



**Uşak Üniversitesi Fen ve Doğa
Bilimleri Dergisi**
Usak University Journal of Science and Natural Sciences

<http://dergipark.gov.tr/usufedbid>



Araştırma makalesi

**Bacillus subtilis SA2 İzolatı ile CI Acid Blue 193 ve CI 15707 Acid
Red 88 Dekolorizasyonu**

Kübra Çitekci¹, Safiye Elif Korcan^{2*}, Tuğba Kahraman¹

- ¹ Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik, Uşak Üniversitesi, Türkiye
² Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Tıbbi Laboratuvar Teknikleri, Uşak Üniversitesi, Türkiye

Geliş: 7 Ocak 2020 Kabul: 13 Mart 2020 / Received: 7 January 2020 Accepted: 13 March 2020

Abstract

Azo dyes account for the majority of all coloring matter , produced because they are used in the textile, paper, food, leather, cosmetics and pharmaceutical industries. Current effluent remedy procedures are unable to remove recalcitrant azo dyes completely from effluents because of their color fastness, stability and resistance to degradation. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes under certain environmental conditions has gained momentum as a method of treatment, as these are inexpensive, eco-friendly and can be applied to wide range of such dyes.

In this study, A novel bacterial strain SA2, capable of decolorizing textile dyes was isolated from textile waste water sludge in Usak Organized Industry. Phenotypic characterization and phylogenetic analysis based on 16S rDNA sequence comparisons indicate that this strain belonged to the *Bacillus subtilis* SA2 was capable of decolorizing CI Acid Blue 193 CI 15707 and CI Acid Red 88 CI 15620 dyes tested Maximum extent as well as rate of CI Acid Red 88 CI 15620 decolorization was observed 51.61% at 120s. According to the results of FT-IR spectrometry in dye adsorption, it was determined that the retention regions of bacteria were probably amide groups=C, C=N, N=N aromatic and aliphatic (1680, 1520, 1490cm⁻¹) and C-O (1370-1280-1080).

Keywords: Azo dyes, decolorization, *Bacillus subtilis*, 16SrDNA, FTIR.

Özet

Azo boya ları, tekstil, kağıt, gıda, deri, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde kullanıldığı için üretilen tüm renklendirme maddelerinin çoğunu oluşturur. Mevcut atık su temizleme prosedürleri, renk dayanıklılığı, stabilite leri ve bozulmaya karşı dirençleri nedeniyle, inatçı azo boya larını atık sulardan tamamen çıkaramaz. Azo boya ların bel irli çevresel koşullar altında bakteriyel renklendirilmesi ve bozunması, bir tedavi yöntemi olarak ivme kazanmıştır, çünkü bunlar ucuz, çevre dostudur ve bu tür boya ların geniş bir yelpazesine uygulanabilir.

Bu çalışmada, tekstil boya larını renklendirebilen yeni bir bakteri suşu SA2, Uşak Organize Sanayi'deki tekstil atık su çamurundan izole edildi. Fenotipik ve fizyolojik analizlere dayanarak 16S rDNA sekanlarına göre bu İzolatlar *Bacillus subtilis* olarak saptanmıştır. *Bacillus subtilis* SA2, test edilen CI Asit Mavisi 193 CI 15707 ve CI Asit Kırmızı 88 CI 15620 boya ları renklendirme kapasitesine sahipti. Boya adsorpsiyonunda FT-IR spektrometresi sonuçlarına göre, bakterilerin tutulma bölgelerinin muhtemelen C=C, C=N, N=N

*Corresponding author:

E-mail: elif.korcan@usak.edu.tr

aromatik ve alifatik (1680, 1520, 1490cm⁻¹) ve C-O (1370-1280-1080) grupları olduğu saptanmıştır olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Azo boyalar, renk giderimi, *Bacillus subtilis*, 16SrDNA, FTIR.

©2020 Usak University all rights reserved.

