

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**FENOL BİYOREMEDİASYONUNDA KARIŞIK VE SAF KÜLTÜRLERİN
KULLANIMI**

Gülden KAPLAN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2020**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Gülden KAPLAN tarafından hazırlanan “**Fenol Biyoremediasyonunda Karışık ve Saf Kültürlerin Kullanımı**” adlı tez çalışması 14/02/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliğı ile Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı’ nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



Jüri yeleri:

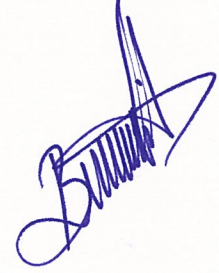
Başkan: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



ye : Prof. Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



ye : Doç. Dr. Burcu ERTİT TAŐTAN
Gazi Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu



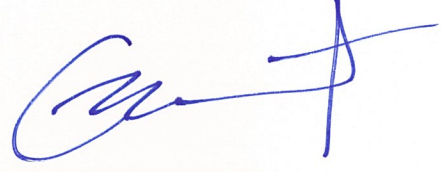
Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Özlem YILDIRIM
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.

14.02.2020



Gülden KAPLAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FENOL BİYOREMEDIASYONUNDA KARIŞIK VE SAF KÜLTÜRLERİN KULLANIMI

Gülden KAPLAN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ

Teknolojinin ve endüstrinin önüne geçilmez bir hızla büyümesiyle birlikte çevre de aynı hızla kirletilmektedir. Günümüzde sanayi kuruluşlarında arıtım tesisleri ya yetersiz ölçekte bulunmakta veya hiç bulunmamaktadır. Çevre kirliliğinin giderilmesinde farklı kimyasal yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler hem pahalı hem de ikincil kirliliğe neden olmaktadır. Artık uygulanması gereken biyoremediasyon kabiliyetine sahip mikroorganizmalarla arıtım yapmaktır. Bu şekilde arıtımı yapılan toksik maddeler aromatik bileşiklerden (fenolik maddeler vb.) ağır metallere (krom, nikel, bakır vb.) uzanan geniş bir yelpazeyi içermektedir. Tez çalışmasında petrolle kontamine olmuş toprak (Botaş, Adana, Türkiye), bor işleme fabrikası atıksuyu (ETİ Maden İşletmeleri, Kütahya, Türkiye) ve ilaç fabrikası atık suyu (Vilsan, Veteriner İlaçları, Ankara, Türkiye) gibi farklı kaynaklardan alınan örneklerden fenolü parçalayan karışık ve saf kültürler elde edilmiştir. En yüksek oranda fenol biyoremediasyonu yapan karışık kültür belirlenmiş ve bu karışık kültürden saf kültürlerin izolasyonu sağlanmıştır. Hem karışık kültürlerin hem de saf kültürlerin fenolü ortamdan uzaklaştırma kapasiteleri belirlenerek, en etkili şekilde biyoremediasyon yapabilen mikroorganizma veya mikroorganizmalar seçilmiştir. Ortamda kalan fenol miktarı, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile analiz edilmiştir. Karışık ve saf kültürlerin fenol giderim oranları karşılaştırılarak fenol biyoremediasyonunda en etkili kullanım kapasitesine sahip kültür belirlenmiştir.

Şubat 2020, 36 sayfa

Anahtar Kelimeler : Karışık kültür, fenol, biyoremediasyon, atıksu, arıtım

ABSTRACT

Master Thesis

THE USAGE OF MIXED AND PURE CULTURES IN PHENOL BIOREMEDIATION

Gülden KAPLAN

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

Supervisor: Prof. Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ

With an unstoppable increasing rapid growth of technology and industry, environment is contaminated at the same rate. Nowadays, in industrial treatment plants are either insufficient or no scale available. Different chemical methods are used in treatment of environmental pollution. These methods are expensive and cause secondary pollution. Now, treatment should be done with microorganisms having bioremediation capability. Toxic materials treating in this way comprises a wide range from aromatic compounds (phenolic compounds, etc.) to heavy metals (chromium, nickel, copper, etc.). Under the project to obtain phenol degrading mixed and pure cultures from different samples taken from a variety of sources like oil-contaminated soil (Botas, Adana, Turkey), boron processing factory wastewater (ETI Mine, Kutahya, Turkey) and pharmaceutical factory waste water (Vilsan, Veterinary Medicine, Ankara, Turkey) was aimed. Mixed cultures with the highest rate of phenol bioremediation were identified and pure cultures were isolated from this mixed culture. Microorganisms capable of bioremediation in the most effective manner were selected by determining the phenol removal capacities of both mixed cultures and pure cultures. The residual phenol amount remaining in the medium was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). With comparison the phenol removal rates of mixed and pure cultures, the culture having the most effective usage capacity in phenol bioremediation was determined.

February 2020, 36 pages

Key Words : Mixed culture, phenol, bioremediation, waste water, treatment

TEŞEKKÜR

Tez alışmamsüresince yanımda olan ve bana her konuda destek veren, alışmalarımın yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesi aşamasındayardımlarımı esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Nur Koçberber KILIÇ'a,

Tez çalışmalarım sırasında engin deneyimlerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ'e, Prof. Dr. Sevgi Ertuğrul KARATAY'a,

Hep arkamda olan ve hep desteklerini aldığım tüm aileme ve arkadaşlarıma,

Sonsuz şükran ve teőekkürlerimi sunarım.

Bu yüksek lisans tez alışması, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 13L4240011 proje numaralı "Fenol Biyoremediasyonunda Karışık ve Saf Kültürlerin Kullanımı" konulu bilimsel araştırma projesi ile desteklenmiştir.

Gülden KAPLAN
Ankara, şubat 2020

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	
ETİK	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1 Atıksular ve Özellikleri.....	3
2.2 Fenol ve Özellikleri	3
2.3 Fenolün Canlılar ve Çevre Üzerinde Etkileri.....	5
2.4 Biyoremediasyon	6
2.4.1 Fenol Biyoremediasyonu	7
3. MATERYAL ve YÖNTEM	10
3.1 Materyal	10
3.1.1 Fenol biyoremediasyonu yapan karışık mikrobiyel kütle eldesi	10
3.2 Yöntem	10
3.2.1 En yüksek verimle fenol biyoremediasyonu yapabilen karışık kültürün seçimi	10
3.2.2 Karışık mikrobiyel kültürün fenol biyoremediasyon kapasitesinin belirlenmesi ve optimizasyonu.....	11
3.2.3 pH'ın fenol biyoremediasyonuna etkisi.....	11
3.2.4 Başlangıç fenol konsantrasyonunun fenol biyoremediasyonuna etkisi.....	11
3.2.5 Başlangıç biyokütle konsantrasyonunun fenol biyoremediasyonuna etkisi ...	11
3.2.6 Fenol biyoremediasyonu yapan karışık kültürlerden saf kültürlerin izolasyonu	12
3.2.7 Saf kültürlerin fenol giderim kapasitelerinin belirlenmesi	12
3.3 Analitik Yöntemler	12
3.3.1 Mikroorganizma miktarının belirlenmesi	12
3.3.2 Fenol miktarının belirlenmesi	12
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	13
4.1 Fenol Biyoremediasyonda Kullanılan Karışık Mikrobiyel Kütle.....	13
4.2 Karışık Mikrobiyel Kültürlerin Fenol Biyoremediasyon Kapasitesinin Belirlenmesi ve Optimizasyonu.....	14
4.2.1 pH'ın fenol biyoremediasyonu üzerine etkisi	14
4.2.2 Artan fenol konsantrasyonlarının kirleticinin giderimine etkisi	14
4.2.3 Artan biyokütle oranının fenol biyoremediasyonuna etkisi.....	19
4.3 Karışık Kültürlerden Saf Kültürlerin İzolasyonu ve Fenol Giderim Çalışmaları.....	25
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	28

KAYNAKLAR	31
ÖZGEÇMİŞ.....	36



SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat derece
KH ₂ PO ₄	Mono potasyum fosfat
(NH ₄) ₂ SO ₄	Amonyum sülfat
MgSO ₄	Magnezyum sülfat
CaCl ₂	Kalsiyum klorür
OH ⁻	Hidroksil molekülü
UV	Ultraviyoleet ışını

Kısaltmalar

HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
C ₀	Fenol konsantrasyonu
q _m	Biyokütlenin gramı başına giderilen fenol konsantrasyonuna etkisi
X _m	Kültürün kuru ağırlığı
C _{ad}	Kültürünün ortamdan uzaklaştırdığı fenol miktarı
BT	Botaş, Adana, Türkiye (Petrolle kontamine olmuş toprak)
BW	ETİ Maden İşletmeleri, Kütahya, Türkiye (Bor işletme fabrikası atıksuyu)
DMW	VilsanVeteriner İlaçları, Ankara, Türkiye (İlaç fabrikası atıksuyu)
MSM	Mineral tuzbesiyeri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Fenolün kimyasal yapısı.....	4
Şekil 2.2 Fenollerin adlandırılması.....	5
Şekil 4.1 pH'ın karışık mikrobiyel kültürlerin fenol degradasyonuna etkisi.....	15
Şekil 4.2 Artan fenol konsantrasyonunun BW karışık mikrobiyel kültürünün fenol degradasyonuna etkisi.....	16
Şekil 4.3 Artan fenol konsantrasyonunun BT karışık mikrobiyel kültürünün fenol degradasyonuna etkisi.....	18
Şekil 4.4 BW karışık kültürünün artan biyokütle miktarlarının fenol degradasyonuna etkisi.....	20
Şekil 4.5 BT karışık kültürünün artan biyokütle miktarlarının fenol degradasyonuna etkisi.....	21

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Farklı karışık kültürlerin fenol biyoremediasyon kapasiteleri	13
Çizelge 4.2 Artan fenol konsantrasyonlarının BW karışık kültürünün ortamdan uzaklaştırdığı fenol miktarı, kültürün kuru ağırlığı ve biyokütlenin gramı başına giderilen fenol konsantrasyonuna etkisi	23
Çizelge 4.3 Artan fenol konsantrasyonlarının BT karışık kültürünün ortamdan uzaklaştırdığı fenol miktarı, kültürün kuru ağırlığı ve biyokütlenin gramı başına giderilen fenol konsantrasyonuna etkisi	24
Çizelge 4.4 BW ve BT karışık kültürlerinden elde edilen saf kültürlerin fenol giderim kapasiteleri	27



1. GİRİŞ

Günümüzün en büyük problemlerinin başında çevre kirliliği gelmektedir. Bu kirliliği oluşturan etmenler endüstriyel üretim yapan sayısız kuruluştan kaynaklanmaktadır. Endüstriyel atık suların kısmi olarak arıtılıp veya hiç arıtılmadan çevreye verilmesi o ortamda bulunan diğer bütün organizmaları da olumsuz yönde etkilemektedir. Nehir, göl, deniz ve okyanuslara kadar ulaşan böyle kirli sular aromatik halkaya sahip hidrokarbonları (fenol ve türevleri, çeşitli boyar maddeler vb.) içermektedir. Bilindiği gibi fenol ve fenol türevleri gibi kirleticiler oldukça toksik ve karsinojen bileşikler içermektedir. Fenolün aromatik yapısı nedeniyle parçalanması zor, oldukça kararlı ve karsinojen olduğu bilinmektedir. Bu kimyasal toksik olmasına rağmen petrol ürünleri, ilaç sanayi, tekstil endüstrisi, boya ve mürekkep üretimi, kozmetik ve çeşitli dezenfektan türevleri gibi birçok çeşitli endüstriyel üretim alanlarında kullanılmaktadır. Bu denli yaygın kullanım alanına sahip, bu toksik bileşiğin çevrede oluşturacağı kirlenme de kaçınılmaz olmaktadır. Bu tip kirleticileri içeren atık suların mutlak suretle arındırılarak deşarj edilmesi gerekmektedir. Bununla birlikte, bu tip atık suların içerdiği fenolik maddeler biyolojik arıtım sistemlerinde kullanılan mikroorganizmalara da zarar vermektedir. Günümüzde artık endüstriyel atık suların arıtımında biyoremediasyon yeteneği olan mikroorganizmalar tercih edilmektedir.

