

T.C.

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

REAKTİF TEKSTİL BOYASI İÇEREN ATIK SULARIN BİYOLOJİK
YÖNTEMLERLE ARITILMASI

ALİ BERKAN AKYOL

MART 2008

ÖZET

REAKTİF TEKSTİL BOYASI İÇEREN ATIK SULARIN BİYOLOJİK YÖNTEMLERLE ARITILMASI

AKYOL, Ali Berkan

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. M. Yakup ARICA

Ortak Danışman: Doç. Dr. Gülay BAYRAMOĞLU

Mart 2008, 54 sayfa

Mikroorganizmaların toksik bileşiklerin atık-sulardan biyolojik arıtımı için kullanılması mevcut metodlara alternatif bir yöntem olarak düşük maliyette kolaylıkla üretilmeleri nedeni ile üzerinde durulmaya ve araştırılmaya başlanmıştır. Beyaz çürükçül fungus "*Lentinus concinnus*" biyokütlesi ile sulu çözeltiden azo boyar maddesi (Reaktif Yellow 86) uzaklaştırılması işleminin boya giderim mekanizması ve kapasitesi, adsorbent dozu, pH, sıcaklık ve iyonik şiddet gibi farklı adsorpsiyon parametreleri altında araştırıldı. Ayrıca, immobilize *Lentinus concinnus* fungal biyokütlesinin (kalsiyum aljinat içinde) sulu çözeltiden Reaktif Yellow 86 boya giderimi Ca-aljinat kürelerinin kontrol amacı ile kullanıldığı sistemde kullanımı

araştırıldı. İmmobilize fungal biyokütlenin Ca-aljinat küreleri içerisinde düzgün bir dağılımda büyümelerini sağlamak amacı ile 25°C de 3 gün süre ile inkübe edildi. Biyosorpsiyon denge süresine kesikli sistemde yaklaşık 10 saatte ulaşıldı ve araştırılan fungal biyokütlelerin her ikisi ile de maksimum boya giderimi pH 2.0 da gözlemlendi. Biyosorbentlerin boya giderim kapasitesi (200 mg/mL boya başlangıç konsantrasyonunda) serbest ve immobilize fungal biyokütle örnekleri için 190.16 ve 134.31 mg/g olarak bulundu. Langmuir ve Freundlich adsorpsiyon izoterm modelleri kullanılarak biyosorpsiyonun matematiksel modellenmesi yapıldı. Freundlich izoterm modelinin her iki fungal biyokütle örneklerinin Reaktif Yellow 86 biyosorpsiyonunu tanımladığı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Biyolojik giderim; *Lentinus concinnus*; Reaktif Yellow 86;
Ca-aljinat; İmmobilizasyon; Biyoteknoloji

ABSTRACT

REMOVAL OF REACTIVE TEXTILE DYES FROM WASTE WATER VIA BIOLOGICAL METHODS

AKYOL, Ali Berkan

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc.Thesis

Supervisor: Prof. Dr. M. Yakup ARICA

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gülay BAYRAMOĞLU

March 2008, 54 pages

The use of microorganisms for bioremediation of toxic compounds from wastewater streams has emerged as an alternative to the existing methods as a result of the search for low cost, innovative methods. The capacities and bioremediation mechanisms of native white rot fungus "*Lentinus concinnus*" biomass preparation in removing of azo dye (i.e., Reactive Yellow 86) from aqueous solution was investigated with different parameters, such as adsorbent dosage, pH, temperature and ionic strength. And also the potential use of the immobilized fungal biomass (in Ca-alginate) of *Lentinus concinnus* to bioremediation of Reactive Yellow 86 from aqueous solutions was evaluated using Ca-alginate bead as a control system. Ca-alginate beads containing immobilized fungal biomass were incubated for the

uniform growth at 25 °C for 3 days. In the batch system, the biosorption equilibrium time was about 10 h and the maximum dye uptake on all the tested fungal biomass preparations was observed at pH 2.0. The dye uptake capacities of the biosorbents (at 200 mg/L dye concentration) were found to be 190.16 and 164.31 mg/g for free and immobilized fungal biomass preparations, respectively. The Langmuir and Freundlich adsorption models were used for the mathematical description of the biosorption equilibrium. The Freundlich isotherm models were able to describe the biosorption equilibrium of Reactive Yellow 86 on the both of the fungal biomass preparations.

Key Words: Bioremediation; *Lentinus concinnus*; Reactive Yellow 86;
Ca-alginate; Immobilized; Biotechnology

TEŐEKKÖR

Çalıőmalarımnda bana yol gösteren, destek ve deneyimlerini esirgemeyen saygıdeğer Hocam Prof. Dr. Yakup ARICA'ya teőekkÖr ederim.

Tez çalıőmamın, deneylerin gerçekteőtirilmesi ve tez yazımı aőamalarında, özverili yardımlarını ve her türlü desteğini benden esirgemeyen saygıdeğer Hocam Doç. Dr. Gülay BAYRAMOğLU'na teőekkÖr ederim.

Ali Berkan AKYOL

Kırıkkale, Mart 2008

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
1.GİRİŞ	1
1.1. Su Kirliliği ve Neden Olan Etkenler	5
1.2. Azo Boyar Maddeler	6
1.3. Endüstriyel Atıksularının Arıtımı	7
1.3.1. Kimyasal ve Fiziksel Yöntemler	8
1.3.2. Biyolojik Yöntemler	9
1.3.2.1. Biyoteknoloji	10
1.3.2.2. Biyoteknolojik Yöntemler ile Biyolojik Giderim.....	12
2. MATERYAL VE YÖNTEM	16
2.1. Materyaller	16
2.1.1. Kimyasal Maddeler	16
2.1.2. Cihazlar	16
2.1.2.1. UV-VIS Spektrofotometre	16
2.1.2.2. Kullanılan Diğer Cihazlar	16

2.2.Yöntem	17
2.2.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma	17
2.2.2. Fungusun Üretimi.....	17
2.2.3. Fungusun Ca-aljinat Kürelere İmmobilizasyonu	18
2.2.4. Fungal Biyokütlenin Karakterizasyonu.....	19
2.2.4.1. Fungal Biyokütlenin Denge-Su İçeriği	19
2.2.4.2. Fungal Biyokütlenin Yüzey Morfolojisi.....	19
2.2.4.3. Fungal Biyokütlenin FTIR Spektrumu	19
2.2.5.Kesikli Sistemde Boya Renk Giderimi İçin Uygun Koşulların Belirlenmesi	20
2.2.5.1. pH ve Etkileşim Süresinin Renk Giderimine Etkisi	20
2.2.5.2. Başlangıç Boya Konsantrasyonu ve Sıcaklığın Etkisi.....	21
2.2.5.3.Teorik Adsorpsiyon İzoterm Modelinin Belirlenmesi.....	22
3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	23
3.1. Araştırma Bulguları.....	23
3.1.1. Karakterizasyon Çalışmaları	24
3.1.2. Sulu Ortamdan Boya Giderimi Çalışmaları	29
3.1.2.1.Biyosorpsiyon Hızı	29
3.1.2.2. Fungal Hücrelerin Matrik İçine İmmobilizasyonun Biyosorpsiyona Etkisi.....	33
3.1.2.3. pH Etkisi	34

3.1.2.4. Sorbent Dozunun Etkisi	36
3.1.2.5. Sıcaklığın Etkisi	37
3.1.2.6. Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisi	38
3.1.2.7. Biyosorpsiyonun Denge Modellemesi	40
4. SONUÇ	42
KAYNAKLAR	45

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. <i>L. concinnus</i> ve <i>L. concinnus</i> tutuklu aljinat kürelerle Reaktif Yellow 86 boyar madde uzaklaştırılması işleminde belirlenen Freundlich izoterm modeli sabitleri	41
---	----

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bir ekosistemin şematik gösterimi.....	6
Şekil 3.1. Serbest fungusun temsili SEM mikrografı	25
Şekil 3.2. (a) Ca-aljinat ve (b) immobilize aljinat biyokütlelerinin FTIR spekrası	27
Şekil 3.3. (a) Reaktif Yellow 86 azo boya maddesi ve (b) boyar madde ile etkileştirilmiş fungal biyokütlesinin FTIR spekrası	28
Şekil 3.4. Reaktif Yellow 86 azo boyar maddesinin kimyasal yapısı.....	29
Şekil 3.5. <i>Lentinus concinnus</i> biyokütlesi ile boya biyosorpsiyonunda farklı ortam pH'larında elde edilen biyosorpsiyon kinetiği	31
Şekil 3.6. <i>L. concinnus</i> immobilize Ca-aljinat biyokütlesi ile boya biyosorpsiyonunda farklı ortam pH'larında elde edilen biyosorpsiyon kinetiği.....	32
Şekil 3.7. Doğal ve <i>L. concinnus</i> immobilize biyokütlelerin boya biyosorpsiyonuna ortam pH'sının etkisi	35
Şekil 3.8. Biyosorbnetler ile sulu ortamdan Reaktif Yellow 86 boyar maddesi uzaklaştırılması yüzdesine ortam pH'sının etkisi.....	36
Şekil 3.9. <i>L. concinnus</i> fungal biyokütlesi ile Reaktif Yellow 86 boya uzaklaştırılması işleminde sorbent dozunun etkisi	37
Şekil 3.10. Reaktif Yellow 86 biyosorpsiyonuna sıcaklığın etkisi	38
Şekil 3.11. Biyokütlelerin sulu ortamdan Reaktif Yellow 86 biyosorpsiyonunda başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi.....	39
Şekil 3.12. Reaktif Yellow 86 biyosorpsiyonunda elde edilen Freundlich izoterm model eğrisi	41

1. GİRİŞ

Endüstriyel atıksular; kentsel ve kanalizasyon atık sularının yanında, yüzey su kaynaklarını kirleten önemli bir etmeni oluşturmaktadır. Tekstil, kağıt ve kağıt hamuru, basım, demir-çelik, kok kömürü, petrol, tarım ilaçları (pestisit), ilaç sanayii, boya, çözücü, ahşap koruyucu kimyasallar (pentaklorofenol vb) üreten çok sayıdaki endüstriden, inorganik ve/veya organik kökenli kirleticiler çevreye atılmaktadır. Ağır metal iyonu veya boya molekül ve bileşiklerini içeren atıkların zararsız hale getirilmesi, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Farklı organik ve/veya inorganik kökenli kimyasalların yanı sıra önemli miktarda suyun tüketildiği yaş dokuma proseslerini kapsayan tekstil endüstrilerinde, uygulamaların sonucunda, ortaya çıkan atıksuların özellikleri kullanılan kimyasallara göre farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle atık su hacmi ve bileşimi göz önüne alındığında tekstil endüstrisi çevresel açıdan önemli “kirletici” endüstrilerden birisini oluşturmaktadır. Tekstil endüstrisinde, kumaşa renk vermek amacı ile yapılan boyama işleminde kullanılan boyar maddeler genellikle moleküle rengi veren kromofor grup ve boyayı ipliğe bağlayan fonksiyonel grup olmak üzere iki ana bileşenden oluşur.

Dünyada yıllık, 7.0×10^5 tonun üzerinde olmak üzere ülkemizde de üretilen ve ham madde olarak da kullanılan çeşitli boya bileşiklerinin çok fazla miktarda kullanılması ve endüstriyel atıkların çevreye yayılmaları sonucunda sözü edilen bileşikler yüzey ve yeraltı sularına karışmaktadır⁽¹⁾. Biyolojik birikme eğilimi olan çevresel kirleticiler arasında yer alan bu bileşikler insan ve hayvan sağlığını önemli ölçüde tehdit etmesinin yanında, alıcı su kaynaklarındaki bu maddelerin varlığının

1 ppm konsantrasyonunda bile görünür olabildiğinden estetik olarak kabul edilmez. Alıcı sulara verilen renkli atıksular su ortamındaki ışık geçirgenliğini azaltır ve fotosentetik aktiviteyi olumsuz yönde etkiler. Ayrıca boyar maddelerin bazı sucul organizmalarda birikmesi toksik ve kanserojenik ürünlerin meydana gelme riskini de beraberinde getirmektedir. Bu bağlamda boyar madde içeren tekstil endüstrisi atıksularının renk giderim prosesleri ekolojik açıdan önem kazanmaktadır. Çevreye yayılan ve oldukça toksik maddeler arasında bulunan fenollü ve aromatik aminleri de yapısında bulunduran boya bileşiklerine bugün içme ve kullanım sularında rastlanmaktadır. Geniş ölçekli üretim ve yaygın uygulamadan dolayı tekstil boyalarının ciddi sağlık sorunlarına neden oldukları bilinmektedir. Bu nedenle kullanılan binlerce farklı tekstil boyasının canlı sağlığına karşı oluşturduğu tehlikeler ile ilgili çalışmalar halen yoğun olarak devam etmektedir^(1,9). Bu nedenle, inorganik ve/veya organik kirleticileri sakıncalı miktarlarda içerebilen endüstrilerin atık sularının kullanım yeri ve amacına göre ulusal veya dünya sağlık örgütünün izin verdiği değerlere indirmek için işlenmeye gereksinim duyulmaktadır^(10,11).

Tekstil boyaları yüksek toksisiteleri ve çevrede uzun süre kalıcı olmaları nedeni ile, fenolik maddeler ve pestisitlerden sonra çevreden mutlak olarak uzaklaştırılması gereken kirleticiler arasında yer almaya başlamıştır. Kompleks kimyasal yapıları ve sentetik kökenlerine bağlı olarak, aromatik yapılarından dolayı oldukça kararlı olan ve bu nedenle de degradasyonları çok zor olan boyar maddelerin sucul ortamlardan giderilmesi oldukça zor bir işlemdir. Yüksek hacimli, endüstriyel atıksuların arıtımı için en uygun teknikler aromatik bileşiklerin herhangi bir toksik son ürün oluşturmadan tamamen uzaklaştırılmasına yönelik tekniklerdir. Günümüzde boyar maddelerin giderimi büyük oranda fiziksel ve kimyasal yöntemlerle

gerçekleştirilmektedir ^(12,15) .Ancak bu yöntemlerin uygulanması, aşırı miktarda kimyasal kullanımı veya bunları yok etme problemleri ile konsantre tortu birikimi, pahalı teçhizat gereksinimleri ya da işlem maliyetleri, etkili renk azalmasının noksanlığı ve değişken atıksu girişine olan hassasiyet gibi bazı sınırlamalar getirmektedir ^(16,17) . Bu nedenle büyük hacimli atıksulardaki boyar maddelerin etkili ve ekonomik bir şekilde giderilebilmesi için biyolojik sistemler gibi alternatif yöntemler kullanılmıştır. Çağımızda biyoteknoloji araştırmalarının gelişimi ile birlikte modern biyoteknolojinin uygulama alanları genişlemektedir. Mikroorganizmaların aromatik bileşikleri parçalayabilme yeteneği son yıllarda yoğun bir şekilde araştırılmıştır. Boya, tekstil, otomobil ve metal endüstrilerinin yakınındaki alanlarda bulunan mikroorganizmaların yüksek seviyedeki kirleticilerle bir arada bulunabileceği beklenir. Bu mikroorganizmalar yeni çevreye adapte olurlar ve hatta kendi büyüme ve fonksiyonları doğrultusunda bu çevrenin değiştirilmesine katkıda bulunabilirler. Bu kirleticilerin uzaklaştırılmasını veya asimilasyonunu gerçekleştirebilen mikroorganizmalar, tekstil boyalarının yarattığı çevresel kirlenmeyi azaltmak için kullanılan alternatif bir yöntemdir ⁽¹⁸⁻²⁶⁾ . Yapılan çalışmalarda zararlı kimyasalların biyolojik olarak parçalanmasının karbon iskeletinin zararsız metabolitlere dönüştürülmesi şartıyla tam olarak gerçekleştirildiği belirtilmektedir ⁽¹⁸⁾ .