1. Giriş

Tekstil, ilaç, kozmetik, kâğıt ve gıda endüstrileri, boya ları yaygın olarak kullanılmaktadır [1-3]. Genellikle bu boya lar, karmaşık aromatik moleküler yapılar a sahip oldukları için biyo-bozunmaya karşı daha kararlıdır [4,5]. Tekstil endüstrisinde yaklaşık 10.000 farklı boya ve pigment kullanılmaktadır ve dünya çapında yılda 7 × 10⁵ tondan fazla üretilmektedir [6]. 21. Yüzyılda hızla artan sanayileşme boyarmadde kullanımında artmaktadır [7]. Azo boya lar toksik, kanserojen ve mutajenik boya lar olup atık su deşarjları ile su ortamına zarar vermektedirler. Başka bir deyişle boya lar bazı sucul yaşam için toksik olabilir ve azaltılmış ışık penetrasyonu nedeniyle sudaki fototroflarda fotosentetik aktiviteyi önemli ölçüde etkileyebilir [3,7].

Boyanın atık sudan uzaklaştırılması için adsorpsiyon, pıhtılaşıma-flokülasyon, oksidasyon ve elektrokimyasal yöntemler gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılabilir. Ancak bu yöntemlerin yüksek enerji maliyetleri, yüksek çamur üretimi ve yan ürünlerin oluşumu açısından birçok dezavantajı vardır. Buna karşılık, maliyeti düşük ve çevre dostu olmaları nedeniyle, biyolojik işlemler bu dezavantajların üstesinden gelebilir [3,8].

Son yıllarda indigo karmin boyasının dekolorizasyonunda *Streptomyces coelicolor* [8,9], Kongo kırmızısının *Bacillus* sp [10,11], Reaktif Siyah5'in *Shewanella oneidensis* WL-7 [10,12] ve Reaktif Mavi *Pseudomonas* sp. [10,13] kullanılabileceğine dair araştırmalar yapılmıştır.

Bu çalışmanın amacı, tekstil boya endüstrilerinin nihai atık sularında bulunan CI Acid Blue 193 CI 15707 ve CI Acid Red 88 CI 15620 azo boya larının dekolorizasyonunda *Bacillus subtilis* SA2 dekolorizasyon potansiyelini incelemektir.

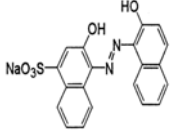
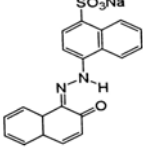
2. Materyal ve Metot

Dekolorizasyon deneylerinde kullanılan CI Acid Blue 193 CI 15707 ve CI Acid Red 88 CI 15620 azo boya ları Uşak ili tekstil fabrikalarından temin edilmiştir (Tablo 1).

2.1. *Bacillus* sp. İzolatlarının Morfolojik, Fiziksel ve Biyokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Uşak Organize sanayi bölgesinde tekstil atık su çamurundan toplanan örnekler (10⁻¹- 10⁻⁵) dilüe edildikten sonra 65± de 45 dakika su banyosunda tutulduktan sonra *Bacillus* izolasyonu yapılmıştır [14]. Morfolojik özelliklerini tanımlamak için gram boyamaları yapılarak gram özelliklerini ve izole edilen suşun Gram boyama preparatlarında, mikroskopik morfolojileri ve spor oluşturup oluşturmadıkları saptanmıştır. İzolatların farklı sıcaklık (18, 23, 37, 40 °C), pH (4, 7, 10) ve % 6,5 sodyum klorür (NaCl) ortamda üremeleri değerlendirilmiştir. Ayrıca Nişasta Hidrolizi, Voges-Proskauer Testi, Katalaz ve Sitrat testleri yapılmıştır.

Tablo 1. Dekolorizasyon deneylerinde kullanılan CI Acid Blue 193 CI 15707 ve CI Acid Red 88 CI 15620 azoboyaları

Adı	Moleküler Yapı	Açık Formül	Kapalı Formül	Moleküler Ağırlık
CI Acid Blue 193, CI15707	Tek azo, metal kompleksleri		C ₂₀ H ₁₃ N ₂ NaO ₅ S	416.38
CI Acid Red 88, CI15620	Tek azo sınıfı		C ₂₀ H ₁₃ N ₂ NaO ₄ S	400.38

2.2. Moleküler İdentifikasyon

DNA İzolasyonunda High Pure PCR Template Preparation Roche kiti kullanılmıştır. Elde edilen genomik DNA'ların agaroz jel elektroforezinde, saflık kontrolleri Spektrofotometrik olarak (ThermoScientifik-Nanodrop 2000c) saptanmıştır.