Biyoremediasyonda kullanılan canlılar metabolizmalarıyla kirleticileri ortamdan uzaklaştırabilen dirençli mikroorganizmalardır. Biyoremediasyon, diğer geleneksel arıtım yollarına göre daha ekonomik, güvenli, uygulanması kolay ve pratik bir yöntemdir. Bu özellikleriyle biyoremediasyon, günümüzün ve geleceğin en gerekli çevreyi temizleme ve koruma yoludur. Son yıllarda birçok bilimsel araştırma fenol gibi toksik maddelerin biyoremediasyon ile uzaklaştırılması üzerine odaklanmaktadır. Böylesine yaygın kullanılan fenolik bileşiklere dirençli mikroorganizmaların izolasyonu ve biyoremediasyon çalışmalarında karışık ve saf kültürler halinde kullanım kapasitelerinin belirlenmesi çok büyük önem taşımaktadır. Çalışmanın amacı, endüstriyel kullanım sahası oldukça fazla olan fenolün uzaklaştırılmasında kullanım potansiyeline sahip dirençli kültürler elde etmek, bu kültürleri karışık ve saf halde fenol

biyoremediasyonunda kullanmak ve biyoremediasyonu farklı ortam koşullarında optimize etmektir.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Atıksular ve Özellikleri

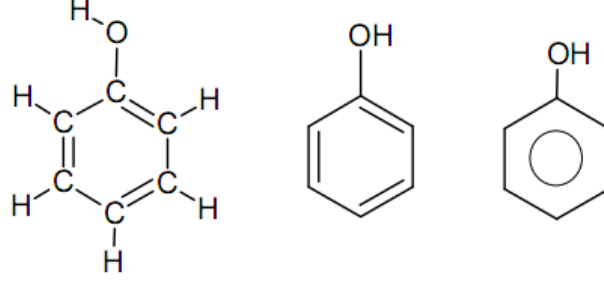
İnsanoğlu teknoloji ile iç içe yaşamakta ve teknolojinin her geçen gün ilerlemesi ile hayat kalitesini artırmaktadır. Teknolojinin gelişimi sanayinin, endüstrinin ve her türlü üretimin artışını körüklemektedir. Bu büyüme insanlığın bir yandan hayatını kolaylaştırırken, diğer yandan doğayı çok büyük bir hızla tüketmektedir. Doğanın yaşam kaynaklarının başında gelen su ise böylece gün geçtikçe azalmaktadır. Dünyamızın büyük bir kısmı su ile çevrili olsa da kullanılabilir su kaynaklarımız oldukça sınırlıdır. Sınırlı olan suyun da artan dünya nüfusu ile tarımsal, evsel endüstriyel ve diğer kullanım alanlarında hızla tüketimi sonucu özelliklerinin değişmesi veya kirlenmiş olması sonucunda meydana gelen atıksular, endüstriyel ve evsel olmak üzere iki grupta incelenmektedir. Evsel atık sular; oteller ve konutlar gibi yerleşim birimlerindeki suyun kullanımı sonucunda kirlenmiş kanalizasyon sularıdır. Evsel atık sularda bulunabilecek organik bileşikler ve deterjanlar gibimaddeler en büyük kirlilik etmenlerini oluşturmaktadır. Endüstriyel atıksuların özellikleri ilaç, kozmetik, tekstil, boya, hammadde ve üretim gibi birçok alanlara göre oldukça farklılıklar göstermektedirler.

Endüstriyel büyüme nedeniyle hızla kirlenmesi nedeniyle, giderek azalan yaşam kaynağımız suyu koruma altına almak zorunda olduğumuzu göstermektedir. Su kaynaklarının kirlenmesinin nedenleri arasında özellikle endüstriyel atıksular başı çekmektedir. Kömür ocakları, zeytin yağı ve demir çelik işletmeleri faaliyetleri, boya, kağıt, parfüm, tekstil ve deterjan üretimi sonucunda oluşan atık sular yüzlerce farklı kirleticiyi içermektedir. Bunlar özellikle aromatik bileşikler, hidrokarbonlar ve fenol ve türevleri gibi organik kirleticilerdir.

2.2 Fenol ve Özellikleri

Fenol, benzen halkası olarak adlandırılan yapıya bir veya daha çok OH⁻ molekülünün bağlanmasıyla oluşan aromatik yapıya bir bileşiktir. Saf hali, renksiz veya beyaz-pembe

arası katı kristal bir görünümündedir. Su ile karşılaştırılınca çok yavaş buharlaşmaktadır ve yanıcı olduğu bilinmektedir. “Hidroksi benzen” adıyla da bilinen bir aromatikbileşik olan fenolün kimyasal yapısı şekil 2.1 de gösterilmiştir.

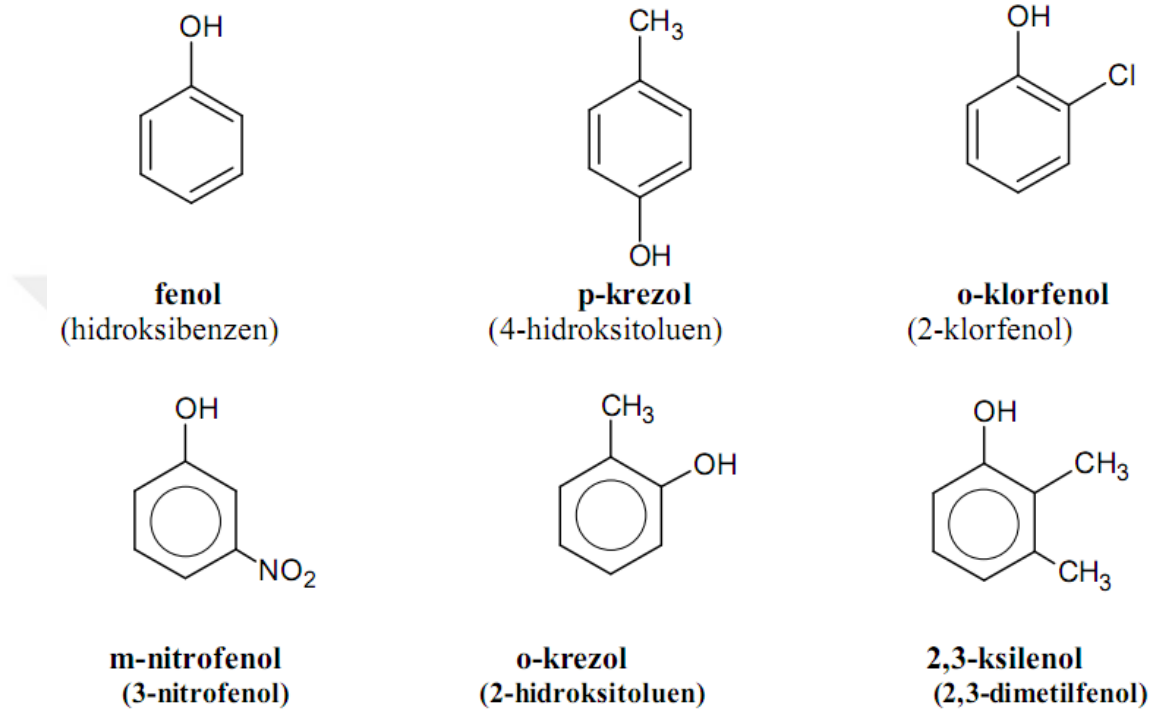


Şekil 2.1 Fenolün kimyasal yapısı

Fenol, benzen halkalı bileşiklere hidroksil grubunun eklenmesi ile oluşan sulu ortamlarda çözünürlüğü iyi olan “karbolik asit” veya “hidroksil benzen” de adı verilen bir aromatik bileşiktir. Çok yaygın bir kullanım alanına sahip olan fenol, organik kirleticiler arasında çok önemli bir yere sahiptir (Sandhu vd. 2009) .

Fenol, polikarbonat reçine, boyalar, patlayıcılar, mürekkepler, parfümler, antibakteriyal ajanlar, tekstil ürünleri ile petrokimya, petrol arıtımı ve plastik gibi birçok geniş endüstriyel alanlarda kullanılmaktadır (Movahedyan vd. 2009, Cao vd. 2011). Ayrıca ilaç ve tıp endüstrisinde kaprolaktam, bisfenol A, dezenfektanlar ve temizlik ekipmanı üretimi için preparatların üretiminde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Anonymous 1989). Zayıf asidik yapıya sahip olan fenolik bileşikler, genelde renk reaksiyonları ile tespit edilmektedirler. Demir klorür çözeltisi ile nötr ortamda mavi, yeşil, mor ve kırmızı renkli bileşikler olarak reaksiyon vermekteler. Fenol, buharı bulunduğu zaman toksiktir; saf halde çok tahriş edici, çok zehirli etkileri mevcuttur; su, alkol, kloroform, eter, gliserol gibi sıvılarda çözünebilmektedir. Fenol ile hazırlanan sulu çözeltiler antiseptik ve dezenfektan etki göstermektedir. Gram (+) ve Gram (-) bakteri gruplarına ve bazı mantarlara karşı çok etkili dezenfektan görevi görmektedir. Aromatik benzen halkalı yapıya sahip olan fenoller mono, di, tri ve poli hidrik olarak sınıflandırılmaktadır. Halkalı bir benzen yapısına tek bir (-OH) eklenmesiyle oluşan

monohidrik fenol bileşigi, sadece fenol olarak bilinmektedir. Toluenden türeyen monohidrik fenollere krezoller, ksilenden türeyen fenoller ise ksilenoller olacak şekilde adlandırılmaktadır. Bazı fenol gruplarının formülleri ve isimlendirme biçimleri şekil 2.2 de gösterilmiştir.



Şekil 2.2 Fenollerin adlandırılması

2.3 Fenolün Canlılar ve Çevre Üzerinde Etkileri

Fenolün düşük konsantrasyonlarında bile insanlar, bitkiler ve deniz yaşam alanları için toksik olması özelliği aromatik bileşikler gibi organik kirleticiler arasında önemli bir yere sahip olduğunu göstermektedir (Das ve Santra 2012, Ahmad vd. 2015). Örneğin; fenol balıklar için 5-25 mg/L konsantrasyonu öldürücü etkiye sahiptir (Nuhoğlu ve Yalçın 2005).

Fenol ile bazı aromatik bileşikler ve türevleri, hücre bölünme mekanizmalarında kontrol edilemeyen zararlı etkilere yol açarak özellikle balık ve memeliler grubu canlılar için çok tehlikelidirler ve karsinojen etkiye sahiptirler (Gaga 2004).

Fenol toksisitesinden dolayı, insanlarda, merkezi sinir sistemi bozuklukları, hipotermi, cilt hasarları, korneanın beyazlaması ve bazen tamamen körlük, hepatik hasarlar vb. bitki örtüsünde bozulma, besin alımında bozunma meydana gelebildiği bildirilmiştir (Naresh vd. 2012, Alber vd. 1989). Fenolün deney hayvanlarında iskelet için zararlı etkiler oluşturduğu raporlanmıştır. Ayrıca böbrek, karaciğer, kas ve gözleri tahriş ettiği, kromozomal anormallikler, DNA dizisinde ve DNA sentezinde değişikliğe ve hasarlara neden olduğu ve DNA replikasyonunu engellediği bilinmektedir (Michałowicz ve Duda 2007, Brown 2008). Bununla birlikte fenol, insan ve diğer canlı organizmaların salgıladığı endokrin mekanizmalarında tahribata yol açarak, canlı sağlığı olumsuz yönde etkilemektedir (Van Schie ve Yang 2000, Yang ve Lee 2007, Saravanan 2008). Klorofenollere maruz kalan insanlarda ise akciğer kanserinin tetiklendiği görülmüştür. Aynı şekilde p-kresolün de karsinojen olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Michałowicz ve Duda 2007).

2.4 Biyoremediasyon

Günümüz hızlı nüfus artışı ile gelişen teknoloji, endüstriyel sanayileşme sonucu oluşan atık suların kirliliği gibi çok önemli problemleri de beraberinde getirmiştir. Bu kirliliği oluşturan başlıca maddelerden fenol ve türevleri gibi aromatik bileşikler de içeren hidrokarbonların giderilmesi yollarına başvurulmuştur. Bu tip bileşiklerin arıtılması için çeşitli yöntemler araştırılmaktadır. Bu yöntemler fiziksel, kimyasal ve biyolojik olmak üzere çeşitli arıtım tekniklerini içermektedir. Bu şekilde geliştirilen metotlardan mikroorganizmalar vasıtasıyla uygulanabilen biyolojik arıtım yolu olan biyoremediasyon avantajları nedeniyle tercih edilmektedir.

