ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HALOTOLERANT MAYALARLA REACTIVE BLACK 5 BOYA GİDERİMİ

Banu Şeyma CEYHUN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2018

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAY SAYFASI

Banu Şeyma CEYHUN tarafından hazırlanan "**Halotolerant Mayalarla Reactive Black 5 Boya Giderimi**" adlı tez çalışması 19/07/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr.Sevgi ERTUĞRUL KARATAY
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri:

Başkan : Doç. Dr. Nalan Oya SAN KESKİN
Gazi Üniversitesi Polatlı Fen Edebiyat Fakültesi

Üye : Doç. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

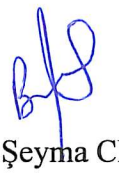
Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Atila YETİŞEMİYEN
Enstitü Müdürü

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

19/08/2018



Banu Şeyma CEYHUN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

HALOTOLERANT MAYALARLA REACTIVE BLACK 5 BOYA GİDERİMİ

Banu Şeyma CEYHUN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY

Tez çalışmasında on dört adet maya, peyniraltı suyu ve turşu atığı örneklerinden izole edilmiş ve bu izolatların Reactive Black 5 (RB5) boya giderimi incelenmiştir. En yüksek boya giderim kapasitesi, P-4 kodlu izolatda, 40 mg I^{-1} RB5 boyası eklenmiş besiyerinde beş günlük inkübasyon sonucunda %96 olarak bulunmuştur. En yüksek boya giderim kapasitesine sahip maya izolatının genetik tanılanması yapılmış ve *Kluyveromyces marxianus* olduğu saptanmıştır. *K.marxianus* ile yapılan boya giderim çalışmalarında, farklı kimyasal yapıya sahip boya çeşitleri, başlangıç pH değeri, başlangıç boya konsantrasyonu, artan NaCI konsantrasyonu, inkübasyon süresi ve inokülüm miktarı gibi faklı değişkenlerin boya giderimi ve mikroorganizma gelişimine etkisi incelenmiştir. Artan boya ve artan tuz konsantrasyonlarında boya gideriminde azalma olmuş ve en yüksek giderim, yaklaşık 100 mg I^{-1} RB5 içeren melaslı besiyerinde,% 4 NaCI, pH'ı 6 da % 70 oranında hesaplanmıştır. Artan inokülüm miktarında boya gideriminde artış olmuştur. Yaklaşık 100 mg I^{-1} boya konsantrasyonunda inkübasyonun ikinci gününde % 5 inokülüm varlığında %56; % 10 inokülüm varlığında ise %70 oranında giderim olduğu gözlenmiştir. Çalışmanın sonucunda halotolerant bir maya türü olan *K.marxianus*'un RB5 boyasının gideriminde kullanılma potansiyelinin olduğu görülmüştür.

Temmuz 2018 71 sayfa

Anahtar Kelimeler: Halotolerant mayalar, *Kluyveromyces marxianus*, Reactive Black 5, boya giderimi

ABSTRACT

Master Thesis

DECOLORIZATION OF REACTIVE BLACK 5 DYE WITH HALOTOLERANT YEASTS

Banu Şeyma CEYHUN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY

In this thesis bioremoval of Reactive Black 5 dye was examined with fourteen yeasts which have isolated from cheese whey and pickle juice. The highest dye bioremoval capacity were found as 96% at the yeast isolate coded P4 in the presence of 40 mg l^{-1} RB5 at the end of the five day incubation period. The yeast which has the highest removal rate were determined as *Kluyveromyces marxianus* after the genetic identification and was used for further experiments. The effect of different factors such as dye with different chemical structure, initial pH, dye and inoculum concentrations and increasing salt concentrations to the dye removal and microbial growth experiments were carried out with selected yeast. Dye removal was decreased with increasing dye and salt concentrations and maximum bioremoval was calculated around 70% in the presence of molasses medium contained 4% NaCl and 100 mg l^{-1} RB5 at pH6. It was observed that increasing inoculum volume have caused the dye bioremoval. It is observed that presence of 5% inoculum were removed 56% RB5 and presence of 10% inoculum were removed 70% RB5 from the molasses media that have approximately 100 mg l^{-1} RB5 at the at the second day of incubation period. As a result it has been determined that a halotolerant yeast *Kluyveromyces marxianus* have potential for the bioremoval of RB5 dye.

July 2018 71 pages

Key Words: Halotolerant yeasts, *Kluyveromyces marxianus*, Reactive Black 5, decolorization

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sürecinde her türlü desteği gösteren, bilgisi ve tecrübesiyle beni aydınlatan sayın danışmanım Doç.Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY'a (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı), hiçbir yardım ve bilgisini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ, Doç. Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ ve Arş. Gör. Ekin DEMİRAY'a (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı),

Çalışmalarım boyunca destek ve yardımlarını esirgemeyen sevgili laboratuar arkadaşlarım Uzm. Bio. Selin IŞILDAK ve Uzm. Bio. Hüseyin Kaan KABADAYI'ya,

Tezimin her aşamasında maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen meslektaşım ve dostum Bio. Ecem Gökçe KÜÇÜKDEMİRCİ'ye, yardımlarını esirgemeyen Bio. Ahmet Emre YENİ'ye

Hayatımın her anında destek çıkan ailem, her zaman yanımda hissettiğim sevgili dedem ve örneklerin temininde yardımcı olan aile dostumuz Ahmet ALAGÖZ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Banu Şeyma CEYHUN

Ankara, Temmuz 2018

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK ..... **i**

ÖZET ..... **ii**

ABSTRACT ..... **ii**

TEŞEKKÜR ..... **ii**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **viii**

ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **x**

ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xi**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ÖZETLERİ **3**

2.1 Tekstil Endüstrisi ve Tekstil Atık Sularının Genel Özellikleri **3**

2.2 Boyalar **4**

2.3 Sentetik Boyalar ve Çeşitleri **5**

2.3.1 Uygulama yöntemlerine göre boyaların sınıflandırılması **5**

2.3.1.1 Reaktif boyalar **5**

2.3.1.2 Direkt boyalar **7**

2.3.1.3 Dispers boyalar **8**

2.3.1.4 Vat boyalar **8**

2.3.1.5 Asit boyalar **9**

2.3.1.6 Bazik boyalar **9**

2.3.2 Kimyasal yapılarına göre boyaların sınıflandırılması **10**

2.3.2.1 Azo boyalar **10**

2.3.2.2 Sülfür boyalar **11**

2.3.2.3 Antrakinon boyalar **11**

2.3.2.4 İndigo boyalar **12**

2.3.2.5 Ftalosiyanin boyalar **12**

2.3.2.6 Nitro ve nitrozo boyalar **13**

2.4 Tez Çalışmasında Kullanılan Boyalar **13**

2.4.1 Reactive Black 5 ..... **13**

2.4.2 Reactive red 120 14
2.4.3 Reactive orange 14 15
2.4.4 Remazol brillant blue R (RBBR) 15
2.4.5 Brillant blue R (Coomassie Brillant Blue) 16
2.5 Tekstil Atık Sularının Giderim Yöntemleri 16
2.5.1 Fiziksel yöntemler 18
2.5.1.1 Adsorbsiyon 18
2.5.1.2 Koagülasyon-Flokülasyon 19
2.5.2 Kimyasal yöntemler 19
2.5.2.1 Oksidasyon 20
2.5.2.2 Ozonlama 21
2.5.3 Biyogiderim 22
2.5.4 Mayalar 22
2.5.4.1 Mayaların biyogiderimde kullanımları 23
2.5.4.2 Kluyveromyces cinsi 25
2.5.4.3 Kluyveromyces marxianus 25
2.5.5 Halofiller ve halotolerantlar 25
2.5.6 Halofil ve halotolerant mikroorganizmalarla yapılan boya giderim çalışmaları 26
3. MATERYAL VE YÖNTEM 29
3.1 Materyal 29
3.1.1 Mikroorganizma kaynağı 29
3.1.2 Çalışmada kullanılan boyalar 29
3.1.3 Boya solüsyonlarının hazırlanması 30
3.1.4 Melaslı besiyerinin hazırlanması 30
3.2 Yöntem 30
3.2.1 Maya izolasyonu 30
3.2.2 En yüksek kapasitede boya gideren maya seçimi 31
3.2.3 Seçilen mayanın genetik tanılanması 31
3.2.4 Boya seçimi 32
3.2.5 Başlangıç pH değerlerinin biyogiderim ve mikrobiyel gelişime etkisi 32

3.2.6 Başlangıç boya konsantrasyonunun giderime etkisi 32
3.2.7 Artan NaCl konsantrasyonunun boya giderimine etkisi 32
3.2.8 İnokülüm miktarının mikroorganizma gelişimi ve boya giderimine etkisi 33
3.3 Analiz Yöntemleri 33
3.3.1 Spektrofotometrik analiz 33
3.3.2 Kuru ağırlığın belirlenmesi 34
3.3.3 Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan formüller 34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI 35
4.1 Maya İzolasyonu ve Seçimi 35
4.2 Boya Seçimi 36
4.4 Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Boya Giderimine ve Maya Gelişimine Etkisi 40
4.5 Artan Boya Konsantrasyonlarının Biyogiderim ve Mikrobiyel Gelişime Etkisi 42
4.6 Artan İnokülüm Miktarının Biyogiderim, Mikrobiyel Gelişim ve Spesifik Boya Alımına Etkisinin İncelenmesi 46
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 49
5.1 Maya İzolasyonu ve Seçimi 49
5.2 Farklı Kimyasal Yapıya Sahip Boyaların Biyogiderim Oranlarının İncelenmesi 51
5.3 Başlangıç pH Değerinin Biyogiderim ve Mikrobiyel Gelişime Etkisi 51
5.4 Farklı NaCl Konsantrasyonunun Biyogiderim ve Mikrobiyel Gelişime Etkisi 53
5.5 Artan Boya Konsantrasyonunun Biyogiderim, Mikrobiyel Gelişim ve Spesifik Boya Alımına Etkisinin İncelenmesi 54
5.6 Artan İnokülüm Miktarının Biyogiderim, Mikrobiyel Gelişim ve Spesifik Boya Alımına Etkisi 57
KAYNAKLAR 59
EK 1 Çalışmada Kullanılan Boyaların Standart Eğrileri 68
ÖZGEÇMİŞ 71

SİMGELER DİZİNİ

$(NH_4)_2\ SO_4$	Amonyum sülfat
C	Karbon
$CaCl_2.2H_2O$	Kalsiyum klorür dihidrat
Cl	Klor
$CoCl_2.6H_2O$	Kobalt (II) klorür hekzahidrat
$CuSO_4.5H_2O$	Bakır (II) sülfat pentahidrat
Fe	Demir
$FeCl_3.6H_2O$	Demir (III) klorür hekzahidrat
H_2O_2	Hidrojen peroksit
KH_2PO_4	Potasyum dihidrojen fosfat
$MgCl_2$	Magnezyum klorür
$MgSO_4.7H_2O$	Magnezyum sülfat heptahidrat
$MnCl2.4H_2O$	Mangan (II) klorür tetrahidrat
N	Azot
Na	Sodyum
Na_2S	Sodyum sülfit
$NaB_4O_7.10H_2O$	Sodyum tetraborat dekahidrat
NaCl	Sodyum klorür
$NaHCO_3$	Sodyum bikarbonat
NaOCl	Sodyum hipoklorit
NaOH	Sodyum hidroksit
NH_4Cl	Amonyum klorür
$NiCl_2.\ 6H_2O$	Nikel (II) klorür hekzahidrat
O	Oksijen
R	Radikal grup
S	Kükürt
$ZnSO_4.\ H_2O$	Çinko sülfat monohidrat

Kısaltmalar

BG	Biyogiderim
C_0	Başlangıç boya miktarı (mg l^{-1})
C_{ad} (mg/l)	Mikroorganizma tarafından ortamdan uzaklaştırılan boya miktarı
CBB	Coomassie brilliant blue
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit

g	Gram
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromastografisi
kg	Kilogram
L	Litre
MG	Mikrobiyel gelişim
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
nm	nanometre
OD	Optik dansite
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
pmol	Pikomol
ppm	Milyonda bir birim
qm	Maksimum spesifik boya alımı (mg g^{-1})
RB5	Reaktif black 5
RBBR	Remazol brilliant blue R
rDNA	Ribozomal DNA
RO 14	Reaktif orange 14
rpm	Dakikadaki devir sayısı
RR 120	Reaktif red 120
s	Saniye
T	Sıcaklık
UV	Ultraviyole
X_m	Mikroorganizmaların kuru ağırlığı (g l^{-1})
v	Hacim
w	Ağırlık
µL	Mikrolitre
°C	Celcius

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Reactive Black 5 boyasının kimyasal yapısı (Hunger 2005) 13
Şekil 2.2 Reactive Red 120 boyasının kimyasal yapısı (Cho ve Zoh 2007) 14
Şekil 2.3 Reactive Orange 14 boyasının kimyasal yapısı (Hunger 2005)..... 15
Şekil 2.4 Remazol Brilliant Blue R boyasının kimyasal yapısı 15
Şekil 2.5 Brilliant Blue R boyasının kimyasal yapısı (NCBI. PubChem Compound Database; https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/61365, 2018)..... 16
Şekil 4.1 Farklı NaCl konsantrasyonlarında inkübasyonun iki ve yedinci günleri arasında ölçülen maya gelişim miktarları (g l^{-1}) 41
Şekil 4.2 Farklı NaCl konsantrasyonlarında inkübasyonun iki ile yedinci günleri arasında ölçülen biyogiderim oranları (%)..... 42
Şekil 4.3 İnkübasyonun ikinci gününde farklı başlangıç boya konsantrasyonlarındaki ortamlarda % 5 ve % 10' luk inokülümün boya giderimine etkisi 48
Şekil 5.1 P-4 mayasının basit boyama yöntemiyle belirlenen morfolojik yapısı..... 50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Uygulama yöntemlerine göre göre boyaların sınıflandırılması 6

Çizelge 2.2 Boya arıtım yöntemlerinin avantaj ve dezavantajlarının karşılaştırılması (Yagub vd. 2014)..... 17

Çizelge 2.3 Mayaların bulundukları habitatlar (Azhar vd. 2017) 24

Çizelge 3.1 çalışmada kullanılan boyalar..... 29

Çizelge 4.1 Peyniraltı suyu ve turşu suyundan izole edilen mayaların RB5 boyasını giderim yüzdeleri ve mikrobiyel gelişim değerleri 36

Çizelge 4.2 Farklı kimyasal yapıdaki boyaların bulunduğu besiyerlerinde inkübasyonun üçüncü gününde boya giderim oranları 37

Çizelge 4.3 Farklı kimyasal yapıdaki boyaların bulunduğu besiyerlerinde inkübasyonun beşinci gününde boya giderim oranları..... 38

Çizelge 4.4 Artan pH değerlerinin inkübasyonun yedinci gününde mikrobiyel gelişim üzerine etkisi..... 39

Çizelge 4.5 İnkübasyonun yedinci gününde başlangıç pH değerinin biyogiderim üzerine etkisi 40

Çizelge 4.6 İnkübasyonun beşinci gününde *K. marxianus*' un farklı NaCl konsantrasyonlarında mikrobiyel gelişim ve biyogiderim değerleri..... 41

Çizelge 4.7 Artan boya konsantrasyonunun biyogiderime ve maya gelişimine etkisinin incelenmesi. 44

Çizelge 4.8 İnkübasyonun iki ile yedinci günleri arasında artan boya konsantrasyonlarında mikrobiyel gelişim değerleri 45

Çizelge 4.9 İnkübasyonun yedinci gününde artan konsantrasyonlarda boya varlığında maksimum spesifik boya alımı 46

1. GİRİŞ

Boyalar maddelere bağlanan ve bu maddelere renk veren kimyasallardır. Boyanın rengi kromofor grubun varlığından kaynaklanır. Boyalar tekstil lifleri, kâğıt, deri, saç, tüy, plastik madde, parafin, kozmetik, yiyecek maddesi gibi substratları boyamak için geniş ölçüde kullanılır (Sudha vd. 2014).

Boyalar ışığa, kimyasallara ve su koşullarına dayanıklı olacak şekilde tasarlanırlar. Bu nedenle eğer uygun şekilde arıtılmazlarsa uzun süre doğada kalabilirler. Bu durum besin zincirinde birikim riskini de beraberinde getirir (Martorell vd. 2017).

Sentetik boya kullanımının tüm yaşam formları üzerinde yan etkisi vardır. Sülfür, naftol, vat boyalar, nitratlar, asetik asit, sabunlar, enzimler, krom bileşenleri bakır, arsenik, kurşun, kadmiyum, civa, nikel, kobalt gibi ağır metaller ve yan kimyasallar hepsi birlikte tekstil atıksuyunu oldukça toksik yapar (Gürses vd. 2016). Dahası su kaynaklarında boya bulunması ışığın geçişini azaltarak fotosentetik aktivitede değişime ve azalmaya neden olur (Martorell vd. 2017).

Piyasada bulunan 10000'den fazla boya bilinmektedir. Bunlar arasında azo boyalar, tüm boya üretiminin % 60-70'ini oluşturan, tekstil endüstrisinde kullanılan en büyük boya grubudur. Bir veya daha fazla azo grubuna ve çoğunlukla sülfonat gruplarıyla değişen aromatik halkalara sahiptirler. Bu boyaların çevreye salınımı sucul ekosistemler üzerinde olumsuz etkiye neden olur. Azo boyaların ayrıca sucul biyota için toksik olduğu düşünülmektedir ve insanlar için de kanserojen olduğu bildirilmiştir (Balapure vd. 2015).

Boya renk giderim yöntemleri biyolojik, kimyasal ve fiziksel yöntemler olarak üç kategoriye ayrılabilir (Gürses vd. 2016). Endüstriyel atık arıtımında fiziksel ve kimyasal yöntemler boyaları etkin bir şekilde uzaklaştıramaz (Sudha vd. 2014). Kimyasal, elektrokoagülasyon, adsorbsiyon, flokülasyon, ozonlama ve ters osmoz gibi birtakım geleneksel atıksu giderim işlemleri, boya atıklarının giderilmesi için önerilmiştir. Fakat

çeşitli sentetik boyalar bu giderim yöntemlerinden kaçabilmekte çevrede uzun süre kalabilmektedir (Chaieb vd. 2016). Biyolojik yöntemler özellikle işlem için zaman gerektirmesi gibi bazı sorunlar içermesine rağmen ucuz ve çevre dostu yöntemlerdir ve geniş çeşitlilikte boyaya uygulanabilir (Paz vd. 2017). Bakteriler, aktinomisetler, mantarlar ve mayalar gibi geniş çeşitlilikteki mikroorganizmalar çok çeşitli azo boyaları parçalama yeteneğine sahiptir (Sudha vd. 2014).

Azo boyaların atıksulardan giderimi için biyolojik yöntemlerin geliştirilmesinde, boyanın liflere maksimum fiksasyonunu sağlamak için boya banyosunda tuzların (özellikle sodyum klorür) kullanılıyor olması sınırlayıcı faktördür. Bunun nedeni, atıksudaki % 1'in üzerindeki NaCl konsantrasyonlarının, plazmoliz ve/veya hücre çeperi boyunca ozmotik farklılık nedeniyle sitoplazmanın gerilemesine bağlı olarak çoğu bakteriyel aktivitenin orta düzeyde inhibisyonuna yol açabilmesidir (Ogugbue vd. 2011). Yüksek tuzdan dolayı ekstremofil olmayan türler inhibe olabilmekte ve bu da biyogiderimin düşük verimle sonuçlanmasına neden olmaktadır. Fakat halotolerant ve halofil mikroorganizmalar yüksek tuz içeren ortamlarda hayatta kalabilmekte ve yüksek metabolik aktivite gösterebilmektedir (Song vd. 2017).

Bu tez çalışmasında halotolerant bir maya türü olan *Kluyveromyces marxianus*'un tekstil endüstrisinde sıklıkla kullanılan bir azo boya olan Reactive Black 5 boyasının giderimi üzerine olan etkisi incelenmiştir. Ayrıca peyniraltı suyundan izole edilen bu maya türünün atıksuların gideriminde kullanılabilme potansiyeli araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Tekstil Endüstrisi ve Tekstil Atık Sularının Genel Özellikleri

Çevre kirliliğinde endüstriyel aktivitelerden dolayı son kırk yılda yüksek bir artış olmuştur. Bu endüstrilerden biri de tekstil boyama endüstrisidir (Ghaly vd. 2014). Dünya Bankası'nın tahminlerine göre endüstriyel kirlenmenin % 17-20' sinin nedeni tekstil endüstrisidir (Jegatheesan vd. 2016).

Tekstil endüstrisi içerdiği kimyasal madde açısından oldukça yoğundur ve büyük oranda boya salmasıyla suları büyük ölçüde kirletmekte ve çevreye ciddi oranda zarar vermektedir (Sarayu ve Sandhya 2012, Manai vd. 2016). Ortalama 100 litre suda 1 kg tekstil ürünü bulunmakta ve bütün işlemler sonucunda 30 milyon ton tekstil ürünü için bir yılda 3 milyar metreküp su kullanılmaktadır. Tekstil endüstrisindeki boyama işlemleri sonucunda çokça kimyasal açığa çıkmakta ve suya salınmaktadır (Turcanu ve Betctold 2017). Bu atıksuların özellikleri sıklıkla ağır metal, tuz, adsorbe organik halojen içermeleri, yoğun koyu renkli olmaları ve ek olarak da zararlı olmalarıdır. (Sarayu ve Sandhya 2012, Ngulube vd. 2017).

Tekstil endüstrisindeki atıklar, yüksek moleküler ağırlık ve kompleks yapıları nedeniyle çok düşük biyolojik parçalanma özelliğinde olan farklı türlerde boyalardan oluşur. Ayrıca, bu endüstriyel atıkların kanalizasyon şebekelerine doğrudan boşaltılması biyolojik arıtım işlemlerinde bozulmalara yol açar. Bu atıklar biyolojik reaktörlerde yüksek konsantrasyonlarda inorganik tuz, asit ve baz oluşturarak arıtım maliyetlerinin artmasına neden olur (Verma vd. 2012).

Boyalar ışık geçirgenliğini azaltarak sucul ortamlardaki fotosentetik aktiviteyi etkileyebilir ve ayrıca içerdikleri metaller, aromatikler vb. nedeniyle bazı sucul yaşam formları için toksik olabilirler. Dahası boyalar çeşitli mikrobiyolojik türler ve balık türleri için kanserojen, mutajen veya teratojendirler (Yagub vd. 2014). Tekstil atıksularında bulunan azo ve nitro bileşenlerin su kaynaklarındaki çökeltilerde

indirgendiği, bunun sonucunda oluşan potansiyel olarak kanserojen olan aminlerin ekosistemde yayıldığı, insanlarda bulantı, kanama, derinin ve muköz membranların ülserleşmesi gibi sağlık sorunlarına neden olabildiği ve hatta böbrek, üreme sistemi, karaciğer, beyin ve merkezi sinir sisteminde ciddi hasarlara neden olabildiği bilinmektedir (Sarayu ve Sandya 2012).

