

168795

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

SULU ORTAMLARDAN TEKSTİL BOYALARININ
Phanerochaete chrysosporium İLE UZAKLAŞTIRILMASI

GÖKCE ÇELİK

OCAK 2005

Fen Bilimleri Enstitüsü müdürünün onayı.

Bu tezin Yüksek Lisans Tezi olarak Biyoloji Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Bu tezi okuduğumuzu ve Yüksek Lisans Tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

Jüri yeleri

Prof. Dr. Mehmet SAÇAK

Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK

Prof. Dr. M. Yakup ARICA

Doç. Dr. Meral KARAKIŞLA

Doç. Dr. Gülay BAYRAMOğLU

ÖZET

SULU ORTAMLARDAN TEKSTİL BOYALARININ *Phanerochaete chrysosporium* İLE UZAKLAŞTIRILMASI

ÇELİK, Gökce

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. M. Yakup ARICA

Ortak Danışman: Doç. Dr. Gülay BAYRAMOĞLU

Ocak 2005, 68 sayfa

Phanerochaete chrysosporium biyokütlesinin doğal ve ısı, asit ve baz ile işlem gören formları, sulu ortamlardan tekstil boyalarının uzaklaştırılmasında kullanıldı. *Phanerochaete chrysosporium* biyokütleleri kullanılarak R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 tekstil boyalarının biyosorpsiyonu üzerine sıcaklık, pH ve başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi kesikli sistemde çalışıldı. Doğal ve ısı, asit ve baz ile işlem gören *Phanerochaete chrysosporium* biyokütlesinin maksimum biyosorpsiyon kapasitesi, R.Red-120 tekstil boyası için sırasıyla 128.1, 53.3, 109.0 ve 173.8 mg/g; R.Yellow-2 tekstil boyası için sırasıyla 86.6, 86.3, 139.8 ve 153.8 mg/g; R.Blue-4 tekstil boyası için sırasıyla 132.5, 88.1,

156.9 ve 147.6 mg/g; R.Green-5 tekstil boyası için sırasıyla 97.7, 64.8, 121.7 ve 144.6 mg/g olarak bulundu. R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 tekstil boyalarının fungus biyokütlesine ilgisi, ısı > asit > doğal > baz olarak sıralandı. Doğal ve ısı, asit ve baz ile işlem gören *Phanerochaete chrysosporium* biyosorbenti üzerine tekstil boyası biyosorpsiyonu için optimal pH değeri, 3.0-10.0 değerleri arasında araştırıldı. Maksimum R.Red-120 tekstil boyası biyosorpsiyonu doğal, asit ve ısı işlem gören biyosorbentlerle pH 3.0'de, baz ile muamele edilmiş biyokütle ile pH 6.0'da gözlemlendi. R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 tekstil boyalarının maksimum biyosorpsiyonu, doğal, ısı ve asit ile işlem gören biyosorbentler için pH 3.0'de, baz ile muamele edilmiş biyosorbent için pH 4.0'de gözlemlendi. İncelenen biyosorbentlerin yüzey enerji parametreleri, temas açısı değerlerinden, üç yöntem kullanılarak (Wu'nun harmonik ifadesi, Fowkes'ın geometrik ifadesi ve van Oss'un asit bazı) hesaplandı. R.Yellow-2 ve R.Blue-4 tekstil boyaları bağlı fungal biyosorbentlerin, R.Red-120 ve R.Green-5 tekstil boyaları bağlı biyosorbentlere göre daha hidrofobik bir yüzeye sahip olduğu gözlemlendi. Doğal biyosorbent üzerine R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 tekstil boyalarının biyosorpsiyon kapasitesi sürekli sistemde araştırıldı. Sürekli sistem çalışmalarında, fungal biyosorbentin boya yükleme kapasitesi, R.Red-120, R.Blue-4 ve R.Green-5 tekstil boyaları için 12 kez, R.Yellow-2 tekstil boyası için 14 kez tekrarlandı ve biyosorbentin boya uzaklaştırma kapasitesinde değişiklik olmadığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: *Phanerochaete chrysosporium*; biyosorpsiyon; Reaktif Red 120; Reaktif Yellow 2; Reaktif Green 5; Reaktif Blue 4; ısı, asit ve baz ile işlem

ABSTRACT

REMOVAL OF TEXTILE DYES FROM AQUEOUS SOLUTION

BY FUNGUS *Phanerochaete chrysosporium*

ÇELİK, Gökce

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

January 2005, 68 pages

Four different forms of *Phanerochaete chrysosporium* (native, heat-treated, acid-treated and alkali-treated) biosorbent were used for the removal of textile dyes from aqueous systems. The effect of temperature, pH and initial concentration of R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 and R.Green-5 textile dyes were studied in batch system. Maximum biosorption capacities of native , heat-treated, acid-treated and alkali-treated forms of *Phanerochaete chrysosporium* were found to be 128.1, 53.3, 109.0 and 173.8 mg/g for R.Red-120; 86.6, 86.3, 139.8 and 153.8 mg/g for R.Yellow-2; 132.5, 88.1, 156.9 and 147.6 mg/g for R.Blue-4 and 97.7, 64.8, 121.7 and 144.6 mg/g for R.Green-5, respectively. For R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4