16S rRNA gen fragmentinin amplifikasyon ve amplifikasyonunda Taq DNA Polimeraz Kiti (HelixAmp™) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. PZR bileşenleri ve miktarları 1 µl primerler [27F (5' AGA GTT TGA TCA TGG CTC AG-3') ve 1492R (5' GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3')] dizilimi primer kullanılmıştır.], 5 µl Kalıp DNA, 5X Tune UP Buffer 10 µl, dNTP 1 µl, 10X Taq buffer 5 µl, 1,25 unite Taq Polimeraz enzimi olacak şekilde reaksiyonlar 50 µl hacime tamamlanmıştır. PCR reaksiyon koşulları, İlk denatürasyon 95 °C'de 2 dk 1 döngü ve 95 °C 20sn, 55 °C'de 40 sn 35 döngü 72 °C'de 90sn ile 72 °C'de 5 dk 1 döngü son uzama basamağı ile gerçekleşmiştir

2.3. Katı Besiyerinde Dekolorizasyonun Tespiti

Boyar madde içeren besiyerine (nişasta 10 g/L, Nutrient brouth (NB) 8 g/L, agar 20 g/L, boyar madde 0,15 g/L, pH 7) izolatların ekimi yapılarak 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Besiyerinde oluşan kolonilerin etrafında renk açılması ve bakteri koloni renginin boyar madde rengini almasına bakılarak değerlendirilmesi yapılmıştır [15].

2.4. Dekolorizasyon Deneyi

1ml (0.5 McFarland (1.5 10⁸ hücre / mL)) bakteri izolatın 90 ml Luria bertani (LB) brouth (Tryptone 5 g, Yeast extract 10 g, NaCl 10 g ve distile su 1 L, boyar madde 0,15g) besiyeri içerisine inoküle edildikten sonra ve 37 °C'de 7 gün boyunca çalkalamalı etüvde 160 rpm'de inkübe edilmiştir. Belli aralıklarla alınan örnekler santrifüj edildikten sonra süpernantların, spektrofotometrede maksimum absorbans değerinde okunmuştur. Dekolorizasyon yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Dekolorizasyon yüzdesi } \% = (A_0 - A) / A_0 \times 100$$

A₀ = Başlangıçtaki absorbans

A = Dekolorizasyondan sonrası absorbans [16]

2.5. FTIR (Fourier Transform Infrared Spektrometre) ile Renk Giderimi Analizi

Mikrobiyal biyokütle, oda sıcaklığında vakumla buharlaştırıcı ile kurutuldu. Yarı saydam bir örnek disk hazırlamak için 100 mg KBr içinde yaklaşık 1 mg biyokütle kapsüllenmiş ve Fourier Transform Infrared spektroskopisi (Perkin Elmer Spektrum 100) ile analiz edilmiştir.

3. Bulgular

3.1. İzolat SA2 Morfolojik, Fizyolojik Ve Biyokimyasal Karakterleri

İzolat SA2 gram pozitif (Gr +) basil olarak gözlenmiştir. İzolatların Nutrient Agar besiyerinde koloni rengi krem renk olarak belirlenmiştir. İzolat SA2 pH 4-10 ve 18-40 °C arasındaki sıcaklık ve pH değerlerinde çok iyi geliştiği, karbon kaynağı olarak glikoz, früktoz ve Arabinoz'u kullanabildiği görülmüştür. Sitrat testi (-) Katalaz, ,VP, NaCl besiyerinde üreme ve nişasta hidrolizi testleri (+) bulunmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. İzolat SA2'nin Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal özellikleri

Gram Boyama Mikroskopik morfoloji Spor Koloni rengi	Gr(+) Basil Subterminal Krem	
pH	4	+
	7	+
	10	+
Sıcaklıkta (°C)	18	+
	23	+
	37	+
	40	+
Şeker testleri	Glikoz	+
	Fruktoz	+
	Arabinoz	+
	Sukroz	+
Biyokimyasal testler	Katalaz	+
	Sitrat	-
	VP	+
	NaCl	+
	Nişasta hidrolizi	+