Atık sularla ilgili en büyük endişe ise bitki, hayvan ve insanların genetik moleküllerine zarar vermesi yani genotoksisitedir. Biyogiderimin etkilerinin daha iyi anlaşılması için atıksuyun genotoksisite açısından da incelenmesi gerekmektedir (Salas-Veizaga vd. 2013).

2.2 Boyalar

Renkler ve pigmentler estetik ve sanatsal amaçlarla tarih öncesi çağlardan beri insanlar tarafından kullanılmaktadır (Paz vd. 2017). Bitkilerden, böceklerden, hayvanlardan ve minerallerden elde edilen doğal boyalar, minimum çevresel etkiye sahip yenilenebilir ve sürdürülebilir biyolojik kaynaklardır ve antik çağlardan beri sadece tekstil ürünlerinin renklendirilmesinde değil, aynı zamanda gıda katkı maddeleri ve kozmetik ürünleri olarak da kullanıldıkları bilinmektedir (Shahid vd. 2013). Bu boyaların kalıcılığında problem yaşandığı için sentetik boyalar keşfedilmiştir. Sentetik boyalar üretimde maliyetin düşmesine neden olduğu için kullanılmaktadır (Paz vd. 2017).

Boyalar, endüstriyel kirleticilerin büyük bir kısmını oluşturur ve giderimleri oldukça önemlidir (Sarıoğlu vd. 2017). Yıllık dünya genelinde $7x10^5$ ton boya üretilmektedir. Uygulanan boyanın yılda 200.000 ton kadarı tesislerde işlenme sırasında kaybedilmekte, atıksuyun parçası olup çevreye salınmaktadır (Martorell vd. 2017). Tekstil endüstrisinde 7000’ den fazla bileşik büyük hacimlerdeki suya karışır (Paz vd. 2017).

Toksik etkileri nedeniyle boyalar, kullanımları konusunda endişe oluşturmaktadır. Boyaların mutasyon oluşumuna, kromozom hasarlarına, kanser oluşumuna ve solunum toksisitesine neden oldukları bildirilmiştir. Bu nedenle, farklı türlerdeki atıksu akımlarından gelen boyaların giderilmesi için spesifik yöntem ve teknolojilere yoğunlaşılmak istenmektedir (Yagub vd. 2014).

2.3 Sentetik boyalar ve çeşitleri

Sentetik boyalar, özellikle kumaş ve tekstil endüstrisinde doğal boyaların yerini neredeyse tamamen almıştır (Ngulube vd. 2017). Literatürde farklı kimyasal, fiziksel özellikleri ile ve farklı uygulama süreçleriyle çok fazla sayıda sentetik boya yer almaktadır (Paz vd. 2017). Boyalar uygulama yöntemlerine göre ve kimyasal yapılarına göre olmak üzere başlıca iki grupta incelenirler (Gürses vd. 2016).

2.3.1 Uygulama yöntemlerine göre boyaların sınıflandırılması

Uygulama yöntemlerine göre boyalar başlıca iyonik ve iyonik olmayan boyalar olarak sınıflandırılır. İyonik olmayan boyalar vat ve dispers boyalar, iyonik boyalar ise katyonik (bazik) ve anyonik (reaktif, direkt ve asidik) boyalar olarak alt sınıflara ayrılırlar (Tan vd. 2015).

Uygulama yöntemlerine göre boyaların sınıflandırılması (Tan vd. 2015) çizelge 2.1'de verilmiştir.

2.3.1.1 Reaktif boyalar

Reaktif boyalar tipik olarak farklı reaktif gruplara bağlanan azo bazlı kromoforlardır (El Bouraie ve El Din). Bu boyalar çok canlı renk verdikleri ve liflere çok kolay bağlanabildikleri için tekstil endüstrisinde fazlaca kullanılmaktadırlar (Mook vd. 2017). Pamuk gibi tekstil liflerine kovalent olarak bağlandıkları için geleneksel atıksu giderim işlemlerine karşı oldukça dirençlidirler (El Bouraie ve El Din 2016).

Çizelge 2.1 Uygulama yöntemlerine göre göre boyaların sınıflandırılması (Tan vd. 2015)

Boya	Örnekler	Özellikler	Uygulama	Toksisite
Asidik	Acid red 183, acid orange 10, acid orange 12, acid orange 8, acid red 73, acid red 18, sunset yellow, acid green 27, methyl orange, amido black 10B, indigo carmine	Suda çözünür, anyonik	Naylon, yün, ipek, kağıt, deri, yazıcı	Karsinojenik (iyi huylu tümör, kötü huylu tümör)
Katyonik	Methylene blue, janus green, basic green 5, basic violet 10, rhodamine 6G	Suda çözünür, suya renkli katyonlar bırakır. Bazı boyalar biyolojik aktivite gösterir	Kağıt, poliakrilonitril, modifiye naylon, modifiye edilmiş tıpta kullanılan polyesterler, antiseptikler	Karsinojenik (iyi huylu tümör, kötü huylu tümör
Dispers	Disperse orange 3, disperse red, disperse red 1, disperse yellow 1	Suda çözünmez, İyonik değildir; Sulu karışımlarda hidrofobiktir	Polyester, naylon, selüloz, selüloz asetat	Alerjik (cilt), kanserojen
Direkt	Congo red, direct red 23, direct orange 39, direct blue 86	Suda çözünür, anyonik, metal tuzlarına kenetlenerek yıkama ile solmayı geliştirir	Pamuk, rejenere selüloz, kağıt, deri	Mesane kanseri
Reaktif	Reactive black 5, reactive green 19, reactive blue 4, reactive red 195, reactive red 198, reactive blue19, reactive red120	Liflerle kurdukları kovalent bağlardan dolayı yıkama ile olan solmaya çok dayanıklı ve direkt boyalardan daha parlak boyama yaparlar	Pamuk, yün, naylon, yazıcı baskı	Alerjik deri iltihabı, konjunktivit, rinit, meslekî astım
Vat	Vat blue 4, vat green 11, vat orange 15, vat orange 28, vat yellow 20	Alkali banyosunda (NaOH) bir indirgeme yaptıktan sonra çözünen löko tuzları kullanır	Selülozik lifler	-

Reaktif boya üretiminin yıllık 150.000-200.000 ton civarında olduğu tahmin edilmektedir (Turcanu ve Bechtold 2017). Reaktif boyalar dünya çapında tekstil endüstrisi ve boya içeren atıksularının neden olduğu ciddi kirlilik problemlerinin ana kaynaklarından biridir (El Bouraie ve El Din 2016). Aşırı miktarda sulara karışan reaktif boyalar tehlike oluşturmakta ve sucul ekosistemi de büyük oranda tehdit etmektedir. Bu

boyalar mutajenik ve karsinojenik etki göstermekte hatta karaciğer, sindirim sistemi ve merkezi sinir sistemine ciddi zararlar vermektedirler (Mook vd. 2017).

Reaktif boyalar suda çözünebilir ve boya havuzuna giden boyaların % 5-10'u oldukça yüksek renkli atıksu oluşturur ve çevrede ciddi sorunlara neden olurlar. Kimyasal olarak stabil olan ve çok az biyo-bozunurluğa sahip olan reaktif boyalar, geleneksel arıtma tesislerinden işlem görmeden geçebilir. Bu yüzden elimine edilmeleri büyük önem taşır (Yagub vd. 2014).

2.3.1.2 Direkt boyalar

Direkt boyalar suda çözünebilen boyalardır. Selüloz liflere kolaylıkla uygulanabilirler ve en büyük boya grubunu oluştururlar. Direkt boyalar boya sabitleyici kullanımı gerektirmezler ve isimlerinden de anlaşılacağı üzere boyama prosedürü oldukça basittir (Gürses vd. 2016). Direkt boyalar boya ve baskı süreçlerinde tekstil endüstrisinde hala çok yaygın bir şekilde uygulanmaktadır. Çoğunlukla ev tekstil ürünlerinin boyama ve baskı aşamalarında küçük fabrika gruplarınca kullanılırlar (Hassaan vd.2017).

Bir veya daha fazla azo grubu (-N=N-) bulunduran direkt boyalar selülozik liflerin ve karışımlarının boyanması ve baskısında kullanılan popüler renklendiricilerden biridir. (He vd. 2016). Yüksek, kumaşa renk geçiş hızına sahip olmasının yanı sıra, reaktif boyalara kıyasla daha az elektrolit gerektirir (Gürses vd. 2016). Direkt boyalarla ilişkili yardımcı kimyasallar: sodyum tuzları, sabitleyici maddeler ve metal tuzlarıdır. Direkt boyalar; azo, ftalosiyanin ve stilben gibi çeşitli kimyasal sınıflara aittir (Shertate ve Thorat 2014).

Direkt boyaların doğrudan salınımları; yüksek organik yük oluşumuna neden olma, toksisite ve renkle ilgili estetik kirlilik gibi ciddi çevresel problemlere neden olabilmektedir (He vd. 2016).

2.3.1.3 Dispers boyalar

Dispers boyalar dünyada tüketilen boyaların en az % 22'sini oluşturan, düşük moleküler ağırlıklı sentetik organik boyalardır (Zocolo vd. 2015). Tekstil, kağıt ve deri endüstrisi gibi çeşitli alanlarda geniş ölçüde kullanılmaktadır (Rajabi vd. 2016).

Dispers boyaların çoğu esasen amin, nitro ve klor veya brom gibi halojenleri içeren polar fonksiyonel gruplara bağlı bir azo kromoforu taşıyan düzlemsel, iyonik olmayan aromatik bileşiklerdir (Zocolo vd. 2015, Rajabi vd. 2016). Suda hemen hemen hiç çözünmeyip, organik çözücülerde çözünebilirler. Bu boyaların çoğu azo ve antrakinon boyalardır. Buna ek olarak bu boyalar polyester, naylon, asetat, selüloz ve akrilik gibi liflerin sentezlenmesinde kullanılabilmektedir (Rajabi vd. 2016).

2.3.1.4 Vat boyalar

Vat boyalar tekstil boyaması için yılda binlerce ton miktarlarda üretilir (Morin 2017). Tekstil boyalarındaki tüketimin % 15'ini oluştururlar (Kariyajjanavar vd. 2013). Bu boyalar normalde suda çözünmeyen pigmentlerdir (Kariyajjanavar vd. 2013, Gürses vd. 2016). Alkali çözeltideki kimyasal reaksiyon, pigmenti pamukta kalıcılığı olan suda çözünebilir löko formuna dönüştürdüğü için boya olarak adlandırılırlar (Gürses vd. 2016). Selülozik ipliklere bağlanması için suda çözünür hale (löko form) gelmesi gerekir (Kariyajjanavar vd. 2013).

Vat boyalar, suda çözünür formuna denk gelen iyonize löko bileşenlerine dönüşümünü sağlayan en az iki konjuge karbonil grubu içerirler (Shertate ve Thorat 2014). Kuvvetli alkali koşullar altında oksijen indirgenir ve suda çözünebilen löko vat iyonu oluşur (Gürses vd. 2016). Kumaş, indirgenmiş boya solüsyonunda bekletildikten sonra, vat boya, nötr, çözünmez formuna yeniden oksitlenir ve böylece tekstil için kalıcı bir renklenme sağlar (Morin 2017).

Vat boyalar yıkamayla solmama ve ışığa karşı dayanıklılık özelliklerine sahiptir. Bu boyalar selüloz moleküllerine van der Waals kuvvetleri ve hidrojen bağlarıyla tutunurlar (Gürses vd. 2016). İndirgenmiş boya, life yayıldığında tekrar nötr formuna okside olur ve suda çözünmez duruma gelir (Gürses vd. 2016, Morin 2017). Lifteki vat pigmentinin suda çözünmezliği, üstün suya dayanıklılık özelliği sağlar. Vat boyaların çoğu indigoid veya antrakinondur ve genellikle beş ile on arasında aromatik halkaya sahiptir (Gürses vd. 2016).

Vat boya içeren atıksular kanserojen etki gösterdiği için çevresel kaygılara neden olmaktadır (Kariyajjanavar vd. 2013).

2.3.1.5 Asit boyalar

Asit boyalar çoğunlukla suda çözünebilen karboksil, hidroksil ve sülfonik gruplar içerir (Yan vd. 2015). Asit boyalar günümüzde büyük çevresel kirleticiler olarak ele alınmaktadır. Boya atıklarını içeren atıksuyun salınımı ekosistemde önemli bir kirletici kaynağı olduğundan bu atıkların estetik açıdan sorunlara neden olduğu ve baskın olan sucul flora va fauna açısından kanserojen olduğu kanıtlanmıştır (Dehghani vd. 2016). Ayrıca asit boyaların farklı kimyasal yapıya sahip antrakinon, trifenilmetan ve azo tiplerinin, insan için de kanserojen etkiye neden olabileceği bildirilmiştir (Yan vd. 2015). Bu boyalı atıkların çevreye salınması, atık sudaki oksidasyon veya diğer kimyasal reaksiyonlardan üretilen tehlikeli yan ürünlerin kaynağı olabilir (Dehghani vd. 2016).

2.3.1.6 Bazik boyalar

Piyasada bulunan tüm sentetik boyalar arasında bazik boyalar, tekstil endüstrisi tarafından kullanılan çözülebilen boyaların en parlak sınıfıdır. Bazik boyalar katyonik boya kategorisindedir ve moleküllerinde lokalize veya delokalize pozitif yük taşır. Bu boyalar aromatik ve çeşitli fonksiyonel gruplar bulundurduğu için stabildir ve bu gruplar boyanın parçalanmaya karşı dirençli olmasını sağlar. Bazik boyalar büro

malzemeleri endüstrisinde mürekkep ve fotokopi kağıdı üretiminde kullanılmasının yanısıra; ipek, deri, kağıt, pamuk, tanin ile tekstil endüstrisinde mordan olarak da kullanılmaktadır. Bazik boyalar 1 ppm kadar düşük konsantrasyonlarda bile kolaylıkla belirgin renklenme verebilen büyük bir boyama gücüne sahiptirler (Chan vd. 2017).

2.3.2 Kimyasal yapılarına göre boyaların sınıflandırılması

2.3.2.1 Azo boyalar

Azo boyalar, tekstil endüstrisinde kullanılan boyaların büyük çoğunluğunu oluşturur. (Brüschweiler ve Merlot 2017). Azo renklendirici maddeler, tekstil liflerinde üretilen suda çözünmeyen azo bileşikleridir. Selülozik liflerin boyanmasında azo boyalar kullanılır (Shertate ve Thorat 2014). Dünyadaki bir milyon ton boya üretiminin % 70 kadarı azo boyalardır (Sun vd. 2017).

Azo boyalar bir ya da birden fazla nitrojen-nitrojen çift bağı içerirler (R-N=N-R'). Benzen, naftalin ve diğer aromatik bileşikler nitrojen atomlarına bağlıdır (Sun vd. 2017).

Aromatik aminler, azo boyaların sentezinde ara ürün olarak kullanılırlar. Aromatik amin tüketici ürünlerinden gelen maddeler, özellikle bazı aromatik aminlerin mutajenik veya kanserojen özelliklerinden dolayı insan sağlığı için risk taşımaktadır. Aromatik aminlerin toksisitesi, amino grubunun metabolik aktivasyonuna bağlıdır ve DNA ve proteinlere zarar verebilecek reaktif ara hidroksilamin üretebilir (Brüschweiler ve Merlot 2017).

Azo boyalar tekstil, gıda, kağıt, baskı, deri ve kozmetik endüstrilerinde yaygın olarak kullanılır. Bu boyaların çevreye salınımı sadece renkleri nedeniyle değil aynı zamanda pek çok azo boyanın ve parçalanma ürünlerinin (renksiz aminler) canlı organizmalar için toksik ve/veya mutajenik olmaları nedeniyle zararlıdır. Azo boyaların yaklaşık olarak % 80'i tekstil endüstrisinde boyama işlemlerinde kullanılmaktadır. Su

ekosisteminde bu boyaların varlığı ciddi çevresel problemlerin ve sağlık sorunlarının nedenidir (Singh vd. 2015). Azo boyalar, atıksuyunda toksik aminlerin bulunması nedeniyle toksiktir (Yagub vd. 2014).

2.3.2.2 Sülfür boyalar

Sülfür boyalar, sülfür içeren aromatik heterosiklik birimler içerir (Nguyen vd. 2016). Bileşiminde kararsız olan ve sülfür varlığında basit aminleri veya fenolik bileşikleri ısıtmak suretiyle sentezlenen kompleks organik bileşiklerdir (Chakraborty ve Jaruhar, 2014).

Sülfür boyalar, tekstil endüstrisinde önemli bir rol oynarlar (Nguyen vd. 2016). Sülfür boyalar geleneksel olarak pamuk ve selülozik liflerin renklendirilmesinde kullanılır (Burkinshaw ve Paraskevas 2010, Prakash vd. 2016). Deri renklendirme amacıyla sülfür boyaların kullanımı konusunda çok az bilgi bulunmaktadır. Bu boyaların kullanımı için gerekli olan alkali indirgeme ortamı, deri işlemedeki kullanımlarını kısıtlar (Prakash vd. 2016). Sülfür boyalar çoğunlukla siyah, kahverengi, mavi ve yeşil, orta ve koyu renkler sağlar (Burkinshaw ve Paraskevas 2010).

Çözünebilir sülfür boyaları, alkali ve indirgeyici ajan varlığında selülozik liflere uygulanan tiyosülfat türevleridir (Prakash vd. 2016). Suda çözünmemeleri nedeniyle, bu boyalar sodyum sülfitle karşılık gelen sodyum tuzlarına indirgenir ve çözünebilir hale gelir, böylece selüloza afinite kazanır (Chakraborty ve Jaruhar, 2014). Ekonomik açıdan uygundur ve diğer boyama işlemlerinden popülerdir. Fakat ciddi çevre problemlerine neden olurlar (Nguyen vd. 2016).

2.3.2.3 Antrakinon boyalar

Antrakinon boyalar azo boyalardan sonra en önemli ikinci boya sınıfıdır. Parlaklık ve iyi dayanıklılık özellikleri gibi önemli avantajlara sahiptirler. Doğal eşlenikleri

bulunmayan azo boyaların aksine antrakinonlar; bakteriler, mantarlar, likenler ve bitkilerde bulunan önemli doğal ürünlerdir (Gürses vd. 2016).

Antrakinon boyalar uzun yıllardır tekstil endüstrisinde renklendirici bileşikler olarak ve katyonların ve anyonların belirlenmesi gibi çeşitli pratik uygulamalarda kullanılmaktadır. Antik çağlardan bugüne kadar, bu boyaların önemli bir kaynağı, Kökboya bitkisi (*Rubia tinctorum*) olmuştur. Bu bitkiden günümüze kadar yaklaşık olarak 70 antrakinon boya elde edilmiştir. (Ramezani vd. 2017).

Antrakinon bazlı boyalar, parçalanmaya karşı çok dirençlidir. Atıksuda uzun süre kalır ve atıksuyu renklendirirler (Yagub vd. 2014).

2.3.2.4 İndigo boyalar

Mavi indigo boyası en eski doğal boyarmaddelerden birisidir ve antik çağlardan beri bilinmektedir. İndigo yüzyıllardan beri *Indigofera tinctoria, Polygonum tinctorium* ve *Isatis tinctoria* gibi çeşitli bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir. İndigo boyanın farklı bileşenleri, tekstil boyamasında yaygın olarak kullanılan zengin bir mavi boya oluşturur. Sentetik indigo, von Baeyer tarafından 1878'de anilinden elde edilmiştir (Puchalska vd. 2004). Sentetik olarak üretilen indigo bitkilerden elde edilen indigoya göre daha kalitelidir ve bu nedenle tercih edilmektedir. Günümüzde ticari indigoların neredeyse tamamı sentetik olarak üretilmektedir (Gürses vd. 2016).

2.3.2.5 Ftalosiyanin boyalar

Ftalosiyaninler doğal pigmentler klorofil ve hemin'in analoğudur. Fakat kararlılığı zayıf olan bu doğal pigmentlerden farklı olarak ftalosiyaninlerin kararlılığı yüksektir ve muhtemelen günümüzde kullanılan en kararlı renklendiricilerdir (Gregory 1990).

Ftalosiyaninler, artmış kararlılık, yapısal esneklik, farklı koordinasyon özellikleri ve gelişmiş spektroskopik özellikleri gibi birçok benzersiz özellik gösterirler ve bu

özellikleri nedeniyle çeşitli bilimsel ve teknolojik alanlarda büyük ilgi uyandırmaktadırlar (Gürses vd. 2016).

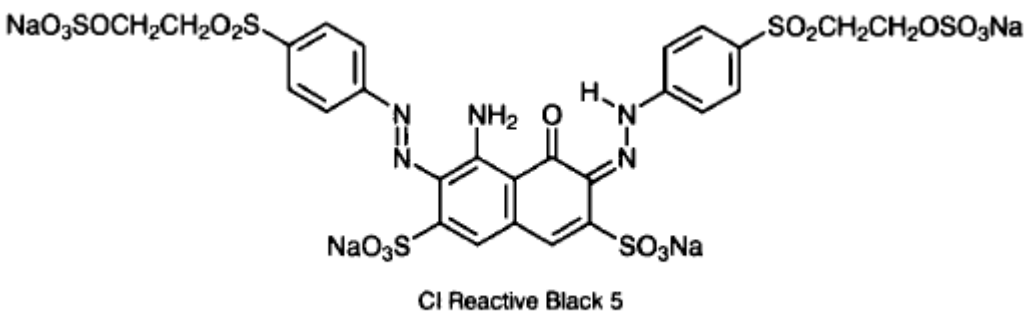
2.3.2.6 Nitro ve nitrozo boyalar

Bu boyalar şu anda sadece küçük bir ticari öneme sahiptir, ancak küçük moleküler yapıları nedeniyle ilgi çekicidir. İlk nitro boyalar, yün ve ipek gibi doğal hayvan liflerinin boyanmasında kullanılan asit boyalarıydı. Bu boyalar, bir aromatik sistemle bir elektron veren grup ile konjuge edilmiş bir veya daha fazla nitro veya nitrozo grubuna sahiptirler (Gürses vd. 2016).

2.4 Tez Çalışmasında Kullanılan Boyalar

2.4.1 Reactive black 5

Remazol Black B olarak da adlandırılan C.I. Reaktive Black 5, orijinal Remazol serisinin bir parçası olarak 1957'de piyasaya sürülmüştür (Lewis, 2011). Reactive Black 5 boyama endüstrisinde en yaygın kullanılan sentetik reaktif boyalardan biridir (El Bouraie ve El Din 2016). Enerji tüketimini düşürmesi, ekonomik üretim sağlaması, parlak renkler vermesi, selüloza kolayca bağlanması ve boyama esnasında renk kaybını azaltması gibi nedenlerle çok fazla tercih edilmektedir (Adnan vd. 2015).