and R.Green-5 textile dyes, the order of affinity of the biosorbents was arranged as heat-treated > acid-treated > native > alkali-treated. The optimal pH values for biosorption of textile dyes on the native, heat-treated, acid-treated and alkali-treated forms of *Phanerochaete chrysosporium* biosorbents, were investigated in the pH range of 3.0-10.0. The maximum biosorption of R.Red-120 textile dye on native, acid-treated, heat-inactivated and alkali-treated biosorbents was observed at pH 3.0 and pH 6.0, respectively. The maximum biosorption of R.Yellow-2, R.Blue-4 and R.Green-5 textile dyes on native, heat-treated, acid-treated and alkali-treated biosorbents was observed at pH 3.0 and pH 4.0, respectively. The surface energy parameters of the investigated biosorbents were calculated from the measured contact angle values, using the mostly used three methods (i.e. the harmonic mean by Wu, the geometric mean by Fowkes and acid-base by van Oss). R.Yellow-2 and R.Blue-4 textile dyes immobilized biosorbents were more hydrophobic surfaces than R.Red-120 and R.Green-5 textile dyes immobilized biosorbents. The biosorption capacities of R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 and R.Green-5 textile dyes on native biosorbent were investigated in continuous system. Dye loading capacities of biosorbent were repeated twelve times for R.Red-120, R.Blue-4 and R.Green-5 textile dyes and fourteen times for R.Yellow-2 textile dye in continuous system studies. These results indicated that dye removal capacities of biosorbent were not changed.

Key Words: *Phanerochaete chrysosporium*; biosorption; Reactive Red 120; Reactive Yellow 2; Reactive Green 5; Reactive Blue 4; heat-treated; acid-treated; alkali-treated

TEŞEKKÜR

Bu alıőmanın oluŐturulmasında değerli bilgilerini benden esirgemeyen danıŐmanım, Sayın Hocam Prof. Dr. Yakup ARICA'ya teŐekkürlerimi sunarım.

alıőmanın her aşamasında özverili gayretleriyle bana destek olan ortak danıŐmanım Doç. Dr. Gülay BAYRAMOğLU'na teşekkür ederim.

Tezimin birçok aşamasında yardımlarını esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Gökce ÇELİK

Kırıkkale, Ocak 2005

SİMGELER ve KISALTMALAR

R^2	Korelasyon katsayısı
K_d	Langmiur sabiti
q_m	Maksimum adsorpsiyon kapasitesi
K_F	Freundlich sabiti
n	Adsorpsiyon yoğunluğu

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	5
2.1. Arıtım Yöntemleri.....	6
2.1.1. Fiziksel Yöntemler.....	6
2.1.2. Kimyasal Yöntemler.....	8
2.1.3. Biyolojik Yöntemler.....	9
2.1.3.1. Biyosorpsiyon.....	10
2.1.3.2. Tekstil Boyalarının Uzaklaştırılmasında Kullanılan Funguslar.....	12
2.2. Adsorpsiyon İzoterm Modelleri	13
2.2.1. Langmiur Adsorpsiyon İzotermi.....	13
2.2.2. Freundlich Adsorpsiyon İzotermi.....	14
2.3. Temas Açısı Ölçümleri	15
2.3.1. Kritik Yüzey Gerilimi (Zisman Yöntemi).....	15
2.3.2. Geometrik İfade (Fowkes Yöntemi).....	16

2.3.3. Harmonik İfade (Wu Yöntemi).....	17
2.3.4. Asit-Baz (van Oss Yöntemi).....	17
3. MATERYAL VE YÖNTEM	19
3.1. Materyaller	19
3.1.1. Kimyasal Maddeler	19
3.1.2. Cihazlar	19
3.1.2.1. UV-VIS Spektrofotometre	19
3.1.2.2. Kullanılan Diğer Cihazlar	19
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma.....	20
3.2.2. Fungusun Üretimi.....	20
3.2.3. Fungal Biyokütlenin Isı, Asit ve Baz ile Modifikasyonu.....	21
3.2.4. Fungal Biyokütlenin Karakterizasyonu.....	22
3.2.4.1. Fungal Biyokütlenin Denge-Su İçeriği.....	22
3.2.4.2. Fungal Biyokütlenin Yüzey Morfolojisi.....	22
3.2.4.3. Fungal Biyokütlenin FT-IR Spektrumu.....	22
3.2.5. Boya Biyosorpsiyonu.....	23
3.2.5.1. pH'nın Etkisi.....	23
3.2.5.2. Biyosorpsiyona Zamanın Etkisi.....	24
3.2.5.3. Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisi.....	24
3.2.5.4. Sıcaklığın Etkisi.....	25
3.2.5.5. Adsorpsiyon İzotermi.....	25
3.2.5.6. Temas Açısı Ölçümleri.....	26
3.2.5.7. Sürekli Sistem Çalışmaları.....	26

