

# Tekstil Atıksuyu Kaynaklı Bakterilerin Boya ve Boyar Madde Arıtımında Kullanımı

## *The Removal of Dye and Dye Stuffs Using The Bacteria Originated from Textile Industry Wastewaters*

Sevgi ERTUĞRUL<sup>1</sup>, Gönül DÖNMEZ<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 06100, Beşevler, ANKARA

**Özet:** Tekstil fabrikası atıksulardan izole edilen bakterilerle yapılan bu çalışmada, pH'nın, boya konsantrasyonunun ve inkübasyon süresinin bakterilerin reaktif bir diazo boyası olan Remazol Blue giderimine etkisi araştırılmıştır. Remazol Blue içeren besiyeri ortamında pH 6–10 aralığında 30 °C de yapılan denemelerde, altı farklı izolattan en yüksek kapasitede giderimi sağlayan bir tanesi seçilmiştir. Bu bakterinin pH 8'de en fazla boya giderimi yaptığı belirlenmiştir. Bakteri sabit sıcaklıkta (30 °C), 50-400 mg/l arasında değişen başlangıç Remazol Blue konsantrasyonlarında (pH 8) en iyi boya giderim verimini, 50 mg/l Remazol Blue konsantrasyonunda 87.4% oranında yapmıştır. Bakterinin, 100 mg/l Remazol Blue içeren besiyerinde giderimde etkili olduğu bilinen azoredüktaz enzim aktivitesi araştırılmış ve denemeler sonunda en yüksek enzim aktivitesi, pH 8' de, 30 °C'de ve 72 saat inkübasyon süresi sonrasında 50.7 U/ml olarak elde edilmiştir. İnkübasyon süresinin üretilen azoredüktaz enzimi miktarına etkisine bakıldığında ise, artan inkübasyon süresinin üretilen enzim miktarında düşüşe sebep olduğu belirlenmiştir. Sonuçta giderim etkinliği en yüksek izolat seçilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Mikroorganizma, Azoredüktaz, Remazol Blue, Atıksu

**Abstract:** The effects of pH, initial dye concentration and incubation period on bioremoval of Remazol Blue (reactive diazo dye) was investigated in this study, with the microorganisms were isolated from textile wastewater. The strain that removed Remazol Blue most efficiently in the preliminary experiments performed at 30 °C on samples containing Remazol Blue and pH ranging from 6 to 10. The strain that removed Remazol Blue at the highest rate was selected. The optimum pH value was found as pH 8 for the strain. At constant temperature (30 °C) and initial Remazol Blue concentrations changing between 50-400 mg/l (pH 8), the strain showed its maximum dye removal rate at 50 mg/l Remazol Blue concentration as 87.4%. The highest azoreductase activity of the selected strain was determined as 50.7 U/ml after the incubation time for 72 hours at pH 8 and 30 °C. Prolonged incubation periods decreased the enzyme activity. Ultimately the most efficient isolate has been selected.

**Key words:** Microorganism, Azoreductase, Remazol Blue, Wastewater

### 1. Giriş

Sentetik boyalar, başlıca kozmetik, gıda ve tekstil sanayi olmak üzere birçok alanda geniş kullanım potansiyeline sahiptir (Aksu, 2005). Özellikle tekstil atıksularının yüksek oranda sentetik boya içermelerinden dolayı, bu boyaların ışık geçirimini azaltması sonucu sucul yaşamdaki fotosentetik aktivite de olumsuz yönde etkilemekte, bu durum canlı topluluklarına oldukça toksik etki yapmaktadır (Aksu, 2005). Ticari olarak kullanılan sentetik boyaların büyük bir kısmını toksik, karsinojenik ve mutajenik özelliklere sahip olan azo boyalar oluşturmaktadır (Seesuriyachana vd, 2007). Bu boyalar içerdikleri azo bağlarından dolayı parçalanmaya karşı dirençli oldukları için çevrede yüksek oranlarda birikme potansiyeline sahiptir. Asidik ve alkali şartlarda kararlı yapı göstermeleri, aerobik parçalanmaya, ısı ve ışığa karşı dayanıklı olmaları bu boyaların klasik arıtma yöntemleriyle arıtılmasını güçleştirmektedir; bu yüzden bazı durumlarda reaktif boyanın sistemden %90 gibi yüksek oranda arıtılmadan çıktığı bilinmektedir (Lucas, 2006). Bu yüzden çöktürme, floklaştırma gibi fiziksel ve kimyasal yöntemlerle birleştirilen biyolojik arıtım yöntemleri bu tür boyaların giderilmesinde kullanılmaktadır (Chang, 2001). Fakat elektrokimyasal işlemler, ozon arıtımı, ters ozmos gibi fiziksel veya kimyasal işlemlerin hem ikincil bir kirlilik oluşturması hem de pahalı olması, buna karşılık bakterilerin bu boyaları oksijenli veya oksijensiz şartlarda parçalayabilmeleri alternatif biyolojik yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır (Chang, 2001).

\* Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: gdonmez@science.ankara.edu.tr

Daha önce yapılan çalışmalarda aerobik ve anaerobik koşullarda boya giderimi yapabilen birçok mikroorganizma izole edilmiştir (Aksu ve Dönmez, 2005; Çetin ve Dönmez, 2006; Ertuğrul vd., 2008; Ertuğrul vd., 2009; Martins vd., 1999; Sadettin ve Dönmez, 2006; Won vd., 2009). Yapılan çalışmalar, bu mikroorganizmaların boyaları biyosorpsiyon, biyobirikim, biyodegradasyon gibi farklı mekanizmalarla giderdiğini göstermektedir. Son yıllarda tüm bunlara ek olarak azo boyaların dönüşümü, parçalanması veya mineralize edilmesi amaçlanmaktadır. Bakterilerin renk giderim mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamakla birlikte, azo boyaların renginin giderilmesi, azoredüktazların katalizlediği anaerobik indirgeme veya azo bağının kırılması üzerinden aromatik aminlerin oluştuğu, aerobik veya anaerobik parçalanma ile yaptıkları bilinmektedir (Chang, 2001). Azo boyaların renginin giderilmesine yönelik çalışmalarda izole edilen birçok anaerobik bakteri türünün azoredüktaz enzim aktivitesine sahip olduğu ve genellikle azo bağları oksijenli koşullarda bakteriler tarafından parçalanmaya karşı dayanıklı ise de bazı özel aerobik bakteri türleri oksijene tolerans gösteren azoredüktaz enzimiyle bu bağları parçalayabildiği bildirilmiştir (Moutaouakkil vd., 2003).

Gerçekleştirilen çalışmanın amacı literatürden farklı olarak, yüksek kapasitede Remazol Blue giderebilen mikroorganizmaların izole edilmesi ve aralarından en fazla verimde boya giderimi yapan bakteri izolatatının oksijene tolerans gösteren azoredüktaz enzim aktivitesinin belirlenmesidir. Çalışmada, pH'nın, başlangıç Remazol Blue konsantrasyonunun ve inkübasyon süresinin izole edilen bakteriler üzerinde etkileri yanında seçilen bir aerobik bakterinin azoredüktaz enzim aktivitesi belirlenmiştir. Bu şekilde boya içeren atıksuların biyolojik arıtımında etkili olarak kullanılacak izolatu belirlemek amaçlanmıştır.

## **2. Materyal ve Yöntem**

### **2.1. Bakteri Kültürü**

Çalışmada, mikroorganizma kaynağı olarak Mersin yöresinde bulunan bir tekstil fabrikasından alınan, alkali pH değerine sahip renkli atıksular kullanılmıştır. Atıksudan alınan örnekler 3421 x g de 5 dakika santrifüjlenmiş ve 50 mg/lt Remazol Blue içeren Nutrient Agar besiyerlerine ekilmiştir. Petrilerde görülen, renk giderimi yapabilen koloniler alınmış ve boya içeren besiyerlerine ekilerek saflaştırılmıştır. Sonuçta altı adet farklı bakteri izole edilmiştir. Saf kültürlerin Gram boyama yapılarak morfolojik özellikleri belirlenmiştir.

### **2.2. Boya Solüsyonu**

Remazol Blue stok solüsyonu, Aytemizler Tekstil Fabrikası'ndan (Ankara) saf ve toz halde alınan boyanın %2 (w/v) konsantrasyon oranında distile suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Bu stok solüsyondan istenilen miktarlar Nutrient Broth besiyerine eklenmiştir.