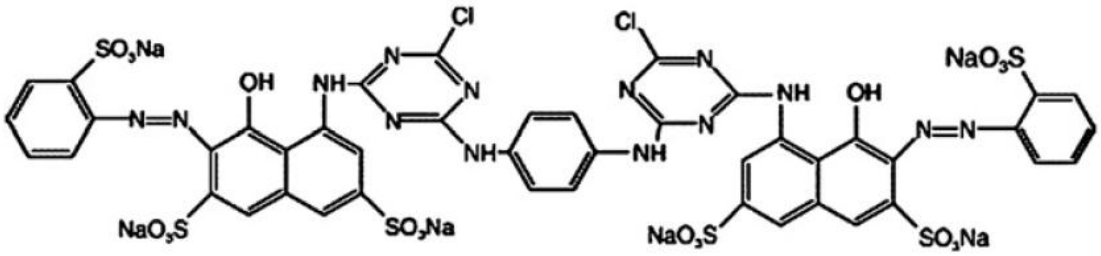


Şekil 2.1 Reactive Black 5 boyasının kimyasal yapısı (Hunger 2005)

RB5 diazoasidik reaktif boyadır ve iki adet sülfonat grubu ve sülfat-etilsülfan grubu içerir (Mook vd 2017). Bu boya türü suda yüksek oranda çözünebilir ve boya ve lif arasında kovalent bağ oluşturabilen reaktif gruplar içerir. RB5 lifle kovalent bir bağ oluşturur ve azo, antrakinon, triarilmetan, ftalosiyanin, formazan, oksazin gibi kromofor gruplar içerirler (El Bouraie ve El Din, 2016). Bu özellikler de ona tekstil endüstrisinde özellikle de pamuk, yün ve naylon endüstrisinde çok kullanım sağlamaktadır (Mook vd. 2017). Bununla birlikte tekstil endüstrisinin kar elde etmesini sağlasa da, işlemler çevreyi ve insanlığı tehdit etmektedir. RB5 yiyeceklere ya da suya karışarak bağırsak kanserine neden olabilmekte, fetüslerde beyin gelişimini engelleyebilmekte ve solunum yollarında alerjiye neden olabilmektedir (Adnan vd. 2015).

2.4.2 Reactive red 120

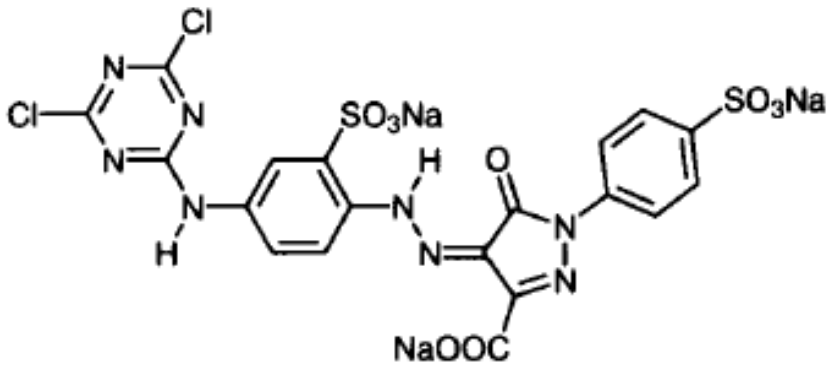
Bir boya-ligand molekülü olan Reactive Red 120 (RR-120), iki naftalen halkası, üç anilin grubu ve iki triazin halkasından oluşur (Li vd. 2014). RR-120, zayıf biyo-bozunabilirliği ve ışıkla parçalanmaya dayanıklı olması nedeniyle tekstil endüstrilerinde sıklıkla kullanılan boyalardan biridir fakat yoğun renk ve ışık soğurma özellikleri ve biyolojik olarak parçalanmasının zor olması nedeniyle su ortamı için potansiyel bir tehdittir (Paul vd. 2011, Paul vd. 2014).



Şekil 2.2 Reactive Red 120 boyasının kimyasal yapısı (Cho ve Zoh 2007)

RR 120 tekstil atıksularında önemli miktarda bulunan ve işlenme sırasında kaybedilen ticari boyalardan biridir. Bu nedenle RR 120'nin çevreye verilmeden önce atıksudan arıtılması gerekmektedir (Suwannaruang vd. 2014).

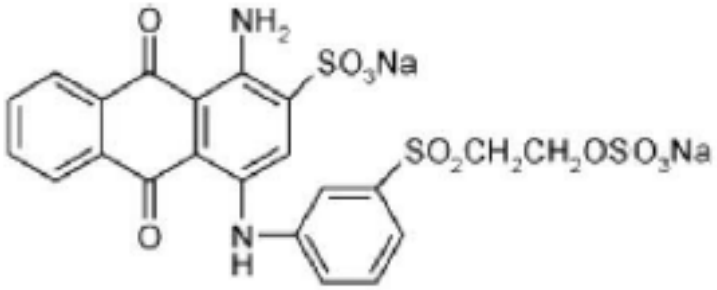
2.4.3 Reactive orange 14



Şekil 2.3 Reactive Orange 14 boyasının kimyasal yapısı (Hunger 2005)

Reactive Orange 14 (RO14) yapısında triazin grubu içeren bir reaktif mono-azo boyadır (Encinas-Yocupicio vd. 2006, Cervantes vd. 2008). Triazin grubu içeren reaktif boyaların anaerobik konsorsiyum için çok toksik alabileceği gösterilmiştir. RO14' ün granüler çamur ile boya gideriminin çok yavaş olduğu görülmüştür (Encinas-Yocupicio vd. 2006).

2.4.4 Remazol brillant blue R (RBBR)



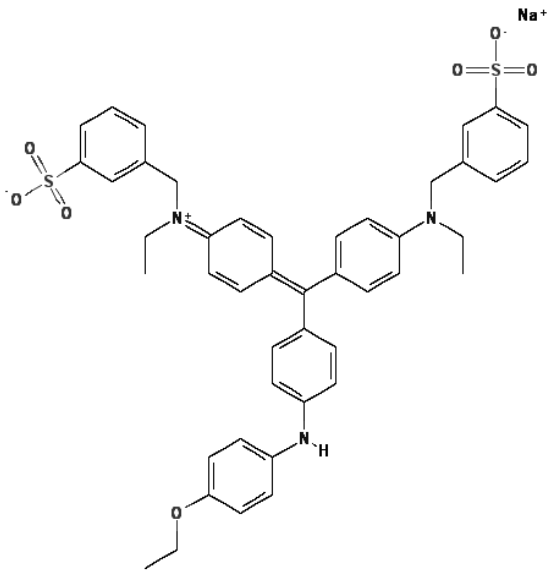
Şekil 2.4 Remazol Brilliant Blue R boyasının kimyasal yapısı (Kuleyin ve Aydın 2010)

Reactive Blue 19 olarak da adlandırılan Remazol Brillant Blue R (RBBR) çok kolay bulunan ve tekstil endüstrisinde çok kullanılan bir boyadır. Araştırmacılar elektrofilik vinilsülfon grupları bulundurması nedeniyle RBBR'nin mutajenik özellikler

gösterebileceğini düşünmektedir. Bu nedenle bu boyanın sudan uzaklaştırılması çok önemlidir. RBBR'yi parçalayacak işlemlerin geliştirilmesi, bu bileşiği içeren atıkların neden olduğu çevresel etkilerin azaltılması için önemlidir (Guimarães vd. 2012).

2.4.5 Brillant blue R (Coomassie Brillant Blue)

Coomassie Brillant Blue (CBB), trifenil metan boyalar grubuna girer. Özellikle tekstil endüstrisinde, jel elektroforezinde ve diğer biyolojik uygulamalarda kullanılır (Rayaroth vd. 2015).



Şekil 2.5 Brilliant Blue R boyasının kimyasal yapısı (NCBI. PubChem Compound Database; https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/2018)

2.5 Tekstil Atık Sularının Giderim Yöntemleri

Günümüzde boyalı suların arıtımında adsorbsiyon, koagülasyon, flokülasyon, iyon değişimi ve biyolojik aktif çamur işlemleri gibi fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Fakat bu geleneksel yöntemler yüksek maliyeti, sınırlı uygulanabilirliği, çamurlu sularda düşük etki göstermesi ve tepkimeler esnasında oluşan

kalıntıların dağılması ve emici yapıların tekrardan üretilmesinin zorluğu nedeniyle boya gideriminde tamamen elverişli değildir (Ortiz-Monsalve vd. 2017).

Boya arıtım yöntemleri ve bunların avantaj ve dezavantajlarının karşılaştırılması çizelge 2.2'de gösterilmiştir (Yagub vd. 2014).

Çizelge 2.2 Boya arıtım yöntemlerinin avantaj ve dezavantajlarının karşılaştırılması (Yagub vd. 2014)

Yöntem	**Avantajlar**	**Dezavantajlar**
Kimyasal arıtımlar		
Oksidatif işlemler	Uygulaması basittir	**(H_2O)** ajanları aktive olmak için bazı araçlara ihtiyaç duyarlar
H_2O_2 + Fe (II) tuzları (Fenton Reaksiyonu)	Kimyasal anlamda Fenton reaksiyonu uygun bir araçtır	Çamur üretimi
Ozonasyon	Ozon gaz halinde uygulanabilir ve atık su, çamur hacminde artış olmaz.	Yarılanma ömrü kısa (20 dakika)
Fotokimyasal	Çamur üretimi yoktur ve kötü kokular büyük ölçüde azaltılır	Yan ürünler oluşur
Sodyum hipoklorit (NaOCl)	Azo bağlarının kırılmasını başlatır ve hızlandırır	Aromatik aminler salınır
Elektrokimyasal tahrip	Kimyasal madde tüketimi ve çamur birikimi yoktur	Yüksek akım oranları nedeniyle boya giderimini azaltır
Biyolojik arıtımlar		
Beyaz çürükçül mantarlarla renk giderimi	Beyaz çürükçül mantarlar enzimleri kullanarak giderim yaparlar	Enzim üretiminin de güvenilir olmadığı gösterildi
Diğer mikrobiyel kültürler	24-30 saatte renk giderimi	Aerobik şartlar altında azo boyalar kolay metabolize edilmez
Canlı/ölü mikrobiyel kütle ile adsorbsiyon	Bazı boya türlerinin mikrobiyel türlere bağlanmada özel ilgileri vardır	Bütün boya çeşitlerinde etkili değildir
Anaerobik tekstil boyalarının biyolojik giderim sistemler	Azo ve diğer suda çözünen boyaların giderimini sağlar	Metan ve Hidrojen sülfid gibi anaerobik bozunma ürünleri salarlar
Fiziksel yöntemler		
Aktif karbon ile adsorbsiyon	Çok çeşitte boyanın iyi şekilde giderimi	Çok pahalıdır
Mebran filtrasyonu	Bütün boya çeşitlerini giderir	Konsantre çamur üretir
İyon değişimi	Adsorbent kaybı yok; yenilenir	Bütün boyalarda etkili değildir
Işınlama	Laboratuvar ortamında etkin oksidasyon sağlar	Fazla miktarda çözünmüş oksijen gerektirir
Elektrokinetik koagülasyon	Uygulanması ekonomiktir	Çok fazla sulu çamur üretir

2.5.1 Fiziksel yöntemler

2.5.1.1 Adsorbsiyon

Adsorpsiyon terimi, bir maddenin iki faz arasındaki arayüzde (sıvı-katı arayüzü veya katı-gazı arayüzü) birikmesi anlamına gelmektedir. Çevresel remediasyon amacıyla, adsorpsiyon teknikleri, özellikle geleneksel biyolojik atıksu arıtımından pratik olarak etkilenmeyen, su kaynaklı belirli kimyasal kirletici sınıflarının gideriminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Adsorpsiyon yöntemi, tasarlanmasının esnek olması ve basitliği, başlangıç maliyeti, zehirli kirleticilere karşı duyarsızlığı ve kullanım kolaylığı açısından diğer tekniklerden üstündür. Adsorpsiyon ayrıca zararlı maddeler üretmez. (Yagub vd. 2014). Bu teknolojinin sınırlılığı harcanan adsorbanların çevreye zarar vermeyecek şekilde uzaklaştırılmasının gerekmesi, aşırı bakım maliyetleri ve adsorbsiyon kolonuna sokulmadan önce askıda katı maddeleri kabul edilebilir orana azaltmak için atıksuya ön işlemlerin uygulanmasının gerekliliğidir. Bu nedenlerden dolayı, adsorpsiyon teknolojisinin alan ölçeğinde uygulanması sadece tekstil atıksularında renk giderimi için değil, aynı zamanda diğer su ve atıksuların arıtımı için de sınırlıdır (Verma vd. 2012).

Uygun adsorbsiyon işlemleri tasarlandığında kaliteli işlenmiş bir atıksu üretilebilir (Ngulube vd. 2017). Renk giderimi için adsorbsiyon yöntemi çeşitli boyaların adsorbanlar için afinitesine dayanmaktadır. Bu yöntem boya-adsorban etkileşimleri, adsorbanın yüzey alanı, parçacık boyutu, sıcaklık, pH ve temas süresi gibi fiziksel ve kimyasal faktörlerden etkilenir. Adsorbanların seçiminde ana kriter, yüksek afinite, hedef bileşiğin kapasitesi ve adsorban yenileme imkanı gibi özelliklere dayanmaktadır. Aktive karbon en yaygın kullanılan adsorbandır ve pek çok boya için çok etkilidir. (Verma vd. 2012). Fakat yüksek maliyet ve yenilenmesinin zorluğu açısından renk gideriminde uygulanması sınırlıdır (Holkar vd. 2016).

2.5.1.2 Koagülasyon-flokülasyon

Boya çözeltilerinin koagülasyonu, boya çözeltisi sistemlerini yığın veya topak oluşturmak için destabilize etme işlemidir. Flokülasyon, askıda kalan parçacık sistemlerini destabilize etme ve kümeleşmiş topakları yerçekiminin etkisiyle daha büyük yığınlar oluşturmak için birleştirme işlemidir (Liang vd. 2014).

Koagülasyon/flokülasyon fiziksel metodlara dayanır (Holkar vd. 2016). Düşük yatırım maliyeti ve basit işleyişi nedeniyle boyaların gideriminde yaygın olarak kullanılır (Liang vd. 2014). Dispers boyaları içeren atık suların renk gideriminde kullanışlıdır fakat Reaktif ve Vat boyaları içeren atık suların arıtımında etkisi düşüktür. Bu tekniklerin dezavantajı renk gideriminde az etkili olması ve fazla miktarda tortu, çamur oluşturmasıdır (Holkar vd. 2016).

Koagülasyon-flokülasyon işlemi endüstriyel atıksularda renk ve bulanıklığın giderilmesi için tercih edilen bir yöntemdir. Dahası, bu yöntem kimyasal oksijen ihtiyacı ve askıda katı maddenin gideriminde de yüksek verimliliğe sahip olduğu kanıtlanmış çok yönlü ve yaygın kullanılan atıksu giderim yöntemlerinden biridir (López-López vd. 2016).

2.5.2 Kimyasal yöntemler

Kimyasal yöntemler esas olarak, bileşik veya boyalar gibi bileşik gruplarının kimyasal kompozisyonunu değiştirmek için ozon (O_3), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve permanganat (MnO_4) gibi okside edici maddelerin kullanılmasını içerir (Verma vd. 2012). Kimyasal yöntemlerin etkililiği, atık sudaki kirleticiler ile uygulanan kimyasalın yapısına ve arasındaki kimyasal etkileşime bağlıdır (Ngulube vd. 2017). Örneğin ozonun; yavaş reaksiyona giren ve daha uzun reaksiyon süresine sahip olan suda çözünmeyen dispers ve vat boyaların gideriminde etkili olmadığı da bildirilmiştir (Verma vd. 2012)

Bu teknikler suyun rengini gidermede iyidirler. Fakat aynı zamanda pahalıdırlar ve çok fazla çamur, tortu oluştururlar. Bu sebeple de bu çamuru yok etme problemine yol

açarlar. Dahası çok fazla kimyasal kullanımından dolayı ikincil kirlilik problemine yol açabilmektedirler (Ngulube vd. 2017). Bu oksidanlar arasında ozon boyalarla yüksek reaktivitesi ve iyi uzaklaştırma etkinliğine sahip olması nedeniyle geniş ölçüde kullanılır.

2.5.2.1 Oksidasyon

Oksidasyon yöntemleri uygulama kolaylığı nedeniyle kimyasal yollarla boyaların parçalanmasında en sıklıkla kullanılan yöntemlerdir (Holkar vd. 2016). Oksidasyon işlemleri, hidroksil radikalleri gibi kuvvetli oksidasyon ajanları üretirler ve bunlar kirleticileri gidermede başarılıdırlar. Fakat aynı zamanda yüksek kimyasal madde tüketimi ve elektrik enerjisi talebinden dolayı pahalıdırlar ve ticari olarak tercih edilmezler (Ngulube vd. 2017)

Oksidasyon teknolojileri ileri oksidasyon işlemleri ve kimyasal oksidasyon olarak sınıflandırılabilir (Holkar vd. 2016)

İleri oksidasyon, okside edici ajan olarak hidroksil (OH^-) radikalleri oluşturarak endüstriyel atıksularda boya kirleticisini parçalamak amacıyla kullanılan umut verici bir yöntemdir (Mukimin vd. 2015). Hidroksil radikalleri (HO^-) doğası gereği kararsız olduğundan, atıksu giderim uygulamalarında H_2O_2, HO^- üretimi için kaynak olarak kullanılır. H_2O_2 atıksuda bulunan boya ve organik kirleticilerin parçalanması için en temiz ve ideal okside edicilerdir (Asghar vd. 2015).

Kimyasal oksidasyon yöntemleri O_3 ve H_2O_2 gibi okside edici ajanlar kullanır. Ozon ve H_2O_2 yüksek pH değerlerinde selektif olmayan güçlü hidroksil radikaller oluştururlar. Bu radikaller yüksek oksidasyon potansiyelleri nedeniyle boya kromoforlarının konjuge çift bağlarının yanısıra boyanın kompleks aromatik halkaları gibi diğer fonksiyonel grupları etkin şekilde parçalarlar. Sonrasında kromoforik olmayan daha küçük moleküllerin oluşumu atıkların rengini azaltır. Bu yöntemler çift bağlı boya molekülleri için kullanışlıdır (Holkar vd. 2016).

2.5.2.2 Ozonlama

Ozonlama sulu çamur oluşturmayan yöntem olarak bilinir. Ozon artıkları suda ve oksijende çözünür. Ek olarak ozonlama, yüksek enerji tüketiminden dolayı pahalıdır. Bu da neden diğer yöntemlerle birlikte olması gerektiğini açıklar. pH değerine bağlı olarak ozonlama işlemi iki farklı yol izler. Asidik ortamlar altında ozon direkt olarak bir elektrofil gibi organik bileşiklerle reaksiyona girer. Boyalarda sıkça yer alan kromoforlardaki konjuge çifte bağlara saldırır. Sonuç olarak aldehitler, karboksilik asitler ve diğer yan ürünler oluşturur (Paździor vd. 2017). Ozonun yüksek pH değerlerinde ise daha güçlü selektif olmayan hidroksil radikalleri oluşturabilen güçlü bir oksidan olduğu iyi bilinmektedir. Yüksek oksidasyon potansiyeli nedeniyle ozon; boya kromoforlarının konjuge çift bağlarının yanısıra boyaların kompleks aromatik halkaları gibi diğer fonksiyonel grupları etkili şekilde parçalayabilmektedir (Tehrani-Bagha vd. 2010).

Bazik pH altında, ozonlama mekanizması direkt ozonlama ile kompleks zincir mekanizması arasında değişir. Ozon hızlıca ayrıştırır ve sonunda hidroksil radikalleri ile diğer radikal türlerini üretir (Paździor vd. 2017).

Ozonlamanın atıksulardaki boyaların gideriminde kullanılmasının avantajları;

1) Atıksu ve çamurun hacmini artırmaması;
2) Tek basamakta boyaları uzaklaştırması ve organik maddeyi azaltması;
3) Az yere ihtiyaç duyması ve alana kolaylıkla uygulanabilmesi;
4)Alanda hidrojeperoksit ve diğer kimyasal maddelerin bulunmasını gerektirmediğinden diğer oksidatif işlemlerden daha az zararlı olması;
5) Artan ozonun kolaylıkla oksijene dönüşebilmesidir (Tehrani-Bagha vd. 2010).

2.5.3 Biyogiderim

Boyalı atıksuların arıtılması, gerekli arıtım aşamaları olmadığında endişe yaratmaktadır. Bu endişeler sadece suların kirlenmesi değil; aynı zamanda çevreye kötü etkilerde bulunmasıdır. Örneğin sucul fotosentezi inhibe etmesi, oksijen miktarının azalması, dolayısıyla da flora, fauna ve insanları kötü etkilemesidir (Ortiz-Monsalve vd. 2017).

Boyaların gideriminde birçok yöntem olmasına rağmen klasik yöntemlerle boyaları tamamen gidermek zordur. Çünkü çoğu sentetik boya ışık, kimyasal ve biyolojik arıtımlara dayanıklıdır (El Bouraie ve El Din, 2016).

Atıksuların arıtımında kullanılan biyolojik yöntemlerden biri olan biyodegredasyon; farklı mikroorganizmaları kullanarak kompleks kimyasal molekülleri basit hale çevirmedir (Chaieb vd. 2016). Biyodegredasyon; tekstil atıksularının arıtılmasında verimli, ekonomik, çevre dostu ve kullanım kolaylığı açısından çok uygundur. Bundan dolayı da biyodegredasyonun hem boya giderimi hem de arındırma yeteneği vardır (El Bouraie ve El Din, 2016).

Atıksuların biyolojik gideriminde fungus, bakteri ve mayalar kullanılmıştır (Chaieb vd. 2016). Mayalar, düşük pH, yüksek sıcaklık ve yüksek konsantrasyondaki kirletici ortamında üreyebildikleri için biyoremediasyon için dolayı ucuz biyokütle üretim kaynaklarıdır (Bankole vd. 2017). Bu yüzden de biyogiderimde kullanımları yaygındır.

2.5.4 Mayalar

Mayalar, fermentasyon, gıda, ilaç, kimyasal ve biyoteknolojik uygulamalarda çok önemli rol oynayan tek hücreli fungi grubudur (Yang vd. 2013). Günümüzde yalnızca mayaların % 1'lik kısmı bilinmekte bu da yaklaşık 1500 türü yansıtmaktadır. Fakat dünyadaki toplam maya türü sayısının 150.000 kadar olduğu düşünülmektedir. (Azhar vd. 2017). Bu mikroskobik mantarlar genellikle 3-4 µm büyüklüğünde olup, çekirdek zarı ve hücre duvarı içerir fakat bitkilerden farklı olarak kloroplast içermezler.

Heterotrofturlar, besin ve enerji ihtiyaçlarını ölü ya da canlı organik materyallerden sağlarlar (Shurson 2018).

Mayaların çoğu iki ayrı filuma aittir: Ascomycota ve Basidiomycota. Mayalar binlerce yıldır fermantasyonda ve gıda endüstrisinde önemli rol oynamaktadır. Zorunlu asidofilik özellikleri, mantarların fırsatçı bir patojen olarak davranmayacaklarını düşündürmektedir (Yang ve Zheng 2014)

Mayalar; karadan, sudan ve havadan izole edilebilmektedir. Bitkiler maya komünitelerinin öncelikli seçtiği habitatlardır. Bazı türler ise hayvanlarla kommensal veya parazit ilişki halinde bulunurlar. Yüksek tuz, şeker konsantrasyonu ve düşük sıcaklık gibi ekstrem çevrelerde mayalar bulunabilir. Çizelge 2.3 mayaların bulundukları habitatları göstermektedir (Azhar vd. 2017).

