980/dye/277833/Classifications-of-dyes> (**Ocak 2014**).
- [40] Kirk, Raymond E., Donald F., Othmer., *Encyclopedia of Chemical Technology*, 3d ed. New York: John Wiley and Sons, **1980**.
- [41] Austen, B., George T., Shreve, R.N., Joseph A., *Shreve's Chemical Process Industries*, New York: McGraw-Hill, **1984**.

- [42] *Pollution Prevention and Abatement Handbook* World Bank Group Effective , July **1998**.
- [43] Hatch, K.L., Maibach, H.I., Hunger, K., *Textile Chem Colorist* 30, 22ñ29. *Jurnal of Chimia*, 48, 520-522, **1998**.
- [44] Gregory, P., *High Technology Applications of Organic Colorants Chap*, 12, Plenum, NewYork, **1991**.
- [45] Aspland, JR., *Textile Dyeing and Coloration, Association of Textile Chemists and Colorists*, pp. 3–310, **1997**.
- [46] Gregory, P., *Azo Dyes Structure Carcinogenicity Relationships, Jurnal of Dyes and Pigments*, 7:45–56 doi:10.1016/0143-7208(86)87005-X, **1986**.
- [47] Abrahart, EN., *Dyes and their Intermediates*, New York: Chemical Publishing. pp. 1–12. **1977**.
- [48] Br´asa, R., Gomesa, A., Ferraa, M.I.A., Pinheirob, H.M., *Monoazo and Diazo Dye Decolourisation Studies in a Methanogenic UASB Reactor, Journal of Biotechnology*, 11557–66, I. C. Gonc,alvesa, Portugal, **2005**.
- [49] Karuppannan S., *Preparation, Characterization, and Photophysical Study of Thiazine Dyes within the Nanotubes and Nanocavities of Silicate Host: Influence of Titanium Dioxide Nanoparticle on the Protonation and Aggregation of Dyes*, India **2010**.
- [50] Chandan, M., Amonkar., *Synthesis of acridone in Organic Syntheses o-chlorobenzoic acid and aniline in a Goldberg reaction*, 19:6; *Coll. Vol. 2:15* from **1996**.
- [51] <http://global.britannica.com/EBchecked/topic/46918/azo-dye> (**Ocak 2014**).
- [52] http://www.newworldencyclopedia.org/entry/Azo_compound (**Ocak 2014**).
- [53] <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5874.html> (**Ocak 2014**).
- [54] <https://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/14338/promo/emolecules> (**Ocak 2014**).

- [55] Correia, V.M., Stephonson, T., Judd, S.J., Characterisation of Textile Wastewaters Rewiev, *Jurnal of Environmental Technology*, 15, 917-929. **1994**.
- [56] Weisburger, E., *Cancer Causing Chemicals*, In LaFond RE, ed, *Cancer The Outlaw Cell*, American Chemical Society, pp. 73–86, **1978**.
- [57] Socha, K., Treatment of Textile Effluents, *Textile Month*, 12, 52- 56, **1991**.
- [58] Correia, V.M., Stephonson, T., Judd, S.J., Characterisation of Textile Wastewaters Rewiev, *Jurnal of Environmental Technology*, 15, 917-929, **1994**.
- [59] Longstaff, E., An Assessment & Categorisation of The Animal Carcinogenicity Data On Selected Dyestuffs & an Extrapolation of Those Data to an Evaluation of The Relative Carcinogenic Risk to Man, *Jurnal of Dyes and Pigments*, 4:243–304, **1983**.
- [60] Yoo, E.S., Mechanism of Decolorization of Azo Dyes in Anaerobic Mixed Culture, *Journal of Environmental Engineering*, 127:9(844), **2001**.
- [61] Willmott, N., Guthrie, J., Nelson, G., The Biotechnology Approach to Colour Removal from Textile Effluent, *Journal of the Society of Dyers and Colorists*, 114, 38-41. **1998**.
- [62] Olcay K., Ufuk A., *Boyar Madde İçeren Tekstil Atıksularının Arıtım Alternatifleri*, Uludağ Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi, Cilt 7, Sayı 1, **2002**.
- [63] Slokar, Y.M., and Marechal, A.M.L., Methods of Decoloration of Textile Wastewaters, *Jurnal of Dyes and Pigments*, 37(4), 335-356. **1998**.
- [64] Pandey, A., Bacterial decolorization and degradation of azo dyes, *Jurnal of International Biodeterioration & Biodegradation* 01/2007; DOI:10.1016/j.ibiod.2006.08.006, **2007**.
- [65] Strickland, A.F. and Perkins, W.S. Decolorization of Continuous Dyeing Wastewater by Ozonation, *Jurnal of Textile Chemist and Colorist*, 27(5), 11-15, **1995**.
- [66] Mahaveer, D., Rekha H., Usha N., *Electrochemica Oxidation Of Textile Dye Wasterwater Using Different Electrodes*, Dept of Civil Engg., UVCE, Bangalore University, Bangalore-560056, Karnataka, India, **2010**.