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE DEĞERLENDİRME	28
4.1. Araştırma Bulguları.....	28
4.1.1. Karakterizasyon Çalışmaları.....	29
4.1.1.1. Denge Su İçeriği.....	29
4.1.1.2. Yüzey Analizleri.....	30
4.1.1.3. Fungal Biyosorbentin FT-IR Spektrumu.....	31
4.1.1.4. Araştırmamızda Kullanılan Tekstil Boyaları.....	33
4.1.2. Boya Biyosorpsiyonu.....	35
4.1.2.1. Biyosorpsiyon Zamanı.....	35
4.1.2.2. pH'nın Etkisi.....	37
4.1.2.3. Sıcaklığın Etkisi.....	42
4.1.2.4. Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisi.....	45
4.1.2.4.1. Biyokütleyle Uygulanan Ön İşlemin Biyosorpsiyona Etkisi.....	50
4.1.2.5. Adsorpsiyon İzoterm Modeli.....	52
4.1.2.6. Temas Açısı Ölçümleri ve Yüzey Enerjisi Hesaplamaları.....	55
4.1.2.7. Sürekli Sistemle Sulu Ortamlardan Tekstil Boyalarının Uzaklaştırılması.....	57
4.2. Değerlendirme.....	60
KAYNAKLAR	63

ÇİZELGELER DİZİNİ

3.1 YMPG sıvı büyüme ortamının bileşenleri.....	21
4.1. Doğal ve işlem gören biyokütlelerle R.Red-120 boyasının biyosorpsiyonunda sıcaklığın etkisi	43
4.2. Doğal ve işlem gören biyokütlelerle R.Yellow-2 boyasının biyosorpsiyonunda sıcaklığın etkisi.....	44
4.3. Doğal ve işlem gören biyokütlelerle R.Blue-4 boyasının biyosorpsiyonunda sıcaklığın etkisi.....	44
4.4. Doğal ve işlem gören biyokütlelerle R.Green-5 boyasının biyosorpsiyonunda sıcaklığın etkisi.....	45
4.5. Tekstil boyaların renk gideriminde kullanılan organizmalar ve belirlenen biyosorpsiyon kapasiteleri.....	47
4.6. R.Red-120 tekstil boyasının farklı yapılardaki biyokütle ile uzaklaştırılmasında başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi.....	48
4.7. R.Yellow-2 tekstil boyasının farklı yapılardaki biyokütle ile uzaklaştırılmasında başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi	48
4.8. R.Blue-4 tekstil boyasının farklı yapılardaki biyokütle ile uzaklaştırılmasında başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi.....	49
4.9. R.Green-5 tekstil boyasının farklı yapılardaki biyokütle ile uzaklaştırılmasında başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi.....	49
4.10. Fungal biyokütle ile sulu ortamdan R.Red-120 ve R.Yellow-2 tekstil boyası uzaklaştırılması işleminde Freundlich adsorpsiyon izoterm modeli sabitleri ve korelasyon katsayıları.....	54

4.11. Fungal biyokütle ile sulu ortamdan R. Blue-4 ve R. Green-5 tekstil boyası uzaklaştırılması işleminde Freundlich adsorpsiyon izoterm modeli sabitleri ve korelasyon katsayıları.....	54
4.12. Kontrol ve R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 boya bağlı biyosorbentler için deneme sıvıları ile ölçülen temas açıları.....	55
4.13. van Oss metoduna göre doğal biyosorbent ve boya bağlı doğal biyosorbent için hesaplanan yüzey serbest enerji (mJ/m^2) parametreleri.....	56



ŞEKİLLER DİZİNİ

4.1. Fungal biyosorbentin denge-su içeriği.....	29
4.2. <i>P. chrysosporium</i> biyosorbentinin SEM fotoğrafı.....	30
4.3. Doğal ve ısı, asit ve baz ile işlem görmüş biyokütlelerin FTIR spektrumu.....	32
4.4. Reaktif Red-120 boyasının kimyasal yapısı.....	33
4.5. Reaktif Yellow-2 boyasının kimyasal yapısı.....	34
4.6. Reaktif Blue-4 boyasının kimyasal yapısı.....	34
4.7. Reaktif Green-5 boyasının kimyasal yapısı.....	35
4.8. Doğal biyokütle üzerine R. Yellow-2 biyosorpsiyonunun zamana bağlılığı.....	36
4.9. Doğal biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi.....	39
4.10. Baz ile işlem gören biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi.....	39
4.11. Asit ile işlem gören biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi.....	40
4.12. Isı ile işlem gören biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi.....	41
4.13. Biyokütlelerin sulu ortamdan R.Green-5 boyası biyosorpsiyonunda başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi.....	46
4.14. Freundlich adsorpsiyon izoterm modeli.....	53
4.15. Sulu ortamdan doğal biyokütle ile R.Red-120 tekstil boyasının paketlenmiş biyoreaktör sürekli sisteminde uzaklaştırılması.....	57

4.16. Sulu ortamdan doğal biyokütle ile R.Yellow-2 tekstil boyasının paketlenmiş biyoreaktör sürekli sisteminde uzaklaştırılması.....	58
4.17. Sulu ortamdan doğal biyokütle ile R.Blue-4 tekstil boyasının paketlenmiş biyoreaktör sürekli sisteminde uzaklaştırılması.....	58
4.18. Sulu ortamdan doğal biyokütle ile R.Green-5 tekstil boyasının paketlenmiş biyoreaktör sürekli sisteminde uzaklaştırılması.....	59



1.GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusu ve buna bağı 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 atıksular, kentsel ve kanalizasyon atıksularının yanında, yüzey su kaynaklarını kirleten önemli bir etmeni oluşturmaktadır. Endüstriyel atıksuların arasında tekstil boyaları önemli bir kirletici ajan olarak bilinmektedir. Son yıllarda, tekstil boyalarının kullanım miktarlarının artması ve atık boyar maddelerin işlenmeden doğal su kütlelerine verilmesi konusunda, çok sayıda araştırmacı tarafından endişe verici boyutlara ulaştığı rapor edilmiştir (Yeşilada ve ark., 2003).