Biyoremediasyon, çevresel alanlarda bulunan tehlikeli atıkların giderilerek toksik olmayan veya daha az zararlı bileşiklere dönüştürülmesinde maya, bakteri veya fungus

gibi canlı mikroorganizmaların kullanıldığı biyolojik bir arıtım yöntemidir (Strong ve Burgess 2008).

Günümüzde teknolojinin ilerlemesi ve sanayileşme faaliyetlerinin artışı ile zehirli atıklar, petrol ve türevleri, aromatik bileşikler, fenolik bileşikler, gıda maddeleri, sanayi fabrika atıkları gibi çeşitli atık ürünleri çevre kirliliğinde neden olan büyük problemlerden biri haline gelmiş, çevreye, insanlara ve diğer canlılar üzerinde zararlı, tehlikeli, toksik ve karsinojen etkiler gösteren kimyasallar toprakta, havada ve suda önüne geçilemez şekilde artmıştır. Biyoremediasyon bu tip atıkların bertaraf edilmesinde en etkili biyolojik arıtım yöntemi olarak nitelendirilmektedir (Alexander 1999). Günümüz çevre kirliliği sorununun çözümlenmesini sağlayacak faydalı, etkili, kolay ve maliyeti fazla olmayan biyoremediasyon, aromatik hidrokarbonlar, fenol ve türevleri gibi bileşikler ile kirlenmiş özellikle atıksuların arıtılması için gelecek vaadedilen biyoteknolojik çalışmaları gündeme taşımıştır (Arjoon vd. 2013). Böylelikle, çevre biyoteknolojisi çalışmalarında biyolojik arıtım ve biyoremediasyon ile insan, hayvan ve tüm canlılar ile çevre sağlığını korumaya yardımcı olarak sürekli iyileştirme ve geliştirme çalışma faaliyetleri olarak değerlendirilmekte ve tercih edilmektedir (Syakti vd. 2013).

2.4.1 Fenol Biyoremediasyonu

Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda, atık sulardan fenolik maddelerin kimyasal yollarla uzaklaştırıldığı gösterilmiştir (Carmona vd. 2006; Wu vd. 2000; Lazarova ve Boyadzhieva 2004). Ancak bu yöntemler ikincil bir çevre kirliliğine ve yüksek maliyete neden olmaktadır. Ayrıca çevre dostu yöntemler olmadığı için tehlikeli ve zararlı sonuçlar ortaya çıkardığı için tam verimli bir arıtım sağlayamamaktadır (Yan vd. 2006, Bai vd. 2007, Zhai vd. 2012). Ayrıca, fenolik bileşikler aromatik benzen halkalı yapılarından kaynaklanarak biyolojik parçalanmaya da oldukça direnç göstermektedirler.

Bununla birlikte biyoremediasyon yeteneği olan mikroorganizmalar sayesinde fenolik bileşiklerin atık sulardan temizlenebildiği bilinmektedir. Bilimsel çalışmalar da bu yöne

doğru ivme kazanmıştır. Çünkü biyoremediasyon diğer arıtım yolları gibi ikincil kirliliğe yol açmadan, çevre dostu, pratik ve daha maliyeti düşük bir şekilde kirleticileri ortamdandan uzaklaştırmamızı sağlamaktadır. Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda farklı mikroorganizmaların fenol ve türevlerini içeren ortamlarda gelişebildiği ve bu aromatik bileşikleri besin, enerji ve karbon kaynağı olarak kullanabildiği gösterilmiştir (Van Schie ve Yang 2000, Tuah vd. 2009). Aerobik koşullarda meydana gelen biyodegradasyonda primer aşama olarak fenol hidroksilaz enzimi kullanılır. Sonuçta ara ürün olarak katekol oluşmaktadır. Ara ürün olan katekol ise meta parçalanma veya orto paralanmayolu olmak üzere iki şekilde yıkıma uğrayabilmektedir. Bu iki metabolik durumda da çeşitli enzimatik aşamaların ardından oluşan son ürünler Krebs döngüsüne eklenerek parçalanma işlemi devam etmektedir (Van Schie ve Yang, 2000). Bu yolla parçalanmaya karşı dirençli olan fenolik maddeler mikroorganizmalar sayesinde CO₂ ve H₂O ya kadar indirgenmektedir (Loh ve Chua 2002).

Fenolü bakteriler, funguslar, mayalar ve mikroalglerin parçaladığı bilinmektedir (Scragg 2005). Mikroorganizmalar fenolik bileşik biyoyıkımında saf kültürler halinde tek tek kullanıldığı gibi birkaç saf kültür karıştırılıp konsorsiyum şeklinde veya birçok mikroorganizma içeren karışık kültür şeklinde kullanılmaktadır (Nakhli vd. 2014, Kılıç ve Dönmez 2013, Pradhan vd. 2012, Tobajas vd. 2012, Begum ve Radha 2011, Chandra vd. 2011, Bajaj vd. 2009, Cordova-Rosa vd. 2009, Kılıç 2009).

Mikroorganizmalar tarafından aerobik fenol biyodegradasyonu iyi bilinmektedir. Özellikle *Pseudomonas* türlerinde yapılan yaygın çalışmalarda fenolü bu şekilde parçaladığı görülmüştür (Powlowski ve Shingler 1994, Kumar vd. 2005, Kulkarni ve Chaudhari 2006, Kotresha ve Vidyasagar 2008). Diğer bakteri gruplarında ise örnek olarak *Rhodococcus spp.* (Margesin vd. 2005), *Bacillus brevis* (Arutchelvan vd. 2006), ve *Alcaligenes sp.* (Nair vd. 2007) alışmalarında fenol giderimi incelenmiştir. Mantarlarda ise *Candida tropicalis* (Yan vd. 2006), *Phanerochaete chrysosporium* (Pérez vd. 1997) ve *Penicillium chrysogenum* (Leitão vd. 2007) türlerinde yapılan çalışmalarda fenolü parçaladıkları gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmalara ek olarak, *Ochrobactrum sp.* (Kılıç 2009) gibi mikroorganizmaların da bu aromatik kirleticiyi

biyolojik yolla parçaladığını çeşitli araştışıcılar göstermiştir. *Rhodococcus cercidiphyllus*, *Arthrobacter sulfureus* ve *Pimelobacter simplex* gibi mikroorganizmaların ise dūřuk sıcaklıklarda n-alkanları, fenolü ve antrasen, piyren gibi maddeleri parçalayabildiği Margesin vd. (2013) tarafından belirlenmiştir. Bir başka çalışmada, fenol ve m-kresol giderimi *Pseudomonas sp.*'nin baskın olduğu bir karışık kùltür ile yapılmıştır (Saravanan vd. 2008). Aynı çalışmada 600 ppm fenol ve 400 ppm m-kresolün tamamen mineralize edildiği belirtilmiştir. Lepik ve Tenno (2012) ise aktif çamur ile fenol, o-kresol ve p-kresolün ortamdan uzaklaştırıldığını göstermiştir. Bazı araştışıcılar siyanidle karışış fenol, kresol, ksilenol, kuinolin ve indol içeren atıksuları karışık mikrobiyel kùltür kullanarak arıtmayı başarmışlardır (Sharma vd. 2012). Bir başka çalışmada ise zenginleştirilmiş aktif çamur ile meta-fluorfenolün ortamdan uzaklaştırıldığı gösterilmiştir (Chaojie vd. 2007).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Fenol biyoremediasyonu yapan karışık mikrobiyel kütle eldesi

Farklı karışık mikrobiyel kültür elde etmek amacıyla petrolle kontamine olmuş toprak, BT (Botaş, Adana, Türkiye); bor işleme fabrikası atıksuyu, BW (ETİ Maden İşletmeleri, Kütahya, Türkiye) ve ilaç fabrikası atıksuyu, DMW (Vilsan, Veteriner İlaçları, Ankara, Türkiye) olmak üzere 3 farklı alandan su ve toprak örnekleri alınmıştır. Bu örneklerden karışık kültür elde etmek için 1 g/l glukoz ve 25 mg/l fenol içeren minimal besiyeri (pH 7) hazırlanmıştır.

Minimal besiyerinin (MSM) içeriği;

KH_2PO_4 , 1.7 g/l; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2.69 g/l; MgSO_4 , 0.2 g/l; ve CaCl_2 , 0.03 g/l şeklindedir (Afzal vd.2007).

Her bir örnekten 1 ml, 20 ml besiyeri içeren 50 ml lik erlenlere inoküle edilerek 30 °C’ de geliştirilmiştir. Fenol konsantrasyonu artırılarak, farklı karışık mikrobiyel kültürler zenginleştirme yolu ile elde edilmiş ve mikrobiyel kültürlerin fenole adaptasyonları sağlanmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 En yüksek verimle fenol biyoremediasyonu yapabilen karışık kültürün seçimi

Geliştirilen BT, BW ve DMW karışık kültürlerinden en yüksek verimle fenol biyoremediasyonu yapabilen karışık kültürleri saptamak için denemeler yapılmıştır. Bu denemelerde 250 ml’lik erlenlere 101.7 mg/l fenol içeren 100 ml minimal besiyerleri (pH 7) kullanılmıştır. Yedi gün inkübasyonu yapıldıktan sonra ortamdaki kalan kirletici konsantrasyonu ölçülmüştür. Çalışmalara en yüksek verimle fenol giderimi yapan karışık kültür ile devam edilmiştir.

3.2.2 Karışık mikrobiyel kültürün fenol biyoremediasyon kapasitesinin belirlenmesi ve optimizasyonu

En yüksek verimle fenol giderimi yapan BT ve BW karışık kültürleri ile çalışmalara devam edilmiştir. Çalışmaların bu aşamasında karışık mikrobiyel kültürlerin fenol giderimine; pH'ın, başlangıç fenol konsantrasyonunun ve başlangıç biyokütle konsantrasyonunun etkileri araştırılmıştır.

3.2.3 pH'ın fenol biyoremediasyonuna etkisi

pH'ın fenol biyoremediasyonuna etkisini belirlemek için, 250 ml'lik erlenlerde farklı pH değerlerine (pH 5, 6, 7, 8 ve 9) ayarlanmış 100 ml minimal besiyerleri (yaklaşık 100 mg/l fenol ve 1g/l glukoz içeren) hazırlanmıştır. Yapılan denemelere en yüksek oranda fenol biyoremediasyonu yapılan pH değerine sahip ortamla devam edilmiştir.

3.2.4 Başlangıç fenol konsantrasyonunun fenol biyoremediasyonuna etkisi

Seçilen pH değerine sahip, 1 g/l glukoz ve sırasıyla 159.4 mg/l, 221.6 mg/l, 291.9 mg/l, 400.4 mg/l, 497.6 mg/l, 594.6 mg/, 782.9 mg/l, 997.5 mg/l fenol içeren minimal besiyerleri, artan fenol konsantrasyonun fenol giderimine etkisini görmek amacıyla 250 ml'lik erlenlerde 100 ml olarak hazırlanmıştır. Karışık kültürlerin en fazla kaç mg/l fenolü mineralize edebildiği bu deneyler sonucunda belirlenmiştir.

3.2.5 Başlangıç biyokütle konsantrasyonunun fenol biyoremediasyonuna etkisi

Seçilen pH değerine sahip, 1 g/l glukoz içeren ve en iyi gideriminin yapıldığı fenol konsantrasyonunu içeren 100 ml'lik minimal besiyerleri 250 ml'lik erlenlerde hazırlanmıştır. Bu ortama %0.5 (v/v), %1 (v/v), %2 (v/v) ve %3 (v/v) olacak şekilde zenginleştirilmiş biyoküteller inoküle edilmiştir. Böylece yapılan çalışmalar sonunda en yüksek verimle biyoremediasyon yapan biyokütle miktarı saptanmıştır.