- [67] Vlyssides, A.G., Papaioannou, D., Loizidou, M., Karlis, P.K., and Zorpas, A.A., Testing an Electrochemical Method for Treatment of Textile Dye Wastewater, *Jurnal of Waste Management*, 20, 569-574, **2000**.
- [68] Slokar, Y.M., Methods of Decoloration of Textile Wastewaters, *Jurnal of Dyes and Pigments*, Volume 37, Issue 4, Pages 335–356, 15 May **1998**.
- [69] Nigam P., Physical Removal of Textile Dyes From Effluents & Solid State Fermentation of Dye Adsorbed Agricultural residues, *Jurnal of Bioresourc Technology*, Volume 72, Issue3, 219–226, May **2000**.
- [70] Wang, Q., Change of Adsorption Modes of Dyes on Fluorinated TiO₂ and Its Effect on Photocatalytic Degradation of Dyes under Visible Irradiation, *American Chemical Society*, June 14, **2008**.
- [71] Kocaer, F.O., and Alkan, U., *Boyar Madde İçeren Tekstil Atık Sulannın Arıtım Alternatifleri*, Uludağ Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi, 1: 47-55. **2002**.
- [72] Gurusamy, A., Use of Cellulose-Based Wastes For Adsorption of Dyes From Aqueous Solutions, *Journal of Hazardous Materials*, Volume 92, Issue 3, Pages 263–274, 10 June **2002**.
- [73] Weixiao, L., Biodecolorization of Azo, Anthraquinonic & Triphenylmethane Dyes by White-Rot Fungi & a Laccase-Secreting Engineered Strain, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, Volume 31, Issue 3, pp 127-132, March **2004**.
- [74] Gill, PK., Biodecolourization of Azo & Triphenylmethane Dyes by *Dichomitus squalens* and *Phlebia* spp, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, Volume 28, Issue 4, pp 201-203, April **2002**.
- [75] Dapinder, K., Bakshi, A., Enhanced Biodecolorization of Synthetic Textile Dye Effluent by *Phanerochaete chrysosporium* Under Improved Culture Conditions, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Volume 15, Issue 4, pp 507-509, August **1999**.
- [76] 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**.
- [77] Nigam, P., Banat, İ. M., Singh, D., and Marchant, R., Microbial Process for the Decolorization of Textile Effluent Containing Azo, Diazo and Reactive Dyes, *Jurnal of Process Biochemistry*, 31(5), 435-442. **1996**

- [78] Oneill, C., Hawkws, F. R., Hawkws, D. L., Esteves, S. and Wilcox, S. J. (a) Anaerobic-Aerobic Biotreatment of Simulated Textile Effluent Containing Varied Ratios of Starch and Azo Dye, *Jurnal of Water Research*, 34(8), 2355-2361. **2000**.
- [79] Coughlin, M. F., Kinkle, B. K., Tepper, A., and Bishop, P. L., Characterisation of Aerobic Azo-Dye Degrading Bacteria and Their Activity In Biofilms, *Jurnal of Water Science and Technology*, 36(1), 215-220, **1997**.
- [80] Kiyoharu Itoh, Biodegradation of anthraquinone dyes by *Bacillus subtilis*, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, *Jurnal of Chemosphere*, Volume 50, Issue 4, pp 522-527, April **1993**.
- [81] Jo-Shu, Chang,. Decolorization Kinetics of A Recombinant *Escherichia coli* Strain Harboring Azo Dye Decolorizing Determinants From *Rhodococcus sp.* *Jurnal of Biotechnology* , Volume 23, Issue 8, pp 631-636, April **2001**.
- [82] Coughlin, M.F, Degradation Of Azo Dyes Containing Aminonaphthol By *Sphingomonas sp* Strain 1CX, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* , Volume 23, Issue 4-5, pp 341-346, October **1999**.
- [83] C. Cripps, Biodegradation Of Azo & Heterocyclic Dyes By *Phanerochaete chrysosporium*, *Jurnal of Environ. Microbiol.* Vol, 56 no, 4 1114-1118, April **1990**.
- [84] Oneill, C., Lopez, A., Esteves, S., Hawkes, F. R., Hawkes, D.L., and Wilcox, S., Azo Dye Degredation in an Anaerobic-Aerobic Treatment System Operating on Simulated Textile Effluent, *Jurnal of Microbiology and Biotechnology*, 53, 249-254. **2000**.
- [85] Nuttapun, S., Microbial Decolorization Of Reactive Azo Dyes In a Sequential Anaerobic–Aerobic System, *Journa of Chemical Engineering*, Volume 99, Issue 2, Pages 169–176, 15 June **2004**.
- [86] Chinwetkitvanich, S., Tuntoolvest, M. and Panswad, T. Anaerobic Decolorisation of Reactive Dye bath Effluents By a Two Stage UASB System With Tapioca As a Co-Substrate, *Jurnal of Water Research*, 34(8), 2223-2232. **2000**.
- [87] Sponza, D., Işık, M., Atalay, H., Reaktif Black 5 ve Synozol Red Azo Boyalarının Anaerobik Arıtılabilirliği, I.T.Ü. 7. *Endüstriyel Kirlenme Kontrolü Sempozyumu*, İstanbul, 19-34, **2000**.