2.5.4.1 Mayaların biyogiderimde kullanımları

Maya cinslerinden *Issatchenkia, Debaryomyces, Pseudozyma, Kluyveromyces, Schizosaccharomyces* ve *Saccharomyces* boya giderim potansiyelleri açısından geniş ölçüde çalışılmıştır (Bankole vd. 2017). Mayaların boya giderim mekanizmaları, mikroalglere benzer şekilde adsorbsiyon, enzimatik parçalama veya ikisinin kombinasyonu şeklindedir. Boya parçalanması büyük ölçüde maya büyüme süreci ve primer metabolizmalarıyla ilişkilidir (Sen vd. 2016). Maya ile boya giderim işlemleri alternatif bir karbon ve enerji kaynağı gerektirmektedir ve boyaya önceden maruz kalma işlemi de gerektirmez (Dwivedi ve Tomar 2018).

Mayalar biyogiderim uygulamalarında; yüksek düzeyde boya ve Pb (II) ve Cd (II) gibi ağır metalleri biriktirme kapasitesine sahip olma, hızlı büyüme, filamentöz mantarlardan daha hızlı boya giderimi yapabilme ve olumsuz çevre koşullarda canlılığını sürdürme gibi bazı gelişmiş özelliklere sahiptirler. Ayrıca mayaların bakterilere benzer şekilde hızlı büyüme özellikleri bulunmaktadır (Sen vd. 2016). Bu nedenle bakteri ve mantarları

içeren mevcut giderim yöntemleri için umut verici bir alternatif olacağı düşünülmektedir (Dwivedi ve Tomar, 2018).

Çizelge 2.3 Mayaların bulundukları habitatlar (Azhar vd. 2017)

Habitat	**Tanımı**	**Maya cinsi**
Bitkiler	Mayaların ortak nişi çözünebilir bitkisel besinler (şekerler) ve septik alem arasındaki ara yüzeydir. Böcekler mayaların filosferde yayılmasına yardım eder.	*Ashbya spp.*
Hayvanlar	Bazı mayalar insanlara ve hayvanlara karşı patojenikken diğerleri patojenik değildir (sıcakkanlı hayvanların bağırsak sisteminde ve derilerinde bulunabilir).	*Nematospora spp.*
		Candida spp.
	Çok sayıda maya, mayaların doğal yayılımı için vektör görevi gören böceklerle kommensaldir.	*Cyniclomyces spp.*
		Pityrosporum spp.
Toprak	Mayalar için serbest büyüme habitatından ziyade uzun dönemli hayatta kalma rezervuarı olarak nitelendirilir.	*Lipomyces spp.*
		Schwanniomyces spp.
	Mayalar yalnızca aerobik topraktabakalarında bulunabilir (10-15 cm)	
Su	Mayalar hem tatlı su hem de deniz suyunda bulunabilir.	*Rhodotorula spp.*
	Nehir ağızları deni suyuna oranla daha fazla maya içerir.	*Debaryomyces spp.*
Atmosfer	Mayalar toprak yüzeylerinin üstündeki vejetatif tabakadan hava akımı yoluyla yayılır.	*Cryptococcus spp.*
		Rhodotorula spp.
		Sporobolomyces spp.
	Hava hacmi başına sadece birkaç maya bulunması beklenir.	*Debaryomyces spp.*
Ekstrem çevreler	Bazı halotolerant mayalar neredeyse doymuş tuzlu su çözeltilerinde gelişebilir.	*Debaryomyces spp.*
	Osmofilik mayalar buzul katmanlarda keşfedilmiştir.	*Zygosaccharomyces spp.*

2.5.4.2 Kluyveromyces cinsi

1956'da Kluyveromyces cinsine, Hollandalı mikrobiyolog Albert Jan Kluyver'in adı verilmiştir. 1970 yılında bu cinsin 21 türü biliniyordu. Fakat 2003 yılında yapılan düzenlemeler ve gen sekansları ile günümüzde 6 tür içermektedir (Spohner vd. 2016).

2.5.4.3 *Kluyveromyces marxianus*

Kluyveromyces marxianus homotallik (iki eşeyi üzerinde taşıyan), hemiaskomycete, laktoz fermente eden bir mayadır. Geleneksel olarak *Candida kefyr* aseksüel iken *K. marxianus* formu telemorf yani seksüel formdadır, nükleotid sekansları (dizileri) karşılaştırılana kadar bu iki türün aynı mikroorganizma oldukları düşünülmüştür (Kim vd. 2018).

Çok sayıda *Kluyveromyces marxianus* suşu bilimsel topluluklar tarafından çalışılmış ve birçok farklı, bazen çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bu durum, bu maya türlerinin yüksek metabolik esnekliğe sahip olduğunu göstermektedir (Gombert vd. 2016).

Son yıllarda *K. Marxianus*, laktaz ve inulinaz ürettiğinden dolayı biyoteknolojinin büyük ilgisini çekmektedir. Bunun nedeni de *K. marxianus*'un laktozu ve inulini yüksek oranda asimile etmesi, yüksek sıcaklığa toleransı, yüksek salgı kapasitesi, hızlı büyüme oranı ve verimi olmasından kaynaklanır (Ren vd. 2017).

Kluyveromyces marxianus'un tamamen anaerob koşullarda geliştiğine dair bilgi bulunmamaktadır. Fakat bazı çalışmalarda *Kluyveromyces marxianus*'un düşük oksijen konsantrasyonlarında gelişebildiği bildirilmiştir (Gombert vd. 2016).

2.5.5 Halofiller ve halotolerantlar

Halofilik mikroorganizmalar yüksek tuzluluk şartlarında büyüyebilen ve metabolik fonksiyonlarını sürdürebilen canlılardır. Halofil olmayan mikroorganizmaların optimum

büyümesi için gereken NaCl konsantrasyonu % 2' nin altındayken, halotolerant ve tuza bağımlı mikroorganizmalar %30 NaCl konsantrasyonuna kadar büyüme ve gelişmelerini sürdürebilmektedirler (Castillo-Carvajal vd. 2014).

Halofiller her üç canlı domaininde (Archae, Bacteria, Eukarya) de bulunabilmektedirler (Yin vd. 2015). Halofiller büyük metabolik çeşitlilik gösterirler. Halofilik canlılar oksijenik ve anoksijenik fototroflar, aerobik heterotroflar, fermente ediciler, denitrifiye ediciler, sülfat indirgeyiciler ve metanojenleri içerebilirler (Castillo-Carvajal vd. 2014).

Halofiller yeryüzünde çeşitli coğrafi alanlara dağılmıştır. Tuz gölleri, tuzlalar ve tuz bataklıkları gibi aşırı tuzlu çevrelerde bulunabilirler (Yin vd.2015).

Halofiller büyümek için ihtiyaç duydukları tuz konsantrasyonlarına göre üç sınıfa ayrılabilirler: Hafif halofiller 0.2-0.85 M (% 2-5) NaCl içeren ortamlarda optimum büyüme gösterirken, ılımlı halofiller 0.85-3.4 M (% 5-20) NaCl ve ekstrem halofiller ise 3.4-5.1 M (% 20-30) NaCl içeren ortamlarda optimum büyüme gerçekleştirirler (Graziano ve Merlino, 2014).

Günümüzde halofiller biyoteknolojik işlemlerde, özellikle de organik kirleticileri parçalayabilme yetenekleri nedeniyle biyoremediasyon işlemlerinde kullanılmak için büyük potansiyele sahiptirler (Castillo-Carvajal vd. 2014).

2.5.6 Halofil ve halotolerant mikroorganizmalarla yapılan boya giderim çalışmaları

Feng vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada boya fabrikasının atıksu arıtımındaki aktive çamurdan izole edilen tuza toleranslı P-1 diye adlandırılan zincirin, bir azo boya olan acid red B yi etkili bir şekilde giderdiği gözlenmiştir. Morfolojik gözlemlerle, fizyolojik ve biyokimyasal testlerle ve de 26S rDNA gen sekansı ile ve filogenetik analizlerle P-1 zinciri *Pichia kudriavzevii* olarak tanımlanmıştır.

% 0.5 - % 15 tuz konsantrasyonları denenmiş en iyi giderim ve biyokütle miktarları % 10 NaCl konsantrasyonunda bulunmuştur. % 10 NaCl konsantrasyonundan sonra biyogiderimin ve hücre miktarının azaldığı görülmüştür. Tuz konsantrasyonu belirlendikten sonra boya konsantrasyonu, pH, sıcaklık parametrelerinin etkilerine bakılmıştır. Optimal giderim koşulları olarak pH 5.0, 100 ppm acid red B, ve sıcaklık 33 ˚C olarak belirlenmiş ve acid red B yi % 94.29 giderdiği gözlenmiştir.

Ogugbue vd. tarafından 2011'de yapılan çalışmada ılımlı halotolerant bir bakteri olan *Bacillus firmus* ile yapılan çalışmada bir azo boya olan Polar Red B kullanılmıştır. 5 - 100 mgl^{-1} boya konsantrasyonları ve % 1-6 (w/v) arasında değişen NaCl ve 6 ile 10 arasında değişen pH değerleri denenmiştir. Besiyeri olarak distile suya (gl^{-1}) olarak: $(NH_4)_2SO_4$ 0.28, NH_4Cl 0.23, KH_2PO_4 0.067, $MgSO_4.7H_2O$ 0.04, $CaCl_2.2H_2O$ 0.022, $FeCl_3.6H_2O$ 0.005, $NaHCO_3$ 1.0 ve $1mll^{-1}$ iz element karışımında (gl^{-1}) olarak $ZnSO_4.H_2O$ 0.01, $MnCl_2.4H_2O$ 0.1, $CuSO_4.5H_2O$ 0.392, $CoCl_2.6H_2O$ 0.248, $NaB_4O_7.10H_2O$ 0.177 de 0.02 $NiCl_2.6H_2O$ kullanılmıştır. 24 saat 30°C'de inkübasyona bırakılmış ve 5 ml örnekler alınarak ölçümler yapılmıştır. Sonuçta immobilize hücrelerin % 90'dan fazla giderim yapıldığı belirlenmiştir.

Prasad vd. tarafından 2013 yılında yapılan çalışmada *Marinobacter* sp. zinciri HBRA kullanılarak Direct B -1 boyasının giderimlerine ve giderim parametrelerine bakılmıştır. 250 ml'lik erlenlere 100 ml taze Luria-Bertani Broth besiyerine önceden kültüre edilmiş (% 7 (0.6 mgl^{-1})) Marinobakter zinciri ekilmiştir. Farklı pH (6, 7, 8 ve 9) ve farklı sıcaklık (10, 25, 30, 37, 40 ve 45 °C) denenmiştir. Ayrıca 10 ile 100 gl^{-1} arasında değişen NaCl konsantrasyonlarına ve farklı boya konsantrasyonlarına bakılmıştır. Sonuç olarak optimum şartlarda pH 8 ve 37 °C'de; 70 gl^{-1} NaCl, 100 ppm boyayı % 100 etkinlikle giderdiği görülmüştür.

Asad vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada 3 yeni *Halomonas* zinciri izole edilmiş ve karbon kaynağı olarak farklı azo boyaları denenmiştir. Renk giderimi bakılırken değişik NaCl konsantrasyonları (200 gl^{-1} yi aşan) ve 5-11 arasında değişen pH değerleri denenmiş ve yalnızca anaerobik şartlarda giderim yaptığı gösterilmiştir. HPLC analizleri ile renk giderimi ölçülmüş ve azo bağının ayrılması ile aromatik aminler

salındığı görülmüştür. Değişik oranda tuz içerme boya gideriminde önemlidir, çünkü tekstil atıksuları genellikle tuzlu ve hafif alkalidir.

Guo vd. (2008) yılında yapılan çalışmada, *Halomonas* cinsine ait GTW zinciri, Çin'de bulunan Dalian Körfezi'nden kıyı sedimentinten izole edilmiştir. Yapılan denemeler sonucu optimum giderim şartları olarak 30 °C sıcaklık, pH: 6.5 - 8.5 ve NaCl 100-200 gl^{-1} olarak belirlenmiştir. Karbon kaynağı olarak da maya ekstraktı kullanılmıştır. Sonuç olarak halotolerant bakterinin 24 saatte % 90 giderim yapıldığı görülmüştür.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Mikroorganizma kaynağı

Bu tez çalışmasında; Ankara ilinin yerel bir peynir fabrikasından alınan peyniraltı suyu örnekleri ve Çubuk ilçesinden alınan turşu atıklarının toprağa ve suya temas eden bölgelerinden alınan örnekler kullanılmıştır. Çalışmada iki farklı kaynaktan izole edilen mayalar boya giderim deneylerinde kullanılmış ve en iyi giderim yapan mayanın genetik çalışmalarla tanılanması gerçekleştirilmiştir.

3.1.2 Çalışmada kullanılan boyalar

Bu tez çalışmasında Sigma Aldrich marka ticari markalı, farklı kimyasal yapıda Reactive Black 5, Reactive Red 120, Reactive Orange 14, Remazol Brilliant Blue R ve Brilliant Blue R boyaları kullanılmuştır. Çizelge 3.1'de çalışmada kullanılan boyaların sınıfları, CAS numaraları, molekül ağırlıkları ve kimyasal yapılarını gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 çalışmada kullanılan boyalar

Boya	**Sınıfı**	**CAS numarası**	**Molekül ağırlığı ($g\ l^{-1}$)**	**Kimyasal formülü**
Reactive Black 5	Reaktif	17095-24-8	991.82	$C_{26}H_{21}N_5Na_4O_{19}S_6$
Brillant Blue R	Asit	6104-59-2	825.97	$C_{45}H_{44}N_3NaO_7S_2$
Remazol Brillant Blue R (Reaktif Blue 19)	Anthraquinone	2580-78-1	626.54	$C_{22}H_{16}N_2Na_2O_{11}S_3$
Reactive Orange 14	Reaktif	12225-86-4	631.372	$C_{19}H_{12}Cl_2N_8O_9S_2$
Reactive Red 120	Reaktif	61951-82-4	1469.98	$C_{44}H_{24}Cl_2N_{14}O_{20}S_6Na_6$

3.1.3 Boya solüsyonlarının hazırlanması

Tez çalışmasında kullanılanılan boyaların stok solüsyonları, konsantrasyon % 2 (w/v) olacak şekilde boyaların distile su içerisinde çözülmesiyle elde edilmiştir. Deney çalışmalarında bu stok boyalar gerekli miktarlarda kullanılmıştır.

3.1.4 Melaslı besiyerinin hazırlanması

Tez çalışmasında mayaların gelişimi için melaslı besiyeri kullanılmıştır. Bu besiyeri içerisine istenilen oranlarda NaCl ve boya eklenip mayalar geliştirilmiştir. Melaslı besiyerinin içeriği: 1 g l^{-1} $(NH_4)_2SO_4$, 0.5 g l^{-1} KH_2PO_4 ve % 8 (v/v) melas çözeltisi şeklindedir (Aksu ve Dönmez 2004).

3.2 Yöntem

Melaslı besiyerlerinde üremekte olan aktifleştirilmiş hücrelerle; başlangıç pH, farklı kimyasal boya, artan boya konsantrasyonu, artan NaCI konsantrasyonu, inokülüm miktarı, inkübasyon süresi gibi parametrelerin boya giderimine etkisi incelenmiştir.

3.2.1 Maya izolasyonu

Turşu suyu atığının toprağa temas ettiği yerden ve peyniraltı suyundan alınan örnekler % 4 (w/v) NaCl ve 800.000 ünite Penicillin içeren melaslı katı besiyerine ekilerek üç gün süreyle 30˚C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon periyodu sonunda tek koloni olarak gözlenen koloniler saflaştırılmıştır. Mikroorganizmalar 3 ayda bir aynı besiyerine ekilerek +4˚C'de saklanmıştır.

3.2.2 En yüksek kapasitede boya gideren maya seçimi

En iyi gelişim gösteren ve boya giderimini sağlayan mayayı belirlemek amacıyla yaklaşık 40 mg l^{-1} konsantrasyonda RB5 boyası içeren besiyerlerine önceden iki kez aktifleştirilmiş kültürlerden % 5'lik ekim, 100 ml besiyeri ve % 4 NaCl içeren 250 ml' lik erlenlere yapılmıştır. Besiyeri olarak % 4 NaCl içeren melaslı besiyeri kullanılmış ve pH 6'ya ayarlanmıştır. Sıcaklık 30 °C, çalkalama hızı 100 rpm'e ayarlanarak beş günlük inkübasyona bırakılmıştır. Örnekler peyniraltı (P1-6) ve turşu atığı (T1-8) olarak kodlanmıştır. Beşinci günün sonunda giderim ve maya gelişimi ölçülmüştür. Ölçümler için örneklerden 3 ml örnek alınarak kapaklı tüplere konulup 5000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı alınarak renk giderimi incelenmiştir. Mikrobiyel gelişimi incelemek için pellet kısmı ilk hacim olan 3 ml' ye distile su ile tamamlanmış ve örnekler vortekslenmiştir. Mikrobiyel gelişim 600 nm'de spektrofotometrik olarak Shimadzu UV 2001 model spektrofotometrede ölçülmüştür. Santrifüj işlemleri Med. Instruments MPW-351 R model santrifüj cihazı kullanılarak yapılmıştır.

3.2.3 Seçilen mayanın genetik tanılanması

Yapılan tez çalışmasında ilk denenen boya olan Reactive Black 5'i en yüksek oranda gideren mayanın P-4 şeklinde kodlanan maya olduğu görülmüş ve Refgen Biyoteknoloji' den hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. Maya genomik DNA'ları Nanobiz Genomik DNA İzolasyon Kiti ile elde edilmiştir. PCR koşulları: 50 uL hacimde 1x taq buffer, 1.5 mM MgCl, 0.2 mM Dntp mix, 0.3 pmol ITS1 ve ITS4 primerleri 1.5 U taq Polimeraz kullanılmıştır. PCR, 94 °C'de 1 dakika 30X (94 °C'de 45s + 55 °C'de 45s + 72 °C'de 45s) şeklindedir. Dizi analizi için kullanılan kit, Bigdye Cycle Squencing Kit v.3.1 dir. ABI 3100 Genetic Analyzer cihazında yürütülmüştür. Çıkan diziler gen bankasındaki verilerle karşılaştırılıp mikroorganizmanın tanılaması yapılmıştır. Tanılama işlemi sonucunda mikroorganizmanın *Kluyveromyces marxianus* olduğu belirlenmiştir.

3.2.4 Boya seçimi

Farklı kimyasal yapıya sahip beş ticari boya giderim deneylerinde kullanılmıştır. Besiyerlerine yaklaşık 50 mg l^{-1} olacak şekilde boya eklenmiştir. Besiyeri % 4 (w/v) NaCI içeren melaslı besiyeridir. pH 6 değerine ayarlanıp 100 rpm çalkalamalı inkübatöre inkübasyon için bırakılmıştır.

3.2.5 Başlangıç pH değerlerinin biyogiderim ve mikrobiyel gelişime etkisi

Maya seçiminin ardından yaklaşık 50 mg l^{-1} konsantrasyonda Reactive Black 5 boyası içeren, başlangıç pH'ı 3-7 arasında ayarlanan 250 mL'lik erlenlerdeki 100 mL'lik % 4 NaCI (w/v) içeren melaslı besiyerlerine ekim yapılmıştır. Maya izolatları; yedi gün boyunca 30 °C sıcaklık ve 100 rpm çalkalama inkübasyona bırakılmış; üç, beş ve yedinci günler 3 ml örnek alınmış 5000 rpm de 10 dk santrifüjlenmiştir. Boya giderimi ve maya gelişimi incelenmiştir.

3.2.6 Başlangıç boya konsantrasyonunun giderime etkisi

En yüksek kapasite ile giderilen Reactive Black 5 boyası artan konsantrasyonlarda pH 6 ya ayarlanmış, % 4 NaCI içeren melaslı besiyerlerine eklenmiştir.100 mg l^{-1}, 173 mg l^{-1}, 266 mg l^{-1}, 390 mg l^{-1} konsantrasyonlarındaki boyalı besiyerlerine 250 ml lik Erlen-Mayer'lere 100 ml hacimlerde üç paralel halinde, iki kez aktifleştirilmiş P-4 mayası inoküle edilmiştir. Maya izolatları; 100 rpm çalkalama hızında 30˚C sıcaklıkta yedi gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İkinci günden itibaren her gün kültürlerden 3 ml örnek alınmıştır. Alınan örnekler 5000 rpm de 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı alınarak boya giderimi, pellet kısmında da maya gelişimi incelenmiştir.

3.2.7 Artan NaCI konsantrasyonunun boya giderimine etkisi

Farklı NaCl konsantrasyonlarının boya giderimine etkisini araştırmak amacıyla *K.marxianus* mayası, yaklaşık 75 mg l^{-1} Reactive Black 5 boyası bulunan besiyerlerine

farklı NaCl konsantrasyonlarına (% 4,% 6,% 8 ve % 10) pH değeri 6 olacak şekilde inoküle edilmiştir. İkinci günden itibaren kültürlerden 3'er ml örnek alınıp maya gelişimi ve boya giderimi incelenmiştir.

3.2.8 İnokülüm miktarının mikroorganizma gelişimi ve boya giderimine etkisi

Boya gideriminin en iyi olduğu pH belirlendikten sonra artan hücre miktarının etkisine bakmak amacıyla inokülüm miktarı % 10' a çıkarılmıştır. Başlangıç boya miktarları yaklaşık olarak 114 mg l^{-1}, 211 mg l^{-1}, 320 mg l^{-1} ve 413 mg l^{-1} olarak belirlenmiştir. % 4 NaCI (w/v) içeren melaslı besiyerine *K.marxianus* mayası % 10 inokülümde ekilmiş ve yedi gün boyunca 30˚C sıcaklıkta ve 100 rpm çalkalama hızında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda 3'er ml örnek alınarak 5000 rpm' de 10 dk santrifüjlenmiştir. Boya giderimi ve maya gelişimi spektofotometrik olarak incelenmiştir.

3.3 Analiz Yöntemleri

3.3.1 Spektrofotometrik analiz

İnkübasyon süresi boyunca alınan örnekler 5000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiş ve pellet kısmı distile su ile seyreltirilerek maya gelişimi 600 nm'de ölçülmüştür (Shimadzu® UV 2001 Japan). Boya giderimi, süpernatant kısmı boyaların en iyi absorbans yaptığı dalga boylarında ölçülerek belirlenmiştir. Boyaların dalga boyu şu şekildedir:

Reactive Black 5: 600 nm

Reactive Orange 14: 435 nm

Reactive Red 120: 520 nm

Remazol Brillant Blue R: 590 nm

Brillant Blue R: 560 nm

3.3.2 Kuru ağırlığın belirlenmesi

Kuru ağırlığın belirlenmesi için optik yoğunluğu belirlenmiş maya örnekleri önceden darası alınmış alüminyum folyolara 2 ml eşit hacim alınarak 100 °C'de 24 saat boyunca etüvde (Nüve FN 400) kurutulmuştur. 24 saatin ardından etüvden çıkarılan örnekler nemin uzaklaştırılması amacıyla desikatöre konulup ardından hassas terazide tartılmıştır.