Biyolojik olarak parçalanamayan organik kökenli moleküllerin, mikrobiyal biyokütle kullanılarak, biyosorpsiyon işlemi ile atık sulardan uzaklaştırılması mevcut geleneksel tekniklerin yerini tutacak veya destekleyecek alternatif bir yöntem olmaya başlamıştır ⁽²⁷⁻³⁰⁾ .Bu teknolojinin kullanımı, biyosorbent materyalinin ve endüstriyel ölçekli üretiminin düşük maliyet gerektirmesi ve oldukça düşük konsantrasyondaki

boyaların sulu ortamlardan uzaklaştırılmasında etkin olması gibi bazı önemli avantajlar sağlamaktadır.

Yaşayan ve ölü mikroorganizmaları polimerik destek malzemelerinin içinde tutuklamak, mikroorganizmanın kirletici moleküllerin biyoadorpsiyon yolu ile uzaklaştırılması işleminde kapasitesini artıracakları araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir ^(30,31). Bu nedenle mikroorganizmanın tutuklanacağı matriksin seçimi, immobilize biyokütlenin çevresel uygulamalarda kullanımında biyosorbent olarak kullanılacak kürelerin direncini ve mekanik dayanımını belirlemesi açısından önemli bir faktördür. Bu özellik biyokütlenin ard arda biyoadorpsiyon-desorpsiyon işlemlerinde yüksek performans ile kullanılabilmesi özelliğini ifade etmektedir. Selüloz türevleri, aljinat, kitosan ve kitin gibi doğal polimerler tutuklanma yolu ile mikrobiyal hücrelerin immobilizasyonu için kullanılan matrikslerdir. Petrol orjinli sentetik polimerler parçalanabilir olmadığından, önemli bir çevre kirliliği sorunu oluşturacağı için polimerik destek malzemesinin doğal kökenli olması oldukça önemli bir parametredir.

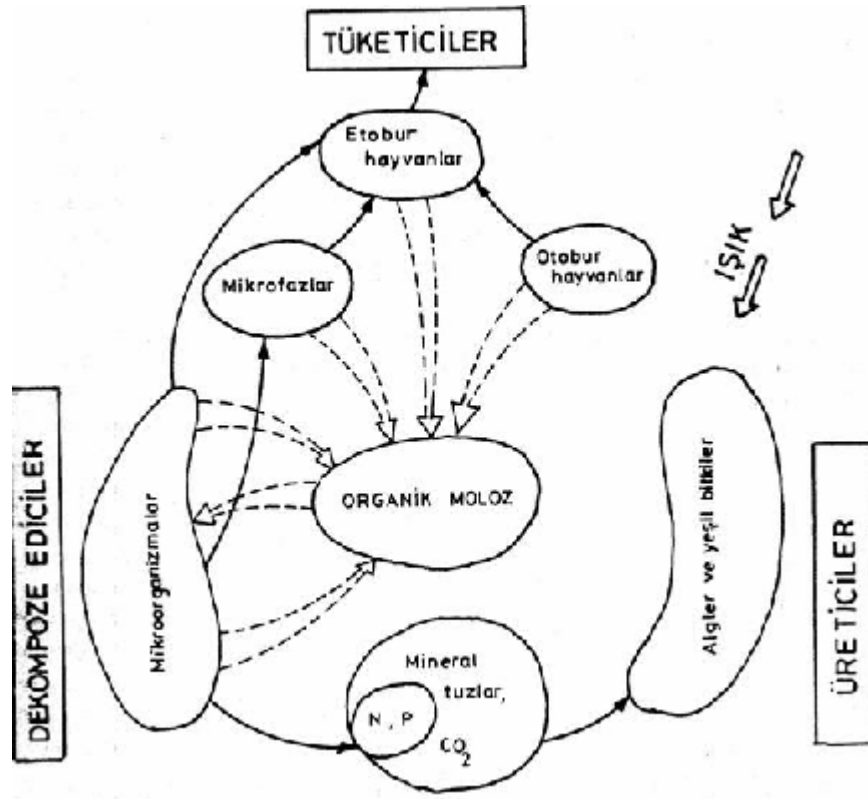
Bu çalışmada, reaktif tekstil boyasının sulu ortamdan uzaklaştırılmasında kimyasal, fiziksel ve biyolojik arıtım tekniklerine alternatif olarak biyoteknolojik yöntem kullanılmış ve sonuçlar değerlendirilmiştir. Bu amaç doğrultusunda, serbest *Lentinus concinnus* biyokütlesi ve *Lentinus concinnus* fungusların Ca-aljinat jel kürelerine matriks içi tutuklama yöntemi ile hazırlanan biyosorbentler hazırlandı. Serbest ve Ca-aljinat kürelere immobilize fungus biyokütlesinin sulu ortamdan bir tekstil boyası olan Reaktif Yellow 86 azo boya molekülünü uzaklaştırma kabiliyetleri kesikli sistemde optimize edildi.

1.1. Su Kirliliği ve Neden Olan Etkenler

Hızla artan dünya nüfusu ve buna bağlı olarak gelişen üretim ve tüketim işlemleri ile oluşan atık maddeler birçok sorunu da beraberinde getirmektedir. Hızlı sanayileşme yaşam standartını yükseltirken canlıların içerisinde bulunduğu çevreyi aynı hızla kullanılamaz hale getirmektedir. Endüstriyel atıksuların arasında önemli bir kirleticisi ajan olarak bilinen organik kirleticiler, çok düşük konsantrasyonlarında dahi canlı organizmalar için özellikle bazı bileşiklerin, insan sağlığına zarar verme potansiyellerinden dolayı tehlikeli kirleticiler olarak sınıflandırılır ve bu nedenle öncelikli kirleticiler olarak düşünölmektedir.

Su kirliliğinin ilk tanımı sucul yaşamda faaliyet gösteren türlerinin azalması ve sudaki doğal dengenin bozulması olarak verilmiştir. Günümüzde ise kirlilik unsurunu oluşturan faktör çevreye bırakılan madde veya enerjinin canlılar ve ekosistem için risk oluşturarak çevrenin doğal yapısının bozulması olarak değerlendirilmektedir. Alıcı sularda inorganik ve/veya organik kökenli bileşiklerin bulunması (ağır metal iyonları, pestisidler, aromatik bileşikler, boya molekülleri gibi), sucul ortamdaki bazı doğal faktörlerin anormal düzeylere çıkması (yüksek fosfat konsantrasyonu gibi) ve sıcaklığın yükselmesi veya oksijen düzeyinin düşmesi suyun kirliliğine neden olabilecek faktörler arasında yer almaktadır. Önemli organik kirleticiler arasında yer alan reaktif boyalar parlak renk sağlaması, mükemmel renk sabitlenmesi ve uygulanabilirliğinin kolay olmasından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır ve geleneksel arıtım işlemlerinden etkilenmeden atık su ile birlikte çıktıkları için çevresel yönden en sorunlu boyalar olarak kabul edilmektedirler. Bu nedenle de nehir ve göllere boşaltılan boya içeren renkli atık sular, doğal su kütlelerinde güneş ışığı geçirgenliğini engelleyerek, sırasıyla hem fotosentetik

aktivitenin hem de oksijen konsantrasyonunun azalmasına neden oldukları çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir ⁽¹⁴⁾ .Ayrıca, boyaların yapısındaki aromatik, metal ve klor gibi grupların varlığı suda yaşayanları, toksik etkileri nedeni ile olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle, önemli bir çevre kirlenme ajanı olan boya moleküllerini içeren atık sularının renk giderimi ekolojik ve canlı sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır. Fiziksel, kimyasal veya biyolojik kirlenme sonucunda Şekil 1.1’de şematik olarak gösterilen ekosistem önemli ölçüde değişmektedir.



Şekil 1.1. Bir ekosistemin şematik gösterimi(Mikrofauna:Mikrobik faaliyetler)

1.2. Azo Boyar Maddeler

Boya molekülleri çeşitli yollarla doğal sulara karıştığında boya konsantrasyonuna ve temas zamanına bağlı olarak organizmalar üzerinde akut ya da kronik etkilere neden olduğu bildirilmiştir ⁽¹⁶⁾ . Ayrıca, tekstil boya moleküllerinin

yapısında bulunan metal iyonları (krom, bakır gibi) canlı sistemler için oldukça zehirli ve tehlikelidir. Kanserojenik ve toksik etkiye sahip olan ağır metal iyonlarının etkileri; uzun ve kısa vadede uykusuzluk, yorgunluk, baş ağrısı, egzama, hafıza ve konsantrasyon eksikliği, depresyon, bağışıklık sisteminde zayıflık, yüksek tansiyon olarak rapor edilmiştir^(28,31-33). Sentetik boyalar yapılarında bulunan gruplara göre; anyonik (reaktif, asidik), katyonik (bazik) ve iyonik olmayan (nötral) boyalar olarak sınıflandırılmıştır⁽⁴⁵⁾. Anyonik ve iyonik boyaların yapısında bulunan kromofor gruplar, çoğunlukla azo veya antrakinon gruplarından oluşmaktadır. Azo bağlarının indirgenmesi sonucunda atık sularda toksik aminler oluşmaktadır. Antrakinon-kökenli boyalar, içiçe geçmiş aromatik yapılarından dolayı, kimyasal ve biyolojik degradasyona daha dayanıklı olmasının sonucunda atıksuların daha uzun süre renkli kalmasına neden olmaktadır. Reaktif boyalar tipik olarak, vinil sülfon, klorotriazin, trikloropirimidin, difluorokloroprimidin gibi farklı tip reaktif gruplarla kombine olmuş, azo temelli kromofor gruplar taşımaktadırlar. Bunlar, kovalent bağlarla pamuk gibi tekstil fiberlerine bağlanmalarıyla, diğer bütün boya sınıflarından ayrılır. Bu grupta yer alan boyalar, parlak ve su ile solmayan sabit renk, düşük enerji tüketen basit uygulama teknikleri gibi uygun karakteristikleriyle ilgili olarak tekstil endüstrilerinde geniş ölçüde kullanılmaktadır. Suda çözünen reaktif ve asit boyalar, geleneksel arıtma sistemlerinden etkilenmeden geçme eğiliminden dolayı çevre kirleticisi olarak oldukça çok problem yaratmaktadır^(14,34).

1.3. Endüstriyel Atık Sularının Arıtımı

Atık sulardan organik bileşiklerin uzaklaştırılması için hali hazırdaki metodlar, mikrobiyal degradasyon, aktif karbonda adsorpsiyon, kimyasal

oksidasyon(ozon, hidrojen peroksit ya da klorin dioksit), derin-kuyu enjeksiyonu, yakma, çözücü ekstraksiyonu ve irradyasyonu içerir.

1.3.1. Kimyasal ve Fiziksel Yöntemler

Tekstil atıksularının arıtımı sırasında atıksu kalitesinde meydana gelen değişikliklerin kullanılan kimyasalda veya uygulanan dozda yapılan değişikliklerle kolayca uygulanabilir olması nedeni ile kimyasal arıtım teknikleri uzun bir süre en yaygın kullanılan teknikler arasında yer almıştır ⁽³²⁾. Kullanılan bu yöntemler oksidasyon, kimyasal çöktürme, flokülasyon yöntemi ve Cucurbituril ile arıtmadır.

Adsorpsiyon, membran filtrasyonu veya iyon değişimi gibi teknikler, her ne kadar bazı sınırlamaları varsa da etkili olarak kullanılan fiziksel yöntemler arasında yer alır. Boya uzaklaştırılması işleminde, adsorpsiyon bu teknikler arasında en yaygın kullanılan yöntemdir. Bununla birlikte, bu düşük maliyetli adsorbentlerin genellikle düşük adsorpsiyon kapasiteleri nedeni ile daha çok miktarda adsorbente gerek duyulduğu çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir ⁽³⁴⁻³⁹⁾. Aktif karbonla renk giderimi özellikle katyonik, mordant ve asit boyalar için etkiliyken, dispers, direkt, vat, pigment ve reaktif boyalar için daha az bir renk giderimi söz konusudur ⁽³³⁾. Membran filtrasyonu tekniği uygulamalarında, sistemin sıcaklığa, kimyasal çevreye ve mikrobiyal aktiviteye karşı dirençli olması gibi özellikleri nedeni ile diğer yöntemlere göre önemli avantaj oluşturmaktadır. Ancak membran teknolojileri, arıtmadan sonra kalan konsantr atığın bertaraf edilmesi problemleri oluşturması, sermaye giderlerinin yüksek olması, membranın tıkanma olasılığı ve yenilenme gerekliliği gibi dezavantajlara da sahiptir⁽³⁶⁾. Kullanımı ekonomik olmaması nedeni ile yaygın olmayan iyon değişimi yöntemi dispers boyalar için çok etkili değildir ⁽³³⁾.

Organik kirleticilerin atık sulardan uzaklaştırılması için sayılan bu çeşitli geleneksel fiziksel ve/veya kimyasal yöntemler, hem maliyet açısından pahalı hem de yetersiz kalmaktadır ^(34,35) .

1.3.2. Biyolojik Yöntemler

Son zamanlarda yapılan çalışmalar birçok boya türünü atıksudan giderebilme yeteneğine sahip yaygın mikroorganizma türlerinin mevcudiyetini vurgulamış ve biyoteknolojik metodları ön plana çıkarmıştır. Yani, teorik olarak biyolojik arıtma sistemleri kimyasal ve fiziksel arıtma yöntemlerine göre daha az çamur üretmesi, maliyetinin daha düşük olması veya alıcı ortamlar için zararlı yan ürünlerin oluşmaması gibi özelliklerinden dolayı tekstil endüstrisi atıksularının arıtımı için ideal çözüm olarak kabul edilmektedir.

Organik kökenli kirletici ajanlar suda çözülmüş olan oksijeni tüketerek kirlenmeye sebep olan maddelerdir. Bu çeşit maddeler antropojenik faaliyetler (evsel, hayvansal, gıda ve kağıt fabrikası atıkları, mezbaha, dericilik atıkları vb.) sonucunda sulara karışmaktadır. Karıştıkları sular durgunsa kirleticiler sedimentasyon yolu ile su kütlelerinin zemininde çökelti oluşturarak birikirler. Sedimentasyonla çöken organik maddeler içinde inorganik maddelerde bulunur. Organik ve inorganik maddelerin bir karışımı olan sedimentler, bakteriler ve diğer organizmalar için iyi bir besin ortamı oluştururlar. Bu ortamlarda mikroorganizmalar suda çözülmüş oksijeni kullanarak sedimentteki organik maddeleri biyolojik yolla parçalarlar.

Organik bileşiklerin biyodegradasyonları oldukça yavaştır, ve degrade edici mikroorganizma sadece düşük konsantrasyonda substrata maruz bırakılması gibi

nedenlerden dolayı yetersiz kaldığı aerobik ve aneorobik yöntemler için alternatif teknolojiler incelenmiştir ⁽³⁷⁻³⁹⁾ .Bu teknikler arasında yer alan biyosorpsiyon, Kimyasal maddelerin mikrobiyal kütle tarafından adsorpsiyonu veya kütlede birikimi biyosorpsiyon olarak ifade edilmektedir. Ölü bakteriler, maya ve mantarlar boyar madde içeren atıksuların renginin giderilmesinde kullanılabilir. Tekstil boyalarının kimyası geniş bir yelpazede değişiklik gösterdiği için mikroorganizmalarla olan etkileşimler boyanın kimyasına ve mikrobiyal kütlelerin spesifik kimyasına dayanmaktadır. Bu nedenle kullanılan mikroorganizmanın cinsine ve boyaya bağlı olarak farklı bağlanma hızları ve kapasiteleri söz konusudur. Boyar madde içeren atıksu çok toksik olduğunda biyosorpsiyon avantajlı olmaktadır ^(33,38) .

1.3.2.1. Biyoteknoloji

Doku, organ ve hücre kültürü, moleküler biyoloji, mikrobiyoloji, genetik, fizyoloji ve biyokimya gibi doğa bilimleri yanında temel mühendislik ve bilgisayar teknolojilerinden yararlanarak, moleküler DNA teknikleri ile bitki, hayvan ve mikroorganizmaları değiştirmek, geliştirmek yeni veya az bulunan maddeleri (ürünleri) elde etmek için kullanılan teknolojilerin tümü biyoteknoloji olarak tanımlanabilmektedir. Fermantasyon biyoteknolojisi, çevre biyoteknolojisi, gıda biyoteknolojisi, tıbbi biyoteknoloji, bitki biyoteknolojisi, enzim biyoteknolojisi ve genetik rekombinasyon biyoteknolojisi (gen mühendisliği) biyoteknolojinin çalışma ve uygulama alanları arasında yer almaktadır ^(39,40) .