Günümüzde, tekstil ve deri endüstrisinde bitkisel boyalar yerine, sentetik tekstil boyaları kullanılmaktadır. Sentetik boyalar, parlak ve kalıcı renkler sağlamanın yanında, ucuz ve kullanımlarının kolay olması, üretim miktarlarının ve çeşitlerinin artmasını da beraberinde getirmiştir. Doğal su kaynaklarında, boya kirliliğinin başlıca tekstil, deri, kağıt ve gıda endüstrisi atıksularından ileri geldiği rapor edilmiştir (Slampova ve ark., 2001; Forgacs ve ark., 2004). Sentetik tekstil boyaları toksik etkilerine rağmen yukarıda belirtilen, taşıdıkları teknolojik önem nedeni ile, geniş ölçekte kullanılmakta ve endüstriyel atıklardan belirli bir miktar besin zincirine de girmektedir.

Doğal su kütlelerine boşaltılan, tekstil boyası gibi organik kirlilik içeren atıksuların renk giderim işlemleri membran filtrasyonu, iyon değişimi, yükseltgenme, adsorpsiyon, kimyasal çöktürme ve flokülasyon (Ciardelli ve ark., 2000; Malik ve

Saha, 2003; Koch, 2002) gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemlerle birlikte biyolojik yöntemleri de içermektedir. Anılan yöntemlerin uygulanması bazı teknik zorluklar ve fazla enerji gereksiniminden dolayı ekonomik sınırlamalar getirmektedir. Ayrıca, boya uzaklaştırma işleminin yüksek verimle yapılması bilinen yöntemlerle her zaman mümkün olmamaktadır. Tekstil boyası içeren atıksuların kirlilik dereceleri, kullanım amacına göre istenilen düzeye indirilmeli veya belirlenen standartlara göre arıtım gerçekleştirilmelidir. Bu amaç doğrultusunda, son yıllarda atıksulardan tekstil boyalarının istenilen derecede uzaklaştırılması için yeni yöntemlerin geliştirilmesi doğrultusunda araştırmalar yapılmaktadır. Bu doğrultuda, yeni adsorpsiyon materyali olarak organik veya inorganik kökenli adsorbentler veya mikrobiyal biyokütleler boya uzaklaştırma işleminde sorbent olarak kullanılmaktadır. Sulu ortamlardan veya atıksulardan organik kirliliklerin uzaklaştırılmasında mevcut yöntemlere alternatif olarak düşük maliyet gerektiren mikrobiyal biyosorbentlerin kullanılması ve bu alandaki araştırmalar son yıllarda hız kazanmıştır. Mikroorganizmalarla boya biyosorpsiyonu için iki çeşit mekanizma önerilmektedir; (a) mikroorganizma ile boya etkileşiminde kısa bir süre içerisinde dengenin kurulduğu iyon değişimi veya fiziksel adsorpsiyon, (b) daha yavaş ilerleyen metabolik aktiviteye bağlı olan kimyasal adsorpsiyon.

Son yıllarda yapılan birçok çalışmada, beyaz çürükçül fungusların endüstriyel atıksulardan biyosorpsiyon yolu ile boyar madde uzaklaştırılmasında başarı ile kullanılmalarının mümkün olduğu gösterilmiştir (Aksu ve Tezer, 2000; O'Mahony ve ark., 2002). Araştırmacılar, çeşitli yosun, bakteri, maya ve mantar türlerini ve çeşitli biyolojik metaryalleri boya, metal ve fenolik bileşikleri sulu ortamlardan uzaklaştırmada, bu maddelerin biyolojik parçalanmasında veya yapılarında biriktirmeleri doğrultusunda başarı ile kullanıldığını bildirmişlerdir.

Mikroorganizmaların ısı, asit, baz veya bazı kimyasal ajanlarla işlem görmüş yapılarının, doğal (canlı) biyokütleye göre boya biyosorpsiyon kapasitesini arttırdığı rapor edilmiştir (Gallagher ve ark., 1997; Fu ve Viraraghavan, 2000). Organik kirleticileri sulu ortamlardan uzaklaştırmak için kullanılan biyokütlenin adsorpsiyon kapasitesine, kirletici ajan molekülün kimyasal yapısı (ortam pH'sına göre yükü, taşıdığı fonksiyonel gruplar ve iyonlaşma sabitleri), biyokütlenin fiziksel/kimyasal özelliği (yüzey alanı, yük yoğunluğu, protein ve polisakkarit birimleri ve diğer fonksiyonel gruplar), çevresel koşullar (sıcaklık, pH, iyonik şiddet) ve aktif bölgelere bağlanmak üzere kirliliğe neden olan ajan molekül ile yarışan organik veya inorganik bileşenlerin ortamda bulunması gibi faktörler etkili olmaktadır. Bu nedenle, aynı mikroorganizmanın farklı boya moleküllerine karşı farklı adsorpsiyon kapasitesi ve mekanizması göstermesi beklenmektedir.