3.2. *Bacillus subtilis* İzolatlarının Moleküler İdentifikasyonu

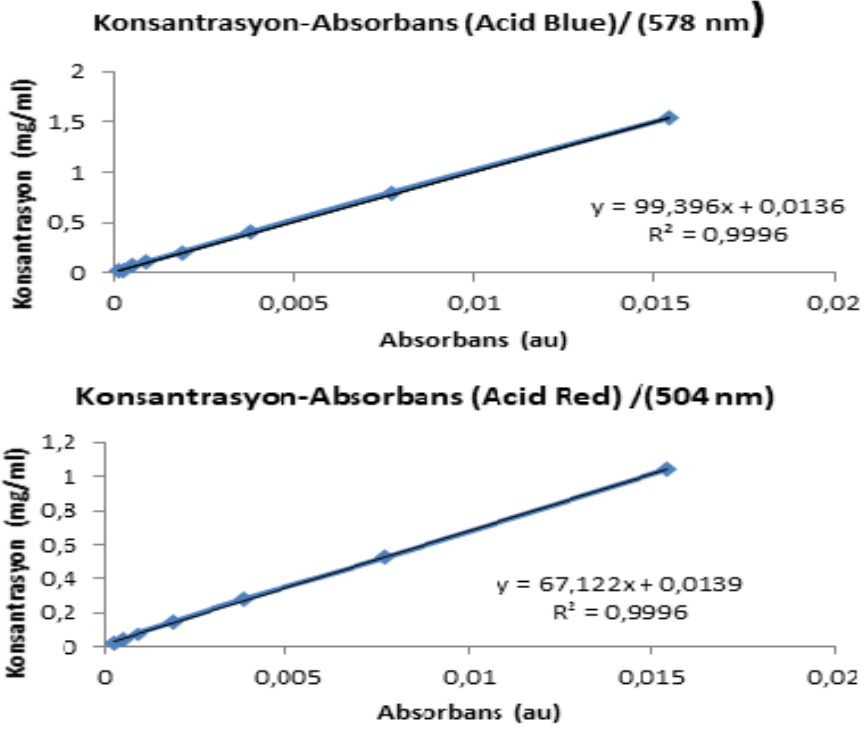
Saflaştırılan PCR ürününden 2 µl DNA solüsyonu, 1 µl yükleme boya solüsyonu ve 3 µl su ile karıştırılarak %1'lik agaroz jele yüklendikten sonra UVP Biospectrum cihazı kullanılarak görüntülenmiştir 16S rRNA gen fragmentinin amplifikasyonundan sonra elde edilen diziler ve BLAST analizi sonucu izolat SA2 *Bacillus subtilis* %99 olarak belirlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. İzolat SA2'nin Blast sonucu

İzolatlar No	Dizinin uzunluğu	Eşleşen baz sayısı	Gen bankasındaki en yakın karşılığı
SA 2	1879	1030/1032	% 99 <i>Bacillus subtilis</i>

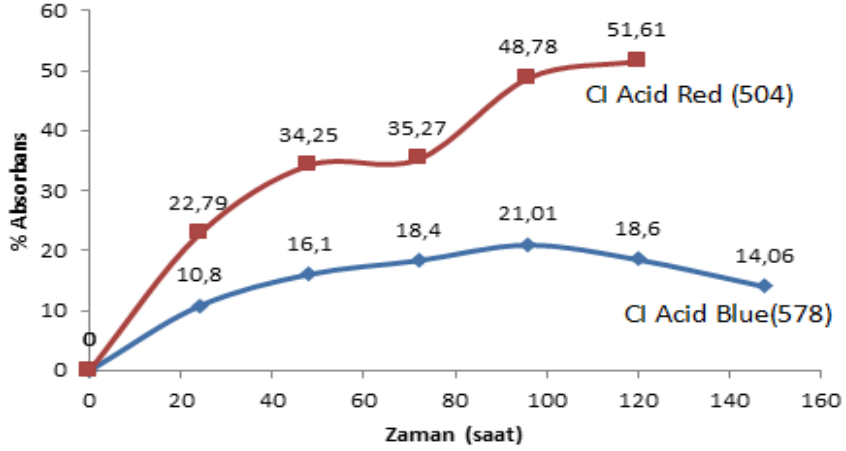
3.3. LB Besiyerinde Dekolorizasyon Deneyi