Çevre biyoteknolojisinde bugüne kadar yürütülen çalışmalar arasında; *i)* kirlenme kontrolü ve arıtma amacıyla kullanılan mikroorganizmaların tanımlanması, teknoloji geliştirilmesi, *ii)* toksik atıkların arıtılmasında etkin olan mikroorganizmaların tanımlanması ve genetik olarak üretilmesi, *iii)* arıtma sistemlerinde

mevcut mikrobiyal türlerin yapısının, fonksiyonlarının belirlenmesi ve modellenmesi, *iv*) moleküler teknikler kullanılarak çeşitli işletme koşulları altında mikrobiyal türlerin tanımlanması, *v*) gıda ve sucul ortamlarda bulunan toksinler, ağır metaller, hidrokarbonlu kirleticiler için biyosensörlerin geliştirilmesi ve *vi*) genetik olarak geliştirilmiş mikroorganizmaların sucul ortamlardaki çevresel etkilerinin değerlendirilmesi sıralanabilir⁽³⁹⁻⁴³⁾.

Endüstriyel atıksulardan inorganik ve/veya organik bileşiklerin uzaklaştırılması işlemini içeren arıtım günümüzde daha çok biyoteknolojik yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Kimyasal yöntemlere alternatif olarak, zararsız mikroorganizmaların atık suların arıtılmasında kullanılması yönünde son yıllarda çok sayıda araştırmalar yapılmaktadır. Beyaz çürükçül fungusların bu alanda kullanılması yolunda son yıllarda önemli mesafeler alınmış bulunmaktadır. Beyaz çürükçül fungusların ürettikleri oksidatif enzimler (polifenol oksidaz, lakkaz, mangan-peroksidaz gibi) biyolojik oksidasyonla organik kirleticileri etkisiz hale getirirken aynı zamanda da bu kirleticileri karbon kaynağı olarak kullanarak toplam organik madde miktarını atıksu içerisinde yok etme seviyesine kadar indirmektedir. Beyaz çürükçül funguslar, aynı zamanda ucuz karbon kaynakları kullanılarak kolaylıkla üretilebilmektedir⁽⁴⁰⁻⁴⁵⁾.

Ayrıca, bu fungus türleri aktif veya inaktif halde ağır metalleri ve fenol bileşiklerini yüksek oranda adsorplama kapasitelerine sahiptir. Maliyeti yüksek polimerik sorbentlerle karşılaştırıldığında bu tür mikroorganizmalar ekonomik olarak da avantaj sağlamaktadırlar⁽⁴⁵⁾.

1.3.2.2. Biyoteknolojik Yöntemler ile Biyolojik Giderim

Atık sulardan tekstil boyalarının uzaklaştırılmasında kullanılabilecek daha düşük maliyetli adsorpsiyon materyalleri için alternatif kaynaklar araştırılmaktadır. Biyolojik arıtma sistemleri, fiziksel ve kimyasal arıtma yöntemlerine göre daha az çamur üretmesi, maliyetinin düşük olması veya alıcı ortamlar için zararlı yan ürünlerin oluşmaması gibi özelliklerinden dolayı tekstil endüstrisi atıksularının arıtımı için ideal çözüm olarak kabul edilmektedir ^(46,47)

Biyosorpsiyon, çeşitli bileşenlerin (organik, inorganik, metal iyonu, vb.) biyolojik kökenli malzemeler tarafından (biyokütle, biyopolimer vb.) ortam pH'sına bağlı olarak aktif ya da pasif alınımı olarak tanımlanır ve boyaların sucul ortamlardan uzaklaştırılmasında önemli bir alternatif yöntem oluşturmaktadır. Biyosorpsiyon işleminde kullanılan biyokütleyle "sorbent" veya "biyosorbent" adı verilir. Pasif alınımla, biyosorbent yüzeyindeki (hücre duvarı) aktif merkezlere, metabolizmadan bağımsız işlemleri (fiziksel ve kimyasal adsorpsiyon, elektrostatik etkileşim, iyon değişimi, kompleks oluşumu, şelatlama ve mikropresipitasyon) belirtmek için kullanılırken, aktif alınımla ise, kirleticinin hücre içine alınımı şeklinde olup, kovalent bağ oluşumu, yüzey çöktürme, redoks reaksiyonları, hücre zarında stoplazmaya taşınım ve sitoplazmadaki protein, lipid gibi yapılara bağlanma şeklinde gerçekleşmektedir ⁽⁴⁸⁾.

Bu işlem için kullanılacak bakteri, maya, fungus ve alg gibi mikroorganizmaların yüzey özellikleri farklı özelliklere sahip kirleticileri uzaklaştırmaya olanak sağlamaktadır. Biyosorpsiyon işleminde en önemli kriter, yüksek seçicilik ve verimlilik, düşük maliyet ve yüksek performans olarak sıralanmaktadır. Ucuz fermentasyon teknikleri ile üretilen mikroorganizmalar, iyon

değiştirici reçinelere alternatif bir performans göstererek, biyosorbent olarak kullanılmaktadır. Canlı, cansız (ısı ile inaktive edilmiş, kurutulmuş, asit/baz ve/veya diğer kimyasallar ile işleme tabii tutulmuş) veya immobilize biyokütle, boya moleküllerini uzaklaştırmak için kullanılmaktadır. Biyosorpsiyon işlemi süresince biyokütlenin canlılığını korumak oldukça zordur, çünkü sürekli besin desteği sağlamak ve mikroorganizmalar için organik toksisiteden kaçınmak gerekmektedir. Canlı ve/veya ölü biyokütlenin tekrar kullanımı da büyük ölçekli uygulamalarda önemli bir parametredir. Ölü biyokütlenin kolon içinde kullanımı ile biyosorpsiyondan sonra biyokütlenin ayırımında zorluk, rejenerasyondan sonra kütle kaybı, düşük kuvvet ve yoğunluk ve küçük partikül boyutu gibi uygulamalarında kullanımını zorlaştıran bazı problemlere sahiptir. Bu problemleri alternatif olarak biyokütle, bir destek materyaline immobilize edilebilir. Araştırmacılar, biyopolimerik ya da polimerik bir matrikse, cansız biyokütlenin immobilizasyonunun, biyokütle performansını, biyosorpsiyon kapasitesini geliştirdiğini, mekanik kuvveti arttırdığını ve kirletici içeren çözeltiden biyokütlenin ayırımını kolaylaştırdığını kabul etmişlerdir. Immobilizasyon işlemi, daha yüksek biyokütle konsantrasyonuna, kimyasal çevreye dirence ve kolon işlemlerine de izin vermektedir. Immobilize sistemler, ayrıca hasar vermeyen geri kazanımlar için daha uygundur. Ancak immobilizasyon yöntemi, biyokütle hazırlanması aşamasında ek ön işlem maliyetinin ortaya çıkmasına neden olur ve ayrıca, organik kirleticilerin uzaklaştırılması işlemi sırasında kütle transfer direnci oluşabileceğinden biyosorpsiyon kinetiğini olumsuz yönde etkiler ⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾.

Bayramoğlu ve arkadaşları ⁽²⁷⁾, doğal ve modifiye *Lentinus sajor-caju* biyokütle preperasyonlarını kullanarak Reaktif Red 120 boyasını sulu ortamdan

yüksek kapasitede uzaklaştırdıklarını ve ısıtma işlemi görmüş olan preparatın daha etkin olduğunu rapor etmişlerdir.

Zhou ve Zimmerman ⁽⁵²⁾, antrakinin, fitalosiyenin ve azo boyaları içeren atık suların renk giderimi için sorbent olarak, actinomycete *Streptomyces* BW130 kullanmışlardır.

Brahimi-Horn ve arkadaşları ⁽⁵³⁾, *M. varrucaria* biyokütlesini kullanarak Acid Red ve Acid Orange II'nin biyosorpsiyonunu araştırmışlar ve sırası ile %77 ve % 45 oranında renk gideriminin sağlandığını belirtmişlerdir.

Bayramoğlu ve arkadaşları ⁽¹⁷⁾, benzidin temelli "Direct Blue 1 and Direct Red 128" boyalarının biyosorpsiyonunu *Trametes versicolor* biyokütlesi kullanarak araştırmışlardır.

Hu ⁽⁵⁴⁾ çalışmasında Reaktif Blue, Reaktif Red, Reaktif Violet ve Reaktif Yellow reaktif boyalarının uzaklaştırılması için, *Aeromonas* sp., *Pseudomonas luteola* ve *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *S. aureus* biyosorbentlerini kullanmış ve en yüksek biyosorpsiyon kapasitesine Gram-negatif bakteri olan *Aeromonas* sp. kullanımı ile ulaştığını rapor etmiştir.

Gallagher ve arkadaşları ⁽⁵⁵⁾, Remazol Brilliant Red adsorpsiyonunda *Rhizopus oryzae* mikroorganizmasını kullanmışlar ve %87'ye kadar boya gideriminin sağlandığını göstermişlerdir.

Tatarko ve Bumpus ⁽⁵⁶⁾, otoklavlanmış *P. chrysosporium* ile katyonik azo boyası olan Kongo Red'in biyosorpsiyonunu araştırmışlar ve yüksek bir renk uzaklaştırma verimine (%90) ulaşmışlardır.

Bayramoğlu ve arkadaşları ⁽²⁸⁾, *Phanerocheate chryso sporium* biyokütlesinin ve işlem görmüş biyokütlelerin Reaktif Blue 4 boya molekülünün sulu ortamdan uzaklaştırılmasını kesikli ve sürekli sistemde incelemiştir.

Aksu ve Tezer ⁽⁵⁷⁾, sulu çözülden, reaktif bir anyonik boya, Remazol Black B'nin uzaklaştırılması için, kurutulmuş *R. arrhizus* ile çalışmışlardır. Biyosorpsiyon, mikroorganizmanın kitin, asidik polisakaritler, lipidler, amino asitler ve diğer hücresel bileşenleri gibi, fungusun hücre yüzeyindeki aktif gruplar ile, vinil sülfon reaktif grupları ile kombine, tipik azo temelli kromoforlar olan boya anyonları arasındaki etkileşimin bir sonucu olduğunu rapor etmişlerdir.

Sumatri ve Phatak ⁽⁵⁸⁾, *Aspergillus foetidus* biyokütlesini kullanarak boya içeren endüstriyel atık sulardan yaptıkları renk giderim çalışmalarında, suyun %90-95 oranında rengini gidermeyi başardıklarını belirtmişlerdir.

Özmihçi ve Kargı ⁽⁵⁹⁾, karışık bakteri kültürünü değişik boyar maddelerin dekolorizasyon ve biyosorpsiyon etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında %90'nın üzerinde bir kapasite sağladıklarını rapor etmişlerdir.

O'Mahony ve arkadaşları ⁽⁶⁰⁾, *R. arrhizus* biyokütlesini kesikli sistemde sulu çözülden Cibacron Brilliant Red 3B-A (Reactive Red), Remazol Brilliant Blue R (Reactive Blue 19), Remazol Brilliant Orange3WR (Reactive Orange 16), olmak üzere üç ayrı reaktif boyanın uzaklaştırılmasında yüksek kapasite elde ettiklerini belirtmişlerdir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyaller

2.1.1. Kimyasal Maddeler

Reaktif Yellow 86 (M: 667.37 g/mol, λ_{\max} : 426 nm) azo boyar maddesi Sigma (St. Louis.MO, ABD) firmasından alındı. Kullanılan diğer tüm analitik derecede saflıktaki kimyasallar Merck AG (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edildi.

2.1.2. Cihazlar

2.1.2.1. UV-VIS Spektrofotometre

Biyoteknolojik yöntem kullanılarak sulu ortamlardan azo boyasının biyolojik giderim yoluyla ortamdaki uzaklaştırılmasında, çözeltideki bakiye boya miktarı, spektrofotometrik yöntemler kullanılarak UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu, Tokyo, Japonya, Model 1601) ile belirlendi.

2.1.2.2. Kullanılan Diğer Cihazlar

pH metre (NEL Elektronik, Türkiye), manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica, İtalya), otoklav (Autohouse AD7, Tayvan), çalkalamalı su banyosu (Nüve ST402, Türkiye), inkübatör (Heidolph, Almanya), sirkülatörlü ısıtıcı soğutucu su banyosu (Labcon CPE20, Labcon LTB12140, Güney Afrika).

2.2. Yöntem

2.2.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma

Basidiomycetes sınıfı içerisinde yer alan ve 430305 MAFF kodu ile anılan beyaz çürükçül fungus türü, *Lentinus concinnus*, Japonya Gen Bankası'ndan (National Institute of Agrobiological Sciences (NIAS), Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, Japonya) temin edilmiştir. Fungus biyokütlesi boya moleküllerinin uzaklaştırılmasında biyosorbent olarak kullanılmıştır.

2.2.2. Fungusun Üretimi

Lentinus concinnus patates dekstroz agar katı besiyerinde 30 °C' de 5 gün inkübe edildi ve bu sürenin sonunda sıvı besi ortamı içeren erlenlere aktarıldı ve çalkalamalı su banyosunda 37 °C'de 3 gün süre ile inkübe edilerek büyümeleri sağlandı. Fungus kültür stokları her 15 günde bir yenilendi ve 4 °C'de muhafaza edildi.

Patates dekstroz agar-besiyerinde üretilen *Lentinus concinnus* kültürlerine 10 ml steril büyüme ortamı eklenerek süspanse hale getirildi. *Lentinus concinnus* üretiminde kullanılan besi ortamı Litrede 2.0 g yeast extract, 10.0 g malt extract, 2.0 g pepton, 10.0 g glikoz, 2.0 g KH₂PO₄ ve 1.0 g MgSO₄.7H₂O içermektedir. İnkübasyon sürecinin sonucunda, 100 ml sıvı büyüme ortamında fungal süspanسیونlar 250 ml'lik erlenler içerisinde hazırlandı ve çalkalamalı su banyosunda 37 °C'de 3 gün süre ile inkübe edilerek büyümeleri sağlandı.

Minimal besi ortamı litresinde 10.0 g D-Glikoz, 20.0 g KH₂PO₄, 0.5 g MgSO₄.7H₂O, 0.1 g NH₄Cl, 0.1 g CaCl₂.7H₂O, 0.001 g tiamin, 1.5 g nitriloasetilasetat, 1.0 g NaCl, 0.5 g MnSO₄.H₂O, 0.1 g FeSO₄.7H₂O, 0.1 g ZnSO₄, 0.01 g CaSO₄, 0.01 g CuSO₄, 0.01 g CuSO₄.5H₂O, 0.01 g H₃BO₃ ve 0.01 g NaMoO₄.2H₂O bileşenlerini içermektedir. Üretilen biyokütle, Whatman 388 ile filtre edilerek sıvı besiyerinden uzaklaştırıldı. Fungal biyokütlenin kuru ağırlıkları 50 °C’de vakum etüvünde kurutularak belirlendi.