3.2.6 Fenol biyoremediasyonu yapan karışık kültürlerden saf kültürlerin izolasyonu

Seçilen BT ve BW karışık kültürlerinin içerdiği saf kültürleri izole etmek amacıyla pH'ı 7 olan ve 200 mg/l fenol içeren agarlı minimal besiyerleri hazırlanmıştır. Bu besiyerlerine çizgi ekim yapılarak 30°C de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu süreç sonunda morfolojisi farklı olan saf kültürler elde edilmiştir.

3.2.7 Saf kültürlerin fenol giderim kapasitelerinin belirlenmesi

Elde edilen saf kültürlerin 250 ml'lik erlenlerde 100 ml olarak hazırlanan minimal besiyerlerinde (C_0 : 200.3 mg/l fenol; pH: 7) kirletici uzaklaştırma kapasiteleri belirlenmiştir.

3.3 Analitik Yöntemler

3.3.1 Mikroorganizma miktarının belirlenmesi

İnkübasyon süresince mikroorganizma miktarının belirlenmesi için belirli sürelerde erlenlerden 5 ml'lik örnekler alınmıştır. Bu örnekler, 10 dakika süre ile 5000 rpm de santrifüjlenmiş ve optik yoğunluk spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda belirlenmiştir.

3.3.2 Fenol miktarının belirlenmesi

İnkübasyon süresince belirli aralıklarla alınan 5 ml'lik örnekler 10 dakika süre ile 5000 rpm de santrifüjlenmiş ve biyokütlenin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Süpernatanttaki fenol konsantrasyonunu belirlemek için HPLC analizi yapılmıştır. HPLC analizinde C18 kolonu (partikül büyüklüğü: 5 μ m; iç çap: 250 mm x 4.6 mm; akış hızı 1ml/dk; UV dedektör (275 nm); mobil faz: asetonitril:su karışımı) kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1 Fenol Biyoremediasyonda Kullanılan Karışık Mikrobiyel Kütle

Üç farklı ortamdan alınan örneklerden sağlanan karışık mikrobiyel kültürlerin fenol biyoremediasyon kapasitelerinin belirlemek için 250 ml'lik erlenlere yaklaşık olarak 100 mg/l fenol içeren pH'ı 7 olan 100 ml minimal besiyerleri hazırlanmıştır. Yedi günlük inkübasyon periyodu sonunda besiyeri içeriğinde kalan fenolün miktarına HPLC analizi ile belirlenmiştir.

En yüksek verimle fenol biyoremediasyonu yapan karışık mikrobiyel kültür belirlenerek deneylere bu kültürle devam edilmiştir. Yapılan deneme çalışmalarındaki sonuçlar Çizelge 4.1'de yer almaktadır. Üç karışık kültürden en düşük verim DMW karışık kültüründen alındığından, çalışmalara diğer iki karışık kültür olan BT ve BW ile devam edilmiştir. BT karışık kültürü ortamdaki fenolün tamamını giderirken, BW ise %99.7'sini giderebilmiştir.

Çizelge 4.1 Farklı karışık kültürlerin fenol biyoremediasyon kapasiteleri (C₀: 101.7 mg/l; T: 30°C; İnkübasyon süresi: 7 gün)

Karışık Kültür	Fenol biyoremediasyonu (%)
DMW	90.0
BT	100.0
BW	99.7

4.2 Karışık Mikrobiyel Kültürlerin Fenol Biyoremediasyon Kapasitesinin Belirlenmesi ve Optimizasyonu

4.2.1 pH'ın fenol biyoremediasyonu üzerine etkisi

Mikrobiyel gelişmeyi etkileyen en önemli faktörlerden birisi ortamın pH değeridir. Fenol remediasyonunu yapan karışık kültürlerin üzerine pH'ın etkisini görebilmek amacıyla deneylerde kullanılan besiyerlerinin pH'ları 5, 6, 7, 8 ve 9 olmak üzere 5 farklı değere ayarlanmış ve denemeler yapılmıştır. Denemeler için 250 ml'lik erlenlere yaklaşık 100 mg/l fenol ve 1 g/l glukoz içeren 100 ml minimal besiyerleri hazırlanmıştır. İnkübasyon süresi sonunda ortamdaki kalan fenol miktarı belirlenmiştir.

BT ve BW karışık kültürlerinin yaklaşık 100 mg/l fenol içeren besiyerindeki fenol giderim kapasiteleri Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

BW karışık kültürü besiyeri pH'ı 6 iken %98.9, pH 7 ve 8 değerlerindeyken ise %100 verimle fenol giderimi yapmıştır. Ortam pH'ı 9'a ayarlandığında ise BW karışık kültürünün fenol giderim oranı %32.2'ye düşmüştür. Bu pH ortamında geliştirilen mikrobiyel kültür alkali olmasından olumsuz etkilenmiştir. Aynı şekilde pH 5'e ayarlanarak yapılan denemelerde de kültür olumsuz etkilenerek fenol giderim oranı %58'e düşmüştür.

Kullanılan diğer karışık kültür olan BT için farklı pH'lardaki fenol giderim kapasiteleri karşılaştırıldığında ise sadece ortamın pH'ı 9 olarak ayarlandığında fenol gideriminin %4.6 değerine düştüğü gözlemlenmiştir. pH değeri 5 iken %97.9, pH değeri 6 iken %99.9 oranında fenol giderimi yaptığı saptanmıştır. Ortam pH'ı 7 ve 8 olduğunda ise BT karışık kültürünün fenol giderimi %100 olmuştur.

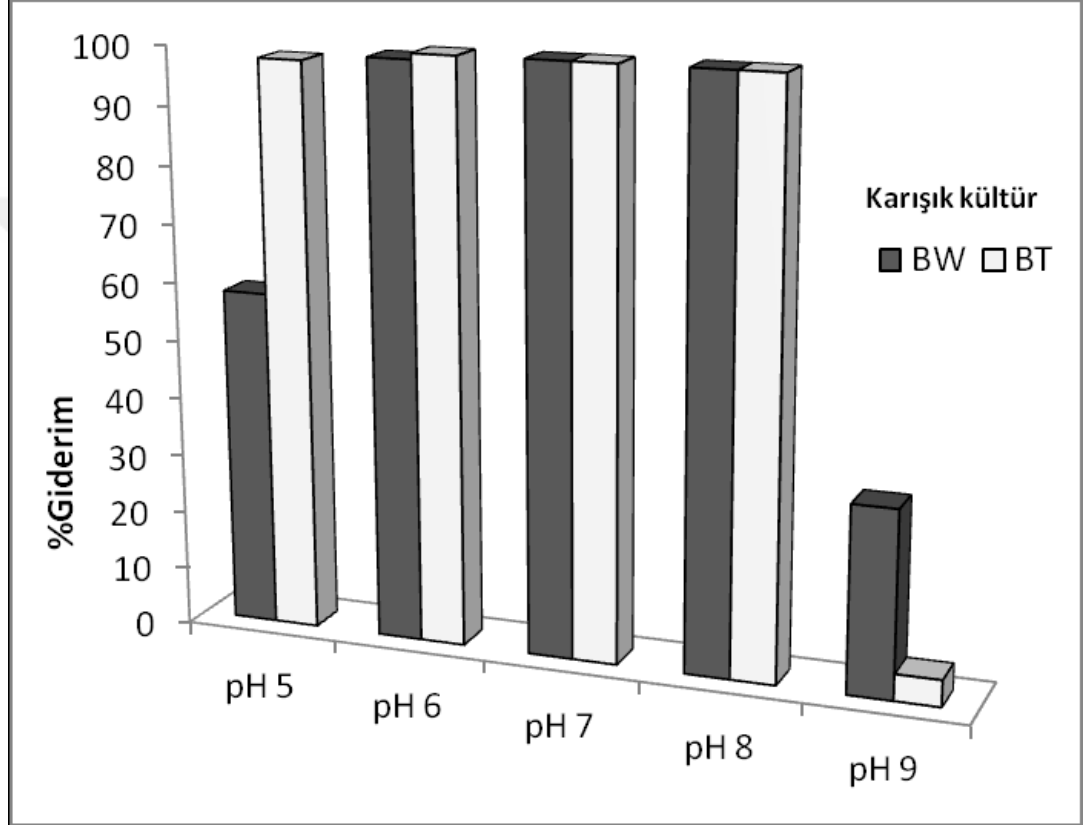
Yapılan denemelerden elde edilen sonuçlara göre ortam pH değeri 7 olarak seçilip denemelere devam edilmesine karar verilmiştir.

4.2.2 Artan fenol konsantrasyonlarının kirleticinin giderimine etkisi

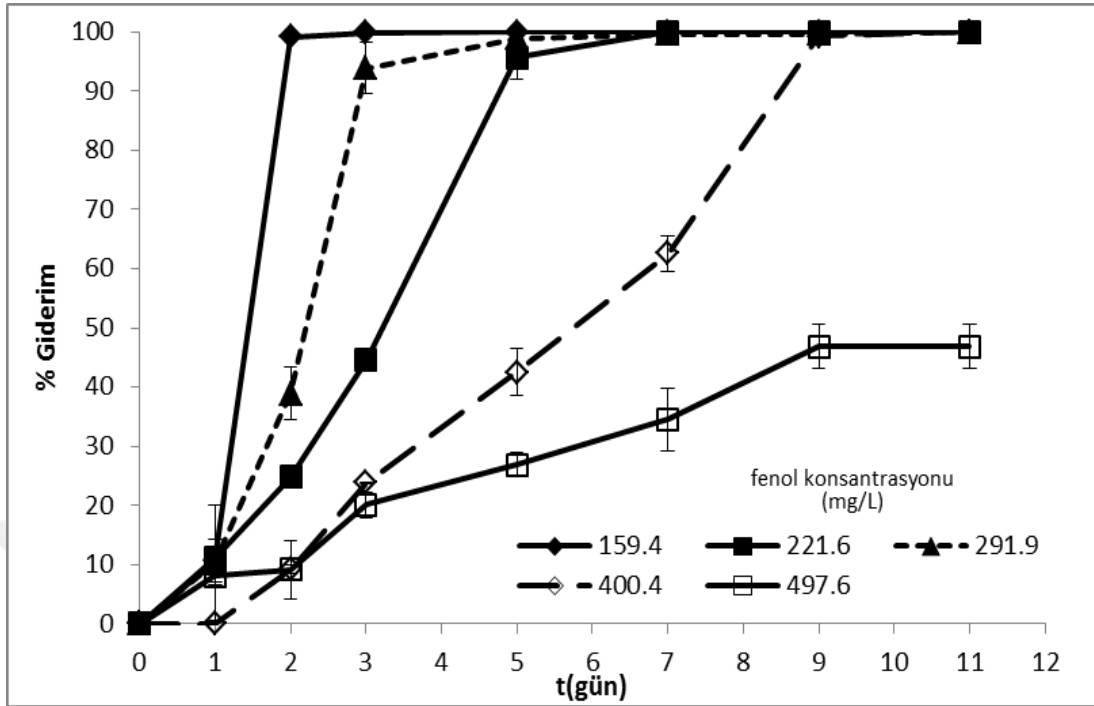
Farklı başlangıç fenol konsantrasyonlarının biyogiderim üzerine etkisini araştırmak amacıyla seçilen pH derecesine (pH 7) sahip minimal besiyerleri 159.4, 221.6, 291.9,

400.4, 497.6, 594.6, 782.9, 997.5 mg/l fenol ve 1 g/l glukoz içecek şekilde 100 ml olarak 250 ml'lik erlenlerde hazırlanmıştır. Karışık kültürlerin en çok ne kadar mg/l fenolü giderebildiği bu aşamada yapılan deneylerle belirlenmiştir.

BW karışık kültürünün artan fenol konsantrasyonlarında gerçekleştirdiği fenol giderim miktarı Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 pH'nin karışık mikrobiyel kültürlerin fenol degradasyonuna etkisi (pH 5-C₀: 92.6mg/l, pH 6-C₀: 107.3 mg/l, pH 7-C₀: 106.7 mg/l, pH 8-C₀: 105 mg/l, pH 9-C₀: 99 mg/l; T: 30°C; İnkübasyon süresi: 7 gün)



Şekil 4.2 Artan fenol konsantrasyonunun BW karışık mikrobiyel kültürünün fenol degradesyonuna etkisi (pH 7; T: 30°C; İnkübasyon süresi: 11 gün)

BW karışık kültürü en fazla yaklaşık 600 mg/l fenol konsantrasyonuna kadar gelişebilmiş olup 600 mg/l ve üstü fenol konsantrasyonlarında mikroorganizmalar olumsuz olarak etkilenmiştir. Denemelerde BW karışık kültürü 159.4 mg/l fenol içeren besiyerinde fenolün yaklaşık %10'unu inkübasyonun birinci gününde uzaklaştırırken, beşinci gününde ise tamamının giderimini gerçekleştirmiştir.