### **2.3. Başlangıç pH Derecelerinin Remazol Blue Giderimine Etkisi**

En yüksek boya gideriminin gerçekleştiği optimum pH derecesinin bulunması amacıyla, 100 mg/lt Remazol Blue içeren besiyeri serisinin pH değerleri 0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl ile 6, 7, 8, 9 ve 10 değerlerine ayarlanmıştır. Denemeler 100 ml besiyeri içeren 250 ml lik erlenlerde yapılmıştır. Bu şekilde üç tekrarlı olarak hazırlanan besiyerleri, 30 °C'de 7 gün boyunca 100 rpm çalkalama hızında inkübe edilmiştir.

### **2.4. Başlangıç Remazol Blue Konsantrasyonunun Biyogiderim Verimine Etkisi**

Artan Remazol Blue konsantrasyonunun biyogiderim verimine etkisinin araştırılması amacıyla, seçilen izolat daha önce belirlenen optimum pH değerinde hazırlanmış ve 50, 100, 200 ve 400 mg/lt Remazol Blue içeren besiyerlerinde 7 gün süre ile geliştirilmiştir.

## 2.5. Enzim Aktivitesi

İzole edilen bakteriler arasında en yüksek kapasitede Remazol Blue giderebilen bakterinin azoredüktaz aktivitesi (=enzim derişimi ile bulunduğu ortamdaki özgül aktivitesi) enzim üretimi pH 8'de 100 mg/lit Remazol Blue içeren besiyerinde 30 °C'de 7 günlük inkübasyon süresi boyunca ölçülmüştür. Enzim analizleri 100 ml besiyeri içeren 250 ml lik erlenlerde inkübasyon süresi boyunca günlük olarak gerçekleştirilmiştir.

## 2.6. Remazol Blue Miktarının Belirlenmesi

İnkübasyon periyodu boyunca her erlenden günlük olarak 3 ml örnek alınmıştır. Örnekler asılı biyokütlenin çöktürülmesi için 3421 x g'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Supernatantta bulunan Remazol Blue konsantrasyonu, gerekli seyreltmeler yapılarak 600 nm dalga boyundaki absorbansın ölçülmesiyle belirlenmiştir.

Bakterilerin boya giderim verimleri

$$\text{Boyagiderim}(BG)\% = \left( \frac{C_o - C_f}{C_o} \right) \times 100$$

formülüne göre hesaplanmıştır. Gram başına düşen maksimum spesifik boya alımı ise

$$qm = \left( \frac{C_o - C_f}{X_m} \right)$$

eşitliğinden yararlanılarak bulunmuştur.

Bu iki eşitlikte  $q_m$  (maksimum spesifik boya alımı) kurutulmuş bir gram hücredeki maksimum boya miktarını (mg/lit),  $X_m$  maksimum kurutulmuş hücre kütlelerini (g/lit),  $C_o$  ve  $C_f$  ise sırasıyla başlangıç ve son boya konsantrasyonlarını (mg/lit) bildirmektedir.

## 2.7. Optik Yoğunluğun Belirlenmesi

İnkübasyon süresi boyunca erlenlerden belirli zaman aralıklarında alınan örnekler 3421 x g'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Çökelti fizyolojik tuzlu su ile yıkanmış ve gerekli seyreltmeler yapılarak optik yoğunluk 600 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

## 2.8. Kuru Ağırlığın Belirlenmesi

Optik yoğunluğu tespit edilmiş örnekler, boş ağırlığı alınmış alüminyum folyolara aktarılarak etüvde 100 °C'de 12 saat kurutulmuş ve tartılmıştır.

## 2.9. Çözünür Protein Derişiminin Belirlenmesi

Çözünür protein derişimlerinin belirlenmesi için Lowry yönteminden yararlanılmıştır (Lowry vd, 1951). Standart protein çözeltisi olarak sığır serum albumini kullanılmıştır.

## 2.10. Enzim Aktivitesinin Hesaplanması

Örnek hazırlanması: İnkübasyon süresi boyunca belirli aralıklarla pH 8'de 30 °C'de 100 mg/lit Remazol Blue içeren Nutrient Broth besiyerinde geliştirilen bakterilerden alınan örnekler (10 ml), 10.000 rpm'de 15 dakika + 4 °C'de santrifüj edilerek besiyerinden ayrılmıştır. Santrifüj sonunda elde edilen süpernatant ortamdan uzaklaştırılmış, çöken biyokütle ise hücre içi enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. Biyokütle sodyum fosfat tamponu ile iki kez yıkandıktan sonra buz içinde 5 kez 15 saniye süre ile (70 amplitud) sonike (SONICS Vibra cell 130 V) edilmiştir. Enzim ekstraktı hücre artıklarından 10.000 rpm'de +4 °C'de 30 dakika santrifüjlenerek ayrılmıştır. Elde edilen berrak süpernatant azoredüktaz enzim aktivitesinin belirlenmesinde kullanılmıştır (Chang, 2001:2842).