2.2.3. Fungusun Ca-aljinat Kürelere İmmobilizasyonu

Lentinus concinnus fungal misellerinin immobilizasyonu için farklı konsantrasyonlarda hazırlanan Na-aljinat çözeltileri (yüksek viskoziteli, Sigma Chem. Co., USA) (%1 ve %2) 50 mM potasyum fosfat tamponu içerisinde homojenize edilen fungus miselleri ile karıştırıldı. Karışım 0.5 M CaCl₂ içeren çözeltiye bir büret aracılığı ile damlalar halinde aktarıldı. Sodyum aljinat-fungus karışımı kalsiyum klorür çözeltisine damlatıldığında, kalsiyum iyonları sodyum iyonları ile yer değiştirerek iyonik çapraz bağlı kalsiyum aljinat jeli oluşumu sağlandı. Çözelti sürekli karıştırılarak fungus immobilize edilen Ca-aljinat kürelerin bir araya toplanması önlenildi. Bu çözeltide, 15 dakika süre ile karıştırılan fungus tutuklu küreler (~2 mm çapında) daha sonra 200 ml steril saf su ile iki kez yıkandı. Fungus tutuklanmış kürelerin içerisindeki mikroorganizmaların gelişmesi için yukarıda verilen besi ortamı içerisinde 25°C de 150 r.p.m. çalkalama hızında 3 gün süre ile büyümeleri sağlandı. Bu sürenin sonunda, büyüme ortamından fungus tutuklanmış aljinat-küreler ayrılarak kesikli sistemde sulu ortamda bulunan azo boyar maddesi olan Reaktif Yellow 86 bileşiğinin renk gideriminde kullanıldı.

Lentinus concinnus içeren Ca-aljinat küreler filtre edildi ve kullanılmaya kadar minimal besi ortamında 4 °C 'de saklandı.

2.2.4. Fungal Biyokütlenin Karakterizasyonu

2.2.4.1. Fungal Biyokütlenin Denge Su İçeriği

Fungal biyokütlenin denge su içeriği, % 0.85'lik NaCl içeren fizyolojik tuz çözeltisi içerisinde oda sıcaklığında gravimetrik yöntemle tayin edildi. Fungal biyokütlenin denge su içeriği aşağıdaki formüle göre hesaplandı ⁽²⁸⁾.

$$\% \text{ Denge su içeriği (w/w)} = [(W_{\text{ş}} - W_{\text{k}}) / W_{\text{k}}] \times 100 \quad (3.1)$$

Burada, W_{k} kuru biyokütlenin ağırlığı, $W_{\text{ş}}$ ise denge su içeriğine ulaşmış biyokütlenin ağırlığıdır.

2.2.4.2. Fungal Biyokütlenin Yüzey Morfolojisi

Kurutulmuş fungal biyokütle, azaltılmış basınç altında altın ile kaplandı ve biyokütlenin elektron mikrografları JEOL (JSM 5600) taramalı elektron mikroskobu kullanılarak elde edildi.

2.2.4.3. Fungal Biyokütlenin FTIR Spektrumu

Boya moleküllerinin uzaklaştırılması işleminden önce ve sonra *L. concinnus* fungal biyokütlesi ve *L. concinnus* immobilize aljinat kürelerinden oluşan biyokütlenin FTIR spektrumu FTIR spektrofotometresi (Mattson 1000 FT-IR, İngiltere) kullanılarak elde edildi. 0.1 gram kuru fungal biyokütle ve 0.1 gram KBr karıştırılarak tablet haline getirildi ve spektrumu alındı.

2.2.5. Kesikli Sistemde Boya Renk Giderimi İçin Uygun Koşulların Belirlenmesi

Reaktif Yellow 86 azo boya bileşiminin *L. concinnus* ve *L. concinnus* immobilize Ca-aljinat küreler ile biyosorpsiyonu kesikli sistemde çalışıldı. Biyokütlenin sulu ortamdan uzaklaştırdığı boya miktarı, biyosorpsiyon ortamındaki boyanın başlangıç ve biyosorpsiyon sonundaki bakiye konsantrasyonları ölçülerek belirlendi. Boya bileşiminin başlangıç konsantrasyonu, denge konsantrasyon süresi, ortam pH'sı ve sıcaklık gibi parametrelerin renk giderim hızı ve kapasiteleri üzerine etkisi araştırıldı. Çalışmamızda Reaktif Yellow 86 boya bileşiminin 500 mg/L stok çözeltileri hazırlanarak kullanıldı. Yaş kütlesi bilinen fungal biyokütle (doğal formdaki) ve ıslak kütlesi yaklaşık 1.0 g olan fungus tutuklu aljinat kürelerle pH'sı 1.0-9.0 (HCl veya H₂SO₄ ile ayarlandı) aralığında değişen farklı konsantrasyonlarda (1-200 mg/L) boya molekülü içeren ortama aktarıldı ve kesikli biyosorpsiyon sisteminde 25°C de ve 24 saat süre ile 250 rpm karıştırma hızında temas ettirildi.

Çalışmamızın her aşamasında kullanılan su, Barnstead (Dubuque, IA, USA) ROpure LP marka ters ozmoz, Barnstead D3804 NANOpure organik/colloidal uzaklaştırıcı yüksek akışlı selüloz asetat membran (Barnstead D2731) üniteleri ve iyon-değişim kolonundan oluşan ultra-saf su sisteminden elde edildi. Bu sistem kullanılarak elde ettiğimiz suyun iletkenliği 18 mS/cm dir.

2.2.5.1. pH ve Etkileşim Süresinin Renk Giderimine Etkisi

Her bir fungal biyokütle üzerine biyosorplanan boya miktarı, deney ortamındaki başlangıç ve bakiye boya miktarları, Reaktif Yellow 86 için 426 nm dalga boyunda çift ışık demetli UV-VIS spektrofotometresi kullanılarak absorbanslarının ölçülmesiyle tayin edildi. Sulu ortamdaki boya miktarının belirlenebilmesi için, başlangıç boya konsantrasyonu 1-50 mg/L aralığında değiştirilerek kalibrasyon grafiği elde edildi. Fungal biyokütlenin farklı ortam

pH'ında (1.0-9.0) boya renk giderim kapasitesi (3.2) eşitliğinin kullanılarak hesaplandı^(17,27).

$$q = (C_0 - C) \times V_s / m \quad (3.2)$$

Burada q, fungal biyokütle tarafından uzaklaştırılan boya miktarını (mg/g); C₀ ve C sırası ile başlangıç ve boya giderim işleminden sonra ortamda kalan boya konsantrasyonunu (mg/L); V_s, çözelti hacmini (L) ve m, fungal biyokütlenin kuru haldeki kütlesini (g) ifade etmektedir.

Hazırlanan fungal biyokütlelerle sulu ortamdan azo boyasının uzaklaştırılmasının zamana bağlılığı, farklı pH'larda 5 mg/L başlangıç boya konsantrasyonu içeren 20 mL çözülden biyosorpsiyon yoluyla renk giderimi 24 saat süresince takip edilerek belirlendi.

2.2.5.2. Başlangıç Boya Konsantrasyonu ve Sıcaklığın Etkisi

Deneyel boya giderim kapasitesi pH'sı 2.0 olan ve başlangıç boya konsantrasyonu 1-200 mg/L aralığında araştırıldı. Biyokütle ile boya uzaklaştırma işleminde dengeye ulaşılan sürenin sonunda biyokütle, boya çözeltisinden uzaklaştırıldı ve uzaklaştırılan boya miktarı (3.2) eşitliği kullanılarak deneysel adsorpsiyon izotermi elde edildi ve maksimum boya giderim kapasitesi hesaplandı. Ortam sıcaklığının boya giderimi üzerine etkisi, 4.0-45 °C sıcaklıkları arasında araştırıldı.

2.2.5.3. Teorik Adsorpsiyon İzoterm Modelinin Belirlenmesi

Genellikle adsorpsiyon izotermi olarak bilinen, denge verileri, organik kirleticilerin uzaklaştırılmasında, biyosorpsiyon sistemlerinin tasarımı için temel gereklilikleri oluşturmaktadır. Langmuir, Freundlich, Temkin, Redlich–Peterson vb denge eşitlikleri literatürde, en sık kullanılan, sabit bir sıcaklıkta, hücrelerde adsorbe edilen organik kirletici (q) ve çözeltideki organik kirletici (C) arasında, doğrusal olmayan dengeyi tanımlayan, iki veya üç parametrelidir ^(44,61-63).

Homojen adsorpsiyon işlemlerini ifade eden Langmuir adsorpsiyon izoterminde, katı yüzeyin her noktası aynı özelliktedir ve adsorbe olan moleküller katı yüzeyine tek tabaka halinde adsorplanır ⁽⁶²⁾. Çözelti biyokütle arayüzeyinde boyar maddenin adsorpsiyonu bu homojen yüzeyinde dengeye ulaşmaya değin sürer. Denge anında teorik maksimum adsorplama miktarı (q_{max}), 3.3 eşitliği kullanılarak çizilen Langmuir izoterm eğrisinin K_L/a_L 'ye eşit olan eğiminden hesaplandı.

$$q_e = K_L C_e / 1 + a_L C_e \quad (3.3)$$

Burada C_e , sulu ortamdaki boya denge konsantrasyonunu (mg/L); q_e , biyokütlenin denge anındaki adsorpsiyon kapasitesini (mg/g); K_L ve a_L Langmuir izoterm model sabitlerini ifade etmektedir.

Heterojen adsorpsiyonlar için, bir denge reaksiyonu olan Langmuir denkleminde türetilen Freundlich adsorpsiyon izotermi kullanılmaktadır. Freundlich izoterm modeli, biosorbent yüzeyinde adsorplanan madde miktarının ortamdaki boya konsantrasyonunun üstel bir fonksiyonu olduğu ifade eden eşitliktir (Eşitlik, 3.4).

$$q = K_F (C)^{1/n} \quad (3.4)$$

Burada K_F ve n , sistemin karakteristiği olan Freundlich sabitleridir. K_F , Freundlich izoterm modelindeki kapasite parametresi; n , Freundlich izoterm modelindeki adsorpsiyon yoğunluğunu gosteren üssel parametredir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

3.1 Araştırma Bulguları

Evsel, endüstriyel, tarımsal ve diğer kullanımlar sonucunda kirlenmiŐ veya özellikleri kısmen veya tamamen deđiŐmiŐ sular ile maden ocakları ve cevher hazırlama endüstrilerinden kaynaklanan sular ve yerleŐim alanlarından yađıŐlarla yüzey veya yüzey altı akıŐa dönüŐmesi sonucunda oluşan sular atık su olarak tanımlanmıŐtır ⁽⁶⁴⁾. Bu endüstriyel atıklar arasında tekstil endüstrisinin neden olduğu vre kirliliği önemli bir yer almaktadır. Tekstil endüstrisi atıksularından renk gideriminde farklı fiziksel, kimyasal ve/veya biyolojik arıtma metotları kullanılmaktadır. Bu teknikler arasında, adsorpsiyonla renk giderimi oldukça etkin bir yöntemdir. Ancak bu prosesin oldukça yüksek yatırım ve işletim maliyeti gerektirmesi önemli bir dezavantajdır. Boyar maddelerin parçalanmaya karşı oldukça dayanıklı olmaları nedeni ile biyolojik yöntemler de renk giderim işleminde yetersiz kalmaktadır. Çevresel biyoteknoloji alanındaki geliŐmeler, biyosorpsiyon yoluyla sulu ortamlardan boyaların geniş bir grubunun, boyar maddeleri parçalayabilen aerobik-anaerobik bakteri ve/veya beyaz rkl fungus türlerinin veya white-rot fungi türlerinin izole edilmesiyle veya bakteri, maya ve alglerin kullanımı sonucu uzaklaŐtırabileceđini göstermektedir ⁽³²⁻³⁶⁾. Biyoteknolojik yöntemler kullanılarak atık sulardaki boyar maddelerin uzaklaştırılmasının sunduğu bir diğer avantaj mikroorganizma biyokütlesinin basit fermantasyon teknikleri ve uygun büyüme ortamları ile ucuz bir Şekilde retilbilmesidir.

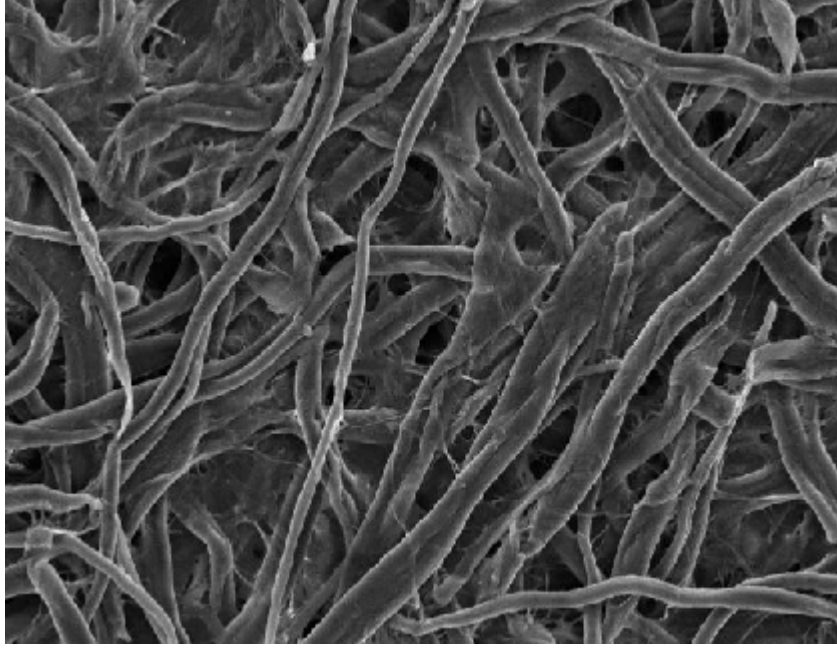
Çeşitli azo boyları lignin peroksidaz ve manganez bağımlı peroksidaz gibi ekstraselüler enzimlerin katalitik aktivitesiyle biyotransforme veya mineralize edebilme yeteneğine sahip *Trametes versicolor* ve *Phanerochaete chrysosporium* gibi beyaz-çürükçül funguslar tekstil atık sularından boyların uzaklaştırılması için incelenmiştir ^(17,27,28). Bu doğrultuda, tez çalışması kapsamında biyoteknoloji alanında *Lentinus concinnus* fungal biyokütleri ve matriks içi tutuklama yöntemi ile *Lentinus concinnus* immobilize edilmiş aljinat küreciklerinin biyosorbent olarak kullanılmasının önemli bir avantaj sağlayacağı düşünülmüştür. Bu biyokütlerin sulu ortamdan Reaktif Yellow 86 boyar maddesinin biyosorpsiyon metodu ile renk giderimi ve biyosorpsiyon hız ve kapasitesine sistem parametrelerinin etkisi araştırılmıştır.

3.1.1. Karakterizasyon Çalışmaları

Denge su içeriği biyokütlerin boya adsorpsiyonu işlem kapasitesini arttıran önemli bir parametredir. *Lentinus concinnus* biyokütlesi ve fungus tutuklu Ca-aljinat kürelerin denge su içeriği, %0.85'lik NaCl içeren, fizyolojik tuz çözeltisi içerisinde gravimetrik yöntem ile 3.1 eşitliği kullanılarak sırası ile %185 ve %92 olarak belirlendi. Denge su içeriğinin yüksek olmasının, hidrofilik özellikteki fungus hücre duvarının yapısından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. *Lentinus concinnus* fungusu içeren aljinat kürelerin 1.0-9.0 pH aralığında kararlılığını koruduğu gözlemlendi.

Lentinus concinnus'un aljinat küreciklere immobilizasyon işlem basamağının ardından mikroorganizmaların gelişmesi için Bölüm 2'de belirtildiği gibi 3 gün inkübasyon süresi sonunda 1.0 g aljinat küreye 0.276 g fungus immobilize edildiği hesaplandı.

Çalışmamızda kullanılan biyokütlelerin yüzey mikrografı, taramalı elektron mikroskobu ile incelendi. Serbest fungus türünün misel yapıda bir görüntü verdiği yoğun bir misel ağ yapısına sahip oldukları gözlemlendi (Şekil 3.1). Kullanılan biyokütlenin bu misel yapısından dolayı sağlayacağı geniş yüzey alanının, boya maddelerle etkileşim yüzey alanını arttıracacağı düşünüldü. *Lentinus concinnus* immobilize aljinat kürelerin SEM görüntüsünden tutuklanan fungus misellerinin aljinat kürelerin yüzeyinde uniform olarak büyüdüğü görüldü (Şekil 2). Fungusların aljinat-kürelerde uniform olarak gelişmeleri fungus tutuklu aljinat kürelerin tüm yüzey alanı üzerinde etkili bir adsorpsiyon potansiyeline sahip olacağı düşünüldü.