- [88] Tsezos, M., Bell, J.P., Comparison Of The Biosorption & Desorption Of Hazardous Organic Pollutants By Live & Dead Biomass, *Jurnal of Water Research*, Volume 23, Issue 5, Pages 561–568, May **1989**.
- [89] KECK, Reduction of Azo Dyes By Redox Mediators Originating In The Naphthalenesulfonic Acid Degradation Pathway of *Sphingomonas* Sp. Strain BN6, *Jurnal of Environmental Microbiology*, 63(9), 3684-3690, **1997**.
- [90] King-Thom, C., Degradation Azo Dyes By Environmental Microorganisms & Helminthes, *Jurnal of Environmental Toxicology and Chemistry*, Volume 12, Issue 11, pages 2121–2132, November **1993**.
- [91] Usman, A., Decolourization and Degradation of Textile Azo Dyes By *Corynebacterium* sp. Isolated From Industrial Effluent, *Jurnal of Zoology*, Pakistan, vol 43(1), pp.1-8, **2011**.
- [92] <http://books.google.com.tr/books?id=j5mZtQeBq8C&pg=PA105&lpg=P105&dq> (Ocak **2014**).
- [93] Ehsan, D., Biosorption of Three Acid Dyes by the Brown Macroalga *Stoechospermum marginatum*: Isotherm, Kinetic and Thermodynamic Studies, *Journal Chemical Engineering*, Volumes 195–196, 1 July, Pages 297–306, **2012**.
- [94] Khataee, A.R., Biological Treatment of a Dye Solution by Macroalgae *Chara* sp. Effect of Operational Parameters, Intermediates Identification and Artificial Neural Network Modeling, *Jurnal of Bioresource Technology* Volume 101, Issue 7, Pages 2252–2258, April **2010**.
- [95] Khataee, A.R., Optimization of Biological Treatment of a Dye Solution by Macroalgae *Cladophora* sp. Using Response Surface Methodology, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, Volume 42, Issue 1, Pages 26–33, January **2011**.
- [96] Oyasan, N., *Ağır Metal ve Boyar Madde İçeren Atıksuların Rhodotorula sp. ile Arıtımı, Bazı Siyanobakterilerin Organik Kirlenici Giderim Etkinliklerinin Araştırılması*, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, **2007**.
- [97] Tsezos, M., Bell, J.P., Comparison of the Biosorption and Desorption of Hazardous Organic Pollutants by Live and Dead Biomass, *Jurnal of Water Research*, Volume 23, Issue 5, Pages 561–568, May **1989**.
- [98] Veglio, F., Beolchini, F., Removal of Metals by Biosorption, *15th International Biohydrometallurgy Symposium (IBS)* September 14-19, Athens, Hellas, **2003**.