Aktivite ölçümü: Reaksiyon karışımı 400 mikrolitre 50 mM sodyum fosfat tamponu (pH 7.0), 200 mikrolitre örnek ve 200 mikrolitre azo boyası Remazol Blue (100 mg/lit) içermektedir. Spektrofotometre küvetine 200 mikrolitre NADH (7.09 mg/ml, son konsantrasyon 2 mM) eklenmesiyle reaksiyon başlatılmıştır (Pricelius vd, 2007:1733).

Enzim aktivitesi 1 ml hacimde 1 dakikada 1 µmol substratı ürüne dönüştüren enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

### 3. Bulgular

#### 3.1.Tanımlama

Deneme sonunda tekstil fabrikası atıksularından, Remazol Blue içeren besi ortamlarında altı adet farklı izolat saflaştırılmıştır. İzole edilen bakterilerin Gram boyanma özelliklerine ve hücre morfolojilerine bakıldığında, 3 numaralı izolatin Gram pozitif basil, diğer beş izolatin Gram negatif basil olduğu görülmüştür.

#### 3.2. Başlangıç pH'ının Boya Giderimine Etkisi

Yaklaşık 100 mg/lit Remazol Blue içeren Nutrient Broth besiyerlerinin başlangıç pH değerleri 6-10 aralığında değiştirilerek, bu pH değerlerinin izole edilen altı bakterinin Remazol Blue giderimine etkisi incelenmiştir. Her bakterinin en yüksek boya giderimi gösterdiği pH değeri Çizelge 1 de gösterilmiştir.

Çizelge 1 Altı farklı izolatin en iyi boya giderimi yaptığı pH ve biyogiderim yüzde verimleri (T: 30 °C , 100 rpm, 7 gün)

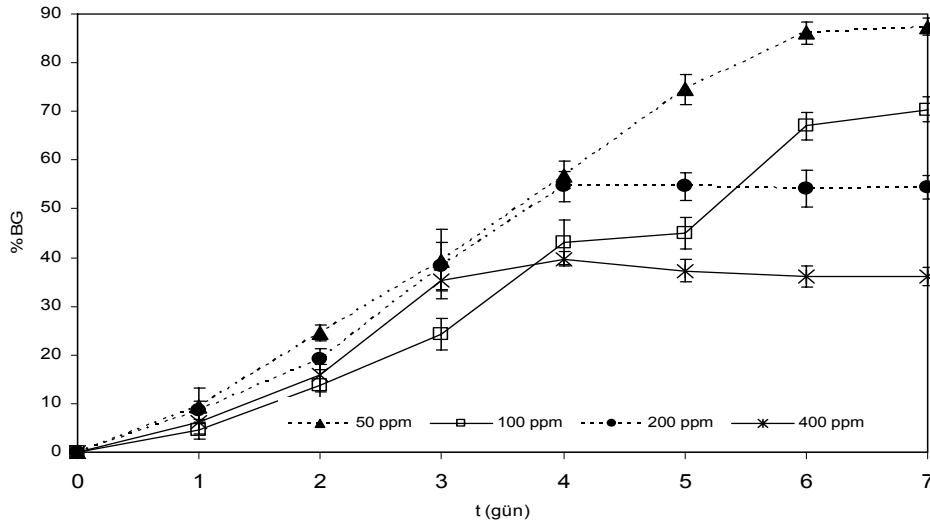
| pH | İzolat 1<br>BG(%) | İzolat 2<br>BG(%) | İzolat 3<br>BG(%) | İzolat 4<br>BG(%) | İzolat 5<br>BG(%) | İzolat 6<br>BG(%) |
|----|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 6  | 44.8±1.6          | 67.9±2.7          | 47.1±2.3          | 65.3±2.8          | 61.9±2.6          | 61.5±1.5          |
| 7  | 60.2±3.2          | 52.7±1.8          | 62.5±3.6          | 56.1±3.0          | 51.8±1.4          | 62.9±2.5          |
| 8  | 56.9±2.4          | 48.7±2.5          | 53.3±1.9          | 56.7±3.3          | 53.8±2.5          | 70.4±2.5          |
| 9  | 53.9±2.9          | 47.6±1.3          | 44.8±2.7          | 56.3±2.2          | 45.9±3.1          | 44.5±3.4          |
| 10 | 34.5±3.3          | 38.1±2.1          | 38.2±2.4          | 49.9±1.7          | 42.6±2.0          | 38.9±1.1          |