CI Acid Blue 193 boyasının UV spektrofotometrede vermiş olduğu pik değeri 578 nm, CI Acid Red 88 boyasının UV spektrofotometrede vermiş olduğu pik değeri 504 nm olarak belirlenerek standart eğri oluşturmak için farklı boya konsantrasyonlarında ölçümler yapılmıştır (Şekil 1). % dekolorizasyon çalışma sonuçları bu eğrilerden elde edilen denklemler kullanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 1: CI Acid Red193 ve CI Acid Red 88 standart eğrisi

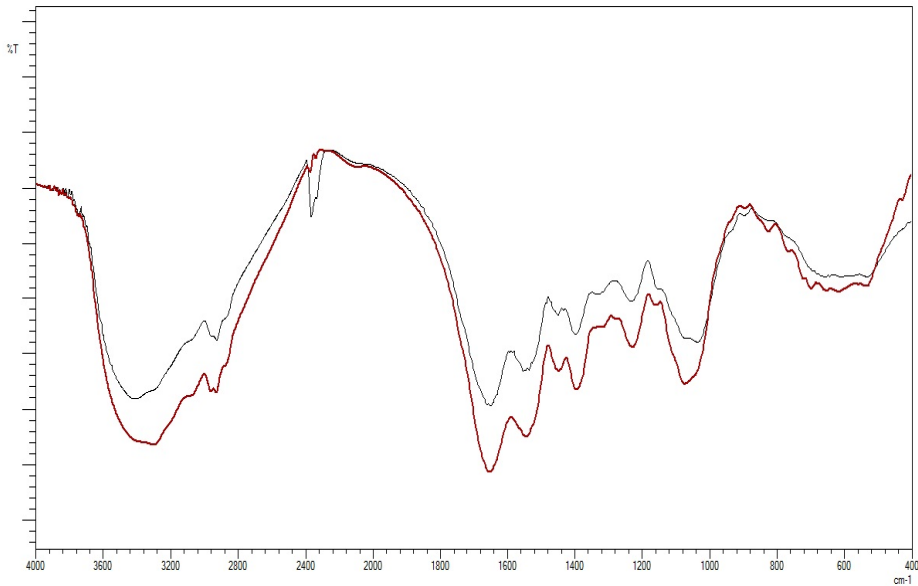
SA2 izolatu CI Acid Blue 193 CI15707 (578nm) boyasının 37 °C'de zamana bağlı olarak dekolorizasyon yüzdelerinin sonucunda % absorbans değeri 96. saatte saat %21'e yükseldiği görülmüştür. 120. Saatte absorbans değeri %18.6'ya 144. Saatte ise % absorbans 14.06'ya düşmüştür.



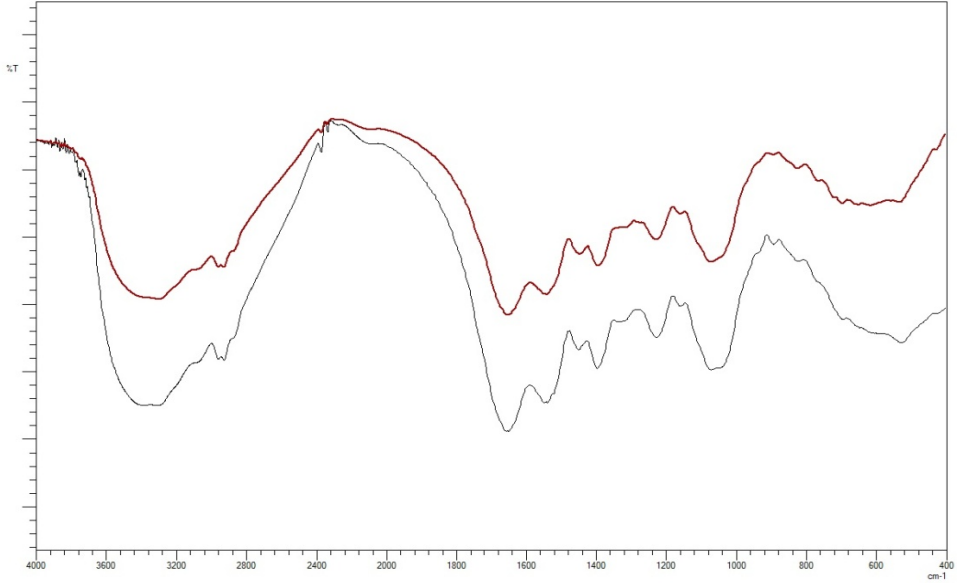
Şekil 2: SA2 izolatının (*Bacillus subtilis*) CI Acid Blue(578) ve CI Acid Red (504) boyasının statik koşullarda (37 °C) zamana bağlı absorbans yüzdesi