3.3.3 Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan formüller

Mikroorganizmanın boya giderim verimi için kullanılan formül;

% Boya giderim (BG) = $((C_o - C_f)/ C_o) \times 100$

Gram başına düşen maksimum spesifik boya alımı (q_m) için kullanılan formül;

$q_m = (C_o - C_f)/ X_m$

q_m: kurutulmuş bir gram hücredeki maksimum boya miktarı ($g\ g^{-1}$)

X_m: maksimum kurutulmuş hücre kütlesi ($g\ l^{-1}$)

C_o: başlangıç boya konsantrasyonu ($mg\ l^{-1}$)

C_f : son boya konsantrasyonu ($mg\ l^{-1}$)

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Maya İzolasyonu ve Seçimi

Yapılan tez çalışmasında peyniraltı suyu ve turşu suyu atıklarının toprağa ve suya temas eden bölgelerinden alınan örnekler ve % 1.5 (w/v) agar içeren pH'ı 6'ya ayarlanmış % 4 (w/v) konsantrasyonda NaCl içeren melaslı besiyerine ekilmiştir. Bu besiyerlerine bakterilerin gelişmesini önlemek amacıyla 800.000 ünite Penicillin eklenmiştir. Tek koloni elde edilinceye kadar saflaştırma işlemi devam etmiştir. Altı tanesi peyniraltı suyu (P1-P6), sekiz tanesi turşu atığı (T1-T8) olmak üzere toplamda 14 ayrı morfolojide maya izole edilip tekrar petrilere ekilmiştir. Daha sonraki deneylerde kullanılmak üzere yatık besiyerlerine ekilip +4 ˚C' de saklanmıştır.

Tuzlu ortamdan izole edilen 14 farklı maya türünden en iyi boya giderimi yapan türü belirlemek amacıyla, mayalar yaklaşık 40 mg l^{-1} Reactive Black 5 (RB5) içeren % 4 konsantrasyonda NaCl içeren melaslı besiyerine inoküle edilmiş, beş günlük inkübasyon sonunda mikrobiyel gelişimleri ve biyogiderim yüzdeleri hesaplanmıştır. Elde edilen değerler çizelge 4.1'de gösterilmiştir.

Beş günlük inkübasyon sonucunda T-7 olarak kodlanan maya türü 1.4 g l^{-1} gelişim değeriyle en iyi gelişim gösteren tür olmuştur. Aynı zamanda T-7; RB5 boyasını % 92 gidermiştir. P-4 olarak kodlanan maya türü ise RB5'i % 96 gidererek en yüksek oranda biyogiderim yapan tür olmuştur. P-4 izolatının mikrobiyel gelişimi ise 0.9 g l^{-1} olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.1 Peyniraltı suyu ve turşu suyundan izole edilen mayaların RB5 boyasını giderim yüzdeleri ve mikrobiyel gelişim değerleri

Maya izolatı kodu	Biyogiderim (%)	Mikrobiyel gelişim (g l^{-1})
P-1	88.5	0.6
P-2	82.6	0.5
P-3	10.3	0.5
P-4	96.0	0.9
P-5	30.7	0.8
P-6	51.3	1.0
T-1	25.6	0.6
T-2	23.0	0.5
T-3	22.0	0.8
T-4	30.0	0.5
T-5	27.2	0.7
T-6	2.5	0.9
T-7	92.0	1.4
T-8	49.7	0.6

(T: 30 °C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, C_0: 40 mg l^{-1}, pH: 6, inkübasyon süresi: 5 gün, % 4 konsantrasyonda NaCl içeren melaslı besiyeri)

Bu deney sonucunda en yüksek biyogiderim yüzdesine sahip olan ve besiyerinde iyi gelişim gösteren P-4 mayasının, çalışma için en uygun tür olduğu belirlenmiş ve çalışmaya bu maya türüyle devam edilmiştir. Yapılan tanılama işlemi sonucunda P-4 şeklinde kodlanan maya türünün *Kluyveromyces marxianus* olduğu saptanmıştır.

4.2 Boya Seçimi

Çalışma için seçilen *K. marxianus*'un farklı kimyasal yapıdaki boyaların giderimindeki verimliliğini belirlemek amacıyla, % 4 (w/v) konsantrasyonda NaCl içeren, çalışma için seçilen beş farklı boya türünden yaklaşık olarak 50 mg l^{-1} konsantrasyonda boya bulunan besiyerleri hazırlanmıştır.

İnkübasyonun üçüncü ve beşinci günlerinde yapılan ölçümler sonucunda hesaplanan biyogiderim oranları çizelge 4.2 - 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 incelendiğinde inkübasyonun üçüncü gününde en yüksek giderimin % 80.8±0.5 ile RB5 boyasının bulunduğu besiyerinde olduğu görülmektedir. RBBR ise % 14.1±1.6 ile en düşük oranda giderimi yapılan boya olmuştur.

Çizelge 4.2 Farklı kimyasal yapıdaki boyaların bulunduğu besiyerlerinde inkübasyonun üçüncü gününde boya giderim oranları

Kullanılan boya	Başlangıç boya konsantrasyonu C_0 (mg l^{-1})	C_{ad} (mg l^{-1})	Biyogiderim (%)
Reactive Black 5	52.0	42.0	80.8±0.5
Reactive Red 120	49.6	24.1	48.6±1.5
Reactive Orange 14	58.0	29.4	50.7±1.4
Remazol Brilliant Blue R	66.0	9.3	14.1±1.6
Brilliant Blue R	47.5	23.2	48.8±0.7

(T: 30 °C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH: 6, inkübasyon süresi: 3 gün, % 4 NaCl içeren melaslı besiyeri)

Çizelge 4.3'teki değerlere göre inkübasyonun beşinci gününde tüm boyaların giderimlerinde üçüncü güne oranla artış olduğu görülmektedir. İnkübasyonun üçüncü gününde olduğu gibi beşinci günde de en yüksek oranda giderimi yapılan boya RB5 olmuştur. Beşinci gün sonunda RB5 % 90.2±0 oranında giderilmiştir.

Çizelge 4.3 Farklı kimyasal yapıdaki boyaların bulunduğu besiyerlerinde inkübasyonun beşinci gününde boya giderim oranları

Kullanılan boya	Başlangıç boya konsantrasyonu C_0 (mg l^{-1})	C_{ad} (mg l^{-1})	Biyogiderim (%)
Reactive Black 5	52.0	46.9	90.2±0
Reactive Red 120	49.5	28.2	57.0±0.1
Reactive Orange 14	58.0	31.3	54.0±0.9
Remazol Brilliant Blue R	66.0	14.0	21.0±2.1
Brilliant Blue R	47.5	24.0	50.5±1.1

(T: 30 °C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH: 6, inkübasyon süresi: 5 gün, % 4 NaCl içeren melaslı besiyeri)

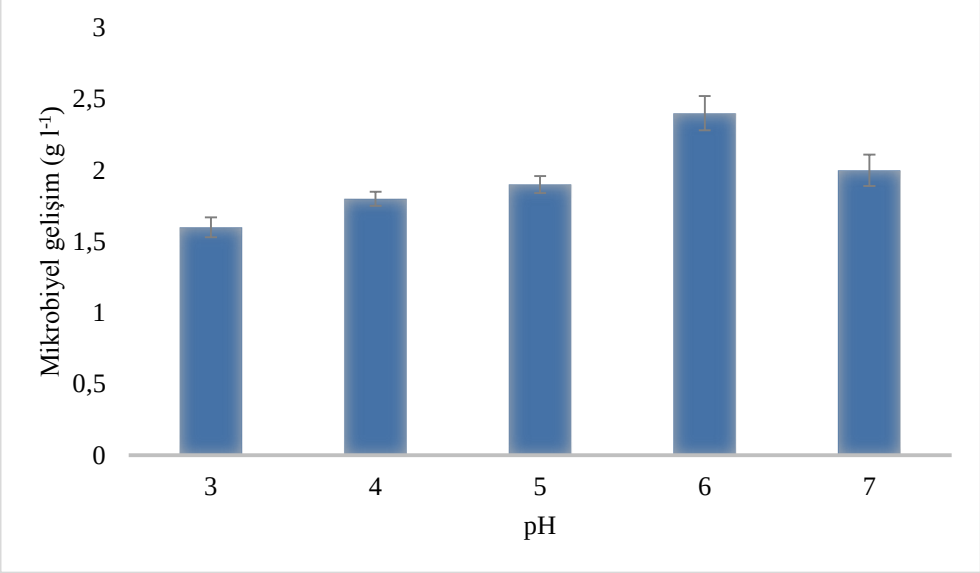
Elde edilen sonuçlara göre üç ve beş günlük inkübasyonda *K. marxianus* tarafından en iyi oranda giderimi yapılan boyanın RB5 olduğu görülmüş ve çalışmanın kalan kısmına bu boya ile devam edilmesi kararlaştırılmıştır.

4.3 Başlangıç pH Değerinin Biyogiderim ve Mikrobiyel Gelişime Etkisi

Boya giderimi ve maya gelişimi açısından en uygun pH değerini belirlemek amacıyla, *K. marxianus* mayası; yaklaşık 50 mg l^{-1} konsantrasyonda RB5 boyası içeren, pH değerleri 3, 4, 5, 6 ve 7 olan besiyerlerine inoküle edilmiştir. İnkübasyonun yedinci gününde 600 nm'de spektrofotometrik ölçümler yapılarak mikrobiyel gelişim değerleri ve ortamdan uzaklaştırılan boya miktarları saptanmıştır.

Şekil 4.1 başlangıç pH değerlerinin mikrobiyel gelişim üzerine etkisini göstermektedir. Yapılan ölçümler sonucunda inkübasyonun yedinci gününde en iyi maya gelişiminin pH 6 değerinde olduğu görülmüştür. Yedinci gün için pH 6 değerindeki mikrobiyel gelişim

değeri 2.4±0.12 g l^{-1} olarak ölçülmüştür. En az maya gelişimi ise 1.6±0.07 g l^{-1} değeriyle pH değeri 3 olan ortamda görülmüştür.

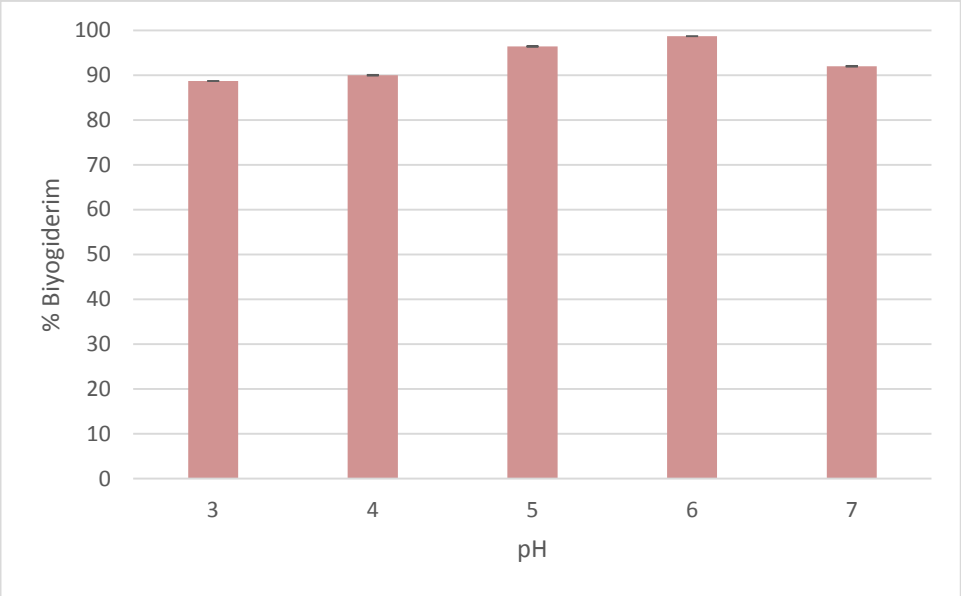


Şekil 4.1 Artan pH değerlerinin inkübasyonun yedinci gününde mikrobiyel gelişim üzerine etkisi

(T: 30 ˚C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH: 6, C_0: 50 mg l^{-1}, % 4 konsantrasyonda NaCl içeren melaslı besiyeri)

Şekil 4.2 farklı pH değerlerinde mikroorganizmanın gerçekleştirdiği biyogiderim oranlarını göstermektedir. *K. marxianus*'un, en iyi gelişim gösterdiği pH 6 değerinde, inkübasyonun yedinci gününde % 98.7±0.01 giderim olduğu görülmüştür. En az giderim ise % 88.7±0.03 ile pH değeri 3 olan ortamda gözlenmiştir.

Şekil 4.1 - 4.2 incelendiğinde farklı pH değerlerinde biyogiderim yüzdeleri arasında önemli bir fark olmadığı, fakat pH 6 değerindeki besiyerinde diğer pH değerlerine göre daha iyi maya gelişimi olduğu görülmüştür. Bu nedenle çalışma için en uygun pH olarak pH 6 değeri seçilmiş ve çalışmanın kalan kısımlarında da optimum pH olarak bu değer kullanılmıştır.



Şekil 4.2 İnkübasyonun yedinci gününde başlangıç pH değerinin biyogiderim üzerine etkisi

(T: 30 ˚C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH: 6, C_0: 50 mg l^{-1}, % 4 konsantrasyonda NaCl içeren melaslı besiyeri)

4.4 Farklı Tuz Konsantrasyonlarının Boya Giderimine ve Maya Gelişimine Etkisi

K. marxianus'un tuza olan toleransını ve farklı tuz konsantrasyonlarının boya giderimine etkisini incelemek amacıyla, başlangıç konsantrasyonu olarak yaklaşık 70 mg l^{-1} RB5 bulunan, % 4, % 6, % 8 ve % 10 (w/v) konsantrasyonlarda NaCl içeren besiyerlerine ekim yapılmıştır. İnkübasyonun ikinci günden itibaren mayanın gelişim değerleri ve maya tarafından ortamdan uzaklaştırılan boya miktarları 600 nm' de spektrofotometrik yöntemle ölçülmüştür.

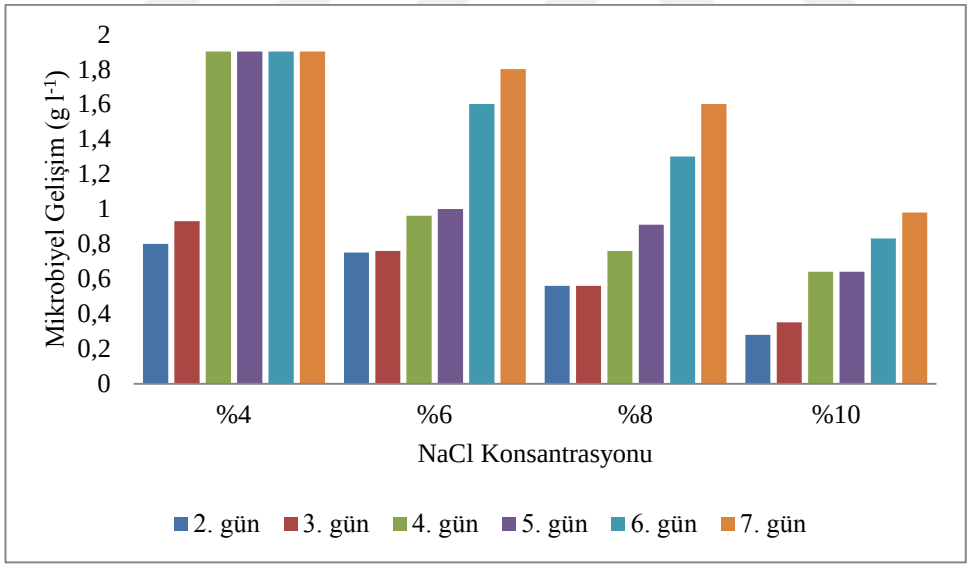
K. marxianus'un farklı NaCl konsantrasyonlarında inkübasyonun beşinci gününde gösterdiği gelişim miktarları çizelge 4.4'de gösterilmiştir. *K. marxianus*'un en iyi gelişimi 1.9 ± 0.05 g l^{-1} değeriyle % 4 NaCl konsantrasyonu içeren besiyerinde görülmüştür. NaCl konsantrasyonu arttıkça maya gelişimi azalmış fakat en yüksek tuz oranına sahip % 10'luk ortamda bile maya gelişiminin olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.4 İnkübasyonun beşinci gününde *K. marxianus*' un farklı NaCl konsantrasyonlarında mikrobiyel gelişim ve biyogiderim değerleri

NaCl Konsantrasyonu(%)	C_0 (mg l^{-1})	Mikrobiyel gelişim (g l^{-1})	Biyogiderim (%)
4	73	1.9±0.05	92.7±2.4
6	68	1.0±0.05	73.0±0.8
8	69	0.91±0.02	42.5±0.9
10	69	0.64±0.02	31.6±1.5

(T: 30 ˚C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH: 6)

Daha yüksek NaCl konsantrasyonlarında mikrobiyel gelişimdeki azalma Şekil 4.3' de de görülmektedir. En iyi maya gelişimi % 4 NaCl konsantrasyonu içeren ortamda gözlenmiştir. İnkübasyon süresi arttıkça farklı NaCl konsantrasyonlarda mikrobiyel gelişimde genel bir artış olduğu, fakat tuz konsantrasyonu arttıkça gelişimin azaldığı görülmüştür.



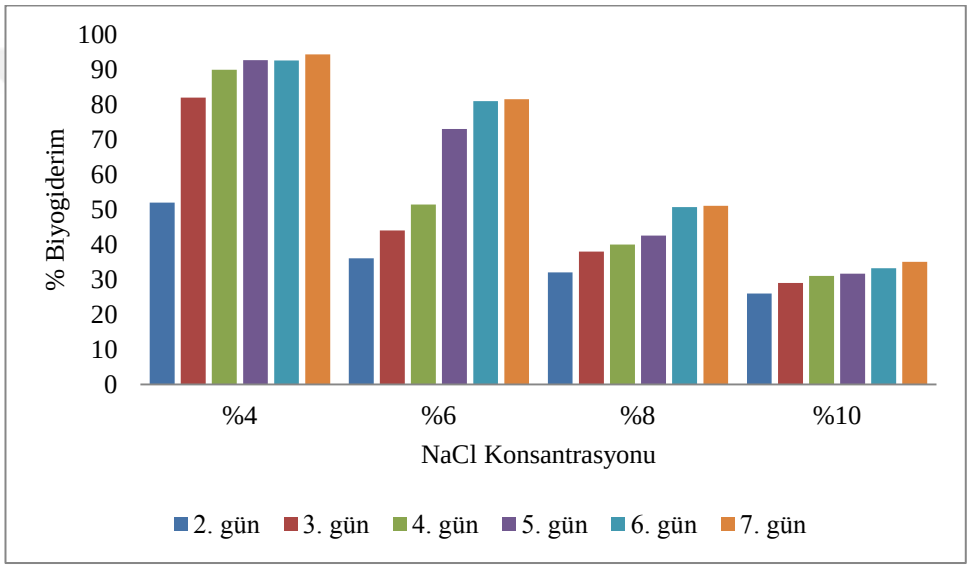
Şekil 4.3 Farklı NaCl konsantrasyonlarında inkübasyonun iki ve yedinci günleri arasında ölçülen maya gelişim miktarları

(g l^{-1}) (T: 30 ˚C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH:6)

Çizelge 4.4'de ayrıca farklı tuz konsantrasyonlarının *K. marxianus*'un gerçekleştirdiği biyogiderim üzerine etkisi gösterilmiştir. İnkübasyonun beşinci gününde yapılan ölçümlerde *K. marxianus*' un en iyi giderim oranı % 92.7±2.4 ile % 4 NaCl

konsantrasyonunda görülmüştür Maya gelişim değerlerine benzer olarak NaCl konsantrasyonu arttıkça boya giderim yüzdelerinde azalma olduğu görülmüştür.

Yüksek NaCl konsantrasyonlarında boya giderim oranında azalma şekil 4.4'de de görülmektedir. Tüm konsantrasyonlarda inkübasyon süresi arttıkça boya gideriminde genel bir artış görülmüştür. En iyi boya gideriminin maya gelişimine paralel olarak % 4 NaCl içeren kültürde olduğu görülmektedir. Daha yüksek NaCl konsantrasyonlarında boya gideriminde azalma meydana gelmiştir.



Şekil 4.4 Farklı NaCl konsantrasyonlarında inkübasyonun iki ile yedinci günleri arasında ölçülen biyogiderim oranları (%)

(T: 30 ˚C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH: 6)

4.5 Artan Boya Konsantrasyonlarının Biyogiderim ve Mikrobiyel Gelişime Etkisi

Artan boya konsantrasyonlarında biyogiderim oranının belirlenmesi için, başlangıç boya konsantrasyonu olarak 100, 173, 266 ve 390 mg l^{-1} RB5 içeren besiyerlerine % 5 inokülüm ekim yapılmıştır. İkinci günden itibaren *K. marxianus* tarafından ortamdan uzaklaştırılan boya miktarı ve biyogiderim oranları hesaplanmış, değerler Çizelge 4.5' de gösterilmiştir. İnkübasyonun beşinci gününde, boya konsantrasyonundaki artışa paralel olarak organizma tarafından ortamdan uzaklaştırılan boya miktarı da artmış,

fakat giderim oranları azalmıştır. Beşinci günde en iyi boya gideriminin % 65.5±0.5 ile başlangıç boya konsantrasyonu 100 mg l^{-1} olan besiyerinde gerçekleştiği görülmüştür. Diğer günlerdeki ölçümlerde de beşinci gündeki giderime benzer şekilde yüksek boya konsantrasyon değerlerinde daha az boya giderimi yapıldığı görülmüştür.