Çizelge 1'de, 1 ve 3 numaralı izolatlardan en iyi biyogiderimi pH 7'de sırasıyla %60.2 ve 62.5 verimle gerçekleştirdiği görülmektedir. 2, 4 ve 5 numaralı izolatlardan ise en yüksek boya giderimini pH 6 değerinde göstermişlerdir. Maksimum boya giderim verimlerine bakıldığında söz edilen beş izolattan da birbirine yakın değerde giderim yaptığı belirlenmiştir. Ortamın pH değeri yükseldikçe tüm izolatlardan boya giderim verimlerinde düşüş gözlenmiştir. En yüksek boya giderimini 6 numaralı izolat pH 8'de %70.4 olarak gerçekleştirmiştir. İkinci sırada en iyi boya giderimini ise 2 numaralı bakteri pH 6'da %67.9 verimde göstermiştir. Bu nedenle sonraki denemelerde 6 numaralı izolat kullanılmıştır.

#### 3.3. Başlangıç Remazol Blue Konsantrasyonunun Boya Giderimine Etkisi

Seçilen 6 numaralı izolat üzerinde artan Remazol Blue konsantrasyonunun boya giderimine etkisi, 30 °C'de 100 rpm'de ve pH 8'de, 100 ml besiyeri içeren 250 ml lik erlenlerde yapılan denemelerle belirlenmiştir. Artan Remazol Blue konsantrasyonunun 6 numaralı izolattan boya giderimine etkisi Şekil 1'de gösterilmiştir.

Bu denemelerde Remazol Blue konsantrasyonu arttıkça boya giderim veriminin düştüğü görülmüştür. Remazol Blue konsantrasyonu artırıldığında mikroorganizma gelişimi olumsuz yönde etkilenmiştir. Buna bağlı olarak yaklaşık olarak 200 ve 400 mg/lit Remazol Blue içeren ortamda, boya giderim verimi inkübasyon süresinin 3. gününe kadar artarak devam etmiştir. İnkübasyon süresi artırıldığında yüksek boya giderimi sabitlenmiş, 7. günde 192.3 mg/lit Remazol Blue içeren ortamda %54.4, 393.4 mg/lit Remazol Blue içeren ortamda ise %36.1 olarak belirlenmiştir. 89.1 mg/lit Remazol Blue içeren ortamda boya giderim verimi %70.4 iken, en yüksek boya giderim verimi 50.3 mg/lit Remazol Blue içeren ortamda %87.4 olarak belirlenmiştir.



Şekil 1. Başlangıç Remazol Blue konsantrasyonunun seçilen izolatın biyogiderim verimine etkisi (pH: 8; T: 30 °C; inkübasyon süresi: 7 gün).

### 3.4. Gram Hücre Başına Düşen Remazol Blue Alımı ( $q_m$ )

İnkübasyon süresi sonunda, maksimum spesifik boya alımı Çizelge 2’de özetlenmiştir. Mikroorganizmanın 50.3 mg/l Remazol Blue içeren Nutrient Broth besiyerinde, %87 verimle boya giderimi yaparken, gram hücre başına 2.5 mg/g kirlenici alımı gösterdiği belirlenmiştir. Ortamdaki boya konsantrasyonu artırıldığında maksimum spesifik boya alımının da buna paralel olarak arttığı görülmüştür. Ama 200 ve 400 mg/l gibi yüksek boya konsantrasyonlarında kirlenicinin yoğun olmasından dolayı hücre gelişimi olumsuz yönde etkilenmiş ve 192.3 mg/l ve 393.9 mg/l Remazol Blue içeren ortamlarda, boyanın maksimum spesifik alımında belirgin bir artış gösterememiştir.