SA2 izolatının CI Acid Red 88 (504nm) boyasının 37 °C'de zamana bağlı olarak dekolorizasyon yüzdelerinin sonucunda % absorbans değeri 120. Satte %51.61 olarak bulunmuş olup bu süre sonunda yapılan diğer ölçümlerde herhangi bir değişikliğe raslanmamıştır. Dekolorizasyon çalışmasında kullanılan SA2 izolatının ve CI Acid Blue boyasının (578nm) ve CI Acid Red 88 boyasının (504nm) durgun koşullarda (37 °C) zamana bağlı dekolorizasyon yüzdesi Şekil 2'de verilmiştir.

SA2 izolatının CI Acid Red FTIR analizi Şekil 3'te, CI Acid Blue FTIR analizi Şekil 4'te, verilmiştir. SA2 izolatının CI Acid Red boya ortamında üretildiğinde var olan piklerde artış gözlenirken CI Acid Blue ortamdakinde piklerde azalış saptanmıştır.



Şekil 3: SA2 izolatının CI Acid Red boyasının FTIR analizi



Şekil 4: SA2 izolatının CI Acid Blue boyasının FTIR analizi

Çalışmamızda; boya absorpsiyonunda FT-IR spektrometresi sonuçlarına göre, bakterilerin hücre yüzeyinde tutma bölgelerinin büyük olasılıkla C=C, C=N, N=N aromatik ve alifatik (1680, 1520, 1490cm⁻¹) ve C-O (1370-1280-1080) grupları olduğu saptanmıştır.

4. Tartışma ve Sonuç

Yapmış olduğumuz bu çalışmamızda Uşak Sanayi Bölgesinden toplamış olduğumuz çamur örneklerinden elde ettiğimiz *Bacillus subtilis* örneğinden kirlilik etkenlerinde en önemli olan boya maddelerinden renk gideriminde ne kadar etkileri olduğunu belirlenmesi için amaçlanmıştır.

İzolattan SA2 mikroskop görüntülerinin sonucunda Gram pozitif (Gr +) reaksiyonu olarak belirlenmiştir. Nutrient Agar besiyerinde krem renkli koloni morfolojisi olarak çalışmamızda gösterilmiştir. Toprak örneklerinden izole edilen *Bacillus* cinsinin Gram pozitif, hareketli, tek tek, çift yada uzun zincirler halinde, subterminal endosporlar oluşturduğu belirlenmiştir [17]. LB agar üzerinde pembe koloniler oluşturan ve gram pozitif, spor oluşturan çubuk biçiminde, hareketli, 1 ile 2 µm uzunluğundadır [18].

İzolatanın denenmiş olan tüm pH'larda (5-9) optimum pH 7'de en iyi üremeyi göstermiş ve 25-40 °C sıcaklıklarda test edilen bakterinin optimum sıcaklık 30-35 °C olarak gözlenmiştir [17]. Biyokimyasal test sonuçları ile farklı karbon ve şeker kaynaklarını kullanabilme yetenekleri literatürle benzerlik göstermiştir [19].

Azo boyalar genellikle aerobik koşullarda bakteriyel biyodegradasyona dirençlidirler. Buna rağmen son yıllarda aerobik koşullarda azo boyayı büyüme ve gelişmek için

kullanarak indirgeyen çeşitli bakteri grupları izole edilebilmiştir [20]. *Bacillus subtilis*'in aerobik ortamda p-aminoazobenzeni karbon ve enerji kaynağı bulunduğunda parçalayabildiğini saptamışlardır [21]. Bu tür bakteriler azo boyadaki (-N=N-) bağını kırarak oluşan aromatik aminleri karbon ve enerji kaynağı olarak kullandıkları belirlenmiştir. Örneğin *Xenophilus azovorans* ve *Pigmentiphaga kullae* aerobik şartlar altında Carboxy-Orange I ve Carboxy-Orange II boyası üzerinde azo bağını kırarak çoğalabilirler [22]. *Pseudomonas* indirgeyerek parçalayabilmektedir. Actinomyceteslerden *Streptomyces badius*, *Streptomyces sp.*EC22 ve *Thermomono sporafusca* T800 aerobik ortamlarda enzimatik dekolorizasyonda kullanılmıştır [23]. *Pseudomonas luteola*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus subtilis* gibi birçok bakterileri ise anoksik şartlar altında azo boyaların indirgenmesinde başarılı olmuşlardır [24].