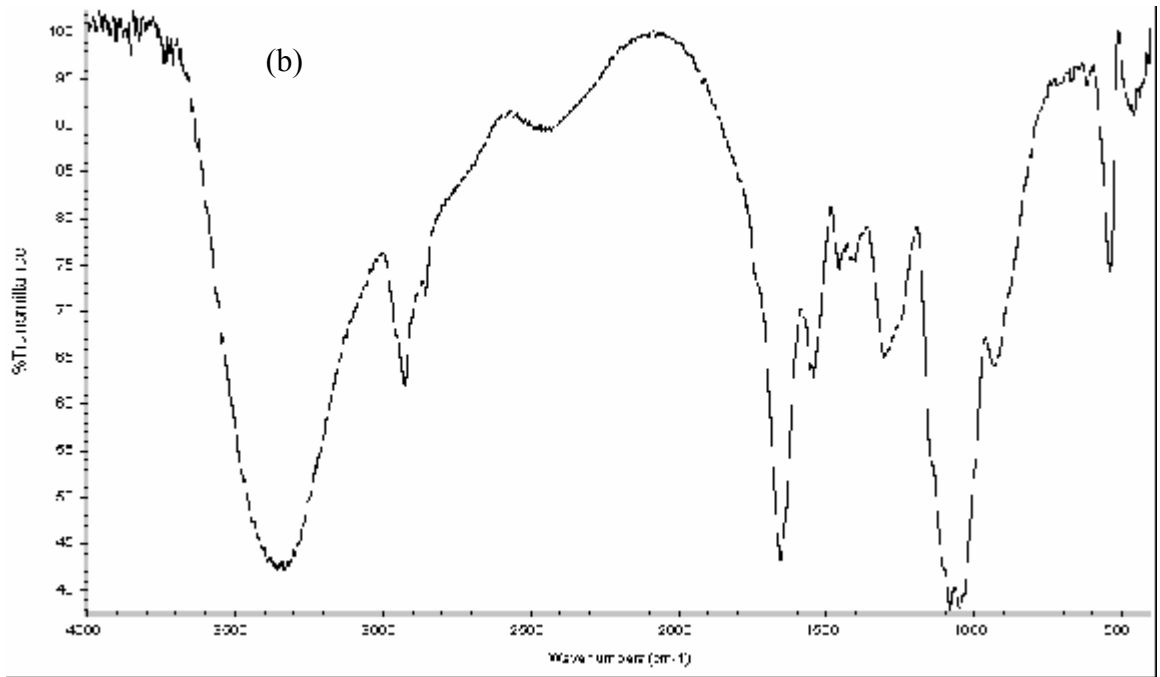
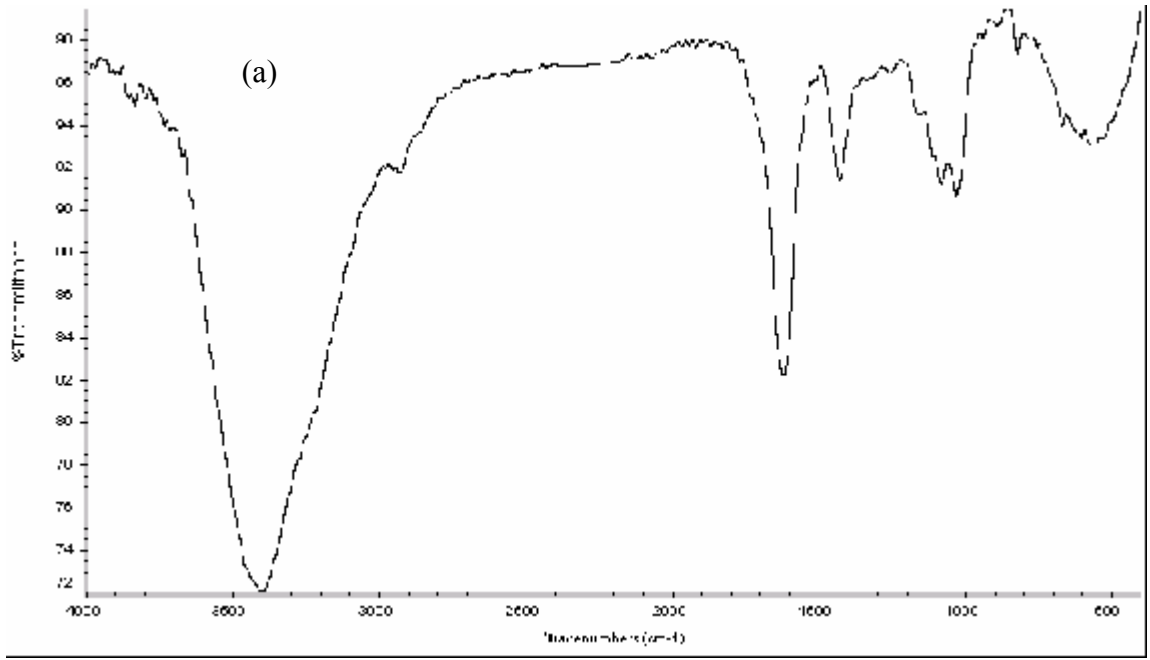


Şekil 3.1. Serbest fungusun temsili SEM mikrografı

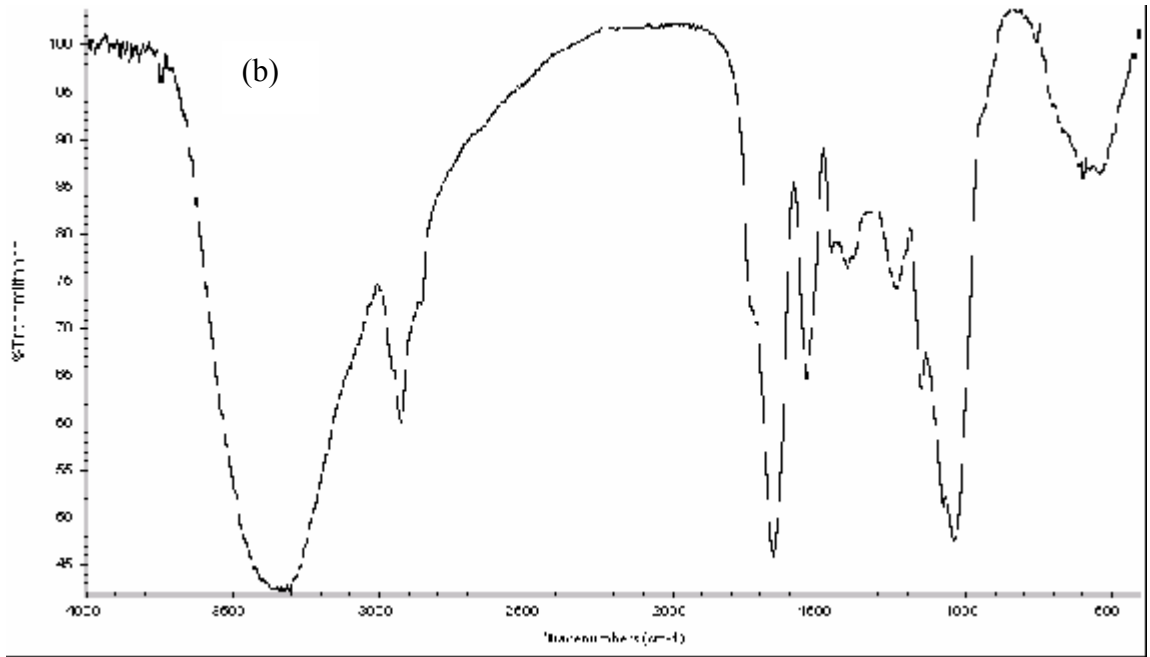
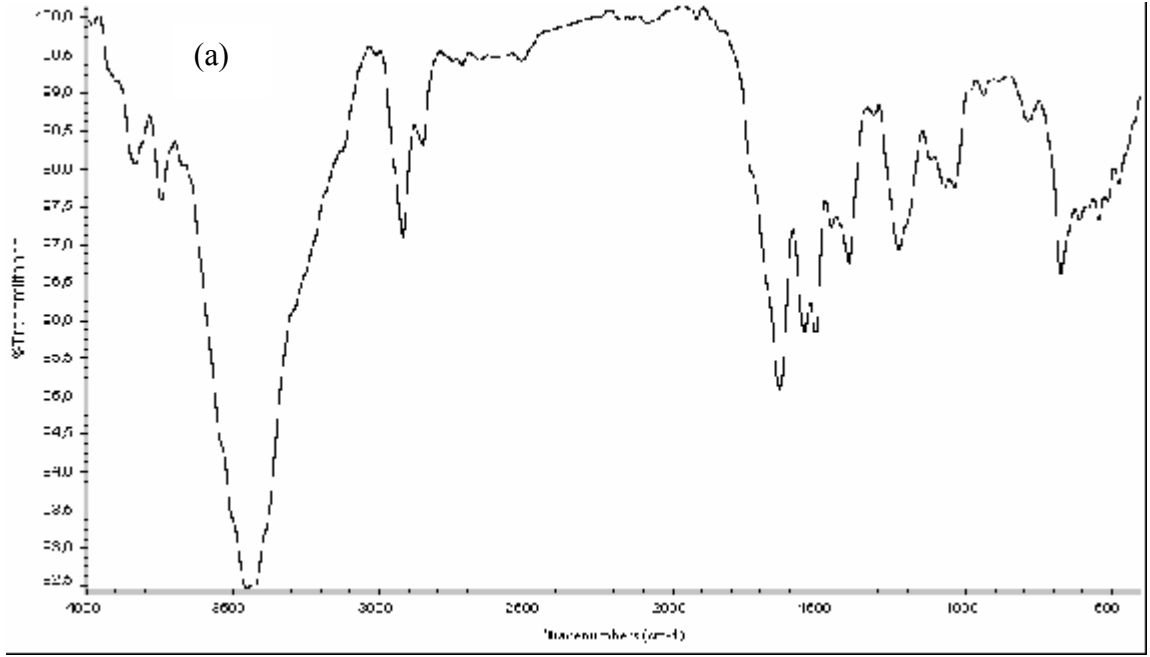
Lentinus concinnus fungal preparasyonunun FTIR spektrumları, karboksilik grupların –OH gerilmesini ve –NH gerilmesini sunan, $3400\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ frekans seviyesinde keskin piklere sahiptir (Şekil 3.2). Fungal misellerin hücre duvarı yapısındaki, kitin ve kitosanın N-H eğilmesi, 1650 cm^{-1} civarında güçlü piklere

sebepe olduğu görülmektedir. 1900 cm^{-1} civarındaki pikler, aromatik halka yerdeğiştirmesi gösteren parmak izi bölgesinde gözlenmiştir. C-H gerilme titreşimlerini, N-H eğilmesini (makaslama), $-\text{CH}_3$ sallanmasını (şemsiye deformasyonu) ve C-OH gerilme titreşimlerini, sırasıyla 2928, 1548, 1406 ve 1047 ve 1080 cm^{-1} 'deki pikler, fungal hücre duvarlarında bulunan çeşitli fonksiyonel gruplardan dolaydır. Diğer taraftan, 938 cm^{-1} 'deki N-H gerilme titreşimleri pikleri, geniş C-O gerilim bandı ile maskelenmektedir.

Şekil 3.3'de Reaktif Yellow 86 azo boya maddesi ve sulu çözeltiden boya giderim işlemine tabii tutulan fungal biyokütlenin FTIR spektrumunu göstermektedir. Biyosorpsiyon işleminin ardından, biyokütlelerin yüzeyindeki fonksiyonel gruplar ile boya moleküllerinin iyonize olabilen grupları ve/veya hidrofobik grupların etkileşimi nedeni ile biyokütlenin sahip olduğu piklerden bazılarının yoğunluğunun azaldığı, ortadan kalktığı veya 595 ve 1240 cm^{-1} 'deki piklerin varlığı görülmüştür.



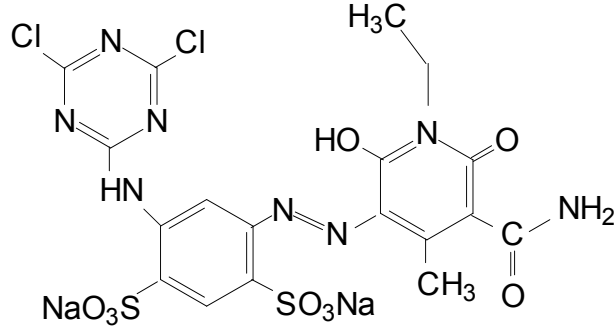
Şekil 3.2. (a) Ca-aljinat ve (b) immobilize aljinat biyokütellerinin FTIR spektrası



Şekil 3.3. (a) Reaktif Yellow 86 azo boya maddesi ve (b) boyar madde ile etkileştirilmiş fungal biyokütlesinin FTIR spektrası

3.1.2. Sulu Ortamdan Boya Giderimi Çalışmaları

Mikroorganizmaların (bakteriler, mayalar, funguslar ve algler) farklı yapıdaki yüzey özellikleri çözeltilerden çeşitli yapıdaki kirleticileri adsorplamalarına olanak sağlamaktadır. Sulu ortamlardan biyosorpsiyon ile boya giderimi çalışılan, Reaktif Yellow 86 azo boya molekülünün kimyasal yapısı Şekil 3.4'te gösterilmektedir. Reaktif Yellow 86 boya molekülü; iki tane sülfonil, bir tane primer amin, bir tane sekonder amin grubuna sahiptir.



Şekil 3.4. Reaktif Yellow 86 azo boyar maddesinin kimyasal yapısı

3.1.2.1. Biyosorpsiyon Hızı

Çevre biyoteknolojisi uygulamalarında kullanılan biyosorpsiyon tekniğinin önemi yüksek seçiciliği ve verimliliği, ucuz maliyet etkinliği ve iyi uzaklaştırma performansından kaynaklanmaktadır. Fungal biyokütle farklı formlarda kullanıldığı gibi doğal polimerler içerisine immobilize edilerek de tehlikeli organikleri uzaklaştırmak için kullanılmaktadır ^(65,66).

Doğal kökenli biyolojik bir polimer olan kalsiyum aljinat, aljinik asit tuzlarından elde edilen tersinmez bir hidrokloriddir. Kalsiyum aljinat; istenilen

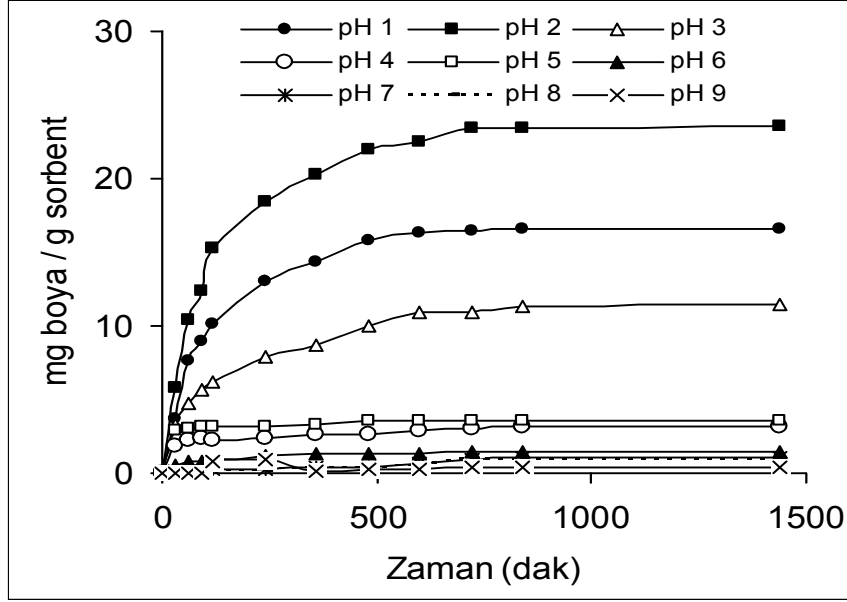
şeklin kolayca verilebilmesi, elastik yapısı, mekanik dayanımının yüksek olması, kolay hazırlanabilmesi, düşük toksisiteye ve immünisiteye sahip olması, biyolojik olarak uyumlu olması ve düşük maliyeti gibi sahip olduğu özelliklere nedeni ile yaygın bir kullanım alanına sahiptir ⁽⁶¹⁾.