- [99] Biyolojik Pestisidler, <http://www.enderyarsan.net/biyopestisit.php> (Ocak, 2014)
- [100] Fred S, B., Safety and Advantages of *Bacillus thuringiensis* Protected Plants to Control Insect Pests, *Jurnal of Regulatory Toxicology and pharmacology*, Volume 32, Issue 2, Pages 156–173, October **2000**.
- [101] Nermeen, A., Bioremediation of Methylene Blue by *Bacillus thuringiensis* 4 G 1: Application of Statistical Designs and Surface Plots for Optimization, *Jurnal of Biotechnology*, 6(1): 34-39, **2007**.
- [102] ZISSI, U., Kornaros, E., Lyberatos, G. C., Kinetics of Paminoazobenzene Degradation by *Bacillus subtilis* Under Denitrifying Conditions, *Jurnal of Water Environ, Res.*, 71(3), 323-331, **1999**.
- [103] Subasioglu, T., Seyis Bilkay, I., Determination of Biosorption Condition of Methyl Orange by *Humicola fuscoatra*, *Journal of Scientific and Industrial Research*, JSIR Vol.68(12), December **2009**.
- [104] Pourbabaee R., Ahmad A., Decolorization of Methyl Orange (As a Model Azo Dye) by the Newly Discovered *Bacillus Sp* Department of Biology, Science Faculty, *Tehran University, P.O. Box: 14155-6455, Tehran, I. R. IRAN, 2005*.
- [105] Sambrook, J., Fritsch, EF., Maniutis, T., *Molecular Cloning Laboratory Manual*, 2nd edn, Cold spring harbor Laboratory Press, New York, **1989**.
- [106] Jo-Shu, Chang., Kinetic Characteristics of Bacterial Azo Dye Decolorization by *Pseudomonas luteola*, Feng Chia University, *Taichung, Taiwan, Republic of China, 1989*.
- [107] Marco S, Lucas., Decolorization of the Dzo dye Reactive Black 5 by Fenton and Photo-Fenton Oxidation, *Alto Douro, Apartado 1013, la Real, Portugal, 2000*.
- [108] Poonam, S., Bacterial Decolorization and Degradation of Azo Dyes, Microbial Degradation of Xenobiotics, *Jurnal of Environmental Science and Engineering*, pp 101-133 ,**2012**.
- [109] Silveira, E., Selection of *Pseudomonas* for Industrial Textile Dyes Decolourization, DMFA/Cenapesq, *Federal Rural University of Pernambuco, UFRPE, Dois Irmãos, 52171-900 Recife-PE, Brazil, 2003*.
- [110] Manjinder, S., Comparative Studies on Potential of Consortium and Constituent Pure Bacterial Isolates to Decolorize Azo Dyes, *Guru Nanak Dev University, Amritsar 143005, India, NOV, 2005*.

- [111] Liu, N., Zhang, T., Wang, YJ., Huang, JH., Shen, A., A Heat Inducible Tyrosinase With Distinct Properties From *Bacillus thuringiensis*, *Jurnal of Letters in Applied Microbiology*, Volume 39, Issue 5, pages 407–412, November, **2004**.
- [112] Jadhav, JP., Parshetti, GK., Kalme, SD., Govindwar SP. Decolourization of Azo Dye Methyl Red by *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 463, *Jurnal of Chemosphere*, Jun;68(2):394-400. Epub, Feb 9. **2007**.
- [113] Zissi, W., Lyberatus, G., Pavlou, S., Biodegradation of p-aminoazobenzene by *Bacillus subtilis* Under Aerobic Conditions. *Jurnal of Industry & Microbiol Biotechnology*, 19, 49–55, **1997**.
- [114] Sarayu, M., Response Surface Methodology for Optimization of Medium for Decolorization of Textile Dye Direct Black 22 by a Novel Bacterial Consortium, *Jurnal of Bioresource Technology*, 99(3):562-9, DOI:10.1016/j.biortech. 12.033, **2006**.
- [115] Sambrook, J., Fritsch, E. F. & Maniatis, T., *Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 2nd edn. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989*.
- [116] Anjaneya, O., Decolorization of Sulfonated Azo Dye Metanil Yellow by Newly Isolated Bacterial Strains: *Bacillus* sp. Strain AK1 and *Lysinibacillus* sp. Strain AK2, *Journal of Hazardous Materials*; 190(1-3):351-8. DOI:10.1016/j.jhazmat. 03.044 Source: PubMed, **2011**.
- [117] Manal, M.A., Bioremediation of Crystal Violet Using Air Bubble Bioreactor Packed With *Pseudomonas aeruginosa*, *Jurnal of Water Research*, 01/2006; 39(20):5045-54. DOI:10.1016/j.watres..08.001, Source: PubMed, **2004**.
- [118] Kuo-Cheng, Chen., Decolorization of The Textile Dyes by Newly Isolated Bacterial Strains, *Jurnal of Dyes and Pigments*, 01/ DOI:10.1016/j.dyepig.2004.10.008, **2005**.
- [119] Jianbo, Guo., Biocalalyst Effects of Immobilized Anthraquinone on the Anaerobic Reduction of Azo Dyes by the Salt Tolerant Bacteria, *Jurnal of Water Research*; 41(2):426-32. DOI:10.1016/j.watres. Source: PubMed,10.022, **2006**.
- [120] Khaled M, Ghanem., Optimization of Methyl Orange Decolorization by Mono and Mixed Bacterial Culture Techniques Using Statistical Designs , *African Journal of Microbiology Research*, Vol.6(2), pp. 436-446, January **2012**.