Çizelge 4.5 Artan boya konsantrasyonunun biyogiderime ve maya gelişimine etkisinin incelenmesi

Başlangıç Boya Konsantrasyonu (mgl^{-1})	2.gün		3.gün		4.gün		5.gün		6.gün		7.gün	
	C_{ad} (mgl^{-1})	% Biyo-giderim	C_{ad} (mgl^{-1})	% Biyo-giderim	C_{ad} (mgl^{-1})	% Biyo-giderim	C_{ad} (mgl^{-1})	% Biyo-giderim	C_{ad} (mgl^{-1})	% Biyo-giderim	C_{ad} (mgl^{-1})	% Biyo-giderim
100	56.0	56.0±1.2	58.0	58.0±1.9	64.5	64.5±0.8	64.5	65.5±0.5	60.0	65.6±0.6	60.0	70.0±0.1
173	83.7	48.4±1.4	88.0	51.0±1.7	98.0	56.6±1.2	100.0	57.8±1.0	100.0	57.8±1.2	104.0	60.1±0.5
266	86.0	32.3±1.5	98.4	37.0±1.1	105.6	39.7±1.4	110.0	41.3±1.1	111.7	42.0±1.0	114.4	43.0±0.5
390	85.8	22.0±0.4	87.8	22.5±1.4	124.8	32.0±1.4	142.0	34.4±0	134.2	36.4±0.5	117.0	30.0±3.2

(T:30 ˚C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH:6, % 4 NaCl içeren melaslı besiyeri, % 5 inokülüm)

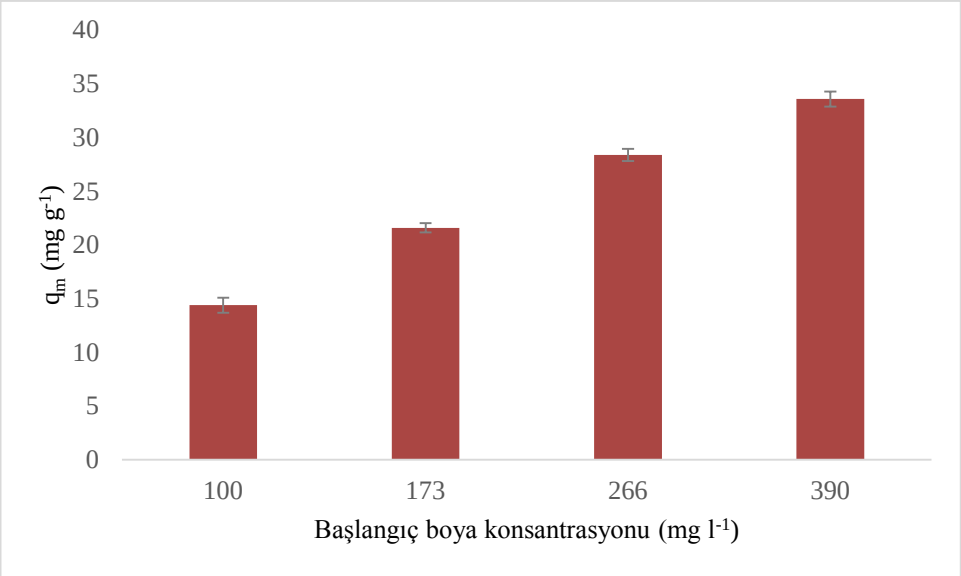
Aynı deneysel koşullarda, inkübasyonun ikinci gününden itibaren spektrofotometrik ölçümle mikrobiyel gelişim miktarları belirlenmiştir. Belirlenen mikrobiyel gelişim miktarları çizelge 4.6'da gösterilmiştir. En iyi mikrobiyel gelişim değerleri inkübasyonun beşinci gününde gözlenmiştir. Beşinci günde tüm başlangıç boya konsantrasyonlarında birbirine benzer gelişim değerleri olduğu görülmektedir. Diğer günlerde de artan boya konsantrasyonlarında ölçülen mikrobiyel gelişim değerlerinin benzer olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.6 İnkübasyonun iki ile yedinci günleri arasında artan boya konsantrasyonlarında mikrobiyel gelişim değerleri

Başlangıç boya konsantrasyonu (mg l^{-1})	**Mikrobiyel Gelişim (g l^{-1})**					
	2. gün	**3. gün**	**4. gün**	**5. gün**	**6. gün**	**7. gün**
100	1.4±0.04	1.3±0.03	1.6±0	1.8±0.07	1.6±0.14	1.5±0.07
173	1.3±0.11	1.4±0.07	1.7±0.2	1.9±0.14	1.7±0.14	1.4±0.2
266	1.2±0.2	1.2±0.19	1.3±0.07	1.7±0.2	1.6±0.03	1.4±0.2
390	1.1±0.1	1.2±0.3	1.5±0.2	1.6±0.07	1.6±0.05	1.3±0.03

(T:30 ˚C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH: 6, % 4 NaCl içeren melaslı besiyeri, % 5 inokülüm)

Şekil 4.5'de, inkübasyonun yedinci gününde *K. marxianus*'un artan boya konsantrasyonlarında gerçekleştirdiği maksimum spesifik boya alımı (q_m) değerleri görülmektedir. Boya konsantrasyonu arttıkça maksimum spesifik boya alımında da artış olduğu gözlenmiştir. En yüksek maksimum spesifik boya alımı 33.6±0.70 mg g^{-1} ile 390 mg l^{-1} RB5 konsantrasyonunda görülmüştür.



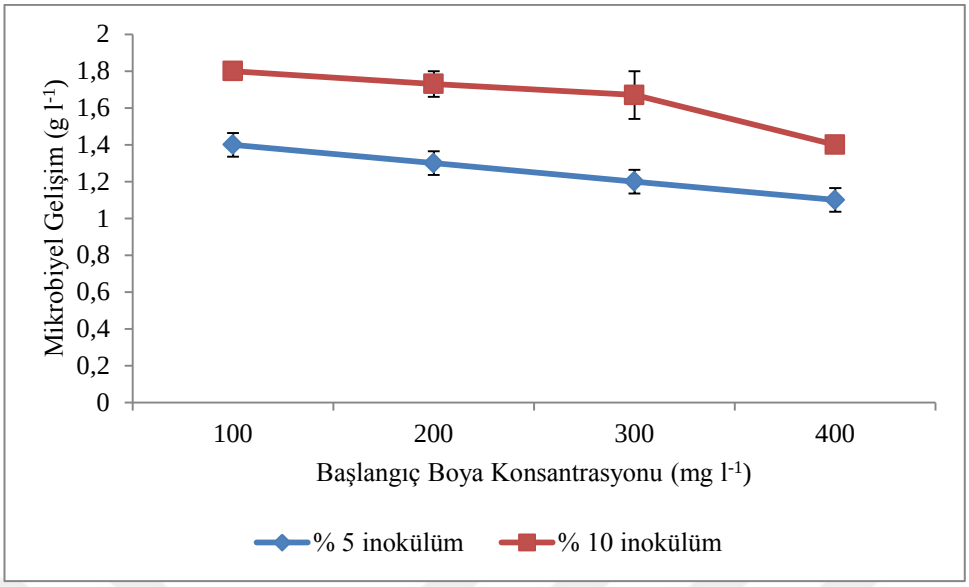
Şekil 4.5 İnkübasyonun yedinci gününde artan konsantrasyonlarda boya varlığında maksimum spesifik boya alımı

(T: 30 ˚C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH: 6, % 5 inokülüm, % 4 konsantrasyonda NaCl içeren melaslı besiyeri)

4.6 Artan İnokülüm Miktarının Biyogiderim, Mikrobiyel Gelişim ve Maksimum Spesifik Boya Alımına Etkisi

İnokülüm miktarındaki artışın mikrobiyel gelişime etkisini incelemek amacıyla % 5 ve % 10 inokülüm ekim yapılan besiyerlerinde inkübasyonun ikinci gününde ölçülen gelişim değerleri karşılaştırılmıştır. Başlangıç boya konsantrasyonları yaklaşık olarak 100, 200, 300 ve 400 mg l^{-1} olacak şekilde belirlenmiştir.

Şekil 4.6 inkübasyonun ikinci gününde inokülüm miktarındaki artışın mikrobiyel gelişime etkisini göstermektedir. Artan boya konsantrasyonlarında % 10 inokülüm ekim yapılan besiyerlerinde daha iyi maya gelişimi olduğu görülmektedir. İkinci günde % 5 inokülümde en iyi mikrobiyel gelişim 1.4±0.11 g l^{-1} değeriyle 100 mg l^{-1} boya konsantrasyonunda gözlenmiştir. % 10 inokülümde de en iyi gelişim 1.8±0.03 g l^{-1} değeriyle 100 mg l^{-1} boya konsantrasyonunda görülmüştür.

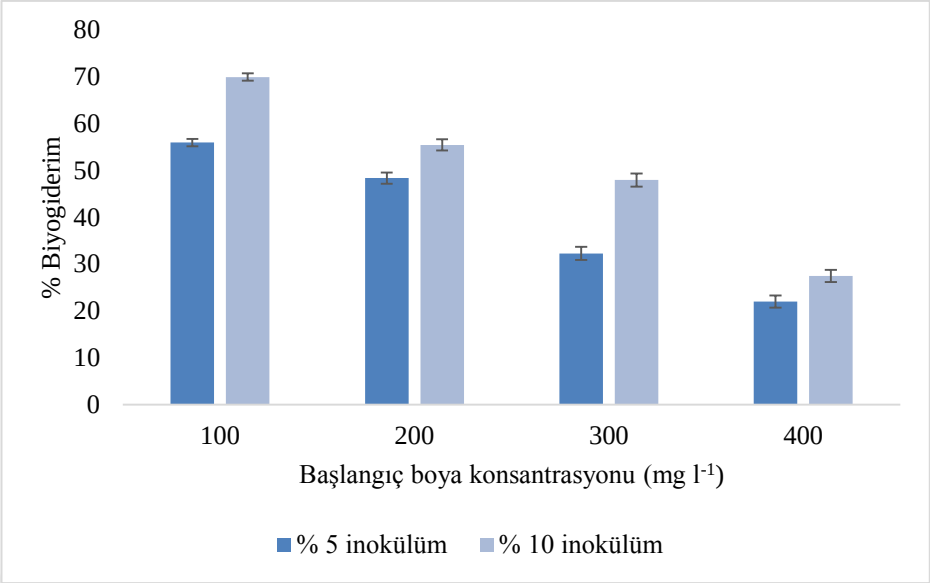


Şekil 4.6 İnkübasyonun ikinci gününde farklı başlangıç konsantrasyonlarına sahip % 5 ve % 10 inokülüm yapılan besiyerlerindeki mikrobiyel gelişim miktarları

(T: 30 ˚C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH: 6, % 4 konsantrasyonda NaCl içeren melaslı besiyeri)

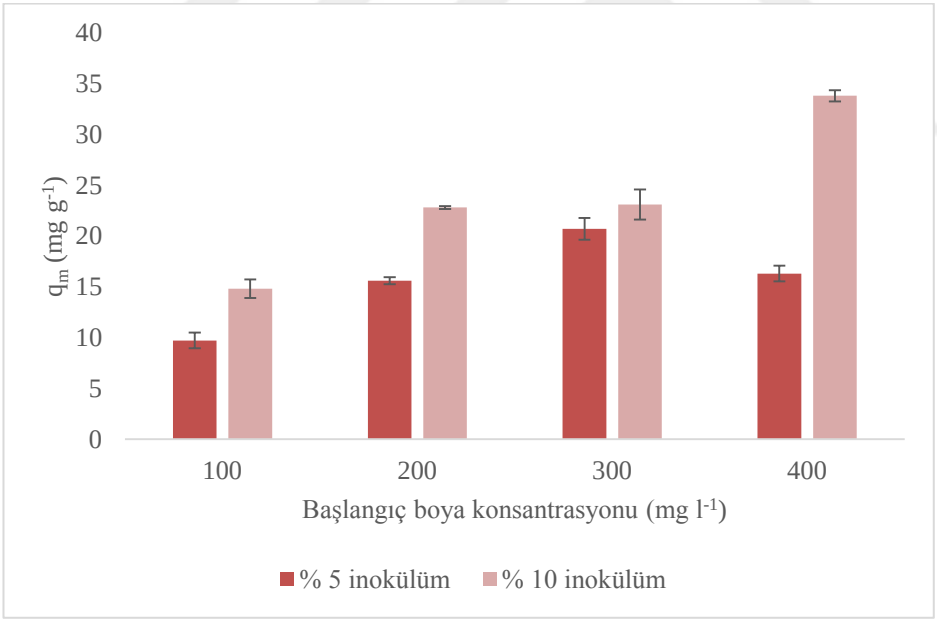
İnokülüm miktarındaki artışın boya giderimi üzerine etkisi şekil 4.7'de görülmektedir. İnkübasyonun ikinci günü yapılan ölçümlerde % 5 ve % 10 inokülümde en iyi boya gideriminin yaklaşık 100 mg l^{-1} boya konsantrasyonunda olduğu görülmüştür. Başlangıç boya konsantrasyonu arttıkça boya gideriminde azalma olmuştur. % 5 inokülümde en iyi boya giderimi % 56±1.2 iken, % 10 inokülümde % 70±0.8 olarak hesaplanmıştır.

Şekil 4.8, inokülüm miktarındaki artışın maksimum spesifik boya alımı üzerine etkisini göstermektedir. İnkübasyonun ikinci gününde % 5 inokülümde en yüksek maksimum spesifik boya alımı değeri 20.7±1.06 mg g^{-1} ile yaklaşık 300 mg l^{-1} konsantrasyonda görülmüştür. % 10 inokülümde ise en yüksek değer yaklaşık 400 mg l^{-1} boya konsantrasyonunda 33.8±0.56 mg g^{-1} olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.7 İnkübasyonun ikinci gününde farklı başlangıç boya konsantrasyonlarındaki ortamlarda % 5 ve % 10' luk inokülümün boya giderimine etkisi

(T: 30 ˚C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH: 6, % 4 konsantrasyonda NaCl içeren melaslı besiyeri)



Şekil 4.8 İnkübasyonun ikinci gününde farklı başlangıç boya konsantrasyonlarındaki ortamlarda % 5 ve % 10' luk inokülümün spesifik boya alımına etkisi

(T: 30 ˚C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH: 6, % 4 konsantrasyonda NaCl içeren melaslı besiyeri)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

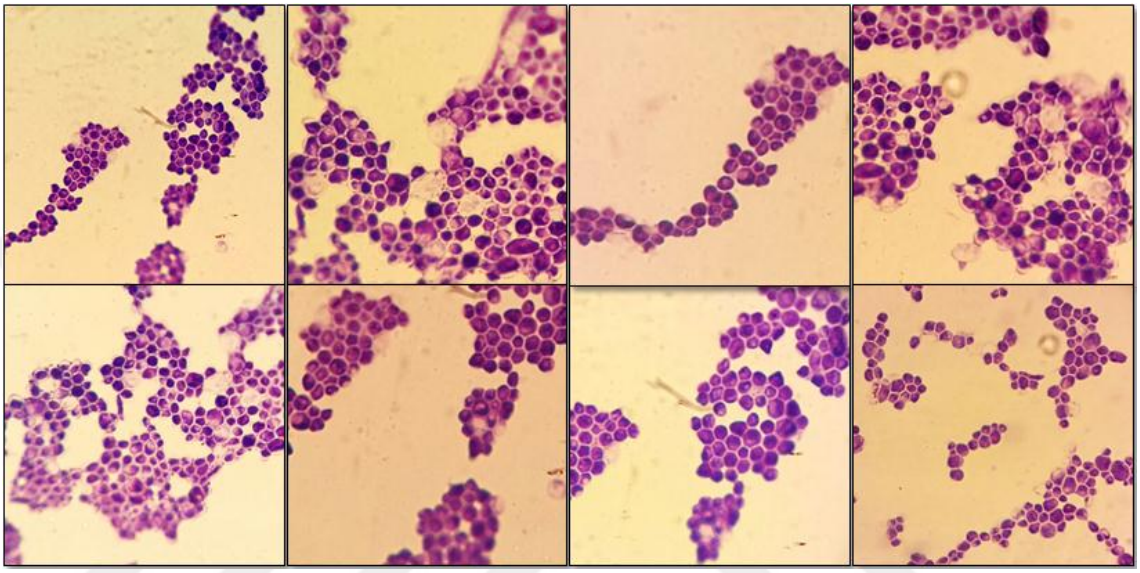
5.1 Maya İzolasyonu ve Seçimi

Bitki, deri tabaklama, fermantasyon ve deniz ürünleri işleme endüstrileri, genellikle büyük miktarlarda tuz oranı ve organik madde miktarı yüksek atıksu üretirler. Bakteri türlerinin çoğu, büyümelerini ve bakteriyel sistemlerin performasını büyük ölçüde inhibe eden, protoplazmaları ve ortamdaki tuz koşulları arasındaki yüksek ozmotik basınç farklılıkları nedeniyle dehidrate olma ve parçalanma eğilimindedirler. Aktif çamur işlemlerinde *Halobacter halobium* gibi tuza dayanıklı türlerle yapılan uygulamanın, % 2' nin üzerinde tuz içeriklerinde daha iyi giderim performansıyla sonuçlandığı bildirilmiştir. Tuza toleranslı bakterilere alternatif olarak, osmotolerant maya kültürünün bakteri kültürüne oranla yüksek tuzlu atıksuların aerobik arıtımında daha etkili olduğu bildirilmiştir (Yang ve Zheng, 2014).

Yapılan tez çalışmasında tuz konsantrasyonu yüksek olan peyniraltı suyu ve turşu suyu örneklerinden maya izolasyonu yapılmıştır. Peyniraltı suyu örneğinden altı, turşu suyu örneğinden sekiz maya türü izole edilmiş, bu mayalar 40 mg l^{-1} konsantrasyonda RB5 içeren besiyerlerine ekilmiş ve boya giderim yüzdeleri incelenmiştir. Peyniraltı suyundan izole edilen maya türlerinin, turşu suyundan izole edilen maya türlerine göre daha iyi giderim yaptığı görülmüştür. En az giderimin turşu suyundan izole edilen T-6 ve peyniraltı suyundan izole edilen P-3 olarak kodlanan mayaların bulunduğu besiyerlerinde olduğu görülmüştür. En iyi boya giderimi; % 96 ile peyniraltı suyundan izole edilen P-4 mayası ve % 92 ile turşu suyundan izole edilen T-7 mayasının bulunduğu besiyerlerinde olmuştur. T-7 mayasının gelişiminin P-4 mayasından daha iyi olduğu görülmüştür.

En iyi boya giderimine sahip tür olan P-4 mayası ve en iyi gelişim gösteren tür olan T-7 mayasının, çalışma için belirlenmiş beş farklı kimyasal yapıdaki boya türlerini giderim oranları karşılaştırılmış ve her iki türün de en iyi giderim yaptığı boyanın RB5 olduğu görülmüştür. T-7 mayası RB5 boyasını % 91.6 oranında giderirken, P-4 mayası % 96.5 giderim yapmıştır.

Çalışmanın amacına uygun olarak en iyi giderim gerçekleştiren tür olan ve deney koşullarında iyi gelişim gösteren P-4 mayası seçilmiş ve çalışmalara bu maya türü ile devam edilmiştir. Şekil 5.1, P-4 mayasının basit boyama ile belirlenmiş morfolojik yapısını göstermektedir. Refgen Biyoteknoloji' de yapılan tanılama işlemi sonucunda P-4 olarak kodlanan mayanın *Kluyveromyces marxianus* olduğu belirlenmiştir.



Şekil 5.1 P-4 mayasının basit boyama yöntemiyle belirlenen morfolojik yapısı

Jafari vd. (2014) yılında yaptıkları çalışmada, birkaç belediyenin atıksu arıtma tesislerinden aktif çamur örnekleri toplamış ve bu örneklerden maya izolasyonu yapmıştır. İzole edilen maya türlerinden RB5 boyasını en iyi gideren türün *Issatchenkia orientalis* JKS6 suşu olduğu belirlenmiştir. Bu maya suşu 200 mg l^{-1} konsantrasyonda RB5 boyasını 150 rpm çalkalanma hızında 12-18 saat içinde % 90 gidermiştir. Çalkalanma olmayan durumda ise 12 saat inkübasyon sonrası daha az giderim (% 15.6) olduğu gözlenmiştir.

Lucas vd. (2006), zeytinyağı ekstraksiyon tesisinin zeytin yıkama atıksuyundan topladıkları örneklerden maya izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. M33 olarak kodlanan maya suşunun 100 mg l^{-1} konsantrasyonda RB5 içeren YM agar besiyerinde çoğalan kolonilerinin etrafında, maya biyokütlesinde görülebilir bir renk emilimi olmaksızın,

tam giderim zonunun oluştuğu görülmüştür. Yapılan genetik analizler sonucunda M33 olarak kodlanan mayanın *Candida oleophila* Montrocher olduğu belirlenmiştir.

5.2 Farklı Kimyasal Yapıya Sahip Boyaların Biyogiderim Oranlarının İncelenmesi

Deneyler için en uygun organizma olduğu belirlenen *K. marxianus* mayası, farklı kimyasal yapıdaki boyaların giderimi üzerindeki etkinliğinin araştırılması amacıyla beş farklı boya içeren besiyerlerine ekilmiştir. Yaklaşık 50 mg l^{-1} Reactive Black 5, Reactive Orange 14, Reactive Red 120, Remazol Brilliant Blue R ve Brilliant Blue R boyalarının bulunduğu besiyerlerinde üç ve beş günlük inkübasyon sonunda spektrofotometrik analiz yapılmış ve hesaplamalar sonucunda en yüksek boya gideriminin RB5 içeren besiyerinde olduğu görülmüştür. *K. marxianus* RB5 boyasını inkübasyonun üçüncü gününde % 80.8±0.5 ve beşinci gününde % 90.2±0 oranında gidermiştir.

5.3 Başlangıç pH Değerinin Biyogiderim ve Mikrobiyel Gelişime Etkisi

K. marxianus'un en iyi gelişim gösterdiği ve en iyi giderim yaptığı pH değerini belirlemek amacıyla, pH değerleri 3, 4, 5, 6 ve 7 olarak ayarlanmış ve yaklaşık 70 mg l^{-1} RB5 içeren besiyerlerine ekim yapılmıştır. Yapılan ölçümlerde inkübasyonun yedinci gününde en iyi biyogiderim oranı pH 6'da %98.7±0.01 olarak hesaplanmıştır. En az giderim oranı %88.7±0.03 değeriyle pH 3 değerinde görülmüştür. Yapılan ölçümlerde inkübasyonun yedinci gününde mikrobiyel gelişimin en iyi pH 6 değerinde 2.4±0.12 g l^{-1} olduğu görülmüştür. İnkübasyon süresi arttıkça maya gelişiminin de arttığı görülmüştür. Biyogiderim yüzdesiyle paralel olarak en az mikrobiyel gelişim değeri de 1.6±0.07 g l^{-1} olarak pH 3 değerinde gözlenmiştir.

Meehan vd. (2000) tarafından termotolerant *K. marxianus* IMB3 suşu ile yapılan boya giderim çalışmasında, optimum kültür koşulu olarak 37 ˚C sıcaklık ve pH 5 değeri seçilmiştir. Aynı çalışmada 3 ile 5.5 arasında değişen pH değerlerinde 25, 50, 100 ve 200 mg l^{-1} Remazol Black B boyasının % giderim oranları incelenmiş, 24 saat sonunda

farklı pH değerlerinin boya giderim oranları üzerine dikkate değer bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Meehan vd. (2000)' nin çalışmasına benzer şekilde tez çalışmasında da farklı pH değerlerinde biyogiderim yüzdelerinin birbirine yakın değerlerde olduğu görülmüştür. İnkübasyonun üçüncü gününde pH 6 değerinde % 94.4±0.02 giderim olurken, yedinci günde % 98.7±0.01 oranında giderim olmuştur. Diğer pH değerlerinde inkübasyon süresi arttıkça ilk ölçüm değerine göre daha düşük biyogiderim yüzdeleri olduğu görülmüştür. Bu durum pH 6 değerinin *K. marxianus* için en uygun ortam koşulu olduğunu göstermektedir.

Rech vd. (1999), 30 °C sıcaklık ve 200 devir/ dakika çalkalama hızı koşullarında 70 g l^{-1} peyniraltı suyu içeren ortamda *K. marxianus* CBS 712 ve CBS 6556 suşlarının en iyi gelişimlerinin, pH 5.5 değerinde olduğunu belirlemişlerdir.