Fenol konsantrasyonu 221.6 mg/l olarak ayarlanan besiyerinde BW karışık kültürü ortamdaki fenolün yaklaşık %10'unu ilk gün uzaklaştırırken, kirleticinin tamamının giderimini sağlması inkübasyonun yedinci gününde gerçekleşmiştir.

Fenol konsantrasyonu 291.9 mg/l olan ortamda geliştirilen mikroorganizmalar uygulanan fenolün %100 verimle giderimini sağlamıştır. Bu giderimin tamamlanması inkübasyonun yedinci gününde gerçekleşmiştir.

Kirletici fenol konsantrasyonunun 400.4 mg/l olduğu durumda ise kirleticinin giderimi için gereken inkübasyon süresine onbir günün sonunda ulaşılmıştır. Bu konsantrasyonda gelişen BW karışık kültürü inkübasyonun ikinci gününde sadece %9.2'lik bir giderim yapmıştır. Beş günlük inkübasyonun sonunda %42.6, yedi günün ardından ise %62.6 ve onbirinci günde %100 verimle fenol giderimi gerçekleştirmiştir.

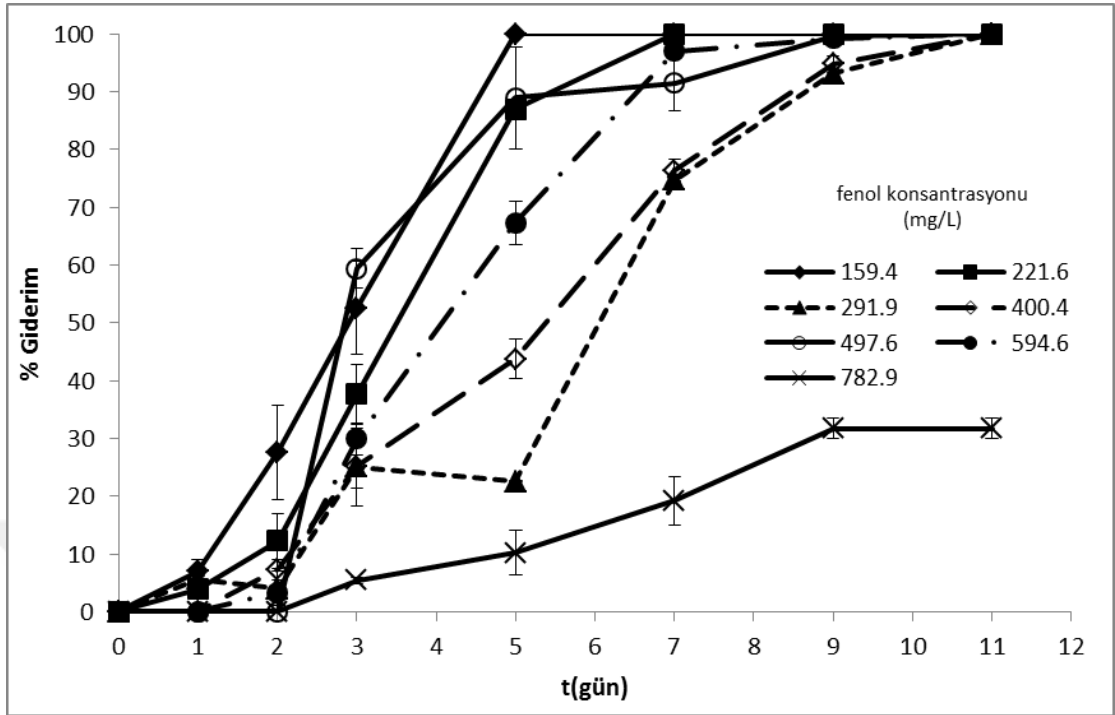
Fenol konsantrasyonu 497.6 mg/l olan denemelerde ise BW karışık kültürünün fenol giderimi oldukça düşmüştür. BW karışık mikrobiyel kültür, inkübasyonun yedinci gününde %34.5, onbirinci gününde de ise ancak %46.9 verimle giderim yapabilmıştır.

Kirletici konsantrasyon içeriği 594.6 mg/l deneylerde ise kullanılan BW karışık kültürüne fenol miktarı toksik etki yaptığından kültür bu ortam gelişmemiştir.

BT karışık kültürünün artan fenol konsantrasyonlarında gerçekleştirdiği fenol giderim miktarı ise Şekil 4.3'de verilmiştir.

BT karışık kültürü ile yapılan en düşük kirletici konsantrasyonu (159.4 mg/l) içeren ortamda fenolün %50'sinin giderimi inkübasyonun üçüncü gününde meydana gelmiştir. Aynı ortamda, mikroorganizmalar beşinci günde fenolü %100 verimle gidermiştir.

Fenol konsantrasyonu 221.6 mg/l'ye çıkarıldığında ise BT karışık kültürü üçüncü günde %37.6, beşinci günde %87.0 verimle kirleticiyi degrede etmiştir. Bu ortamda, kirleticinin tamamının parçalanması ise yedi günlük inkübasyon süresi sonunda olmuştur.



Şekil 4.3 Artan fenol konsantrasyonunun BT karışık mikrobiyel kültürünün fenol degradasyonuna etkisi (pH 7; T: 30 °C; İnkübasyon süresi: 11 gün)

Kirletici konsantrasyonu 291.9 mg/l olan ortamda yapılan denemelerden elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde ise inkübasyonun üçüncü gününde %25.1, yedinci gününde %74.7 verimle fenol gideriminin gerçekleştiği görülmüştür. Aynı ortamda fenolün tamamen giderilmesi için gereken inkübasyon süresi ise uzayarak onbirinci günde %100 verime ulaşılmıştır.

Minimal besiyerine 400.4 mg/l fenol eklendiğinde ise BT karışık kültürü bu konsantrasyonda da gelişebilmiş ve giderim yapabilmıştır. Bu ortamda, üç günlük inkübasyonun sonunda %25.2, yedinci günde %76.4 verimle fenol ortamdan uzaklaştırılmıştır. Bu koşullar altında onbir günlük inkübasyonun sonunda ise ortamdaki kirleticinin tamamı BT karışık kültürü tarafından parçalanmıştır.

Yaklaşık 500 mg/l kirletici içeren ortamda geliştirilen BT karışık kültürü inkübasyonun üçüncü gününde ortamdaki fenolün %59.4'ünü degrades etmiştir. BT karışık kültürü bu

ortamda onbir günlük inkübasyonun sonunda %100 verimle kirletici mineralizasyonu gerçekleştirmiştir.

Fenol konsantrasyonu 594.6 mg/l'ye yükseltildiğinde BT karışık mikrobiyel kültüründe ikinci inkübasyon günü sonunda %3.4, beşinci gününde ise %67.4 oranında kirleticiyi ortamdaki uzaklaştırmıştır. Aynı koşullarda onbir günlük inkübasyon süresi sonunda %100 verimle kirletici mineralizasyonu gerçekleşmiştir.

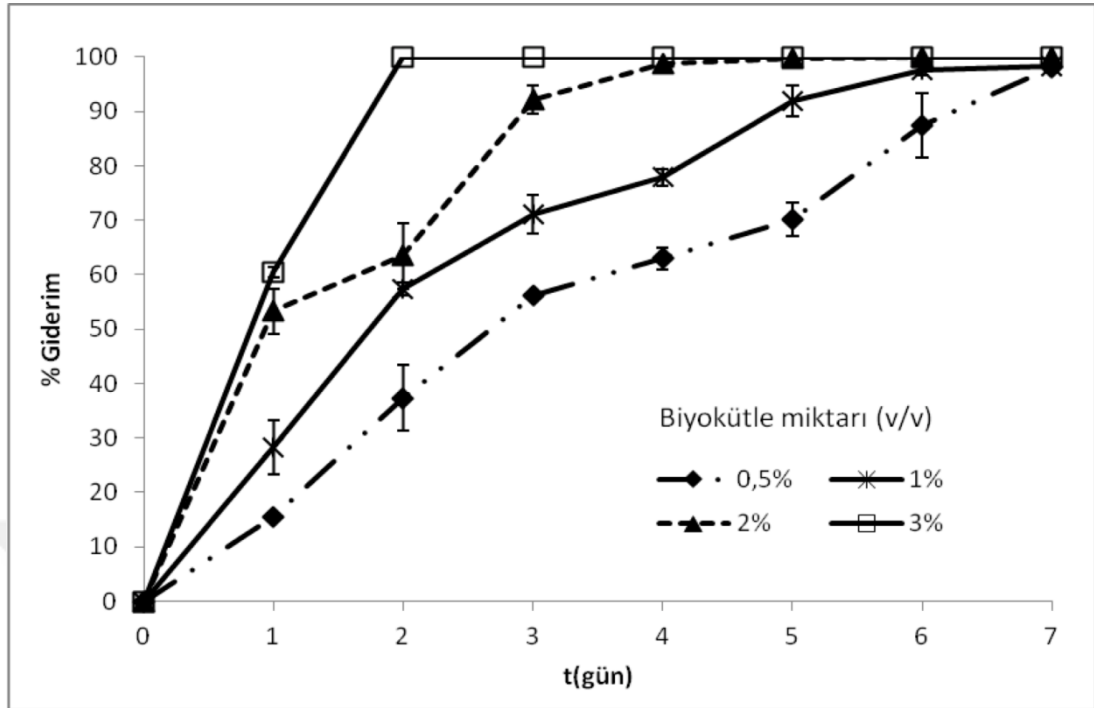
Fenol miktarı 782.9 mg/l konsantrasyon olarak minimal besiyerine eklenerek çalışmalar yapıldığında ise BT karışık mikrobiyel kültürünün artan fenol miktarından olumsuz etkilendiği ve kültürün bu koşullar altında giderim veriminin düştüğü gözlemlenmiştir. Mikroorganizmalar üçüncü inkübasyon günü sonunda %5.5, beşinci inkübasyon günü sonunda %10.2, onbirinci gün sonunda ise ancak %31.7 verimle fenol biyodegradasyonu yapabilmıştır.

Kullanılan BT karışık mikrobiyel kültürünün minimal besiyerine 997.5 mg/l kirletici konsantrasyonu eklendiğinde ise yapılan denemelerde kültürün bu koşullar altında gelişemediği görülmüştür.

4.2.3 Artan biyokütle oranının fenol biyoremediasyonuna etkisi

BW ve BT karışık kültürlerinin artan biyokütle miktarlarının fenol biyoremediasyonuna etkisini belirlemek için 250 ml'lik erlenlere 100 ml olacak şekilde hazırlanan 1g/l glukoz içeren, seçilen pH derecesine (pH 7) sahip ve fenol gideriminin yüksek verimle yapıldığı fenol konsantrasyonundaki (200.3 mg/l) minimal besiyerine %0.5 (v/v), %1 (v/v), %2 (v/v) ve %3 (v/v) olacak şekilde biyokütleler inoküle edilmiştir.