Çalışmamızda, organik kirletici grubunda yer alan boya bileşikleri mikroorganizmalarda yüksek oranda birikme eğilimi gösterdiği için, beyaz çürükçül fungus grubunda yer alan *L. concinnus* fungus biyokütlesi Ca-aljinat kürelere matriks içi tutuklama yöntemi ile immobilize edilerek atıksulardan çok düşük konsantrasyonda dahi tehlikeli olabilen boya bileşiklerin uzaklaştırılmasında biyolojik orijinli bir sorbent olarak kullanıldı. Serbest ve immobilize *L. concinnus* biyokütlesi kullanılarak Reaktif Yellow 86 azo boyar maddesinin sulu ortamdan uzaklaştırılması biyosorpsiyon metodu kullanılarak gerçekleştirildi.

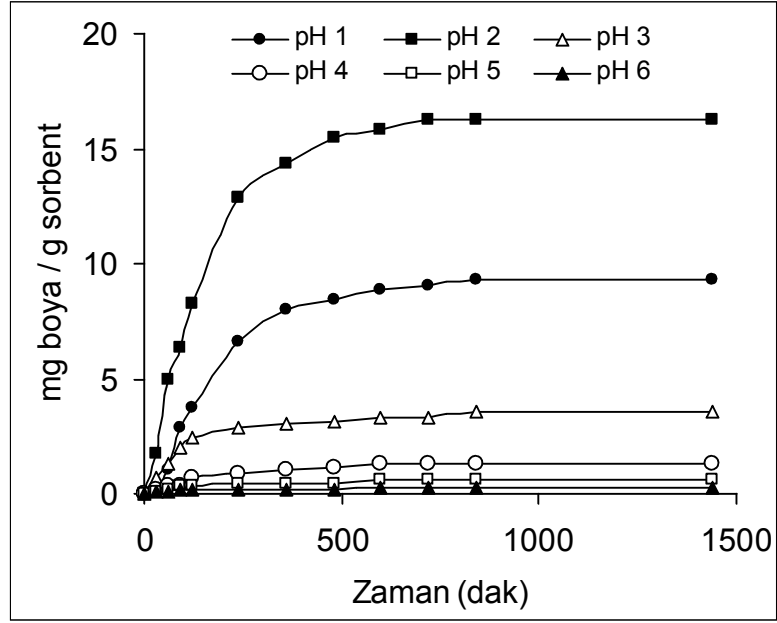
Atıksulardan organiklerin uzaklaştırılmasında, biyosorpsiyon mekanizmasını ve hızını kontrol eden, potansiyel hız kontrol adımlarını araştırmak için, önerilen tasarım önemlidir. Eksternal kütle transferi, intrapartiküler difüzyon gibi kinetik incelemelerin yapılabilmesi için, biyosorpsiyon işleminin zamanla değişimi ve denge koşulları araştırılmalıdır. Bu amaç doğrultusunda, biyokütle kullanılarak boya molekülleri içeren sulu çözeltideki biyosorpsiyon işleminin bir arayüzey olayı olması nedeni ile, hedef kirletici moleküllerin uzaklaştırılması için gerekli temas süresi sağlanarak, dengenin oluşmasına izin verilmelidir.

Gram fungus kütlesi ve immobilize *L. concinnus* kütle başına biyosorplanan boya miktarının zamanın bir fonksiyonu olarak pH ile değişimi araştırılarak biyosorpsiyon kinetiği belirlenmiş ve elde edilen sonuçlar sırası ile Şekil 3.5 ve 3.6'de verildi. Biyoküteller üzerine boya biyosorpsiyonunun, düşük pH değerlerinde

10 saatte dengeye ulaştığı ve 24 saat inkübasyon süresi sonunda adsorpsiyon dengesinde bir değişiklik olmadığı gözlemlendi. Ortam pH'sının yükselmesi ile adsorpsiyon dengesine daha kısa zamanda ulaşıldığı belirlendi.



Şekil 3.5. *Lentinus concinnus* biyokütlesi ile boya biyosorpsiyonunda farklı ortam pH'larında elde edilen biyosorpsiyon kinetiği



Şekil 3.6. *Lentinus concinnus* immobilize Ca-aljinat biyokütlesi ile boya biyosorpsiyonunda farklı ortam pH'larında elde edilen biyosorpsiyon kinetiği

Gözenekli yapıya sahip biyosorbent ile organik kirletici molekülünün biyosorpsiyon işlemi; *i*) boya molekülünün biyosorbent ile sıvı arayüzeyindeki sınır filminden, biyosorbentin dış yüzeyine (film difüzyonu) taşınması, *ii*) moleküllerin yüzeyden, intrapartiküler aktif bölgelere transferi ve *iii*) moleküllerin biyosorbentin aktif bölgelerince alınmasını takip eden basamaklardan bir ve/veya birkaçını içerebilen oldukça karmaşık bir işlemdir ^(2,30,65). Biyosorpsiyonun hızını; sulu fazı karıştırma hızı, destek materyalinin ve biyosorbentin yapısal özellikleri (tutuklanan fungal biyokütlenin hücre duvarı bileşiminin yüzey yük yoğunluğu, protein ve karbohidratın bileşimi), sorbent miktarı, çalışılan koşullar altında metal iyonunun özelliği (örneğin iyonik yarıçapı), metal iyonunun başlangıç konsantrasyonu ve ortamda diğer metal iyonlarının bulunması gibi faktörler etkiler. Bu nedenlerle

literatürdeki diğer çalışmalarla, biyosorbent hızını karşılaştırmak çok olanaklı değildir.

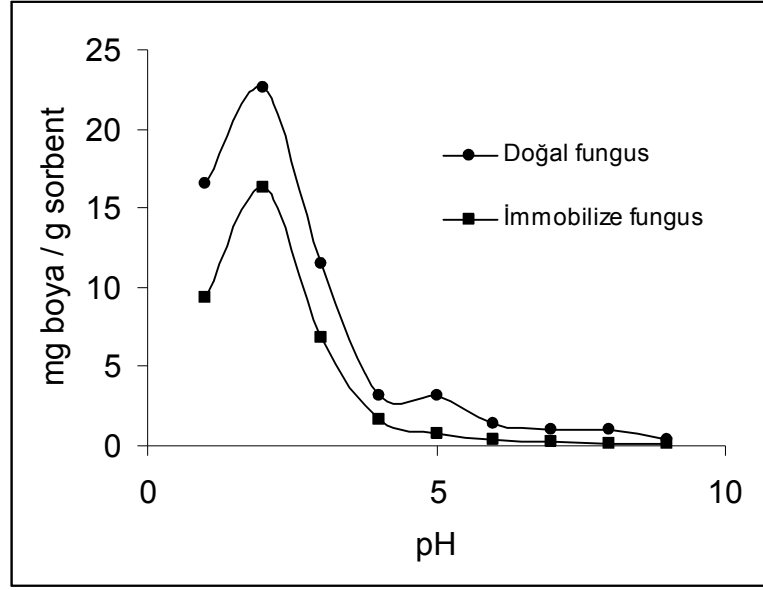
3.1.2.2. Fungal Hücrelerin Matriks İçine İmmobilizasyonun Biyosorpsiyona Etkisi

Canlı mikroorganizmaları polimerik destek malzemelerinin içine tutuklamak, sulu ortamdan organik ve/veya inorganik kökenli bileşiklerin sulu ortamdan uzaklaştırılması işlemini kapsayan atıksu arıtımı uygulamalarında işlemsel kolaylıklar sağlar. Bu doğrultuda çalışmamızda, doğal bir polimer olan aljinata immobilizasyon yöntemi kullanılarak mikrobiyal hücrelerin (*L. concinnus*) immobilizasyonu ile boya giderimi uygulamasında kesikli istemde tutuklu fungal hücrelerin, serbest fungal hücrelere göre daha kararlı olduğu gözlemlendi. Bu özellik biyokütlenin yüksek performans ile tekrar kullanılabilmesine imkan sağlaması bakımından sürekli sistem uygulamalarında önemli bir parametredir. Ancak, tutuklanan fungusun matriks içerisinde büyümesi sağlandıktan sonra serbest biyokütle eşleniğine göre, aynı işletim koşulları altında biyosorpsiyon kapasitesinin daha az olduğu görüldü (Şekil 3.5 ve 3.6). serbest *L. concinnus* ve aljinat kürelere tutuklu *L. concinnus* biyokütlelerinin gramı başına, pH'sı 2.0 olan sulu ortamdan Rektif Yellow 86 boyasını uzaklaştırma kapasitesi sırası ile 23.58 mg ve 16.29 mg olarak bulundu. Bu durum, serbest *Lentinus concinnus* biyokütlesinin sunduğu geniş yüzey alanı ile açıklanabilir. Biyokütle matrikse immobilize edildiğinde, çözültideki organik moleküllere ya da iyonlara kolayca ulaşabilecek olan bağlanma bölgelerinin küre içinde kalmasından dolayı oldukça azalacağı araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾.

3.1.2.3. pH Etkisi

Boya bileşiklerini sulardan uzaklaştırma verimliliğini etkileyen önemli parametreler arasında ortamın pH'sı ve ortamdaki kirleticinin başlangıç konsantrasyonu olduğu bilinmektedir. Ortam pH'sı boya bileşiklerin çözünürlüğünü ve fungal hücre duvarında mevcut olan fonksiyonel grupların iyonlaşmasına (örneğin, karboksilat, fosfat ve amino grupları) etki etmektedir. Bu nedenle, önemli çevre kirletici grubu içerisinde yer alan Reaktif Yellow 86 azo boyar maddesinin sulu ortamlardan renk giderimi, doğal (serbest) ve/veya aljinat kürelere immobilize edilmiş fungal biyokütlenin adsorptif bölgeleri ile boya moleküllerinin sahip olduğu fonksiyonel gruplar arasındaki etkileşime bağlı olacaktır.

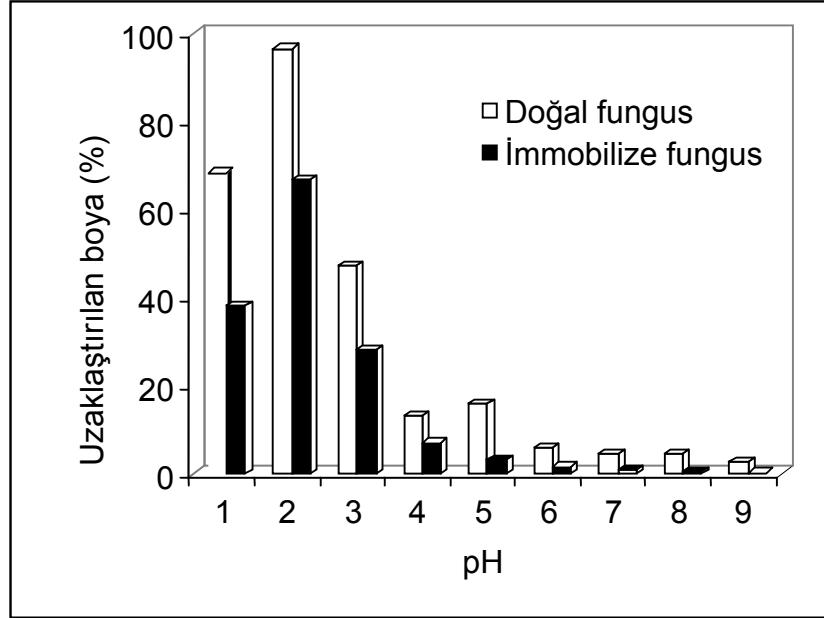
Doğal (serbest) ve/veya aljinat kürelere immobilize edilmiş *L. concinnus* fungal biyokütlesi ile sulu ortamdan boya molekülünün biyosorpsiyon ile uzaklaştırılması işlemine ortam pH'sının etkisi, pH 1.0-9.0 aralığında araştırıldı (Şekil 3.7). Biyosorbenetlerin sulu ortamdan uzaklaştırdığı boya yüzdesi Şekil 3.8'da verildi. Her iki biyosorbent için de Reaktif Yellow 86 boya molekülünü uzaklaştırılmasında optimum pH, 2.0 olarak belirlendi. Ortam pH'sının artması ile boya uzaklaştırma eğiliminin önemli ölçüde azaldığı gözlemlendi. Mikroorganizmaların boya uzaklaştırma etkinliğinin artan pH değeri ile önemli ölçüde azaldığı diğer araştırmacılar tarafından da gözlenmiştir ^(28,67,68). Fungal hücre duvarı bileşenlerinden olan amino gruplarının pozitif yük taşıması azo boyar maddesi için önemli bir bağlanma bölgesi oluşturduğu düşünülmektedir. Temel olarak kitin, asidik polisakkaritler, lipidler, amino asitler gibi yapısal bileşenler içeren, mikroorganizmaların hücre duvarları, organik kirleticilerin sulu ortamlardan uzaklaştırılmasında sorumlu gözükmektedir ^(17,30).



Şekil 3.7. Doğal ve *L. concinnus* immobilize biyokütlelerin boya biyosorpsiyonuna ortam pH'sının etkisi (24 saat'lik)

Düşük pH'lardaki maksimum etkinlik, asidik pH'da pozitif yüklü bakteriyel hücre yüzeyinin çözelti ortamındaki iyonize olmuş boya moleküllerinin anyonları ile, etkileşimleri sonucunda meydana gelmektedir ⁽²⁷⁾. Reaktif Yellow 86 boya molekülünde bulunan ve pKa değeri 0.8 olan sülfonil grubu kolaylıkla dissosiyasyon olarak sulu ortamda negatif yüklü halde bulunurlar. Asidik pH'da, biyokütledeki negatif yüzey yükünü sağlayan karboksil ve fosfonat grupları boya moleküllerinin etkileşemeyeceği alanları oluştururken, biyokütledeki -NH₂ grupları bulunduran kitin, kitosan ve protein moleküllerinin protonlanması ile -NH₃⁺ pozitif yüklü bağlanma bölgelerini oluşturacaktır. Biyolojik moleküllerdeki amin gruplarının pK_a değeri 6.0-11 aralığında olduğu bilinmektedir ve pH'nın 6.0'dan küçük değerlerinde tamamen protone oldukları çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir ^(28,50,61,69). Biyokütle yüzeyindeki pozitif yüklü gruplar ile negatif yüklü boya molekülü arasında

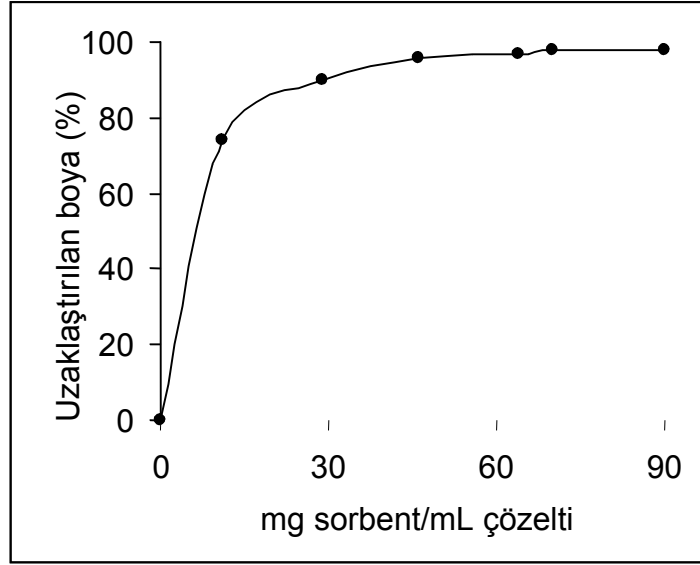
elektrostatik etkileşim sonucunda, düşük pH değerlerinde biyosorpsiyon kapasitesinin arttığı düşünülmektedir.