Bir çalışmada, *Pseudomonas sp.* izolatını Red B1I boyasıyla kullanarak FTIR sonucuna göre kontrol grubunda 3785 cm⁻¹, 3435 cm⁻¹, 2924 cm⁻¹, 1632 cm⁻¹ piklerinde birbirine simetrik olarak bu piklerin benzen türevleri ve 1260 cm⁻¹ pikte ise boyanın doğal aromatik olduğu bildirilmiştir. Ürün sonucunda görülen piklerin -OH, C=N, ve -CH₃ gruplarının olduğu görülmüştür [25]. *Bacillus sp.* İzolatı ile Brown 3REL boya dekolorizasyon çalışmasını FTIR sonucuna göre C-H, C=N, N-H ve C=O gruplarına rastlanmıştır [26]. Çalışmamızda; boya adsorbsiyonunda FT-IR spektrometresi sonuçlarına göre, bakterilerin hücre yüzeyinde tutma bölgelerinin büyük olasılıkla C=C, C=N, N=N aromatik ve alifatik (1680, 1520, 1490cm⁻¹) ve C-O (1370-1280-1080) grupları olduğu saptanmıştır grupları olduğu saptanmıştır.

Park ve ark [10] siyah B için dekolorizasyon %'si *Bacillus subtilis* için % 48,68 bulunmuştur. Bununla birlikte, *Bacillus cereus* ve *Bacillus licheniformis* ile kongo kırmızısı nişasta mevcudiyetinde dekolorizasyon yüzdeleri sırasıyla % 72 ve % 80,32 olarak tespit edilmiştir. 16S rDNA sekanslaması ile *Bacillus subtilis* HM olarak tanımlandıkları bakteriyi aerobik olarak sekiz farklı sülfonatlı azo boyasının dekolorizasyon çalışmasında özellikle Kırmızı'nın renksizleştirilmesinde hızlı sonuç alındığı bildirilmiştir [25]. *Bacillus subtilis* HM, çok çeşitli boya konsantrasyonları (12.5 - 12 5m g L), p H's-1 (5 - 9) ve sıcaklıklarda (25-40 ° C) belirgin bir renk giderimi sergilemiştir. Optimizasyon çalışmaları ile 6 saat içinde % 99 renk giderimi elde edilmiştir [10].

Bu çalışmada, SA2 izolatının CI Acid Blue 193 CI15707 ve CI Acid Red 88 boyaalarının dekolorizasyonunda etkili olduğu belirlenmiştir. Bundan sonraki çalışmalar mekanizmanın aydınlatılması ve optimizasyonu üzerine olmalıdır.

5. Kaynaklar

1. Pandey A, Singh P, Iyengar L. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. Int. Biodeterior. Biodegrad, 2007;59(2):73-84.
2. Kant R. Textile dyeing industry an environmental hazard. Nat. Sci., 2012;4(1):22-26.
3. Hossen MZ, Hussain ME, Hakim A, Islam K, Uddin MN, Azad AK. Biodegradation of reactive textile dye Novacron Super Black G by free cells of newly isolated *Alcaligenes faecalis* AZ26 and *Bacillus spp* obtained from textile effluents. Heliyon, 2019 Jul; 5(7): e02068.
4. Aksu Z. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. Process Biochem, 2005;40(3):997-1026.