BW karışık kültürünün artan biyokütlelerinin 200.3 mg/l fenol konsantrasyonu içeren ortamdaki fenol giderim miktarları Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4 BW karışık kültürünün artan biyokütle miktarlarının fenol degradasyonuna etkisi (C_0 : 200.3 mg/l; pH 7; T: 30 °C; İnkübasyon süresi: 7 gün)

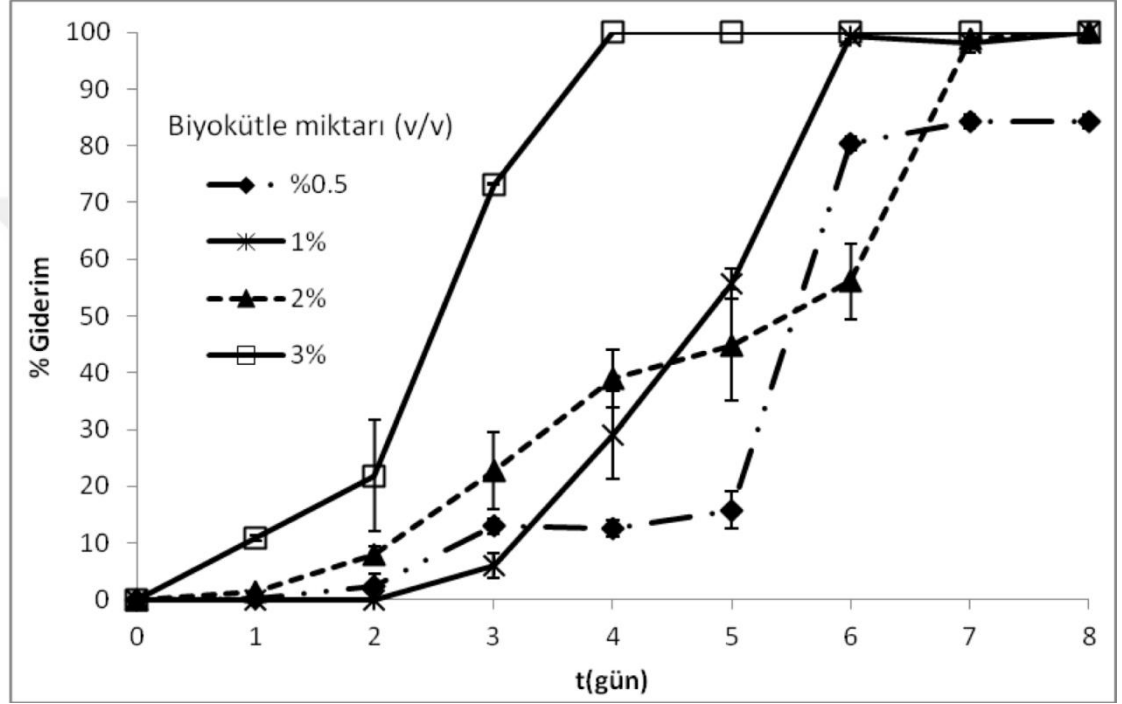
Fenol konsantrasyonu 200.3 mg/l olan ortama BW karışık kültüründen %0.5 (v/v) olacak şekilde ekim yapıldığında, ortamdaki kirleticinin giderimi ilk günde %15.6, inkübasyonun beşinci gününde %70.2, yedinci gününde ise %98.2 verimle gerçekleşmiştir.

Biyokütle miktarının %1 (v/v) olduğu ortamda ise inkübasyonun ilk gününde fenol giderim verimi %28.4, beşinci günde ise %92'ye ulaşmıştır. İnkübasyonun son gününde ise %98.4 oranında kirletici giderimi yapılmıştır.

Mikroorganizma miktarı %2 (v/v) olan minimal besiyerinde ise kirletici fenolün giderimi %1 (v/v) inoküle edilen besiyerine göre daha hızlı gerçekleşmiştir. İnkübasyonun birinci gününde besiyerindeki fenolün yaklaşık %50'si uzaklaştırılırken, üçüncü gününde %92.2, beşinci gününde ise %99.8'inin giderimi gerçekleşmiştir. %2 (v/v) BW karışık kültürü biyokütlesi içeren besiyerinde fenolün tamamının degradasyonu ise inkübasyonun altıncı gününde sağlanmıştır.

BW karışık kültürünün biyokütlesi %3 (v/v)'e artırıldığında besiyerindeki fenolün giderimi maksimum hıza ulaşmış olup, inkübasyon süresi kısalmıştır. Bu durumda inkübasyonun birinci gününde giderim %60.5 iken ikinci gününde ise %100'e çıkmıştır.

BT karışık kültürünün artan biyokütlelerinin 200.3 mg/l fenol içeren ortamlarda gerçekleştirdiği fenol giderim kapasitesi Şekil 4.5'te gösterilmiştir.



Şekil 4.5 BT karışık kültürünün artan biyokütle miktarlarının fenol degradasyonuna etkisi (Fenol konsantrasyonu C_0 : 200.3 mg/l; pH 7; T: 30 °C; İnkübasyon süresi: 8 gün)

BT karışık kültüründen %0.5 (v/v) oranında eklendiği besiyerindeki fenolün uzaklaştırılma verimi inkübasyonun üçüncü gününde %13.0 iken yedinci gününde %84.3'tür. Sekiz günlük inkübasyon periyodunun sonunda ortamdaki fenolün tamamı uzaklaştırılamamış giderim verimi %84.3 olarak kalmıştır.

Mikroorganizma miktarı %1 (v/v) çıkarıldığında ise fenol degradasyonu hızlanmış ve inkübasyonun beşinci gününde %55.7 olarak belirlenmiştir. İnkübasyon süresi sonunda ise ortamdaki fenolün tamamı degrede olmuştur.

Ortamdaki biyokütle miktarı 2 katına çıkarıldığında (%2 (v/v)) ise sonuçlar %1 (v/v)'lik denemelerle paralellik göstermiş olup, sekiz günlük inkübasyon periyodu sonunda besiyerindeki bütün fenol parçalanmıştır.

Fenol konsantrasyon içeriği 200.3 mg/l ortama %3 (v/v) mikroorganizmanın inoküle edilmesi ile yapılan denemelerde ise kirleticinin degradesyonu için gereken inkübasyon süresi kısalmıştır. İnkübasyonun üçüncü gününde biyodegradesyon verimi %73.3 iken dördüncü günde %100'e ulaşmıştır.

Artan fenol konsantrasyonlarının karışık kültürlerin gram hücre başına degrades edilen fenol konsantrasyonuna (maksimum spesifik fenol giderimi: q_m) etkisi Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te verilmiştir. Çalışmaların bu aşamasında alınan verilere göre BW karışık kültürü için fenol konsantrasyon oranı arttıkça gram cinsinden birim hücre başına degrades edilen fenol konsantrasyon miktarı da artmıştır (Çizelge 4.2). BT karışık kültürü ile yapılan denemelerde ise q_m değerleri belli bir kirletici konsantrasyonuna kadar artmış, daha sonra düşmüştür (Çizelge 4.3).

BW karışık mikrobiyel kültür için en düşük fenol konsantrasyonunu (159.4 mg/l) içeren besiyerinde mikrobiyel kültürün q_m değeri 49.3 mg/g olarak bulunmuştur.

Fenol konsantrasyonunun yaklaşık 200 mg/l ye arttırılmasıyla q_m de artmıştır (69.3 mg/g).

Yaklaşık 300 mg/l fenol içeren ortamlarda karışık mikroorganizmaların gramı başına degrades edilen fenol konsantrasyonu 85.9 mg/g olmuştur.

BW karışık mikrobiyel kültür 400.4 mg/l fenol varlığında da gelişebilmiş vebu miktardaki kirleticiyi tolere ederek yüksek verimlilikle ortamdan uzaklaştırmıştır. Bu ortamdaki maksimum spesifik fenol gideriminin 177.9 mg/g olduğu görülmüştür.

Bu mikrobiyel kültürün gelişebildiği en yüksek fenol konsantrasyonu yaklaşık 500 mg/l olmuştur. Bu ortamda maksimum spesifik fenol giderimi 224.2 mg/g olmuştur.

BW karışık kültürü fenol konsantrasyonunun daha da arttırılmasından (594.6 mg/L) olumsuz yönde etkilenmiş ve gelişememiştir.

Çizelge 4.2 Artan fenol konsantrasyonlarının BW karışık kültürünün ortamdan uzaklaştırdığı fenol miktarı (C_{ad}), kültürün kuru ağırlığı (X_m) ve biyokütlenin gramı başına giderilen fenol konsantrasyonuna (q_m) etkisi (pH 7; T: 30 °C; İnkübasyon süresi: 11 gün)

C_o (mg/l)	C_{ad} (mg/l)	X_m (g/l)	q_m (mg/g)
159.4	159.4	3.23±0.11	49.3±1.70
221.6	221.6	3.20±0.10	69.3±2.15
291.9	291.9	3.4±0.10	85.9±2.60
400.4	400.4	2.25±0.02	177.9±1.60
497.6	233.2±18.2	1.04±0.08	224.2±0.25

BT karışık kültürünün artan fenol konsantrasyonlarında gerçekleştirdiği maksimum spesifik fenol giderim miktarları Çizelge 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3 Artan fenol konsantrasyonlarının BT karışık kültürünün ortamdan uzaklaştırdığı fenol miktarı (C_{ad}), kültürün kuru ağırlığı (X_m) ve biyokütlenin gramı başına giderilen fenol konsantrasyonuna (q_m) etkisi (pH 7; T: 30 °C; İnkübasyon süresi: 11 gün)

C_o (mg/l)	C_{ad} (mg/l)	X_m (g/l)	q_m (mg/g)
159.4	159.4	3.15±0.05	50.6±0.80
221.6	221.6	2.30±0.10	96.3±4.00
291.9	291.9	1.89±0.01	154.4±0.85
400.4	400.4	1.66±0.02	241.2±2.90
497.6	497.6	1.69±0.01	294.4±1.70
594.6	594.6	1.19±0.01	499.7±4.20
782.9	247.9±13.5	1.17±0.01	211.9±9.70

Yaklaşık 150 mg/l fenol içeren minimal besiyerinde gelişen karışık kültür, ortamdaki bütün fenölü degrede etmiş ve gram hücre başına 50.6 mg kirleticiyi ortamdan uzaklaştırmıştır.

Kirletici konsantrasyonunun yaklaşık 200 mg/l'ye yükseltildiği ortamda mikrobiyel kültür 159.4 mg/l fenol içeren ortama göre yaklaşık 2 kat daha fazla maksimum spesifik

kirletici giderimi (96.3 mg/g) yapmıştır.

Kirletici konsantrasyonu 291.9 mg/l olduğunda BT karışık kültürü gram hücre başına 154.4 mg fenol degrede etmiştir.

Kirletici konsantrasyonu 400.4 mg/l olan besiyerindeki q_m artarak 241.2 mg/g olmuştur.

Fenol konsantrasyonunun yaklaşık 500 mg/l olduğu minimal besi ortamlarında geliştirilen karışık mikrobiyel kütle ortamdaki fenolü tamamen parçalamış ve bu ortamdaki q_m değeri 294.4 mg/g olarak bulunmuştur.

BW karışık kültüründen farklı olarak BT karışık mikrobiyel topluluğu yaklaşık 600 mg/l fenol varlığında da gelişebilmiş ve ortamdaki fenolü mineralize etmiştir. Bu koşullar altındaki maksimum spesifik fenol giderimi 499.7 mg/g olmuştur.

Kirletici konsantrasyonunun yaklaşık 800 mg/l olması BT karışık kültürünün gelişimini olumsuz yönde etkilemiştir. Bu ortamda mikroorganizmalar daha az gelişerek daha düşük verimle fenol giderimi yapmıştır.

Bu konsantrasyona kadar artan maksimum spesifik fenol giderimi, bu koşullar altında (782.9 mg/L) düşmüş ve 211.9 mg/g olmuştur.

Kirletici konsantrasyonunun yaklaşık 1000 mg/l ye artırılması BT karışık kültürüne toksik etki yapmış ve mikroorganizmalar bu ortamda gelişmemiştir.

4.3 Karışık Kültürlerden Saf Kültürlerin İzolasyonu ve Fenol Giderim Çalışmaları

BW ve BT karışık kültürleri yüksek kapasite ile fenol giderimi yapabildikleri için, bu kültürlerden saf kültür şeklinde izolatlar elde edilmiştir. Bu karışık kültürlerin elde edildikleri minimal sıvı ortamların agar içeren katı besiyerleri (pH 7) 200 mg/l fenol içerecek şekilde hazırlanmıştır.