Çizelge 2 Artan Remazol Blue konsantrasyonlarında gram hücre başına düşen maksimum spesifik kirlenici miktarları (pH: 8, 30 °C, 100 rpm)

| $C_0$<br>mg/l | $C_{ad}$<br>mg/l | $q_m$<br>mg/g |
|---------------|------------------|---------------|
| 50.3          | 44.0             | 2.5           |
| 89.1          | 62.7             | 3.2           |
| 192.3         | 104.6            | 4.6           |
| 393.9         | 142.2            | 4.9           |

### 3.5. Azoredüktaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Seçilen mikroorganizmanın 100 mg/l Remazol Blue içeren ortamda (pH: 8, 30 °C, 100 rpm) yedi günlük inkübasyon süresi boyunca gösterdiği azoredüktaz enzim aktivitesi ve içerdiği protein miktarı Tablo 3’te gösterilmektedir. Bakteri hücreleri gelişimlerinin eksponansiyel fazında yüksek azoredüktaz enzim aktivitesi göstermiştir. Bu bakımdan boyanın mikroorganizma tarafından karbon kaynağı olarak kullanıldığı düşünülmüştür. İnkübasyon süresinin sonlarına doğru enzim aktivitesindeki düşüşe bağlı olarak hücre içi çözünür protein miktarının da düştüğü gözlenmiştir. Bakteri en yüksek azoredüktaz aktivitesini gelişiminin üçüncü gününde hücre içi protein miktarı 0.08 mg/ml iken 50.7 U/ml olarak göstermiştir.

Çizelge 3 Altı numaralı izolatin inkübasyon süresi boyunca gösterdiği azoredüktaz enzim aktivitesi (pH: 8, 100 mg/l Remazol Blue, 30 °C, 100 rpm)

| Zaman (gün) | Protein miktarı (mg/ml) | Enzim aktivitesi (U/ml) |
|-------------|-------------------------|-------------------------|
| 1           | 0.094±0.002             | 19.6±1.2                |
| 2           | 0.08±0.018              | 45.0±1.7                |
| 3           | 0.08±0.018              | 50.7±2.1                |
| 4           | 0.072±0.010             | 05.7±0.1                |
| 5           | 0.056±0.013             | 01.1±0.01               |
| 6           | 0.062±0.009             | 01.1±0.01               |
| 7           | 0.056±0.007             | 01.1±0.01               |

#### 4. Tartışma

Yapılan çalışmada kirletici olarak boya içeren atıksulardan izole edilen mikroorganizmaların yüksek kapasite ile giderim yapacağı düşünülerek tekstil fabrikası atıksuyundan izole edilen mikroorganizmalar kullanılmıştır. Boya ve boyar maddelerin mikroorganizmalar tarafından giderimi konusunda yapılan çalışmalarda, bu toksik kirleticilerin uzaklaştırılmasında ortam pH değerinin ve başlangıç kirletici konsantrasyonunun etkisi incelenmiştir. Son yıllarda tekstil fabrikası atıksularının renk kirliliğinin bakteri kullanılarak giderilmesi konusunda yapılan çalışmalarda çoğunlukla anaerobik koşullar denenmiştir (Chen, 2002). Örneğin Silveria vd., (2009). farklı *Pseudomonas* türleri ile yapılan bir çalışmada anaerobik şartlarda *P. aeruginosa* ve *P. oleovorans* bakterilerinin 30 mg/l başlangıç konsantrasyonundaki B15 isimli tekstil boyasını sırasıyla %98 ve %94 oranlarında giderdiğini bulmuşlardır. Araştırmacılar boya konsantrasyonu 70 mg/l olduğunda *P. aeruginosa*'nın %50 renk giderimi yaptığı, buna karşın *P. oleovorans*'ın boya konsantrasyonu 60 mg/l ve daha düşük olduğunda yaklaşık %90 oranında, boya konsantrasyonu 90 mg/l çıkarıldığında %76 giderim yaptığını da gözlemlemiştir. *Citrobacter* sp. CK3 ile yapılan bir diğer çalışmada ise Reactive Red 180 boyası içeren ortamda, bakterinin boya giderimini anaerobik şartlarda %96, buna karşın aerobik şartlarda (150 rpm) ise sadece %13 verimle yaptığı bildirilmiştir (Wang vd. 2009). *B. cereus*, *P. putida*, *P. fluorescense* ve *S. acidaminiphila* bakterileri ile konsorsiyum hazırlanarak yapılan bir diğer çalışmada, aerobik koşullarda (100 rpm, 35 °C) beş farklı azo boyasının (AR-97, AR-119, AB-113, RR-120, AR-88) giderimi yapılmıştır. Bu çalışmada başlangıç boya konsantrasyonu 40 mg/l olduğunda giderim yüzdesinin denenen bütün boyalar için %95-100 arasında değiştiği gözlenmiştir. AR-88, RR-120, AR-97 boya konsantrasyonu 100 mg/l'te çıkarıldığı zaman renk gideriminde düşüş gözlenmiş ve sırasıyla %69, %73 ve %86 giderim verimleri elde edilmiştir (Khehra vd., 2005). Diğer bir çalışmada tekstil fabrikasından izole edilen suşların biyobirikim ile ancak %40 oranda renk giderimi yaptığı bildirilmiştir (Silveria vd, 2009). Bununla birlikte tekstil prosesi sonucu oluşan atıksularda 10-200 mg/l arasında boya bulunduğu ve bu oranın büyük ölçüde renk kirliliğine sebep olduğu (Pandey vd., 2007), bakterilerle yapılan renk giderim çalışmalarında bir çok bakterinin azo bileşiklerini anaerobik şartlarda indirgedikleri bildirilmiştir (Chen vd., 2004). Çünkü azo boyalar aerobik şartlarda bakteri parçalanmasına karşı dirençlidir (Moutaouakkil vd., 2003). Bu bilgiler ışığı altında ve örneklenen çalışmalar düşünüldüğünde çalışmada izole edilen altı farklı bakterinin, 100 mg/l Remazol Blue içeren ortamda beş farklı pH değerinde bile %34.5-70.4 arasında değişen oranlarda renk giderimi yaptığı belirlenmiştir.