Şekil 3.8. Biyosorbentler ile sulu ortamdan Reaktif Yellow 86 boyar maddesi uzaklaştırılması yüzdesine ortam pH'sının etkisi

3.1.2.4. Sorbent Dozunun Etkisi

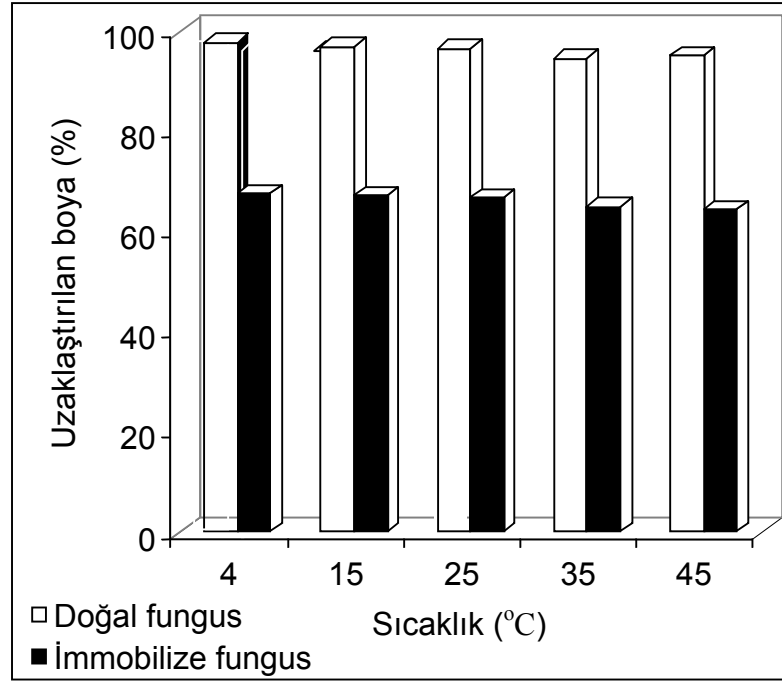
Fungus tutuklu aljinat kürelerle fenolik bileşiklerin uzaklaştırılmasında önemli bir parametrede katı/sıvı oranının biyosorpsiyon kapasitesine etkisidir. Biyokütle, ~0.1-1.0 mg aralığında değiştirilerek boya giderim yüzdesi üzerine etkisi araştırıldı ve *L. concinnus* fungal biyokütlesi için elde edilen değerler Şekil 3.9'da verildi. Katı/sıvı oranının artmasıyla boyar maddenin renk giderim yüzdesinin artarken biyosorpsiyon kapasitesinin azaldığı belirlendi. Biyosorpsiyon kapasitesindeki gözlenen bu azalmanın nedeni, adsorpsiyon sırasında doygunluğa ulaşmadan serbest kalan biyokütlenin bağlanma bölgelerinden kaynaklandığı olarak düşünüldü.



Şekil 3.9. *L. concinnus* fungal biyokütlesi ile Reaktif Yellow 86 boya uzaklaştırılması işleminde sorbent dozunun etkisi

3.1.2.5. Sıcaklığın Etkisi

Biyoteknolojik yöntemlerle endüstriyel atıksuların arıtımı uygulamalarında biyosorpsiyon kapasitesini etkileyen önemli bir tasarım parametresi sıcaklıktır. Her iki biyokütle ile biyosorpsiyon yöntemi kullanılarak sulu ortamdan boya giderimine ortam sıcaklığının etkisi 4- 45°C sıcaklık aralığında çalışılarak belirlendi. Şekil 3.10'den de görüldüğü gibi artan sıcaklıkla biyosorbent yüzey komponentlerinin boyar madde ile etkileşiminde önemli bir değişiklik olmadığı gözlemlendi.



Şekil 3.10. Reaktif Yellow 86 biyosorpsiyonuna sıcaklığın etkisi

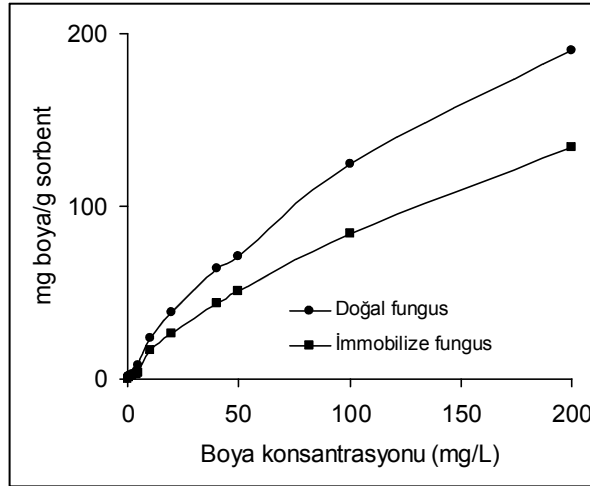
Biyosorpsiyon yöntemi ile boya uzaklaştırılması işleminde sıcaklığın artması ile sorbentin boyar madde ile etkileşiminin kısmen azaldığı ve/veya değişmediği araştırmacılar tarafından da belirtilmiştir. Hu ⁽⁵⁴⁾, üç Gram-negatif bakteriyle (*P. luteola*, *E. coli* ve *Aeromonas* sp.) altı reaktif boyanın uzaklaştırılmasına sıcaklığın, adsorpsiyon dengesi üzerinde, çok az bir etkiye sahip olduğunu ve bu anlamda sıcaklığın etkili olmadığını bildirmiştir.

3.1.2.6. Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisi

Sulu ortamdaki kirleticilerin başlangıç konsantrasyonu, sulu ve katı faz arasındaki boyanın kütle transfer direncini yenmek için, dinamik güç sağlaması bakımından önemli bir parametredir.

Fungal biyokütelerin hücre duvar yapıları temel olarak polisakkarit, protein ve lipitlerden oluşmaktadır. Bu doğal polimerler, karboksil, hidroksil, sülfat, fosfat ve amino grupları gibi çok sayıda fonksiyonel, fenolik bileşiklerle etkileşecek grupları sağlamaktadır. Enzimler genellikle substrat özgüllüğü gösterir, fakat ligninolitik enzimler hem fenolik hem de fenolik olmayan organik bileşikler üzerinde, bir elektron oksidasyonundan sonra katyon radikallerinin oluşması yoluyla özgül olmayan aktivite gösterirler.

Deneysel biyosorpsiyon izotermi, sabit tutulan pH ve sıcaklık gibi sistem parametreleri varlığında, kuru gram biyokütle başına farklı boya konsantrasyonunda arayüzey ilişkisi incelenerek belirlenmiştir. İncelenen her iki biyosorbent için de Reaktif Yellow 86 azo boyar maddesini uzaklaştırma etkinliğinin ve biyosorpsiyon kapasitesinin adsorpsiyon ortamındaki başlangıç boya konsantrasyonunun artmasıyla birlikte arttığı gözlemlendi (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Biyokütelerin sulu ortamdan Reaktif Yellow 86 biyosorpsiyonunda başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi

Kirletici konsantrasyonunun artışıyla, biyosorbentin yükleme kapasitesinin artması, kirleticiler ve biyosorbent üzerinde bulunan etkin aktif bölgeler arasında, daha yüksek çarpışma ihtimalinden dolayı olduğu düşünülmektedir ^(17,70). *L. concinnus* fungal biyokütlesi ve aljinat kürelere *L. concinnus* immobilize edilmiş fungal biyokütleleri ile sulu ortamlardan Reaktif Yellow 86 boyar maddesinin uzaklaştırılması işleminde 200 mg/L başlangıç boya konsantrasyonuna sahip sulu ortamdan maksimum uzaklaştırma kapasitelerinin sırasıyla 190.16 ve 134.31 mg/g biyosorbent olduğu görülmüştür (Şekil 3.11).

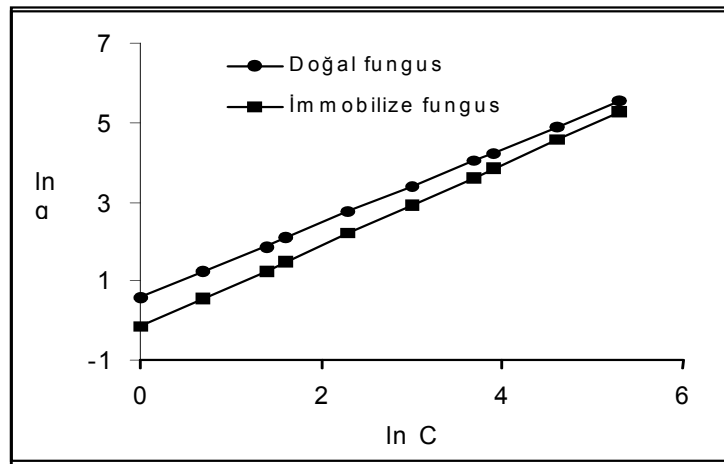
3.1.2.7. Biyosorpsiyonun Denge Modellemesi

Adsorpsiyon izotermi olarak bilinen, denge verileri, organik kirleticilerin uzaklaştırılmasında, biyosorpsiyon sistemlerinin tasarımı için temel gereklilikleri oluşturmaktadır. Belirlenen deneysel verilere farklı adsorpsiyon izoterm modelleri uygulanarak biyosorbent ile boya bileşimini etkileşimi karakterize edildi. Langmuir eşitliği, sınırlı sayıda, tanımlanmış bölge içeren bir yüzey üzerinde geçerlidir. *Lentinus concinnus* fungal biyokütlesi ve *L. concinnus* tutuklu aljinat kürelerle Reaktif Yellow 86 boyar maddesinin uzaklaştırılması çalışmalarından elde edilen deneysel verilerle Langmuir eğrisi çizildiğinde doğrusal olmayan bir eğri elde edildi. Doğrusal olmayan Langmuir ve yarı logaritmik Scatchard eğrisi, adsorpsiyon heterojenitesine işaret ettiğinden, kullanılan biyokütlelerle Reaktif Yellow 86 biyosorpsiyonunun, Langmuir modeliyle açıklanamayacağını ifade etmiştir. Azo boyar maddesinin uzaklaştırılmasında elde edilen değerler Freundlich izoterm modeline göre grafiğe geçirildi ve elde edilen bu doğrunun analizinden n ve K_F gibi Freundlich izoterm parametreleri ve doğrulama katsayıları (R^2) belirlendi ve Tablo 3.1'de verildi. Freundlich modelinin uygulanması sonucunda belirlenen K_F ve n

değerlerinin büyüklüğü ve yüksek R^2 değerleri, kullanılan her iki biyokütlenin de yüksek bir biyosorpsiyon kapasitesi ile sulu ortamdan Reaktif Yellow 86 azo boyar maddesinin sulu ortamdan renk gideriminin kolay olduğunu göstermiştir (Şekil 3.12). K_F değerlerinin artan biyosorpsiyon kapasitesi ile artması, boya ile sorbent arasındaki biyosorpsiyon işleminin bu model ile tarif edilebileceğini göstermektedir.

Çizelge 3.1. *L. concinnus* ve *L. concinnus* tutuklu aljinat kürelerle Reaktif Yellow 86 boyar madde uzaklaştırılması işleminde belirlenen Freundlich izoterm modeli sabitleri

Biyokütle	n	K_F	R^2
Doğal fungal	1.07	1.78	0.992
İmmobilize fungal	0.98	0.86	0.988



Şekil 3.12. Reaktif Yellow 86 biyosorpsiyonunda elde edilen Freundlich izoterm model eğrisi

4. SONUÇ

Hızla artan dünya nüfusu ve buna paralel olarak artan üretim ve tüketim sonucunda bu ilişkiye paralel olarak geniş hacimde atık sulardan boya uzaklaştırılmasında etkin ve düşük maliyetli olan, biyosorpsiyon gibi alternatif arıtma metodlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle içerdiği kirleticiler bakımından önem taşıyan atıksuların büyük bir çoğunluğunun boyama işlemlerinden kaynaklanan tekstil endüstrisinin neden olduğu çevresel kirlilik; bu endüstride kullanılması zorunlu olan kimyasallar ve hammaddeler, prosesler, uygulanan teknolojiler ve oluşan ürünler açısından değerlendirildiğinde oldukça karmaşıktır ^(10,11). Tekstil boyalarını atık sulardan uzaklaştırma çalışmaları, son yıllarda yoğunlaşmış ve bu amaçla çok çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Uygulanan tekniklerin, çevreye yeni atıklar oluşturmaması ve maliyetlerinin düşük olması için yoğun çalışmaların yapılması gereklidir. Örneğin, hidrofobik organik kirleticiler, mikrobiyal hücrelere ya da çamura yüksek birikme eğilimi gösterdiği için, mikrobiyal biyokütle atıksulardan çok düşük konsantrasyonda tehlikeli organiklerin uzaklaştırılması için biyolojik orijinli bir adsorbent olarak kullanılabilir ^(37,49).

Mikrobiyal biyokütleler boya molekülleri ile etkin adsorpsiyon ilişkisi sağlayabilecek karboksil, hidroksil, sülfat, fosfat ve amino grupları gibi fonksiyonel gruplara sahiptir ^(27,43,44). Biyokütle materyallerinin ucuz olması ve fermantasyon ile büyük ölçekte üretilebilmesi ayrıca sunduğu üstünlüklerdir. Sulu ortamlardaki ve/veya atık sulardaki kirletici ajanların uzaklaştırılması işleminde basidiomycetes grubundan beyaz-çürükçül odun mantarları olarak bilinen fungusların, atık sulardaki inorganik veya organik kirlilikleri parçaladıkları ve bu atıkları mikroorganizmaların bünyelerinde biriktirdiği rapor edilmiştir ⁽²⁷⁾. Bu biyolojik parçalanma işleminde

kompleks lignolitik enzimatik sistemler organik molekülleri veya bileşikleri biyolojik yolla parçalamaktadırlar^(71,72).

Bu çalışmada, beyaz bir çürükçül fungus olan *Lentinus concinnus*'un (*L. concinnus*) ve Ca-aljinat kürelere matriks içi tutuklama yöntemi ile immobilize edilen *Lentinus concinnus* biyokütelleri biyosorbent olarak sulu ortamlardan Reaktif Yellow 86 azo boyar maddesinin uzaklaştırılmasında kullanıldı. Fungal biyokütellerin sulu ortamlardan azo boya molekülüne karşı göstereceği etkinlik farklı sistem parametreleri altında incelendi. Sulu çözeltilerden biyosorpsiyon çalışmaları kesikli sistemde manyetik olarak karıştırılmalı hücre içerisinde gerçekleştirildi.

Mikroorganizma yüzeyine metal adsorpsiyon mekanizması çözeltideki iyonların ve hücrenin adsorpsiyon bölgelerinin yapısı ile fizikokimyasal etkileşimin cevabına bağlıdır. İzoelektrik noktanın altındaki pH'larda, hücre üzerinde net negatif yük bulunur ve fosfat, amino ve karboksil grupları gibi ligandlar iyonlaşmış durumdadır. Düşük pH değerlerinde *L. concinnus* fungal hücrenin yüzeyindeki yük dağılımı pozitif hale gelir ve Reaktif Yellow 86 boya molekülünün iyonize olarak eksi yüklü hale gelen grupları arasında elektrostatik etkileşimler sonucunda boya biyosorpsiyonunun pH 2.0'da daha etkin olduğu bulunmuştur. Ancak adsorpsiyon mekanizması; iyon değişim, hidrofobik etkileşim, kompleks oluşumu ve fizikokimyasal kuvvetlerin bir karışımı olduğu için mutlak birşey söylemek zordur. Ortamın artan pH değerleri ile biyosorpsiyonun önemli derecede azaldığı gözlemlenmiştir.

Kesikli sistemde mikroorganizmalarla boya bileşiğinin uzaklaştırılması iki basamakta gerçekleşir. Bu basamaklar; pasif uzaklaştırma adı verilen ve hızlı yürüyen ilk aşama ve bu süreci takip eden ve daha yavaş ilerleyen aktif uzaklaştırma

aşamasıdır. Çalışmamızda *L. concinnus* ve immobilize *L. concinnus* biyokütlllerinin Reaktif Yellow 86 boya biyosorpsiyonunda 24 saat işletim süresi içerisinde biyosorpsiyon dengesine 10 saatte ulaşıldı. Her iki biyokütle için Reaktif Yellow 86 boya biyosorpsiyonuna sıcaklığın önemli bir etkisinin bulunmadığı belirlendi.