Bu çalışmada, beyaz bir çürükçül fungus olan *Phanerochaete chrysosporium* biyokütlesinin biyosorbent olarak sulu ortamlardan çeşitli tekstil boyalarının uzaklaştırılmasında kullanılması amaçlandı. *Phanerochaete chrysosporium*, patates dekstroz agar besiyerinde aktive edildi ve uygun sıvı büyüme ortamında üretildi. Fungal biyokütlelerin sulu ortamlardan reaktif boya grubunda yer alan Reaktif Red 120 (R.Red-120), Reaktif Yellow 2 (R.Yellow-2), Reaktif Blue 4 (R.Blue-4) ve Reaktif Green 5 (R.Green-5) tekstil boyalarına karşı adsorpsiyon kapasiteleri farklı adsorpsiyon parametreleri altında incelendi. Sulu çözeltilerden adsorpsiyon çalışmaları kesikli sistemde manyetik olarak karıştırılmalı hücre içerisinde gerçekleştirildi. Ayrıca, fungal biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesine fiziksel ve kimyasal modifikasyonun etkisi araştırıldı. Bu doğrultuda, fungal biyokütle yüzeyindeki fonksiyonel grupların (karboksil, hidroksil, sülfat, fosfat ve amin grupları gibi) etkinliğini arttırmak amacıyla ısı, asit ve baz ile işleme tâbi tutuldu.

Yüzey özellikleri modifiye edilen fungal biyokütlenin biyosorpsiyon davranışları pH, sıcaklık, başlangıç boya konsantrasyonu gibi parametreler değiştirilerek incelendi. Biyokütle ile araştırmada kullanılan tekstil boya ları arasındaki biyosorpsiyon kinetiği araştırılarak reaksiyon derecesi ve adsorpsiyon izotermi belirlendi. Belirlenen optimum koşullarda, doğal biyokütle ile başlangıç konsantrasyonları belirli olan boya ların sürekli sistem kolonunda 10 ml/saat akış hızındaki biyosorpsiyon davranışları incelenerek sürekli sistemde fungal biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesi belirlendi. Son olarak da, doğal ve boya biyosorpsiyon işleme tâbi tutulmuş biyokütlenin yüzey özellikleri temas açısı ölçümleri ile belirlendi.



2. KURAMSAL TEMELLER

Boyalar genellikle rengi oluşturan kromofor ve boyayı ipliğe kovalent olarak bağlayan fonksiyonel grup olmak üzere iki ana bileşenden oluşmaktadırlar. Bitkisel boyalar, doğada bulunan bitkilerin boyar madde içeren kök, gövde, kabuk, yaprak, çiçek, meyve, tohum, çekirdek gibi kısımlarından elde edilen doğal ürünlerdir (Eyüpoğlu ve ark., 1983; Arlı, 1982). Sentetik kökenli olan boyalar, kompleks aromatik yapılarından dolayı kimyasal ve biyolojik etmenlere karşı daha kararlı bir yapıya sahiptir ve bu nedenle biyolojik yıkımları oldukça zordur ve doğada daha uzun süre kalırlar (Seshadri ve ark., 1994). Doğal su kaynaklarına boşaltılan ve tekstil boyası içeren endüstriyel atıksuların toksik etkileri, birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır (Walthall ve Stark, 1999; Tsuda ve ark., 2001; Hunger, 1995; Calin ve Miron, 1995) ve geleneksel biyolojik atıksu arıtım tekniklerinin, tekstil boyalarının kararlı kimyasal yapısından dolayı etkili olmadıkları bildirilmiştir (Robinson ve ark., 2001; Juang ve ark., 1997; Karcher ve ark., 1999; Sumathi ve Manju, 2000). Örneğin, aktif çamur sistemi ile boyaların, atıksulardan arıtımı işleminde sadece %30 oranında uzaklaştırılmaları mümkün olmaktadır (O'Mahony ve ark., 2002).

Sentetik boyalar yapılarında bulunan gruplara göre; anyonik (reaktif, asidik), kationik (bazik) ve iyonik olmayan (nötral) boyalar olarak sınıflandırılmıştır (Mishra ve Tripathy, 1993). Reaktif boyalar, parlak renkleri, mükemmel renk sabitlenmesi ve uygulanabilirliğinin kolay olmasından dolayı tekstil endüstrisinin her dalında geniş kullanım alanına sahiptir. Reaktif boyalar azo, antrakinin, triarilmetan vs. gibi kromoforik gruplar ve vinil sulfon, klorotriazin, trikloropirimidin,

diflorokloropirimidin vs. gibi boyayı ipliğe kovalent olarak bağlayan reaktif gruplar içerirler.

Tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılan birçok boyanın kanserojenik ve mutajenik olduğu bildirilmiştir (Mishra ve Tripathy, 1993). Yapılan araştırmalarda, tekstil endüstrisinde çalışan işçilerin boyaya maruz kalmaları ile mesane kanseri riski arasında da bir bağlantı olduğu bildirilmiştir (Yu ve ark., 2002). Diğer taraftan renkli atıksuların nehirler ve göllere boşaltılması, güneş ışığının doğal su katmanlarına girişinin azalmasına ve buna bağlı olarak fotosentetik aktivitenin ve çözünmüş oksijen konsantrasyonunun azalmasına neden olduğu yapılan araştırmalar sonucunda rapor edilmiştir.