Azoboyaların bakteriyel degradasyonu, klasik arıtma yöntemlerine karşı oldukça dayanıklı olan bu boyaların renginin giderilmesinde alternatif bir yöntemdir (Lucas vd., 2006). Yukarıda irdelendiği gibi bu boyalarda bulunan azo bağının kırılması, azo boyaların parçalanmasında anahtar rolü oynayan azoredüktaz enzimiyle gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmada elde edilen izolatlar arasında seçilen bir bakterinin artan başlangıç Remazol Blue konsantrasyonlarında boya giderim kapasitesi ve seçilen bir boya konsantrasyonunda da azoredüktaz enzim aktivitesi belirlenmiştir.

Denemelerde, 100 mg/l Remazol Blue içeren ortamda, bakteri gelişiminin üçüncü gününde, 50.7 U/ml azoredüktaz enzim aktivitesi göstermiştir. *Enterobacter agglomerans* ile yapılan bir çalışmada, Metil kırmızısı boyası içeren ortamda bakterinin 36.5 U/ml enzim aktivitesi gösterdiğini rapor edilmiştir (Moutaouakkil vd, 2003). *Enterococcus faecalis* ile yapılan bir diğer çalışmada ise bakterinin altı farklı boya içeren besiyerinde azoredüktaz enzim aktivitesi araştırılmıştır ve en yüksek aktivite metil kırmızısı içeren ortamda 0.16 U/20 ml olarak bildirilmiştir (Chen vd., 2004). *Pseudomonas aeruginosa* Navitan fast blue S5R boyasını içeren ortamda 712 U/ml enzim aktivitesi göstermiştir (Nachiyar vd., 2005).

## 5. Sonuç

Çalışma sonucunda izole edilen altı adet farklı bakteri türü aerobik koşullarda yüksek boya konsantrasyonlarında gelişip, renk giderimi yapabildiği görülmüştür. Bu bakteriler arasından seçilen bir suş 400 mg/l gibi çok yüksek boya konsantrasyonunu bile tolere edebildiği gibi literatürdeki diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında bazı aerobik bakteri türlerinden daha yüksek azoredüktaz aktivitesi göstermiştir. Bakterinin en iyi boya giderimini pH 8'de yapması genellikle alkali özellik gösteren tekstil atıksularına uyumunun kolay olacağını göstermektedir. Bu özellikleri ile seçilen bakterinin kirletici olarak boya içeren atıksuların biyolojik arıtımında etkili olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