BW karışık kültüründen saf koloniler elde etmek için hazırlanan bu katı minimal besiyerine öze ile çizgi ekimler yapılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda (24 saat) BW

karışık kültüründen katı besiyeri üzerinde 14 adet saf kültür halinde bakteri (B1, B2, B3, B4, B5, B6, B7, B8, B9, B10, B11, B12, B13 ve B14) elde edilmiştir. Bu bakteriler yaklaşık 200 mg/l fenol içeren sıvı besiyerinde geliştirilmiştir. En iyi gelişim gösteren bakteriler B1, B2, B12 ve B13 saf kültürleri olmuştur. Bu dört saf kültür için 200.3 mg/l fenol içeren minimal besiyerinde (pH 7) fenol giderim çalışması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde karışık kültürlerle göre saf kültürlerin fenol giderim verimlerinin düşük olduğunu görülmüştür (Çizelge 4.4).

Çalışmada kullanılan BT karışık kültüründen de saf koloniler elde etmek amacıyla 200 mg/l fenol içeren katı minimal besiyerine (pH 7) öze ile çizgi ekimler yapılmıştır. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda BT karışık kültüründen katı besiyeri üzerinde 7 adet saf kültür halinde bakteri (Bt1, Bt2, Bt3, Bt4, Bt5, Bt6 ve Bt7) elde edilmiştir. Bu bakteriler yaklaşık 200 mg/l fenol içeren sıvı besiyerinde geliştirilmiştir. En iyi gelişim gösteren bakteriler Bt1, Bt2 ve Bt3 saf kültürleri olmuştur. Bu üç saf kültür için 200.3 mg/l fenol içeren minimal besiyerinde (pH 7) fenol giderim çalışması yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde karışık kültürlerle göre saf kültürlerin fenol giderim verimlerinin düşük olduğunu görülmüştür (Çizelge 4.4). Çalışma sonucunda her iki karışık kültürün saf kültürlerle göre yüksek verimle fenol giderimi yaptığı görülmüştür.

Çizelge 4.4 BW ve BT karışık kültürlerinden elde edilen saf kültürlerin fenol giderim kapasiteleri (C_0 : 200.3 mg/l; pH 7; T: 30°C; İnkübasyon süresi: 11 gün)

BW karışık kültür	% Giderim
B1	7.7
B2	2.9
B12	2.1
B13	2.3
BT karışık kültür	% Giderim
Bt1	2.8
Bt2	2.9
Bt3	2.9

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Gerçekleştirilen çalışmada karışık kültürlerin fenol içeren ortamlarda fenol giderim kapasitelerinin oldukça yüksek olduğu bulunmuştur. BW karışık kültürü 400.4 mg/l fenol içeren ortamda bulunan fenolün tamamını degrid etmiştir. Bununla birlikte BT karışık kültürü ise daha yüksek kirletici konsantrasyonunu tolere edebilmiş ve 594.6 mg/l fenol bulunan besiyerinde kirleticinin tamamını ortamdan uzaklaştırmıştır. Bununla birlikte, elde edilen saf kültürlerin denemelerde kullanılan karışık mikrobiyel kültürlerle göre daha düşük verimle fenol giderimi gerçekleştirdiği belirlenmiştir.

Fenol ve türevleri gibi organik kirleticilerin saf kültürlerle biyoremediasyonu gerçekleşirken, oluşan toksik ara bileşikler nedeniyle biyoremediasyon süreci aksayabilir ve tam biyomineralizasyon sağlanamaz. Böyle durumlarda hedef kirleticiyi parçalayacak farklı mikroorganizmaların bulunmasına ihtiyaç olur. Bununla birlikte, doğal çevre koşullarında, bu toksik ara bileşikleri parçalayacak metabolizmaya sahip mikroorganizmaların da orada var olması söz konusudur. Mikroorganizmaların birçok kirleticiyi ancak karışık kültür olarak kullanıldıklarında daha yüksek verimle ortamdan uzaklaştırabilmeleri bu yüzdendir (Nzila 2013). Bu nedenle, gerçekleştirilen çalışmada da karışık mikrobiyel kültürler saf kültürlerle göre daha yüksek verimle kirletici giderimi yapmıştır. Daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda da karışık kültürlerin saf kültürlerle göre daha yüksek verimle kirletici giderimi gerçekleştirdiği gösterilmiştir (Nakhli vd. 2014, Pradhan vd. 2012, Tobajas vd. 2012, Begum ve Radha 2011, Chandra vd. 2011, Bajaj vd. 2009, Cordova-Rosa vd. 2009).

Karışık ve saf kültürler ile fenol biyodegradasyonunun incelendiği bu çalışmada, kullanılan BW ve BT mikrobiyel kültürleri ile 5 farklı pH değerinde (pH 5,6,7,8,9) kirletici giderim verimleri bulunmuştur. Yapılan deneylerde mikrobiyel kültürlerin fenol giderimini pH 7 ve 8 olduğunda %100 verimle gerçekleştirdiği gözlemlenmiştir. Ancak pH değeri 5 ve 9 olduğunda ise bu kültürlerin olumsuz yönde etkilenerek degradasyon verimi oldukça düşmüştür. Aynı şekilde fenol biyodegradasyonunun incelendiği *Ochrobactrum sp.* kültürü ile yapılan bir diğer çalışmada da pH değeri 7 ve 8 olduğunda

yüksek verimle fenol giderimi olmuştur ve çalışmada ortam alkalinitesi arttıkça giderim oranının da arttığı ancak pH değeri 9 seviyesinde mikroorganizmanın gelişiminin olumsuz yönde etkilendiği tespit edilmiştir (Kılıç 2009). *Pseudomonas putida* kültürü ile yapılan başka bir çalışmada da pH 8 değerinde en yüksek verimle fenol giderimi olduğu incelenmiştir (Chung vd. 2003). Ayrıca karışık kültür ile yapılan benzer bir diğer çalışmada pH 7.2 değerinde iken maksimum verimle fenol degradasyonu olduğu gözlemlenmiştir (Bajaj 2009). Mikroorganizmalar ile fenol biyodegradasyonun incelendiği tüm bu çalışmalar gösteriyor ki, en iyi fenol giderim verimi pH 7 ve 8 değerlerinde olmaktadır.

Fenol biyodegradasyonunun incelendiği bu çalışmada, minimum 159.4 mg/l ile maksimum 997.5 mg/l fenol konsantrasyonları ile çalışılmıştır ve biyodegradasyonda artan fenol konsantrasyonlarının fenol giderim veriminde etkili olduğu gözlemlenmiştir. Ancak artan fenol konsantrasyonu BW ve BT karışık kültürleri için 600 mg/l ve 997.5 mg/l fenol miktarı ile kültürlerin gelişiminin olumsuz etkilendiği ve fenol giderim veriminin düştüğü gözlemlenmiştir. Aynı şekilde karışık kültürle yapılan bir diğer çalışmada yaklaşık 500 mg/l ve 750 mg/l fenol konsantrasyonlarında maksimum fenol giderim verimi gerçekleşmiş ancak fenol konsantrasyonu 1500 mg/l ve 2000 mg/l miktarında iken kültürlerde gelişim olumsuz yönde etkilendiği incelenmiştir (Kılıç ve Dönmez 2013). Başka bir çalışmada ise, 3000 mg/l gibi çok yüksek fenol konsantrasyonlarında inkübasyon süresinin 6 ile 54 saatten daha uzun olabildiğini ve tam bir biyodegradasyon gerçekleştiğini göstermişlerdir (Marrot vd. 2006) ve başka bir çalışmada ise 20 mg/l gibi düşük fenol konsantrasyonlarının 48 saat içinde tamamen giderilebildiğini açıklamışlardır (Kim vd. 2002). Diğer çalışmalarda ise, 47 saatte 600 mg/l ve 69 saatte 800 mg/l fenolün tamamen giderilebildiği incelenmiştir ve artan fenol konsantrasyonlarının giderim veriminde etkili olduğu açıklanmıştır (Saravanan vd. 2008).

Fenol gideriminin incelendiği bu çalışmada 200.3 mg/l fenol konsantrasyonu içeren ortamlara %0.5 (v/v), %1 (v/v), %2 (v/v), %3 (v/v) olacak şekilde hazırlanan biyokütleler yapılan ile yapılan incelemelerde artan biyokütle konsantrasyonu ile fenol

biyodegradasyon verimi oranında da artış gözlemlendiği gözlemlenmiştir. En yüksek ve hızlı biyogiderimin biyokütle konsantrasyonunun biyokütle konsantrasyonunun %3 (v/v) olduğunda gerçekleştiği görülmüştür. Daha önce yapılan çalışmalarda biyokütle konsantrasyonunun artması ile kirletici gideriminin daha verimli yapılması için gereken inkübasyon süresinin kısaldığı gösterilmiştir. Örneğin, Ben- Youssef and Vázquez-Rodríguez (2011) gerçekleştirdikleri çalışmada fenol biyoremediasyonunda karışık mikrobiyel kültür kullanmışlardır. Aynı çalışmada, biyokütle konsantrasyonunun 0.79 g/l den 1.46 g/l'ye artırılması ile ortamda bulunan 800 mg/l fenolün degradasyon süresinin 8 saatten 5 saate indiği belirlenmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada saf kültür halinde kullanılan *Corynebacterium* sp. DJ1 biyokütle konsantrasyonunun %1 (v/v) den 4–6% ya çıkarılması ile 2000 mg/l fenol biyoremediasyonunun 150 saat yerine 96 saatte yapılabildiği gösterilmiştir. Başlangıç biyokütle konsantrasyonunun artırılması ile karışık mikrobiyel kültür için gerekli lag faz kısalmakta ve mikroorganizmalar daha az biyokütle konsantrasyonu ile inoküle edilmiş ortamlara göre daha hızlı gelişmektedir. Bu nedenle fenol degradasyonu için gerekli süre kısalmaktadır (Ho vd. 2009). Aynı şekilde yapılan başka bir diğer çalışmada da biyokütle konsantrasyonunun fenol gideriminde etkili olduğu açıklanmıştır (Gregory vd. 2017).

Çalışma sonucunda elde edilen BT ve BW karışık kültürlerinin fenol giderim verimleri göz önüne alındığında, bu karışık kültürlerin aromatik halkaya sahip hidrokarbon içeren çeşitli atıksularda arıtım amaçlı kullanım kapasitesi olduğu görülmektedir. Bu kapasite daha ileri çalışmalarla arttırılmaya çalışılabilir. Bu amaçla çeşitli katkı maddeleri kirletici içeren ortamlara eklenebilir. Bu şekilde karışık kültürler, biyokütellerini arttırarak daha fazla kirletici giderimi yapabilirler.

KAYNAKLAR

- Afzal, M., Iqbal, S., Rauf, S., and Khalid, Z.M. 2007, Characteristics of phenol biodegradation in saline solutions by monocultures of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas pseudomallei*, J. Hazard. Mater. (149) 60–66
- Ahmad N, Ahmed I, Iqbal M, Khalid N, Mehboob F, Ahad K, Ali G.M. 2015. Characterization and identification of phenol degrading bacteria isolated from industrial waste. Pak J Agri Sci 52:219–231.
- Alber, M., Bohm H.B., Brodesser J., Feltes J., Levsen K. and Schöler H.F. 1989. Determination of nitrophenols in rain and snow. Z. Anal. Chem. 334: 540-545.
- Alexander, M. 1999. Biodegradation and bioremediation second edition, Academic Press New York.
- Anonymous, 1989. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)
- Anonymous, 2009. United States Environmental Protection Agency (USEPA)
- Arjoon, A., Olaniran, A.O., Pillay, B. 2013. Co-contamination of water with chlorinated hydrocarbons and heavy metals: challenges and current bioremediation strategies; International Journal Of Environmental Science And Technology Volume:10 Issue:2 Pages 395-412.
- Arutchelvan, V., Kanakasabai, V., Elangovan, R., Nagarajan, S., Muralikrishnan, V. 2006. Kinetics of high strength phenol degradation using *Bacillus brevis*. Journal of Hazardous Materials B129: 216–222.
- Bai, J., Wen, J.-P., Li, H.-M. and Jiang, Y. 2007. Kinetic modeling of growth and biodegradation of phenol and m-cresol using *Alcaligenes faecalis*. Process Biochem. 42: 510-517
- Bajaj, M., Gallert C., Winter, J. 2009. Phenol degradation kinetics of an aerobic mixed culture. Biochemical Engineering Journal. 46: 205–209.
- Begum, S. S., Radha. K. V. 2013. Biodegradation Kinetic Studies on Phenol in Internal Draft Tube (Inverse Fluidized Bed) Biofilm Reactor Using *Pseudomonas fluorescens*: Performance Evaluation of Biofilm and Biomass Characteristics Bioremediation Journal. 17(4): 264–277.
- Brown, J.A. 2008. An internet database for the classification and dissemination of information about hazardous chemicals and occupational diseases. Am. J. Ind. Med. 51:428-435.
- Cao, J., Dong, C., Cao, H. and Shao, Z. 2011. Isolation of phenol degrading bacteria from coking wastewater and their degradation gene. Huan jing ke xue= Huanjing kexue / [bian ji, Zhongguo ke xue yuan huan jing ke xue wei yuan hui "Huan jing ke xue" bian ji wei yuan hui.32:560-566