Yang vd. (2005)'nin yılında, *Debaryomyces polymorphus* maya izolatı kullanarak yaptığı çalışmada, 200 mgl^{-1} Reactive Black 5 içeren, pH değerleri 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 olan besiyerlerinde boya giderim oranları araştırılmıştır. 48 saatlik inkübasyon sonucunda en iyi boya gideriminin % 98.6 ile pH 6 ve % 98.9 ile pH 7 değerlerinde olduğu görülmüştür.

Deivasigamani ve Das'ın 2011 yılında yaptığı çalışmada tekstil atıksuyundan izole edilen *Candida krusei* mayası kullanılarak pH' nın Basic Violet 3 boyasının giderimi üzerine etkisi incelenmiştir. 10 ppm Basic Violet 3 kullanılan çalışmada, pH değerleri 3, 5, 7 ve 9 olan ortamlarda en iyi giderimin, % 100 oranla pH 7 olan ortamda olduğu görülmüştür.

Tuza toleranslı bir maya türü olan *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF1 kullanarak Tan vd. (2016)' nin yaptığı çalışmada, farklı pH değerlerinde azo boyaların giderimi araştırılmıştır. pH 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 değerlerinin denendiği çalışmada en iyi boya gideriminin pH 5-6 değerlerinde olduğu bulunmuştur.

Aracagök ve Cihangir (2013) tarafından *Yarrowia lipolytica*'nın Reactive Black 5 boyasının giderimine pH'nın etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada pH 3, 4, 5, 6, 7, 8 ve 9 değerleri incelenmiştir. Maksimum boya gideriminin pH 6-7 değerlerinde olduğu belirlenmiştir.

Literatüre bakıldığında maya kullanılarak yapılan boya giderim çalışmalarında hem maya gelişimi hem de boya giderimi açısından en uygun pH değerlerinin yaklaşık 5 ile 7 arasında olduğu görülmektedir. Yapılan tez çalışmasında da literatürle uyumlu olarak pH 6 değerinin kullanılan *K. marxianus* mayasının gelişimi ve boya giderimi açısından en uygun değer olduğu belirlenmiştir.

Yapılan tez çalışmasında pH değerleri arasında gelişim ve giderim oanlarında yüksek bir farklılık olmadığı K.marxianus mayasının pH açısından da toleranslı olduğu görülmüştür.

5.4 Farklı NaCl Konsantrasyonunun Biyogiderim ve Mikrobiyel Gelişime Etkisi

K. marxianus' un gelişimi ve yaptığı biyogiderim faaliyetine farklı NaCl konsantrasyonlarının etkisini araştırmak amacıyla; pH 6 değerinde ve yaklaşık 70 mg l^{-1} konsantrasyonda RB5 bulunan ve sırasıyla % 4, % 6, % 8 ve % 10 (w/v) NaCl konsantrasyonu içeren besiyerleri hazırlanmış ve bu besiyerlerine *K marxianus* ekimi yapılmıştır. İnkübasyonun iki ile yedinci günleri arasında yapılan ölçümler sonucunda en iyi maya gelişiminin % 4 NaCl konsantrasyonu içeren besiyerlerinde olduğu görülmüştür. Daha yüksek tuz konsantrasyonlarında mikrobiyel gelişim değerlerinde azalma olmuştur. İnkübasyonun beşinci gününde % 4 NaCl konsantrasyonunda mikrobiyel gelişim 1.9±0.05 g l^{-1} iken, % 10 konsantrasyonda 0.64±0.02 g l^{-1} olduğu görülmüştür. Çalışmadaki en yüksek tuz konsantrasyonuna sahip olan % 10' luk besiyerinde dahi maya gelişiminin olması, çalışılan mikroorganizmanın tuza toleranslı olduğunu göstermektedir.

Çalışmada ayrıca *K. marxianus*' un farklı tuz konsantrasyonlarında RB5 boyasının giderimi üzerine etkisi incelenmiştir. En iyi boya gideriminin, maya gelişiminin en yoğun olduğu % 4 konsantrasyonda olduğu görülmüştür. Tuz konsantrasyonu arttıkça organizma tarafından ortamdan uzaklaştırılan boya miktarında azalma olmuş, biyogiderim azalmıştır. İnkübasyonun beşinci gününde % 4 NaCl içeren besiyerinde % 92.7±2.4 oranında giderim olurken, % 10 NaCl konsantrasyonda giderim % 31.6±1.5 oranına azalmıştır.

Literatüre bakıldığında Jafari vd. tarafından 2013' te yapılan çalışmada *Candida palmioleophila* JKS4 maya izolatı tanılanmış ve farklı azo boyaların giderimine bakılmıştır. Sıcaklık, glukoz miktarı ve NaCl gibi parametrelerin biyogiderim üzerine etkisi incelenmiştir. NaCl konsantrasyonlarının etkisini incelemek amacıyla % 0, % 3, % 5 ve % 10 NaCl konsantrasyonları denenmiştir. Bu tuz konsantrasyonlarında sırasıyla % 82.45, % 67.75, % 51.9 ve % 5.5 giderim görülmüştür.

Tan vd. 2016'da yaptığı çalışmada NaCl'nin biyogiderim ve maya gelişimine etkisi incelenmiştir. NaCl konsantrasyonlarının 0 ile150 g l^{-1} arasında değiştiği çalışmada kullanılan mayanın Acid Scarlet 3R boyasını % 97 den fazla oranda 20 g l^{-1} NaCl konsantrasyonunda giderdiği görülmüştür. 30 g l^{-1}' nin üzerindeki NaCl konsantrasyonlarında mikroorganizmanın bu tuzu tolere edebildiği fakat gelişiminin ve boya gideriminin azaldığı bildirilmiştir.

5.5 Artan Boya Konsantrasyonunun Biyogiderim, Mikrobiyel Gelişim ve Maksimum Spesifik Boya Alımına Etkisi

Boya konsantrasyonundaki artışın biyogiderim üzerine etkisini incelemek amacıyla başlangıç boya konsantrasyonu olarak 100, 173, 266 ve 390 mg l^{-1} RB5 içeren besiyerlerine % 5 inokülüm ekim yapılmıştır. İnkübasyonun ikinci ve yedinci günleri arasında yapılan ölçümlerde en yüksek boya giderim yüzdelerinin en düşük konsantrasyon olan 100 mg l^{-1} RB5 içeren besiyerinde olduğu görülmüştür. Daha yüksek RB5 konsantrasyonlarında biyogiderimde azalma olduğu görülmüştür. İnkübasyonun beşinci gününde 100 mg l^{-1} boya içeren besiyerinde % 65.5±0.5 oranında

biyogiderim olurken bu oran 390 mg l^{-1} boya konsantrasyonunda % 34.4±0 olarak hesaplanmıştır. İnkübasyon süresi arttıkça biyogiderim yüzdelerinde de genel bir artış olmuştur. 100 mg l^{-1} boya konsantrasyonunda ikinci gün % 56±1.2 oranında giderim olurken, yedinci günde % 70.0±0 giderim olduğu görülmüştür.

Yapılan tez çalışmasında aynı deneysel koşullarda farklı boya konsantrasyonlarının mikrobiyel gelişim değerleri üzerine etkisi incelenmiştir. Farklı başlangıç boya konsantrasyonlarına sahip besiyerlerinde *K. marxianus*'un gelişim değerlerinin birbirine benzer olduğu görülmüştür. İnkübasyonun beşinci gününde 100, 173, 266 ve 390 mg l^{-1} konsantrasyonlarda RB5 içeren besiyerlerinde mikrobiyel gelişim miktarları sırasıyla 1.8±0.07, 1.9±0.14, 1.7±0.2 ve 1.6±0.07 g l^{-1} olarak ölçülmüştür. İnkübasyon süresince de mikrobiyel gelişim değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmüştür.

Tez çalışmasında ayrıca başlangıç boya konsantrasyonundaki artışın mikroorganizmanın spesifik boya alımı üzerine etkisi incelenmiştir. İnkübasyonun yedinci gününde 100 mg l^{-1} boya konsantrasyonunda maksimum spesifik boya alımı 14.4±0.70 mg g^{-1} olarak hesaplanmıştır. Aynı günde 390 mg l^{-1} boya konsantrasyonunda maksimum spesifik boya alımı değeri 33.6±0.70 mg g^{-1} olarak bulunmuştur.

Song vd. (2017) yılında yaptıkları çalışmada, halotolerant bir maya türü olan *Pichia occidentalis* G1 suşunun bir azo boya olan Acid Red B'nin farklı konsantrasyonlarının giderimindeki etkisi araştırılmıştır. Başlangıç boya konsantrasyonu olarak 50, 100, 200, 400, 600, 800 ve 1000 mg l^{-1} konsantrasyonlarda Acid Red B denenmiştir. Optimum koşullarda *Picchia occidentalis* G1 suşu 50 mg l^{-1} boyayı % 98 oranında 16 saatte gidermiştir. Maksimum boya giderimi, 20-36 saat içerisinde 100-600 ppm arasında % 94'ün üzerinde yüzdelerle sağlanmıştır. Acid Red B konsantrasyonu arttıkça boya giderimi azalmış fakat 36 saatte 800 ppm boyayı % 77; 1000 ppm boyayı % 62 oranında giderdiği gözlenmiştir. Bu durum başlangıç boya konsantrasyonu arttıkça Acid Red B' nin gideriminin azaldığını, fakat *Picchia occidentalis* G1 suşunun yüksek boya konsantrasyonlarını tolere edebildiğini göstermektedir. Öte yandan boya konsantrasyonu arttıkça G1 suşunun büyüme hızının azaldığı gözlenmiştir. G1 suşunun

maksimum hücre konsantrasyonu 50 mg l^{-1} konsantrasyonda Acid Red B bulunan ortamda elde edilmiştir.

Tan vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, halotolerant bir maya türü olan *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF1 suşunun, Acid Scarlet 3R boyasının giderimi üzerine etkisi çalışılmıştır. Artan boya konsantrasyonun boya giderimine etkisi incelenmek üzere 20, 40, 60, 80, 100, 150 ve 200 mg l^{-1} Acid Scarlet 3R boya içeren besiyerlerine maya ekimi yapılmıştır. En iyi giderim 12 saat sonunda 20 mg l^{-1} Acid Scarlet 3R bulunan besiyerinde % 97 oranında gerçekleşmiştir. Ayrıca *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF1 suşu 16 saat inkübasyonda 40-80 mg l^{-1} boyayı % 90 oranında giderebilmiştirmiştir. Boya konsantrasyonundaki daha fazla artışın boya giderimini azalttığı, *Scheffersomyces spartinae* TLHS-SF1' nin 16 saatte 100 mg l^{-1} boyayı % 80 oranında giderdiği bildirilmiştir.

Mikrobiyel gelişime bakıldığında TLHS-SF1 suşunun büyüme artışının boya konsantrasyonu arttığında azaldığı gözlenmiştir. Hücre kütlesinin en çok 20 mg l^{-1} konsantrasyonda boya ortamında olduğu görülmüştür. Ayrıca ek denemelerle bu zincirin NaCl içermeyen ortamda 1500 mg l^{-1} konsantrasyonda boyayı ve 30 g l^{-1} NaCl içeren ortamda 500 mg l^{-1} konsantrasyonda boyayı tolere edebildiği ve gelişebildiği bildirilmiştir.

Aksu vd. (2003) yılında çeşitli maya türleri ile yapılan çalışmada *K. marxianus* 'un değişen C_0 değerlerinde q_m değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler: 91 mg l^{-1} Remazol Blue boyası varlığında 89 mg g^{-1};202 mg l^{-1} 'de 160 mg g^{-1} ve 298 mg l^{-1} boya konsantrasyonunda 161 mg g^{-1} şeklindedir.

Yapılan tez çalışmasında da boya konsantrasyonu arttıkça gram boya başına düşen kuru hücre miktarı artmıştır.

5.6 Artan İnokülüm Miktarının Biyogiderim, Mikrobiyel Gelişim ve Spesifik Boya Alımına Etkisi

Farklı inokülüm miktarlarının mikrobiyel gelişim üzerine etkisini incelemek için başlangıç boya konsantrasyonu olarak yaklaşık 100, 200, 300 ve 400 mg l^{-1} RB5 içeren besiyerlerine % 5 ve % 10 inokülüm ekim yapılmış ve inkübasyonun ikinci günündeki değerler karşılaştırılmıştır. Yüzde biyogiderim oranlarına bakıldığında % 10 inokülümde biyogiderimin bütün boya konsantrasyonlarında arttığı görülmüş, en büyük fark ise 100 mg l^{-1} RB5 konsantrasyonunda görülmüştür. İnkübasyonun ikinci gününde % 5 inokülümde % 56±1.2, % 10 inokülümde ise % 70±0.8 giderim görülmüştür.

İnkübasyonun ikinci gününde % 5 inokülümde yaklaşık 100 mg l^{-1} boya konsantrasyonunda 1.4±0.04, yaklaşık 400 mg l^{-1} konsantrasyonda 1.1±0.1 g l^{-1} gelişim gözlenmiştir. % 10 inokülümde ise 100 mg l^{-1} RB5 konsantrasyonunda 1.8±0.03, 400 mg l^{-1} de 1.4±0.01 g l^{-1} gelişim olduğu görülmüştür.

Çalışmada ayrıca farklı inokülüm miktarlarının spesifik boya alımına etkisi de araştırılmıştır. Farklı başlangıç boya konsantrasyonlarına sahip % 5 ve % 10 inokülüm ekim yapılan besiyerleri arasında spesifik boya alımındaki en belirgin farklılık 400 mg l^{-1} boya konsantrasyonlarında gözlenmiştir. Maksimum spesifik boya alımı % 5 inokülüm yapılan besiyerinde 16.3±0.77 mg g^{-1} iken, % 10 inokülümde 33.8±0.56 mg g^{-1} olarak hesaplanmıştır.

Tan vd. (2014) yılında yaptıkları çalışmada, *Magnusiomyces ingens* LH-F1 suşunun Acid Red B boyasını giderimi üzerine çeşitli parametrelerin etkilerini incelemişlerdir. Sabit büyüyen hücrelerle % 2, % 4, % 6, % 8 ve % 10 (v/v) inokülüm ekim yapılmış ve 12 saat içinde % 95 giderimin olması için en az % 6 inokülüm ekim yapılması gerektiği belirlenmiştir. Daha yüksek inokülüm konsantrasyonlarında hem boya gideriminde hem de hücrelerin büyüme hızında belirgin bir artış gözlenmemiştir.

Sonuç olarak *Kluyveromyces marxianus* mayasının Reactive Black 5 boyasını gidermede umut vaat edici olduğu görülmüştür. Genetik, moleküler çalışmalarla bu

mayanın giderimi artırılabilir. Bu tez çalışması Halotolerant mayalarla yapılmasından ötürü önem taşımaktadır. Tekstil atıksularının yoğun oranda tuz içermesi, çalışmanın maliyetsiz besiyeri olan melas artığı ile yapılması ayrıca önem arzetmektedir.Çalışılan mayanın yüksek tuza tolerans göstermesi değişen pH değerlerinden yüksek oranda etkilenmemesi dolayısıyla da dikkat çekmektedir.

KAYNAKLAR

Adnan, L.A., Sathishkumar, P., Yusoff, A.R.M. and Hadibarata, T. 2015. Metabolites characterisation of laccase mediated Reactive Black 5 biodegradation by fast growing ascomycete fungus Trichoderma atroviride F03. International Biodeterioration & Biodegradation, 104; 274-282.

Aksu, Z. and Dönmez, G. 2003. A comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye. Chemosphere, 50(8); 1075-1083.

Aksu, Z. and Dönmez, G. 2005. Combined effects of molasses sucrose and reactive dye on the growth and dye bioaccumulation properties of Candida tropicalis. Process Biochemistry, 40(7); 2443-2454.

Aracagök, Y.D. and Cihangir, N. 2013. Decolorization of reactive black 5 by Yarrowia lipolytica NBRC 1658. American Journal of Microbiological Research, 1; 16-20.

Asad, S., Amoozegar, M.A., Pourbabaee, A., Sarbolouki, M.N. and Dastgheib, S.M.M. 2007. Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. Bioresource technology, 98(11); 2082-2088.

Asghar, A., Raman, A.A.A. and Daud, W.M.A.W. 2015. Advanced oxidation processes for in-situ production of hydrogen peroxide/hydroxyl radical for textile wastewater treatment: a review. Journal of cleaner production, 87; 826-838.

Azhar, S.H.M., Abdulla, R., Jambo, S.A., Marbawi, H., Gansau, J.A., Faik, A.A.M. and Rodrigues, K. F. 2017. Yeasts in sustainable bioethanol production: A review. Biochemistry and biophysics reports, 10; 52-61.

Balapure, K., Bhatt, N. and Madamwar, D. 2015. Mineralization of Reactive Azo Dyes Present in Simulated Textile Waste Water Using down Flow Microaerophilic Fixed Film Bioreactor. Bioresource Technology, 175; 1–7.

Bankole, P.O., Adekunle, A.A., Obidi, O.F., Olukanni, O.D. and Govindwar, S.P. 2017. Degradation of indigo dye by a newly isolated yeast, Diutina rugosa from dye wastewater polluted soil. Journal of environmental chemical engineering, 5(5); 4639-4648.

Brüschweiler, B.J. and Merlot, C. 2017. Azo dyes in clothing textiles can be cleaved into a series of mutagenic aromatic amines which are not regulated yet. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 88; 214-226.

Burkinshaw, S.M. and Paraskevas, M. 2010. The dyeing of silk Part 1: Low temperature application of solubilised sulphur dyes using sodium thioglycolate. Dyes and pigments, 87(3); 225-233.

Bustard, M., McMullan, G. and McHale, A. P. 1998. Biosorption of textile dyes by biomass derived from Kluyveromyces marxianus IMB3. Bioprocess Engineering, 19(6); 427-430.

Castillo-Carvajal, L.C., Sanz-Martín, J.L. and Barragán-Huerta, B.E. 2014. Biodegradation of organic pollutants in saline wastewater by halophilic microorganisms: a review. Environmental Science and Pollution Research, 21(16); 9578-9588.

Cervantes, F.J., López-Vizcarra, M.I., Siqueiros, E. and Razo-Flores, E. 2008. Riboflavin prevents inhibitory effects during the reductive decolorisation of Reactive Orange 14 by methanogenic sludge. Journal of chemical technology and biotechnology, 83(12); 1703-1709.

Chaieb, K., Hagar, M., and Radwan N. R. E. 2016. Biodegradation and Decolorization of Azo Dyes by Adherent Staphylococcus Lentus Strain. Applied Biological Chemistry, 59(3); 405–13.

Chakraborty, J.N. and Jaruhar, P. 2014. Dyeing of cotton with sulphur dyes using alkaline catalase as reduction catalyst. Indian Journal of Fibre & Textile Research (IJFTR), 39(3); 303-309.

Chan, L.S., Cheung, W.H., Allen, S.J. and Mckay, G. 2017. Equilibrium adsorption isotherm study of binary basic dyes on to bamboo derived activated carbon. HKIE Transactions, 24(4); 182-192.

Cho, I.H. and Zoh, K.D. 2007. Photocatalytic degradation of azo dye (Reactive Red 120) in TiO_2/UV system: Optimization and modeling using a response surface methodology (RSM) based on the central composite design. Dyes and Pigments, 75(3); 533-543.

Dehghani, M.H., Mahdavi, P., Tyagi, I., Agarwal, S. and Kumar Gupta, V. 2016. Investigating the toxicity of acid dyes from textile effluent under UV/ZnO process using Daphnia magna. Desalination and Water Treatment, 57(51); 24359-24367.

Deivasigamani, C. and Das, N. 2011. Biodegradation of Basic Violet 3 by Candida krusei isolated from textile wastewater. Biodegradation, 22(6); 1169-1180.

Dwivedi, P., and Tomar, R. S. 2018. Bioremediation of textile effluent for degradation and decolourization of synthetic dyes: A review. International Journal of Current Research in Life Sciences, 7(04); 1948-1951.

El Bouraie, M. and El Din, W.S. 2016. Biodegradation of Reactive Black 5 by Aeromonas hydrophila strain isolated from dye-contaminated textile wastewater. Sustainable Environment Research, 26(5); 209-216.

Encinas-Yocupicio, A.A., Razo-Flores, E., Sanchez-Diaz, F., Dos Santos, A.B., Field, J.A. and Cervantes, F.J. 2006. Catalytic effects of different redox mediators on the

reductive decolorization of azo dyes. Water science and technology, 54(2); 165-170.

Feng, C., Fang-yan, C. and Yu-bin, T. 2014. Isolation, identification of a halotolerant acid red B degrading strain and its decolorization performance. Apcbee Procedia, 9; 131-139.

Ghaly, A.E., Ananthashankar, R., Alhattab, M.V.V.R., and Ramakrishnan, V.V. 2014. Production, characterization and treatment of textile effluents: a critical review. Journal of Chemical Engineering & Process Technology, 5(1); 1-18.

Gombert, A.K., Madeira, J.V., Cerdán, M. E. and González-Siso, M. I. 2016. Kluyveromyces marxianus as a host for heterologous protein synthesis. Applied microbiology and biotechnology, 100(14); 6193-6208.

Graziano, G. and Merlino, A. 2014. Molecular bases of protein halotolerance. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics, 1844(4); 850-858.

Gregory, P. 1990. Classification of dyes by chemical structure. In The Chemistry and Application of Dyes (pp. 17-47). Springer, Boston, MA.

Guimarães, J.R., Maniero, M. G. and de Araújo, R.N. 2012. A comparative study on the degradation of RB-19 dye in an aqueous medium by advanced oxidation processes. Journal of environmental management, 110; 33-39.

Guo, J., Zhou, J., Wang, D., Tian, C., Wang, P. and Uddin, M.S. 2008. A novel moderately halophilic bacterium for decolorizing azo dye under high salt condition. Biodegradation, 19(1); 15-19.

Gürses, A., Açıkyıldız, M., Güneş, K., and Gürses, M.S. 2016. Classification of dye and pigments. In Dyes and Pigments (pp. 31-45). Springer, Cham.

Hassaan, M.A., El Nemr, A. and Madkour, F. F. 2017. Testing the advanced oxidation processes on the degradation of Direct Blue 86 dye in wastewater. The Egyptian Journal of Aquatic Research, 43(1); 11-19.

He, X., Du, M., Li, H. and Zhou, T. 2016. Removal of direct dyes from aqueous solution by oxidized starch cross-linked chitosan/silica hybrid membrane. International journal of biological macromolecules, 82; 174-181.

Holkar, C.R., Jadhav, A.J., Pinjari, D.V., Mahamuni, N.M. and Pandit, A.B. 2016. A critical review on textile wastewater treatments: possible approaches. Journal of environmental management, 182; 351-366.

Hunger, K. 2005. Toxicology and toxicological testing of colorants. Coloration Technology, 35(1); 76-89.

Jafari, N., Kasra-Kermanshahi, R. and Soudi, M.R. 2013. Screening, identification and optimization of a yeast strain, Candida palmioleophila JKS4, capable of azo dye decolorization. Iranian Journal of Microbiology, 5(4); 434.