5. Dellamatrice PM, Silva-Stenico ME, Moraes LA, Fiore MF, Monteiro RT. Degradation of textile dyes by cyanobacteria. *Braz. J. Microbiol*, 2017;48(1):25–31.
6. Celia MP, Suruthi S. Textile dye degradation using bacterial strains isolated from textile mill effluent. *Int. J. Appl. Res.*, 2016; 2: 337–341.
7. Mohan SV, Rao NC, Srinivas S., Prasad K.K., Karthikeyan J. Treatment of simulated Reactive Yellow 22 (azo) dye effluents using *Spirogyra* species. *Waste Manag*, 2002;22(6):575-82.
8. Kurade MB, Waghmode TR, Patil SM, Jeon BH, Govindwar SP. Monitoring the gradual biodegradation of dyes in a simulated textile effluent and development of a novel triple layered fixed bed reactor using a bacterium-yeast consortium. *Chem. Eng. J.*, 2017;307:1026–1036.
9. Dube E, Shareck F, Hurtubise Y, Daneault C, Beaugerard M. Homologous cloning, expression, and characterisation of a laccase from *Streptomyces coelicolor* and enzymatic decolourisation of an indigo dye. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2008; 79: 597-603.
10. Park JH, Kim W, Lee YS, Kim JH. Decolorization of Acid Green 25 by Surface Display of CotA laccase on *Bacillus subtilis* Spores. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2019;29(9):1383–1390.
11. Gopinath KP, Murugesan S, Abraham J, Muthukumar K. *Bacillus* sp. mutant for improved biodegradation of Congo red: random mutagenesis approach. *Bioresour. Technol.*, 2009;100: 6295-6300.
12. Wu J, Kim KS, Sung NC, Kim CH, Lee YC. Isolation and characterization of *Shewanella oneidensis* WL-7 capable of decolorizing azo dye reactive Black 5. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 2009; 55: 51-55.
13. Kalyani DC, Telke AA, Govindwar SP, Jadhav JP. Biodegradation and detoxification of reactive textile dye by isolated *Pseudomonas* sp. SUK1. *Water Environ. Res.*, 2009; 81: 298- 307.
14. Katı H, Karaca B, Gülşen ŞH. 2016' Toprakтан izole edilen *Bacillus* türlerinin tanımlanması ve biyolojik özelliklerinin araştırılması' SAÜ Fen Bil Der., 2016;20(2):281-290.
15. Fidan S. Farklı ağır metallerin *Pleurotus* sp. 'lerinde renk gideriminde görev alan lignolitik enzimlere etkisinin belirlenmesi', Yüksek lisans tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon, 2008;18-19.
16. Asad S., Amoozegar MA., Pourbabaee AA., Sarbolouki MN, Dastgheib SMM. Decolorization of Textile Azo Dyes by Newly Isolated Halophilic and Halotolerant Bacteria. *Bioresource Technology.*, 2007;98(11):2082-2088
17. Sabir JS, Abo-Aba S. Isolation, identification and comparative analysis of 16S rRNA of *Bacillus subtilis* grown around *Rhazya stricta* roots', *Life Science Journal* ,2013;10(12s).
18. Mabrouk EM, Yusef HH. Decolorization of Fast Red by *Bacillus subtilis*. *Journal of Applied Sciences Research*, 2008; 4(3): 262-269.
19. Reddy GV, Shah MP. Microbial Decolorization of Various Dyes by a *Bacillus subtilis* Strain Isolated from an Industrial Effluent Treatment Plant' *Journal of Advanced Research in Biotechnology.*, 2016.
20. Stolz A. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Applied and Environmental Microbiology.*, 2001;56: 69-80.
21. Zissi W, Hybertus G, Pavlou S. Biodegradation of Pamino azo. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.*, 1997;19: 49-55.
22. Zimmermann T, Kulla H, Leisinger T. Purification and properties of orange i-azoreductase from *Pseudomonas Kf46*. *Experientia.*, 1982; 38: 1380.

23. Ball AS, Betts, WB, Mccarthy AJ, Degradation of lignin-related compounds by actinomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 1989; 55:1642- 1644.
24. Lin SH, Chen, ML. Treatment of textile wastewater by electrochemical methods for reuse. *Water Research*, 1997;31: 868–876.
25. Kalyani DC, Patil PS, Jadhav JP. Biodegradation of reactive textile dye Red BLI by an isolated bacterium *Pseudomonas* sp. SUK1, 2007;4635–4641.
26. Dawkar VV, Jadhav UU, Jadhav SU, Govindwar SP. Biodegradation of disperse textile dye Brown 3REL by newly isolated *Bacillus* sp. *J Appl Microbiol.*, 2008 Jul;105(1):14-24.