- [121] Chien-Sen, Liao., Decolorization of Azo Aye Reactive Black B by *Bacillus cereus* Strain HJ, *Jurnal of Chemosphere*, Volume 90, Issue 7, Pages 2109–2114, **2013**.
- [122] Sevgi E., *The Removal of Dye and Dye Stuffs Using The Bacteria Originated from Textile Industry Wastewaters*, Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06100, **2006**.
- [123] M.Ali, Mazmanci., Decolourisation of Reactive Black 5 by *Funalia trogii* immobilised on *Luffa cylindrica* Sponge, *Process Biochemistry* (01/2005; 40(1):337-342. DOI:10.1016/j.procbio.2004.01.007, **2009**.
- [124] Montira, L., Characterization of the Decolorizing Activity of Azo Dyes by *Bacillus subtilis* Azoreductase AzoR1, Pub. Date, Source, Songklanakarin *Academic Journal of Science & Technology*; Vol. 34 Issue 5, p50 Source Type, September **2012**.
- [125] Fu, Y., Fungal Decolorization of Dye Wastewaters: a review, *Bioresour Technol. Sep*;79(3):251-62, *US National Library of Medicine & National Institutes of Health*, **2001**.
- [126] A, Moutaouakkil., Bacterial Decolorization of the Azo Dye Methyl Red by *Enterobacter agglomerans*, *Jurnal of Annals of Microbiology*, 53, 161-169 , **2003**.
- [127] Weidhaas, J., Chang, D., and Schroeder, E., Biodegradation of Nitroaromatics and RDX by Isolated *Rhodococcus Opacus*., *J. Environ. Eng.*, 135(10), 1025–1031., **2009**.
- [128] Niamh, K., Decolourisation of Synthetic Textile Dyes by *Phlebia tremellosa*, DOI: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09174.x, *Jurnal of chemosphere*, Article first published online: 9 JAN, **2006**.
- [129] MP, Shah., Microbial Decolourization of Methyl Orange Dye by *Pseudomonas spp.* *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11: 601-602, **1995**.
- [130] Gönül, Ç., M, Lütfü., Mutant *Bacillus thuringiensis* Strains Obtained by Using Ethyl-Methane Sulphonate, *Turkey Jurnal of Agriculture*, 20, 63-65. Full text: pdf, **1996**.
- [131] Pınar, K., *Bazı Sıyanobacterilerin Organik Kirleticiler Giderim Etkinliklerinin Arttırılması*, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yayın Yeri: Ankara Yayınlandığı Sayfalar: 59 s., **2009**.
- [132] Usman, A., Degradation of Microcystins by Adsorbed Bacteria on a Granular Active Carbon (GAC) Filter During the Water Treatment

Process, *Journal of Environmental Biology* 27(2) 317, *Biotechnology* vol. 80 issue 9 September 2005. p. 1054 – 1061, April **2006**.

- [133] T.L. Hu, Degradation of Azo Dye RP₂B by *Pseudomonas luteola*, *Jurnal of of Water Science and Technology*, Volume 38, Issues 4–5, Pages 299–306, **1998**.
- [134] Seyis, I., Subaşıoğlu., Comparison of Live and Dead Biomass of Fungi on Decolorization of Methyl Orange, *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (13), pp. 2212-2216, 4 July, **2008**.
- [135] Leandro, P., Adsorption and Decolorization of Dyes Using Solid Residues From *Pleurotus ostreatus* Mushroom Production, *Jurnal of Biotechnology and Bioprocess Engineering*, Volume 15, Issue 6, pp 1102-1109, December **2010**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: NILOUFAR BOUSTANABADIMARALAN

Doğum Yeri: TABRIZ

Medeni Hali: EVLİ

E-posta: n.boustan@hotmail.com

Adresi: Eskişehir Yolu, Turkuaz Blokları, B₂.21. Yenimahalle/ANKARA

Eğitim

Lise: Tabriz Emam Khomeyni Lisesi

Lisans: Tabriz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Yabancı Dil ve Düzeyi

Fransızca (DELF B₂)

İş Deneyimi

-

Deneyim alanları

-

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

-

Tezden Üretilmiş Yayınlar

-

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

B.maralan, N., Seyis Bilkay, I., Özbakır, G., Çeşitli Boyaların Renk Giderimlerinin
Bacillus sp. Türleri İle Araştırılması, 12-14 Eylül, Hacettepe Üniversitesi, Ankara,

2013