Jafari, N., Soudi, M.R. and Kasra-Kermanshahi, R. 2014. Biodecolorization of textile azo dyes by isolated yeast from activated sludge: Issatchenkia orientalis JKS6. Annals of microbiology, 64(2); 475-482.

Jegatheesan, V., Pramanik, B.K., Chen, J., Navaratna, D., Chang, C.Y., Shu, L. 2016. Treatment of Textile Wastewater with Membrane Bioreactor: A Critical Review. Bioresource Technology, 204; 202–212.

Kariyajjanavar, P., Narayana, J. and Nayaka, Y. A. 2013. Degradation of textile dye CI Vat Black 27 by electrochemical method by using carbon electrodes. Journal of Environmental Chemical Engineering, 1(4); 975-980.

Kim, D.H., Jeong, D., Kang, I.B., Kim, H. and Seo, K.H. 2018. Development of a rapid and reliable TaqMan probe-based real-time PCR assay for the detection and enumeration of the multifaceted yeast Kluyveromyces marxianus in dairy products. LWT-Food Science and Technology, 87; 163-168.

Kılıç, N. K., Duygu, E. and Dönmez, G. 2010. Triacontanol hormone stimulates population, growth and Brilliant Blue R dye removal by common duckweed from culture media. Journal of hazardous materials, 182(1-3); 525-530.

Kuleyin, A. and Aydin, F. 2011. Removal of reactive textile dyes (Remazol Brillant Blue R and Remazol Yellow) by surfactant-modified natural zeolite. Environmental Progress & Sustainable Energy, 30(2); 141-151.

Lewis, D. M. (2011). The chemistry of reactive dyes and their application processes. In Handbook of textile and industrial dyeing (pp. 303-364).

Li, Z., Cao, M., Zhang, W., Liu, L., Wang, J., Ge, W., Yuan, Y., Yue, T., Li, R. and Yu, W. W. 2014. Affinity Adsorption of Lysozyme with Reactive Red 120 Modified Magnetic Chitosan Microspheres. Food Chemistry, 145; 749–55.

Liang, C.Z., Sun, S.P., Li, F.Y., Ong, Y.K., and Chung, T. S. 2014. Treatment of highly concentrated wastewater containing multiple synthetic dyes by a combined process of coagulation/flocculation and nanofiltration. Journal of Membrane Science, 469; 306-315.

López-López, C., Martín-Pascual, J., Leyva-Díaz, J.C., Martínez-Toledo, M. V., Muñío, M. M. and Poyatos, J. M. 2016. Combined treatment of textile wastewater by coagulation–flocculation and advanced oxidation processes. Desalination and Water Treatment, 57(30); 13987-13994.

Lucas, M.S., Amaral, C., Sampaio, A., Peres, J.A. and Dias, A.A. 2006. Biodegradation of the diazo dye Reactive Black 5 by a wild isolate of Candida oleophila. Enzyme and Microbial Technology, 39(1); 51-55.

Manai, I., Miladi, B., El Mselmi, A., Smaali, I., Hassen, A.B., Hamdi, M. and Bouallagui, H. 2016. Industrial textile effluent decolourization in stirred and static batch cultures of a new fungal strain Chaetomium globosum IMA1 KJ472923. Journal of environmental management, 170; 8-14.

Martorell, M.M., Pajot, H.F. and de Figueroa, L. I. C. 2017. Biological Degradation of Reactive Black 5 Dye by Yeast Trichosporon Akiyoshidainum. Journal of Environmental Chemical Engineering, 5(6); 5987–93.

Meehan, C., Banat, I.M., McMullan, G., Nigam, P., Smyth, F. and Marchant, R. 2000. Decolorization of Remazol Black-B using a thermotolerant yeast, Kluyveromyces marxianus IMB3. Environment international, 26(1-2); 75-79.

Mook, W.T., Ajeel, M.A., Aroua, M.K. and Szlachta, M. 2017. The application of iron mesh double layer as anode for the electrochemical treatment of Reactive Black 5 dye. Journal of Environmental Sciences, 54; 184-195.

Morin, J.F. 2017. Recent Advances in Vat Dyes Chemistry for Organic Electronics. Journal of Materials Chemistry C, 5; 12298-12307

Mukimin, A., Vistanty, H. and Zen, N. 2015. Oxidation of textile wastewater using cylinder Ti/β-PbO2 electrode in electrocatalytic tube reactor. Chemical engineering journal, 259; 430-437.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=61365, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/61365 (accessed June 17, 2018).

Ngulube, T., Gumbo, J. R., Masindi, V. and Maity, A. 2017. An update on synthetic dyes adsorption onto clay based minerals: A state-of-art review. Journal of environmental management, 191; 35-57.

Nguyen, T. A., Fu, C. C. and Juang, R. S. 2016. Biosorption and biodegradation of a sulfur dye in high-strength dyeing wastewater by Acidithiobacillus thiooxidans. Journal of environmental management, 182; 265-271.

Ogugbue, C. J., Sawidis, T. and Oranusi, N.A. 2011. Evaluation of Colour Removal in Synthetic Saline Wastewater Containing Azo Dyes Using an Immobilized Halotolerant Cell System. Ecological Engineering, 37(12); 2056–60.

Ortiz-Monsalve, S., Dornelles, J., Poll, E., Ramirez-Castrillón, M., Valente, P. and Gutterres, M. 2017. Biodecolourisation and biodegradation of leather dyes by a native isolate of Trametes villosa. Process Safety and Environmental Protection, 109; 437-451.

Paul, J., Kumar, V. and Varshney, L. 2014. Development of a Reactive Red 120 dye based task-specific gamma radiation dosimeter. Radiation Physics and Chemistry, 96; 195-200.

Paul, J., Rawat, K.P., Sarma, K.S.S. and Sabharwal, S. 2011. Decoloration and degradation of Reactive Red-120 dye by electron beam irradiation in aqueous solution. Applied Radiation and Isotopes, 69(7); 982-987.

Paz, A., Carballo, J., Pérez, M. J. and Domínguez, J. M. 2017. Biological Treatment of Model Dyes and Textile Wastewaters. Chemosphere, 181; 168–77.

Paździor, K., Wrębiak, J., Klepacz-Smółka, A., Gmurek, M., Bilińska, L., Kos, L., Sójka-Ledakowicz, J. and Ledakowicz, S. 2017. Influence of Ozonation and Biodegradation on Toxicity of Industrial Textile Wastewater. Journal of Environmental Management, 195; 166–73.

Prakash, A.J., Aravindhan, R., Fathima, N.N. and Rao, J.R. 2016. Dyeing of Chamois Leather using Water Soluble Sulphur Dyes. Optimize wetblue consistency. Maximize process efficiency. 383.

Prasad, A.A., Satyanarayana, V.S.V. and Rao, K.B. 2013. Biotransformation of Direct Blue 1 by a moderately halophilic bacterium Marinobacter sp. strain HBRA and toxicity assessment of degraded metabolites. Journal of hazardous materials, 262; 674-684.

Puchalska, M., Połeć-Pawlak, K., Zadrożna, I., Hryszko, H. and Jarosz, M. 2004. Identification of indigoid dyes in natural organic pigments used in historical art objects by high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. Journal of mass spectrometry, 39(12); 1441-1449.

Rajabi, A.A., Yamini, Y., Faraji, M. and Nourmohammadian, F. 2016. Modified magnetite nanoparticles with cetyltrimethylammonium bromide as superior adsorbent for rapid removal of the disperse dyes from wastewater of textile companies. Nanochemistry Research, 1(1); 49-56.

Ramezani, A.M., Yousefinejad, S., Nazifi, M. and Absalan, G. 2017. Response surface approach for isocratic separation of some natural anthraquinone dyes by micellar liquid chromatography. Journal of Molecular Liquids, 242; 1058-1065.

Rayaroth, M. P., Aravind, U. K. and Aravindakumar, C. T. 2015. Sonochemical degradation of Coomassie Brilliant Blue: Effect of frequency, power density, pH and various additives. Chemosphere, 119; 848-855.

Rech, R., Cassini, C.F., Secchi, A. and Ayub, M.A.Z. 1999. Utilization of protein-hydrolyzed cheese whey for production of β-galactosidase by Kluyveromyces marxianus. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 23(2); 91-96.

Ren, Z.Y., Liu, G.L., Chi, Z., Han, Y.Z., Hu, Z. and Chi, Z.M. 2017. Overexpression of both the lactase gene and its transcriptional activator gene greatly enhances lactase production by Kluyveromyces marxianus. Process Biochemistry, 61; 38-46.

Salas-Veizaga, D.M., Morales-Belpaire, I. and Terrazas-Siles, E. 2013. Evaluation of the genotoxic potential of reactive black 5 solutions subjected to decolorizing treatments by three fungal strains. Ecotoxicology and environmental safety, 89; 125-129.

Sarayu, K. and Sandhya, S. 2012. Current technologies for biological treatment of textile wastewater–a review. Applied biochemistry and biotechnology, 167(3); 645-661.

Sarıoğlu, O. F., San Keskin, N. O., Celebioglu, A., Tekinay, T. and Uyar, T. 2017. Bacteria immobilized electrospun polycaprolactone and polylactic acid fibrous webs for remediation of textile dyes in water. Chemosphere, 184; 393-399.

Sen, S.K., Raut, S., Bandyopadhyay, P. and Raut, S. 2016. Fungal decolouration and degradation of azo dyes: a review. Fungal Biology Reviews, 30(3); 112-133.

Shahid, M. and Mohammad, F. 2013. Recent advancements in natural dye applications: a review. Journal of Cleaner Production, 53; 310-331.

Shertate, R.S. and Thorat, P. 2014. Biotransformation of textile dyes: a bioremedial aspect of marine environment. American Journal of Environmental Sciences, 10(5); 489.

Shurson, G.C. 2018. Yeast and Yeast Derivatives in Feed Additives and Ingredients: Sources, Characteristics, Animal Responses, and Quantification Methods. Animal Feed Science and Technology, 235; 60–76.

Singh, R.L., Singh, P.K. and Singh, R.P. 2015. Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes–A review. International Biodeterioration & Biodegradation, 104; 21-31.

Song, L., Shao, Y., Ning, S. and Tan, L. 2017. Performance of a newly isolated salt-tolerant yeast strain Pichia occidentalis G1 for degrading and detoxifying azo dyes. Bioresource technology, 233; 21-29.

Spohner, S. C., Schaum, V., Quitmann, H. and Czermak, P. 2016. Kluyveromyces lactis: an emerging tool in biotechnology. Journal of biotechnology, 222; 104-116.

Sudha, M., Saranya, A., Selvakumar, G. and Sivakumar, N. 2014. Microbial degradation of Azo Dyes: A review. International Journal of Current Microbiology and Applied Science, 3(2); 670-690.

Sun, W., Zhang, C., Chen, J., Zhang, B., Zhang, H., Zhang, Y. and Chen, L. 2017. Accelerating biodegradation of a monoazo dye Acid Orange 7 by using its endogenous electron donors. Journal of hazardous materials, 324; 739-743.

Suwannaruang, T., Rivera, K.K.P., Neramittagapong, A. and Wantala, K. 2015. Effects of hydrothermal temperature and time on uncalcined TiO_2 synthesis for reactive red 120 photocatalytic degradation. Surface and Coatings Technology, 271; 192-200.

Tan, L., Li, H., Ning, S., and Xu, B. 2014. Aerobic decolorization and degradation of azo dyes by suspended growing cells and immobilized cells of a newly isolated yeast Magnusiomyces ingens LH-F1. Bioresource technology, 158, 321-328.

Tan, K.B., Vakili, M., Horri, B.A., Poh, P.E., Abdullah, A.Z. and Salamatinia, B. 2015. Adsorption of dyes by nanomaterials: recent developments and adsorption mechanisms. Separation and Purification Technology, 150, 229-242.

Tan, L., He, M., Song, L., Fu, X. and Shi, S. 2016. Aerobic decolorization, degradation and detoxification of azo dyes by a newly isolated salt-tolerant yeast Scheffersomyces spartinae TLHS-SF1. Bioresource technology, 203; 287-294.

Tehrani-Bagha, A.R., Mahmoodi, N.M. and Menger, F.M. 2010. Degradation of a persistent organic dye from colored textile wastewater by ozonation. Desalination, 260(1-3); 34-38.

Turcanu, A. and Bechtold, T. 2017. Cathodic decolourisation of reactive dyes in model effluents released from textile dyeing. Journal of cleaner production, 142; 1397-1405.

Verma, A.K., Dash, R.R. and Bhunia, P. 2012. A review on chemical coagulation/flocculation technologies for removal of colour from textile wastewaters. Journal of environmental management, 93(1); 154-168.

Yagub, M.T., Sen, T.K., Afroze, S. and Ang, H. M. 2014. Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: a review. Advances in colloid and interface science, 209; 172-184.

Yan, L.G., Qin, L.L., Yu, H.Q., Li, S., Shan, R.R. and Du, B. 2015. Adsorption of acid dyes from aqueous solution by CTMAB modified bentonite: kinetic and isotherm modeling. Journal of Molecular Liquids, 211; 1074-1081.

Yang, M. and Zheng, S. 2014. Pollutant removal-oriented yeast biomass production from high-organic-strength industrial wastewater: A review. biomass and bioenergy, 64; 356-362.

Yang, Q., Yediler, A., Yang, M. and Kettrup, A. 2005. Decolorization of an azo dye, Reactive Black 5 and MnP production by yeast isolate: Debaryomyces polymorphus. Biochemical engineering journal, 24(3); 249-253.

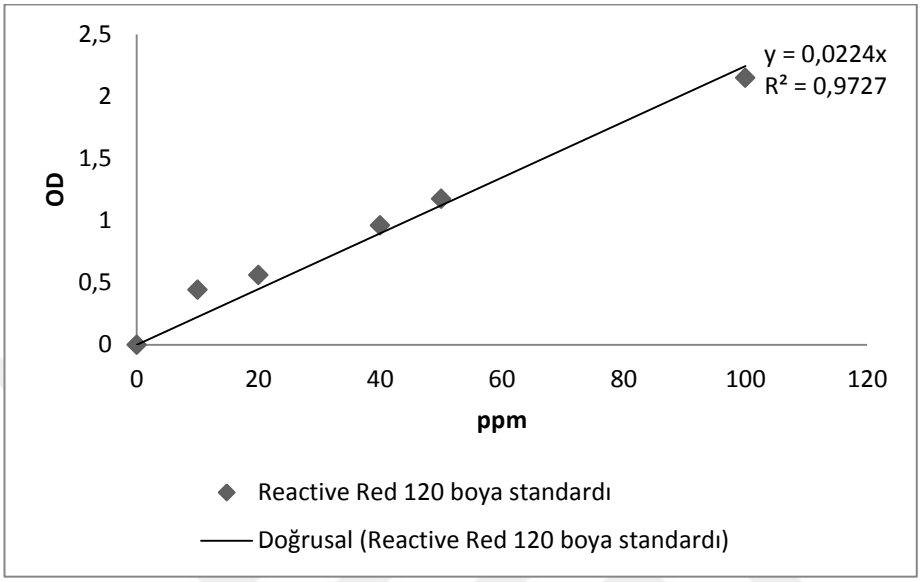
Yang, Q., Zhang, H., Li, X., Wang, Z., Xu, Y., Ren, S., Chen, X., Xu, Y., Hao, H. and Wang, H. 2013. Extracellular enzyme production and phylogenetic distribution of yeasts in wastewater treatment systems. Bioresource technology, 129; 264-273.

Yin, J., Chen, J.C., Wu, Q. and Chen, G.Q. 2015. Halophiles, coming stars for industrial biotechnology. Biotechnology advances, 33(7); 1433-1442.

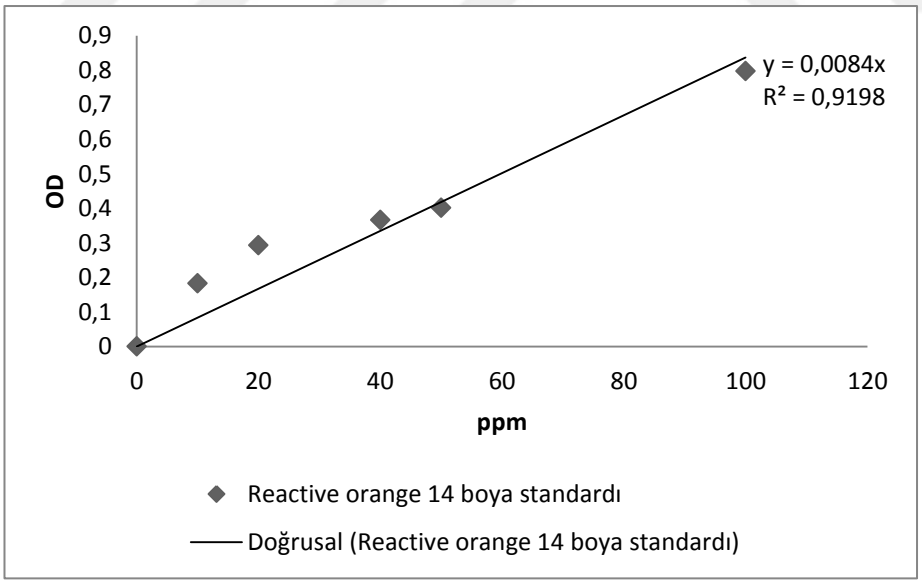
Zocolo, G.J., Pilon dos Santos, G., Vendemiatti, J., Vacchi, F.I., Umbuzeiro, G.D.A., and Zanoni, M.V.B. 2015. Using SPE-LC-ESI-MS/MS analysis to assess disperse dyes in environmental water samples. Journal of chromatographic science, 53(8); 1257-1264.

EK 1 Çalışmada Kullanılan Boyaların Standart Eğrileri

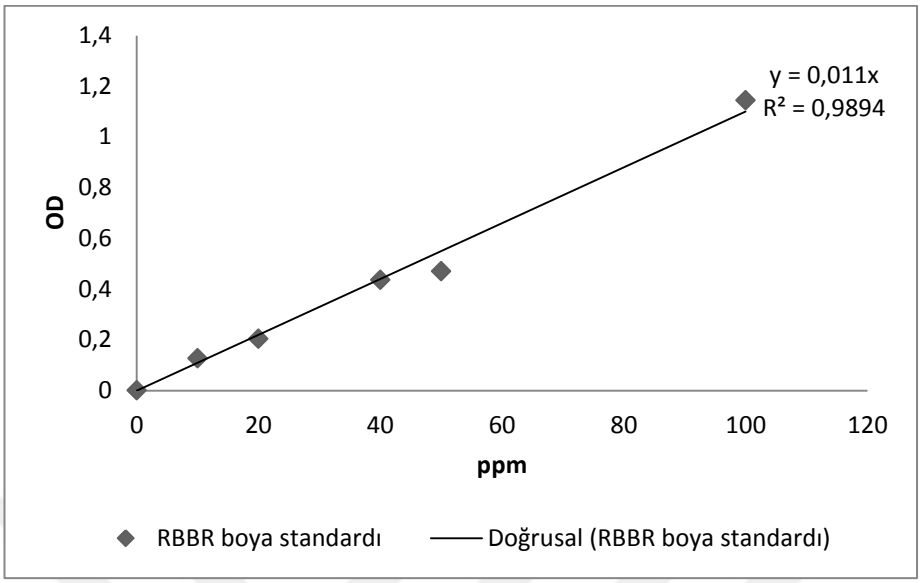
Reactive Red 120 boya standardı



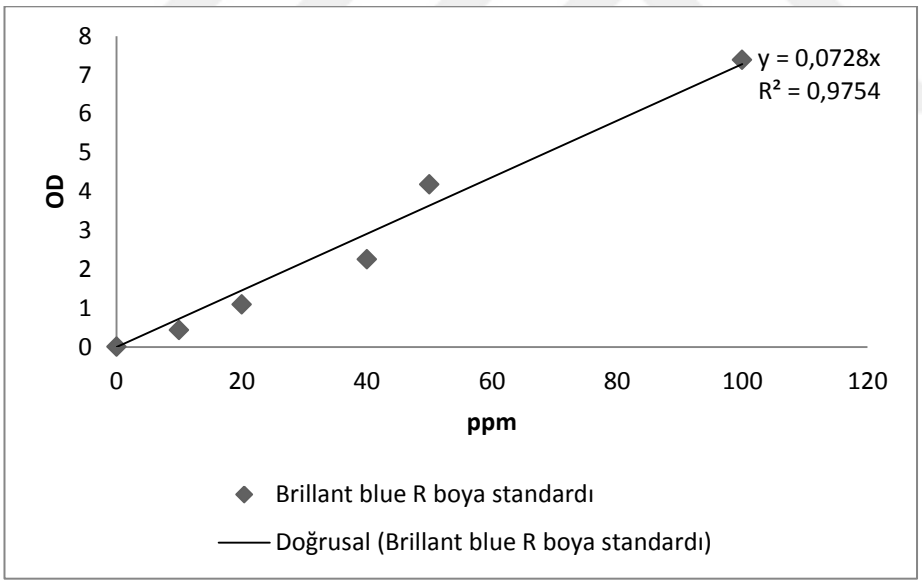
Reactive Orange 14 boya standardı



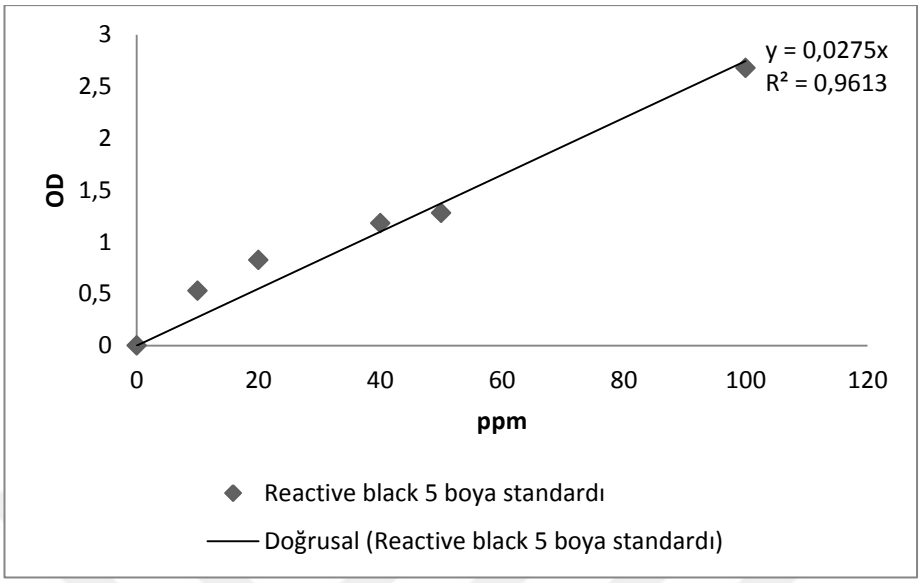
RBBR boya standardı



Brilliant Blue R boya standardı



Reactive Black 5 boya standardı



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Banu Şeyma CEYHUN

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 09. 05. 1990

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Mehmetçik Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi (2008)

Lisans : Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2013)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (Eylül 2018)