2.1. Arıtım Yöntemleri

Sulu ortamlarda, kirletici olan boyar maddelerin bulunması önemli çevre sorunlarından birisidir. Geniş ölçekli üretim ve yaygın uygulamalarından dolayı tekstil boyaları ciddi sağlık sorunlarına neden olduğundan, kullanılan binlerce farklı tekstil boyasının canlı sağlığına karşı oluşturduğu tehlikeler ile ilgili çalışmalar halen yoğun olarak devam etmektedir (Forgacs ve ark., 2004). Atıksulardaki organik veya inorganik atıkların uzaklaştırmasında kullanılan geleneksel yöntemler; ters ozmoz, çözücü ekstraksiyonu, iyon değişimi, koagülasyon veya kimyasal çöktürme ve biyosorpsiyon gibi fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemleri içermektedir.

2.1.1. Fiziksel Yöntemler

Fiziksel yöntemler; adsorpsiyon, membran filtrasyonu ve iyon değişimi gibi metotları içerir (Ciardelli ve ark., 2000; Slokar ve Marechal, 1997). Ucuz ve etkin

katı destek materyalleri üzerine tekstil boyalarının adsorpsiyonu, atıksulardan boyaları uzaklaştırmak için kullanılan basit ve ekonomik bir yöntemdir (Forgacs ve ark., 2004). Gaz, sıvı ya da bir çözültiden çözünen molekül ya da iyonların katı yüzeyinde tutunmasına “adsorpsiyon”, adsorplayan malzemeye ise “sorbent” adı verilmektedir. Adsorpsiyon işleminde, boya/sorbent etkileşimi, sorbentin yüzey alanı, tanecik büyüklüğü, sıcaklık, pH ve temas süresi gibi pek çok fiziko-kimyasal faktör etkilidir (Bayramoğlu ve ark., 2003). Adsorpsiyonla sularda; renk, tat, koku giderimi, çözünmemiş organik ve organik olmayan kirliliklerin arıtımı işlemlerinde en çok kullanılan materyal, hindistan cevizi kabuğu, kömür, odun ve petrol atıkları gibi hammaddelerden üretilen aktif karbondur (Daifullah ve Girgis, 1998; Aksu ve Kabasakal, 2004). Atıksulardan tekstil boyalarının uzaklaştırılmasında kullanılacak daha düşük maliyetli adsorpsiyon materyalleri için alternatif kaynaklar araştırılmaktadır. Aktif karbon yerine geliştirilen düşük maliyetli adsorbentler genellikle düşük adsorpsiyon kapasitesine sahiptir ve bu durumda adsorbentin kullanılan hacmini arttırmak gerekmektedir (Fu ve Viraraghavan, 2002). Düşük maliyetli tarım ürünlerinden elde edilen birçok adsorbent atıksulardan boya adsorpsiyonunda kullanılmaktadır (Gong ve ark., 2005; Ho ve ark., 2005).

Aktif çamur sistemi, adsorpsiyonla renk gideriminde kullanılan bir diğer yöntemdir. Atıksuların aktif çamur sistemleri ile aerobik şartlar altında biyolojik arıtımı, atıksuyun bileşiminde bulunan organik maddelerin mikroorganizmalar tarafından giderilmesi prensibine dayanır. Aktif çamur yöntemi ile, çözünen bazik ve direkt boyaların önemli bir kısmının rengi giderilebilirken, reaktif ve asit boyaların çok az miktarı uzaklaştırılabilmektedir (Chu ve Chen, 2002; Kargı ve Özmihci, 2004).

Membran filtrasyonu ve anyonik ve/veya katyonik boyaların uzaklaştırılabildiği iyon değiştirici reĉinelerin kullanıldığı iyon değişimi, diğer fiziksel yöntemleri oluşturmaktadır (Xu ve Lebrun, 1999; Robinson ve ark., 2001).

2.1.2. Kimyasal Yöntemler

Ozonlama, fotokimyasal yöntem, sodyum hipoklorit, elektrokimyasal yöntem ve kimyasal floklaştırma ve çöktürme gibi işlemler kimyasal yöntemler arasında yer almaktadır.

Fe (II) tuzlarıyla aktive edilmiş hidrojen peroksidin, toksik atık içeren suların oksidasyonu için uygun olduğu bildirilmiştir (Robinson ve ark., 2001). Atıksulardan boya arıtımında; klor veya diğer yükseltgeyici ajanların kullanıldığı ozonlama ile önemli oranda renk gideriminin sağlandığı rapor edilmiştir (Robinson ve ark., 2001).

Fotokimyasal yöntem ile boya molekülleri, hidrojen peroksit varlığında UV radyasyonu ile CO₂ ve H₂O'a dönüştürülür (Yang ve ark., 1998). Sodyum hipoklorit (NaOCl) yönteminde ise Cl⁺ iyonları boya molekülünün amino grubuna etki ederek azo bağının kırılmasını sağlar. Nötral boyaların sodyum hipoklorit ile renk giderimi gerçeleşmezken, asidik boyalar için olumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir.