- Carmona, M., Lucas, A.D., Valverde, J.L., Velasco, B. and Rodríguez, J.F. 2006. Combined adsorption and ion exchange equilibrium of phenol on Amberlite IRA-420. *Chem. Eng. J.* 117:155-160
- Chandra R., Yadav, S., Bharagava, R. N., Rai, V. 2011. Phenol degradation by *Paenibacillus thiaminolyticus* and *Bacillus cereus* in axenic and mixed conditions. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27: 2939–2947.
- Chung T.P., Tseng H.Y. and Juang R.S. 2003. Mass transfer effect and intermediate detection for phenol degradation in immo-bilized *Pseudomonas putida* systems, *Process Biochemistry*, 38: 1497–1507.
- Cordova-Rosa, S.M., Dams, R.I., Cordova-Rosa, E.V., Radetski, M.R., Corrêa, A.X.R., Radetski, C.M. 2009. Remediation of phenol-contaminated soil by a bacterial consortium and *Acinetobacter calcoaceticus* isolated from an industrial wastewater treatment plant. *Journal of Hazardous Materials* 164: 61–66.
- Das, S., Santra S. 2012. Phenol removal from coalrefining wastewater by immobilized cyanobacteria. *Electron. J. Environ. Agri. Food Chem.* 11:673-679
- Gaga, E.O., 2004. Investigation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) Deposition in Ankara, Doktora Tezi, The Graduate School of Naturaland Applied Sciences, Middle East Technical University, Ankara.
- Ho, K.L, Lin, B., Chen, Y-Y., Lee, D-J. 2009. Biodegradation of phenol using *Corynebacterium sp. DJ1* aerobic granules, *Bioresour. Technol.* 100 (2009), pp. 5051–5055.
- Kılıç, N.K., 2009. Enhancement of phenol biodegradation by *Ochrobactrum sp.* isolated from industrial wastewaters *Int. Biodet. Biodeg.* 63 (6): 778–781.
- Kılıç, N.K., Dönmez, G. 2013. Phenol biodegradation by different mixed cultures and the optimization of efficiency of the degradation. *Environmental Technology* 34(13-16): 2251-2258
- Kim, J-H., Oh, K-K., Lee, S-T., Kim, S-W., and Hong, S-I. 2002. Biodegradation of phenol and chlorophenols with defined mixed culture in shake flasks and a packed bed reactor, *Process Biochem.* 37 (2002), pp. 1367–1373.
- Kotresha, D., and Vidyasagar, G.M. 2008. Isolation and characterisation of phenol degrading *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 4996, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 541–547.
- Kulkarni, M. and Chaudhari, A. 2006. Biodegradation of pnitrophenol by *P. putida*. *Bioresour. Technol.* (97) 982–988.
- Kumar, A., Kumar, S., and Kumar, S., 2005. Biodegradation kinetics of phenol and

- catechol using *Pseudomonas putida* MTCC, 1194, Biochem. Eng. J. (22) 151–159.
- Lazarova, Z. and Boyadzhieva, S. 2004. Treatment of phenol-containing aqueous solutions by membrane based solvent extraction in coupled ultrafiltration modules. Chem. Eng. J. 100:129-138
- Leitão, A.L., Duarte, M.P., Santos Oliveira, J., 2007. Degradation of phenol by a halotolerant strain of *Penicillium chrysogenum*. International Biodeterioration & Biodegradation 59: 220–225.
- Lepik, R. and Tenno, T., 2012. Determination of biodegradability of phenolic compounds, characteristic to wastewater of the oilshale chemical industry, on activated sludge by oxygen uptake measurement Environmental Technology 33: 329–339.
- Loh, K.-C. and Chua S.-S. 2002. Ortho pathway of benzoate degradation in *Pseudomonas putida*: induction of meta pathway at high substrate concentrations. Enz. Microbial Technol. 30:620-626
- Margesin, R., Fonteyne, P-A., Redl, B., 2005. Low-temperature biodegradation of high amounts of phenol by *Rhodococcus* spp. and basidiomycetous yeasts. Research in Microbiology 156: 68–75.
- Margesin R., Moertelmaier, C., Mair, J. 2013. Low-temperature biodegradation of petroleum hydrocarbons (n-alkanes, phenol, anthracene, pyrene) by four actinobacterial strains. International Biodeterioration & Biodegradation 84: 185–191.
- Marrot B., Barrios-Martinez A., Moulin P., and Roche N. 2006. Biodegradation of high phenol concentration by activated sludge in an immersed membrane bioreactor, Biochem. Engineer. J. 30 (2006), pp. 174–183.
- Michałowicz, J., Duda W. 2007. Phenols – Sources and Toxicity. Polish J. of Environ. Stud. 16 (3), 347-362.
- Movahedian, H., Khorsandi, H., Salehi, R. and Nikaeen, M. 2009. Detection of phenol degrading bacteria and *Pseudomonas putida* in activated sludge by polymerase chain reaction. Iran J. Environ. Health Sci. Eng. 6:115- 120.
- Nair, I.C., Jayachandran, K., Shashidhar, S., 2007. Treatment of paper factory effluent using a phenol degrading *Alcaligenes* sp. under free and immobilized conditions. Bioresource Technology 98, 714–716.
- Nakhli, S.A.A., Ahmadizadeh, K., Fereshtehnejad, M., Rostami, M.H., Safari, M., Borghei, S.M. 2014. Biological removal of phenol from saline wastewater using a moving bed biofilm reactor containing acclimated mixed consortia. SpringerPlus 3,112

- Naresh, B., Honey P. and Vaishali, S. 2012. Biodegradation of phenol by a bacterial strain isolated from a phenol contaminated site in India. *Ind. Res. J. Environ Sci.*1:46-49
- Nuhoglu, A. and Yalcin, B. 2005. Modelling of phenol removal in a batch reactor. *Process Biochem.* 40:1233-1239.
- Nzila, A. 2013. Update on the cometabolism of organic pollutants by bacteria. *Environmental Pollution* 178, 474-482.
- Pérez, R.R., Benito, G.G., Miranda, P., 1997. Chlorophenol degradation by *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioresource Technology* 60: 207–213.
- Poi, G., Aburto-Medina, A., Mok, P.C., Ball, A.S., Shashavari E. 2017. Bioremediation of Phenol-Contaminated Industrial Wastewater Using a Bacterial Consortium— from Laboratory to Field. *Water, Air & Soil Pollution.* 228:89.
- Powlowski, J., Shingler, V., 1994. Genetics and biochemistry of phenol degradation by *Pseudomonas sp.* CF600. *Biodegradation* 5: 219–236.
- Pradhan, B., Murugavelh, S., Mohanty, K. 2012. Phenol Biodegradation by Indigenous Mixed Microbial Consortium: Growth Kinetics and Inhibition *Environmental Engineering Science* 29 (2) 86-92.7
- Sandhu, A., L. Halverson and Beattie, G. 2009. Identification and genetic characterization of phenoldegrading bacteria from leaf microbial communities. *Microb Ecol.* 57:276-285
- Saravanan, P., Pakshirajan, K., Saha, P., 2008. Biodegradation of phenol and m-cresol in a batch and fed batch operated internal loop airlift bioreactor by indigenous mixed microbial culture predominantly *Pseudomonas sp.* *Bioresource Technology* 99: 8553–8558.
- Saravanan, P., Pakshirajan, K., and Saha, P. 2008. Growth kinetics of an indigenous mixed microbial consortium during phenol degradation in a batch reactor, *Bioresour. Technol.* 99 (2008), pp. 205–209.
- Scragg, A.H. 2005. The effect of phenol on the growth of *Chlorella vulgaris* and *Chlorella* VT- 1 *Enzyme and Microbial Technology* 39: 796–799.
- Sharma, N.K., Philip, L., Bhallamudi S. M. 2012. Aerobic degradation of phenolics and aromatic hydrocarbons in presence of cyanide, *Bioresource Technology* 121: 263–273.
- Strong, P. J., Burgess, J. E. 2008. Treatment methods for wine-related ad distillery wastewaters: a review. *Bioremediation Journal*, 12: 70-87

- Syakti, A.D., Yani, M., Hidayeti, N. V, Siregar, A.S, Doumenq, P., Sudiana, M.M. 2013. The Bioremediation Potential of Hydrocarbonoclastic Bacteria Isolated From a Mangrove Contaminated by Petroleum Hydrocarbons on the Cilacap Coast, *Bioremediation Journal*, 11-20
- Tobajas, M., Monsalvo, V.M., Mohedano, A.F., Rodriguez, J.J. 2012. Enhancement of cometabolic biodegradation of 4-chlorophenol induced with phenol and glucose as carbon sources by *Comamonas testosteroni*. *Journal of Environmental Management* 95: 116-121.
- Tuah, P.M., Rashid, N.A.A. and Salleh, M.M. 2009. Degradation pathway of phenol through ortho-cleavage by *Candida tropicalis* Retl-Cr1. *Borneo Sci.* 24:1-8
- Van Schie, P.M., Young, L.Y. 2000. Biodegradation of phenol: mechanisms and applications. *Bioremediation J.* 4(1), 1–18.
- Wu, J., Rudy, K. and Spark, J. 2000. Oxidation of aqueous phenol by ozone and peroxidase. *Adv. Environ. Res.* 4: 339-346
- Yan, J., Jianping, W., Jing, B., Daoquan, W., and Zongding, H. 2006. Phenol biodegradation by the yeast *Candida tropicalis* in the presence of m-cresol. *Biochem Eng J.* 29:227-234
- Yang, C., Lee, C., 2007. Enrichment, isolation, and characterization of phenol degrading *Pseudomonas resinovorans* strain P-1 and *Brevibacillus sp.* strain P-6. *International Biodeterioration & Biodegradation* 59: 206–210.
- Youssef, C. B., Vázquez-Rodríguez, G.A. 2011. Model-based design of different fedbatch strategies for phenol degradation in acclimatized activated sludge cultures, *Bioresour. Technol.* 102 (2011), pp. 3740–3747.
- Zhai, Z., Wang, H., Yan, S. and Yao, J. 2012. Biodegradation of phenol at high concentration by a novel bacterium: *Gulosibacter sp.* YZ4. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 87:105-111

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gülden KAPLAN

Doğum Yeri : Gürün / Sivas

Doğum Tarihi: 10.03.1986

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Başkent Lisesi, Yabancı Dil Ağırlıklı (İngilizce) (2004)

Lisans : Anadolu Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2011)

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı (2020)

Çalıştığı Kurum ve Yıl

- Orfoz Sağlık (2011-2012)
- Akademi Analiz Laboratuvar ve Danışmanlık Hizmetleri Ltd. Şti. (2013-Halen)

Uluslararası Kongre Sunum

Poster:

1. G. Kaplan, N.K. Kılıç and G. Dönmez “The usage of different mixed cultures in phenol removal process” 38th FEBS Congress Federation of European Biochemical Societies “Mechanisms in Biology” FEBS Journal 280 (Suppl. 1) Abstracts of the 38th FEBS Congress, p: 605, St. Petersburg, Russia, 2013.
2. N.K. Kılıç, G. Kaplan and G. Dönmez “Biological Treatment Of Phenol By Mixed Microbial Cultures. 13th International Conference on Heat Engines and Environmental Protection” Abstract Book, p: 36, Budapest, Hungary, 2017.
3. N.K. Kılıç, G. Kaplan and G. Dönmez “Phenol Bioremediation by Mixed Cultures Isolated from Wastewaters” 2nd International Conference Smart Bio, Abstract Book, p: 225, Kaunas, Lithuania, 2018.