L. concinnus ve immobilize *L. concinnus* biyokütlllerinin sulu ortamdan uzaklaştırdığı boya miktarının artan boya konsantrasyonu ile arttığı belirlendi. 200 mg/L başlangıç boya konsantrasyonuna sahip çözelti ortamında uzaklaştırılan boya miktarı, gram *L. concinnus* ve immobilize *L. concinnus* biyokütlleri başına sırası ile 190.16 ve 134.31 mg olarak belirlendi. Deneysel verilerin teorik adsorpsiyon izoterm modellerine uygulanması sonucunda, her iki biyosorbent için de Reaktif Yellow 86 biyosorpsiyonunun Freundlich izoterm modeli ile uyumlu olduğu görüldü.

KAYNAKLAR

1. A. A. Vaidya., ve K. V. Datye, Environmental Pollution During Chemical Processing of Synthetic Fibers, *Colourate* **34**, 3-10(1982).
2. P. Baldrian, Interactions of Heavy Metals with White-rot Fungi, *Enzyme Microb. Technol.* **32** (1), 78-91(2003).
3. H. Seki, H. Suzuki A, H. Maruyama, Biosorption of Chromium(VI) and Arsenic(V) onto Methylated Yeast Biomass *J. Colloid Interf Sci.* **281**, 261-266(2005).
4. K. T. Kim, S. In, Kim, H. S. Hwang and D. K. Sang, Estimating the Combined Effects of Copper and Phenol to Nitrifying Bacteria in Wastewater Treatment Plants. *Water Res.* **40**, 561-568(2006).
5. K. Singh , I. S. Thakur, Color Removal of Anaerobically Treated Pulp and Paper Mill Effluent by Microorganisms in Two Steps Bioreactor, *Biores Technol.* **97**, 218-223(2006).
6. Y.H. Wang, Zhu, J.L. Zhao C.G. and J.C. Zhang, Removal of Trace Organic Compounds from Wastewater by Ultrasonic Enhancement on Adsorption, *Desalination* **186**, 89-96(2005).
7. Y. Sag, B. Tatar, T. Kutsal, Biosorption of Pb(II) and Cu(II) by Activated Sludge in Batch and Continuous-Flow Stirred Reactors *Biores. Technol.* **87**(1), 27-33(2003).

8. J. Wu, Yu, H-Q, Biosorption of Phenol and Chlorophenols from Aqueous Solutions by Fungal Mycelia, *Process Biochem.* **41**, 44-49(2006).
9. B. Volesky, Detoxification of Metal-Bearing Effluents, Biosorption for The Next Century Hydrometallurgy **59**, 203-216(2001).
10. USEPA, *Profile of the Textile Industry*, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Compliance Sector Notebook Project, EPA/310- R-97-009(1997).
11. USEPA, *Handbook of Advanced Photochemical Oxidation Processes*, U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Washington DC 20460, EPA/625/R-981004. Washington DC, 1998.
12. Z. Aksu ,G. A. Dönmez, Comparative Study on The Biosorption Characteristics of Some Yeasts for Remazol Blue Reactive Dye, *Chemosphere* **50**, 1075–83(2003).
13. Y. M. Slokar, A. M. Le Marechal, Methods of Decolouration of Textile Wastewaters. *Dyes Pigments* **37**, 335–56(1997).
14. Y. Fu, T. Virarahavan, Removal of A Dye From An Aqueous Solution By The Fungus *Aspergillus niger*. *Water Quality Res. J.* **35**, 95–111 Can. 2000.
15. T. Robinson, G. McMullan, R. Marchant, P. Nigam, Remediation of Dyes in Textile Effluent, A Critical Review on Current Treatment Technologies with A Proposed Alternative. *Bioresour. Technol.* **77**, 247–55(2001).

16. Jr WJ. Weber, Adsorption In Physicochemical Processes for Water Quality Control, Wiley p. **206–11**, New York, 1972.
17. G. Bayramoglu and M.Y. Arica, Biosorption of Benzidine Based Textile Dyes “Direct Blue 1 and Direct Red 128” Using Native and Heat-Treated Biomass of *Trametes versicolor*, Journal of Hazardous Materials, **143** (1-2), 135-143(2007).
18. B. Z. Fathepure and T. M. Vogel, Complete Degradation of Polychlorinated Hydrocarbons by A Two-Stage Biofilm Reactor, Appl. Environ. Microbiol. **57**, 3418-3422(1991).
19. D. Kohler-Staub and T. Leisinger, Dichloromethane Dehalogenase of *Hyphomicrobium* sp. Strain Dm2, J. Bacteriology, **162**, 676-681(1985).
20. D. L. Saber and R. L. Crawford, Isolation and Characterization of *Flavobacterium* Strains That Degrade Pentachlorophenol, Appl. Environ. Microbiol. **50**, 1512-1518(1985).
21. C. Goulding, C. J. Gillen and E. Bolton, Biodegradation of Substituted Benzenes, J. Applied Bacteriology **65**, 1-5(1988).
22. G. J. Mileski, J. A. Bumpus, M. A. Jurek and S. D. Aust, Biodegradation of Pentachlorophenol by The White Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium*, Appl. Environ. Microbiol. **54**, 2885-2889(1988).
23. E. Topp, R. L. Crawford and R. Hanson, Influence of Readily Metabolizable Carbon on Pentachlorophenol Metabolism by A Pentachlorophenol-Degrading *Flavobacterium* sp., Appl. Environ. Microbiol. **54**, 2452-2459(1988).

24. K. T. O'Reily and R. L. Crawford, Degradation of Pentachlorophenol by Polyurethane-Immobilized *Flavobacterium* Cells, *Appl. Environ. Microbiol.* **55**, 2113-2118(1989).
25. R. T. Lamar, M. J. Larsen and T. K. Kirk, Sensitivity to And Degradation of Pentachlorophenol by *Phanerochaete* sp., *Appl. on. Microbiol.* **56**, 3519-3526 (1990).
26. M. Rutgers, J. J. Bogte, A. M. Breure and J. G. Andel, Growth and Enrichment of Pentachlorophenol-Degrading Microorganisms in The Nutristat, A Substrate Concentration-Controlled Continuous Cultur., *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 3373-3377(1993).
27. G. Bayramoğlu and M. Y. Arica, Biosorption of Reactive Red-120 Dye From Aqueous Solution By Native and Modified Fungus Biomass Preparations of *Lentinus sajor-caju*, *Journal of Hazardous Materials* **149**(2), 499-507(2007).
28. G. Bayramoğlu, G. Celik and M. Y. Arica, Biosorption of Reactive Blue 4 Dye By Native and Treated Fungus *Phanerocheate Chrysosporium*, Batch and Continuous Flow System Studies, *Journal of Hazardous Materials*, **137**(3), 1689-1697(2006).
29. Z. Aksu, Reactive Dye Bioaccumulation By *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochem.* **38**, 1437-44(2003).
30. Z. Aksu, G. Bülbül, Investigation of The Combined Effects of External Mass Transfer and Biodegradation Rates on Phenol Removal Using immobilized

- P. putida* in A Packed Bed Column Reactor. *Enzyme Microbial Technol.* **22**, 397–403(1998).
31. G. Bayramoğlu, I. Tüzün, G. Çelik, M. Yılmaz and M. Y. Arıca, Biosorption of Mercury(II), Cadmium(II) and Lead(II) Ions from Aqueous System By Microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* Immobilized in Alginate Beads, *International Journal of Mineral Processing* **81**, 35-43(2006).
 32. K. Socha, Treatment of Textile Effluents, *Textile Month*, **12**, 52-56(1991).
 33. T. Robinson, G. McMullan, R. Marchant and P. Nigam, Remediation of Dyes in Textile Effluent: A Critical Review on Current Treatment Technologies With A Proposed Alternative, *Bioresource Technology*, **77**, 247-255(2001).
 34. H. G. Schwartz, Adsorption of Selected Pesticides on Activated Carbon and Mineral Surfaces. *Environ. Sci. Technol.* **1**, 332–7(1967).
 35. D. R. Shelton, S. Khader, J. S. Karns, B. M. Pogell, Metabolism of Twelve Herbicides By *Streptomyces*. *Biodegradation* **7**, 129–36(1996).
 36. A. Rozzi, M. Antonelli and M. Arcari, Membrane Treatment of Secondary Textile Effluents For Direct Reuse, *Water Science and Technology*, **40**(4-5), 409-416(1999).
 37. JR. Perrich, Activated Carbon Adsorption for Waste Water Treatment CRS Press, Florida USA, 1981.
 38. KJ. Kennedy, J. Lu, WW. Mohn, Biosorption of Chlorophenols to Anaerobic Granular Sludge. *Water Res.* **26**, 1085–92(1992).

39. C. Brasquet, J. Roussy, E. Subrenat, P. Le Cloirec, Adsorption and Selectivity of Activated Carbon Fibers Application to Organics. *Environ. Technol.* **17**, 1245–52(1996).
40. U. Richard, H. Edgehill, Degradation of Pentachlorophenol (PCP) By *Arthrobacter* Strain ATCC 33790 in Biofilm Culture, *Water Resarch.* **30**, 357-363(1996).
41. Ö. Genç, L. Soysal, G. Bayramoğlu, M. Y. Arıca and S. Bektaş, Procion Green H-4G Immobilized Poly(2-Hydroxyethylmethacrylate/Chitosan) Composite Membranes for Heavy Metal Removal. *Journal of Hazardous Materials* **97**(1-3), 111-125(2003).
42. F. N. Kök, M .Y Arıca, C. Halıcıgil, G. Alaeddinoğlu, V. Hasırcı, Biodegradation of Aldicarb in A Packed Bed Reactor By Immobilized *Methylosinus*, *Enzyme and Microbial Technology* **24**, 291-296(1999).
43. G. Bayramoğlu, A. Denizli, S. Bektaş and M. Y. Arıca, Entrapment of *Lentinus sajor-caju* Into Ca-alginate Gel Beads for The Removal of Cd(II) Ions from Aqueous Solutions, Preparations and Biosorption Kinetics Analysis, *Microchem. J.* **72**, 63-76(2002).
44. G. Bayramoğlu, S. Bektas, M. Y. Arıca, Biosorption of Heavy Metal Ions on Immobilized White-Rot Fungus *Trametes versicolor*, *Journal of Hazardous Materials* **101**, 285-300(2003).
45. G. Mishra, M. A. Tripathy, Critical Review of The Treatment for Decolourization of Textile Effluent. *Colourage* **40**, 35–8(1993).

46. G. S. Gupta, G. Prasad, V. H. Singh, Removal of Chrome Dye from Aqueous Solutions By Mixed Adsorbents, Fly Ash and Coal. *Water Res.* **24**, 45–50(1990).
47. Y. M. Slokar, A. M. Le Marechal, Methods of Decolouration of Textile Wastewaters. *Dyes Pigments* **37**, 335–56(1997).
48. C. Moran, M. E. Hall, R. C. Howell, Effects of Sewage Treatment on Textile Effluent. *J. Soc. Dyers Colour* **113**, 272–4(1997).
49. B. Volesky, Detoxification of Metal-Bearing Effluents, Biosorption for The Next Century. *Hydrometallurgy* **59**, 203-16(2001).
50. Z. Aksu, Biosorption of Heavy Metals By Microalgae in Batch and Continuous Systems. In: Tam NFY, Wong Y-S (Eds.). *Algae for Wastewater treatment*, Springer Verlag and Landes Bioscience p. 37–53, Germany, 1998.
51. K. Karim, S. K. Gupta, Biosorption of Nitrophenols on Anaerobic Granular Sludge. *Environ. Technol.* **23**, 1379–84(2002).
52. W. Zhou, W. Zimmermann, Decolourization of Industrial Effluents Containing Reactive Dyes By Actinomycetes. *FEMS Microbiol.* **107**, 157–62(1993).
53. M. C. Brahimi-Horn, K. K. Lirn, S. L. Liany, D. G. Mou, Binding of Textile Azo Dyes By *Mirothecium verrucaria* Orange II, 10B (Blue) and Acid RS (Red) Azo Dye Uptake for Wastewater Decolorization, *J. Ind. Microbiol.* **10**(3), 1-36(1992).

54. T .L. Hu, Removal of Reactive Dyes from Aqueous Solution by Different Bacterial Genera. *Water Sci., Technol.* **34**, 89–95(1996).
55. K. A. Gallagher, M. G. Healy, S. J. Allen, Biosorption of Synthetic Dye and Metal Ions from Aqueous Effluents Using Fungal Biomass. In: Wise DL. (Ed.). *Global Environmental Biotechnology*, Elsevier, p. 27–50,UK, 1997.
56. M. Tatarko, J. A. Bumpus, Biodegradation of Congo Red By *Phanerochaete chrysosporium*. *Water Res.* **32**, 1713–7(1998).
57. Z. Aksu, S. Tezer, Equilibrium and Kinetic Modelling of Biosorption of Remazol Black By *R. arrhizus* in A Batch System, Effect of Temperature, *Process Biochem.* **36**, 431–9(2000).
58. S. Sumatri, V. Phatak, Fungal Treatment of Baggase Based Pulp and Paper Mill Wastes, *Environ. Technol.* **19**, 93-98(1999).
59. S. Özmihçi, F. Kargı, Toz Aktif Çamurun Değişik Boyar Maddelerin Gideriminde Biyosorpsiyon Performansının Değerlendirilmesi, I. Ulusal Çevre Kongresi Bildirisi, 13-14 Ekim 2004.
60. T. O'Mahony, E. Guibal, JM. Tobin, Reactive Dye Biosorption By *Rhizopus arrhizus* Biomass, *Enzyme Microbial. Technol.* **31**, 456–63(2002).
61. G. Bayramoğlu, S. Bektaş and M. Y. Arica, Removal of Cd(II), Hg(II) and Pb(II) Ions from Aqueous Solution Using p(HEMA/Chitosan) Membranes, *Journal of Applied Polymer Science* **106** (1), 169-177(2007).

62. I. Langmuir, The Adsorption of Gases on Plane Surfaces of Glass, Mica and Platinum, J. Am Chem. Soc. **40**, 1361–8(1918).
63. H. Freundlich, Adsorption in Solution. Phys. Chem. Soc. **40**, 1361–8(1906).
64. O.Tünay, Çevre Mühendisliğinde Kimyasal Prosesler, 1. Baskı, İ.T.Ü. Basımevi, İstanbul,(1996).
65. F. Veglio, F. Beolchini, Removal of Retals By Biosorption, A Review. Hydrometallurgy **44**, 301–16(1997).
66. J. P. Bell, M. Tsezos, A Mechanistic Study on The Fate of Malathion Following İnteraction with Microbial Biomass, Water Research, 1039-1046(1991).
67. G. Mishra, M. Tripathy, A Critical Review of The Treatment for Decolourization of Textile Effluent. Colourage **40**, 35–8(1993).
68. S. Seshadri, P. L. Bisho and A. M. Agha, Waste Manag. **14**, 127(1994).
69. M. Y. Arıca, Ç. Arpa, A. Argen, G. Bayramoğlu and Ö. Genç, Ca-alginate as A Support For Pb(II) and Zn(II) Biosorption with Immobilized *Phanerochaete chrysosporium*. Carbohydrate Polymer **52**, 167-174(2003).
70. J. Yener, Z. Aksu, Investigation of The Biosorption of Phenol and Monochlorinated Phenols on The Dried Activated Sludge, Process Biochem. **33**, 649-655(1998).
71. A. Robles, R. Lucas, G. A. Cienfuegos and A. Galvez, Enzyme and Microb. Technol. **26**, 484(2000).

72. I. K. Kapdan, F. Kargi, G. McMullan and R. Marchant, *Enzyme Microbial Technol.* **26**, 381(2000).