Elektrokimyasal yöntem boya gideriminde etkin olarak kullanılan bir diğer yöntemdir (Pelegrini ve ark., 1999). Kimyasal floklaştırma ve çöktürme yönteminde floklaşma ve çökelme kimyasal maddeler yardımıyla sağlanır. En çok kullanılan kimyasal arıtma yöntemleridir. Burada amaç, tanecik boyutu çok küçük olan ve bu nedenle kendiliğinden çökemeyen katı partiküllerinin birbirlerine bağlanarak tanecik boyutunun büyütülmesi ile atıksudan ayrılmasıdır (Kocaer ve Alkan, 2002).

2.1.3. Biyolojik Yöntemler

Tekstil endüstrisi atıksuları için önerilen fiziksel ve kimyasal yöntemlerin yüksek maliyet gerektirmeleri ve her boya için kullanılamaması, uygulamalarının sınırlı olmasına neden olmaktadır. 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 (Slokar ve Le Marechal, 1997).

Boya içeren endüstriyel atıkların biyolojik yolla arıtılması; daha düşük işletim maliyeti gerektirmesi, ekonomik olması ve mineralizasyonu tamamlanan son ürünlerin toksik olmaması gibi önemli avantajlar sağlamaktadır (Forgacs ve ark., 2004). Ayrıca, boyaların mikrobiyolojik olarak ayrıştırılması işleminin diğer geleneksel atıksu arıtım teknolojileri ile birlikte kullanılabilmesi bildirilmiştir. Örnek olarak, aktif çamur yönteminde, sığır gübresinden sağlanan mikroorganizmalar kullanılarak atıksulardan Methyl Violet ve Rhodamine B tekstil boyalarının uzaklaştırılması sağlanmıştır (Kanekar ve Sarnaik, 1991). Boyar madde içeren tekstil endüstrisi atıksularının arıtılması, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Tekstil endüstrilerinin çevre alanlarında bulunan mikroorganizmaların tekstil boyaları ile yakın temasta bulunabileceği beklenir. Bu mikroorganizmalar çevreye adapte olurlar ve hatta kendi büyüme ve fonksiyonları doğrultusunda çevrede bulunan atıkların biyolojik olarak bozunmasına katkıda bulunabilirler (Chagas ve Durrant, 2001). Kirleticilerle önceden temas sağlayan mikroorganizmalar hedef kirleticileri daha başarılı olarak uzaklaştırdıkları veya biyolojik olarak daha kolay parçaladıkları bilinmektedir. Bu nedenle tekstil

endüstrisine yakın çevreden elde edilen mikrobiyal izolatların biyolojik arıtmalarda daha başarılı olduğu rapor edilmiştir.

2.1.3.1. Biyosorpsiyon

Atıksulardan toksik boyaların uzaklaştırılmasında mikrobiyal sorbentlerin kullanımı yeni bir metot olması ve düşük maliyet gerektirmesi nedeni ile alternatif bir yöntemdir. Çevresel biyoteknoloji alanındaki gelişmeler, biyosorpsiyon yoluyla sulu ortamlardan boyaların geniş bir grubunun, bakteri, fungus, maya ve alglerin kullanımı sonucu uzaklaştırabileceğini göstermektedir. “Biyosorpsiyon” terimi canlı veya cansız biyokütlelerle sulu ortamdan boya bağlanması işleminde pasif, metabolik olmayan adsorpsiyon işlemini tanımlamak için kullanılır. Kimyasal maddelerin mikrobiyal kütle (biyokütle) tarafından alınımı ya da birikimini ifade eder (Hu, 1992, 1996; Kumar ve ark., 1998). Biyosorpsiyon işleminde kullanılan biyokütleye “sorbent” veya “biyosorbent” adı verilir.

Mikroorganizma biyokütlesi, basit fermantasyon teknikleri ve uygun büyüme ortamları ile ucuz bir şekilde sağlanabilmektedir. Tekstil boyalarının farklı kimyasal yapılarından dolayı farklı türdeki mikroorganizmalarla olan etkileşimleri de farklılık göstermektedir. Bu nedenle, biyosorbent üzerine adsorplanan boya moleküllerinin bağlanma hızı ve kapasitesi, kullanılan mikroorganizmanın türüne ve boyanın kimyasal yapısına bağlı olarak değişmektedir (Polman ve Brekenridge, 1996; Zhou ve Zimmerman, 1993; Mou ve ark., 1991).

Tekstil boyalarının canlı veya modifiye edilen mikroorganizmalar tarafından biyosorpsiyonu, hücre içerisine birikimi, fizikokimyasal etkileşimleri içeren bir biyosorpsiyon mekanizması ile açıklanmaktadır (Fu ve Viraraghavan, 2001).

Biyosorpsiyonda, canlı hücreler yerine inaktif mikrobiyal biyokütle kullanımı; toksik atıklardan etkilenmeyen, besin ortamına ihtiyaç duymayan, birçok döngü için rejenere edilebilen ve tekrar kullanılabilen, herhangi bir bozunma olmadan uzun zaman aralığında oda sıcaklığında saklanabilen veya büyüyen ya da durağan canlı hücrelerden daha fazla kirletici biriktirme kapasitesine sahip olmak gibi birçok avantaj sağlamaktadır (Fu ve Viraraghavan, 2001).