## Kaynaklar

- Aksu Z (2005) Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. *Process Biochemistry*, 40: 997-1026.
- 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*, 40:1437-1444.
- Chang, J.S., Chou, C., Lin, Y. C., Lin, P.J., Ho, J.Y. and Hu, T.L. 2001. Kinetic characteristics of bacterial azo-dye decolorization by *Pseudomonas luteola*. *Wat. Res.* 35: 2841-2850.
- Chen, B. Y. 2002. Understanding decolorization characteristics of reactive azo dyes by *Pseudomonas luteola*: toxicity and kinetics. *Process Biochemistry*, 38:437-446.
- Chen, H., Wang, R.F. and Cerniglia, C.E. 2004. Molecular cloning, overexpression, purification, and characterization of an aerobic FMN-dependent azoreductase from *Enterococcus faecalis*. *Protein Expression and Purification* 34:302-310.
- Çetin, D. and Dönmez, G. 2006. Decolorization of reactive dyes by mixed cultures isolated from textile effluent under anaerobic conditions. *Enzyme and Microbial Technology*, 38: 926-930.
- Ertuğrul, S., Bakır, M. and Dönmez, G. 2008. Treatment of dye-rich wastewater by an immobilized thermophilic cyanobacterial strain: *Phormidium* sp. *Ecological Engineering*, 32:244-248.
- Ertuğrul, S., San, N.O. and Dönmez, G. 2009. Treatment of dye (Remazol Blue) and heavy metals using yeast cells with the purpose of managing polluted textile wastewaters. *Ecological Engineering*, 35:128-134.
- Khehra, M.S., Saini, H.S., Sharma, D.K., Chadha, B.S., and Chimni, S.S. 2005. Decolorization of various azo dyes by bacterial consortium. *Dyes and pigments*. 67:55-61.
- Lowry, O.H., Rosgrove, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.

- 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*, 39:51-55.
- Martins, M.A.M., Cardoso, M.H., Queiroz, M.J., Ramalho, M.T. and Campus, A.M.O. 1999. Biodegradation of azo dyes by the yeast *Candida zeylanoides* in batch aerated cultures. *Chemosphere*, 38:2455-2460.
- Moutaouakkil, A., Zeroual, Y., Dzayri, F.Z., Talbi, M., Lee, K., and Blaghena, M. 2003. Purification and partial characterization of azoreductase from *Enterobacter agglomerans*. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 413:139–146.
- Nachiyar, C.V. and Rajakumar, G.S.2005. Purification and characterization of an oxygen insensitive azoreductase from *Pseudomonas aeruginosa*. *Enzyme and Microbial Technology*. 36:503–509.
- Pandey, A., Singh, P., and Iyengar L. 2007. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 59:73-84.
- Pricelius, S., Held, C., Sollner, S., Deler, S., Murkovic, M., Ullrich, R., Hoffrichter, M., Paulo, A.C., Macheroux, P., Guebitz, G.M. 2007. Enzymatic reduction and oxidation of fibre-bound azo-dyes. *Enzyme and Microbial Technology* 40:1732–1738.
- Sadettin, S. and Dönmez, G. 2006. Bioaccumulation of reactive dyes by thermophilic cyanobacteria. *Process Biochemistry*, 41: 836-841.
- Seesuriyachana, P., Takenakab, S., Kuntiyaa, A., Klayraungc, S., Murakamib, S. and Aokib, K. 2007. Metabolism of azo dyes by *Lactobacillus casei* TISTR 1500 and effects of various factors on decolorization. *Water Research*. 41: 985 – 992
- Silveira, E., Marques, P.P., Silva, S.S., Lima-Filho, J.L., Porto, A.L.F., Tambourgi, E.B. 2009. Selection of *Pseudomonas* for industrial textile dyes decolourization. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63:230-235.
- Wang, H., Su, J.Q., Zheng, X.W., Tian, Y., Xiong, X.J., and Zheng, T.L. 2009. Bacterial decolorization and degradation of the reactive dye Reactive Red 180 by *Citrobacter* sp. CK3. *International Biodeterioration & Biodegradation*, in press (doi: 10.1016/j.ibiod.2008.11.006)
- Won, S. W., Yun, H. J. and Yun, Y.S. 2009. Effect of pH on the binding mechanisms in biosorption of Reactive Orange 16 by *Corynebacterium glutamicum*. *Journal of Colloid and Interface Science*, 331:83-89.