Hu (1992), bir çalışmada Reactive Red, Reactive Blue, Reactive Violet, Reactive Yellow boyalarını içeren onbir ayrı reaktif boyanın adsorpsiyonu için, bir tekstil endüstrisi aktif çamur işleminden izole ettiği bakteri hücrelerinin adsorpsiyon yeteneğini incelemiştir (Hu, 1992). Araştırmacı, *Aeromonas* sp.'nin hücre duvarı parçasının, geniş yüzey alanından dolayı, bakterinin eksiksiz olan hücre duvarından daha yüksek bir spesifik adsorpsiyon kapasitesine sahip olduğunu ileri sürmüştür. Brahimi-Horn ve ark. (1992) boyanın renk gideriminde hücresel bölümlerin olası rolünü incelemek için tam ve parçalanmış (ses dagaları ile) *Myrothecium verrucaria* hücreleri ile üç asidik boyanın uzaklaştırılmasını çalışmışlardır. İki değerlikli boyaların (Acid Red) tek değerlikli boyalardan (Acid Orange II) daha fazla bağlandığını gözlemlemişlerdir (Brahimi-Horn ve ark., 1992). Tatarko ve Bumpus (1998), beyaz bir çürükçül fungus olan, Basidiomycete sınıfına ait *Phanerochaete chrysosporium*'u otoklavda inaktif hale getirmişler ve kesikli sistem deneylerinde katyonik bir azo boyası olan Congo Red'in biyosorpsiyonunda kullanmışlardır (Tatarko ve Bumpus, 1998). Aksu (2001), bakteri ve protozoa'ları içeren kurutulmuş aktif çamur üzerine iki reaktif boyanın (Reactive Blue 2 ve Reactive Yellow 2) biyosorpsiyonunu incelemiştir. Araştırmacı bakterilerin hücre duvarındaki mevcut aminoasit, lipid, asidik polisakkaritler ve diğer hücresel bileşenlerden dolayı, aktif

camurun organik kirleticiler için yüksek bir alınımla kapasitesine sahip olduğunu ileri sürmüştür (Aksu, 2001).

2.1.3.2. Tekstil Boyalarının Uzaklaştırılmasında Kullanılan Funguslar

Boya renk gideriminde en yaygın olarak çalışılan organizmalar arasında beyaz çürükçül funguslar yer almaktadır. Bu organizma grubu kompleks polimerik yapıya sahip olan odunsu bitki ligninini mineralize etme yeteneğinden dolayı karbon döngüsünün merkezinde yer almaktadır. Ayrıca, beyaz çürükçül fungusların kararlı organik kirleticilerin geniş bir kısmını mineralize etme yeteneğine sahip olduğu da bilinmektedir (Kumar ve ark., 1998; Yeşilada ve ark., 1998; Kapdan ve ark., 2000; Robles ve ark., 2000; Bayramoğlu ve ark., 2002; Sağlam ve ark., 1999; Reddy, 1995; Levin ve ark., 2005).

Beyaz çürükçül funguslar ile boyaların renk giderimi ilk defa Gleen ve Gold (1983) adlı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan beyaz bir çürükçül fungus olan *Phanerochaete chrysosporium* (*P. chrysosporium*), 1974 yılında Hal Burdsall tarafından tanımlanmıştır. Basidiomycete sınıfına ait ligninolitik bir fungus olan *Phanerochaete chrysosporium* doğal ve endüstriyel lignin türevlerini degrade edebilme, farklı kimyasal bileşikleri yükseltgeyebilme, azo boyaları içeren çeşitli boyaları parçalayabilme, kararlı aromatik kirleticileri mineralize edebilme ve ağır metal uzaklaştırabilme yeteneğine sahiptir (Arıca ve ark., 2003; Sağlam ve ark., 1999; Martins ve ark., 2001; Novotny ve ark., 2001). Bu fungusun sahip olduğu lignin peroksidaz (LiP), mangana bağlı peroksidaz (MnP) ve lakkaz gibi fungal ligninolitik enzimler, ekstraselülerdir ve bir moleküldeki bağları koparmak için oksidasyonla, radikal oluşumunu katalizlerler. LiP enzimi, veratril alkol gibi fenolik

olmayan bileşiklerin oksidasyonunu katalizler. Birçok fenolik bileşiği okside edebilen MnP enzimi, Mn (III)'ü Mn (II)'ye okside eder. Bakır ihtiva eden bir enzim olan lakkaz (benzendiol:oksijen oksido-redüktaz), fenolik substratların oksidasyonunu katalizler (McMullan, 2001). Bu amaçla kullanılan diğer enzimler glikoz-1-oksidad, glikoz-2-oksidad ve fenol oksidad enzimi gibi H₂O₂ üreten enzimleri içerir (Archibald ve Roy, 1992; Thurston, 1994; Schliephake ve Lonergan, 1996; Kirby, 1999). Bu nedenle ticari olarak üretilen boyaların en geniş sınıfını oluşturan azo boyaları, *Phanerochaete chrysosporium* mikroorganizması kullanılarak degrade edilebilmektedirler.

2.2. Adsorpsiyon İzoterm Modelleri

Çözelti fazında adsorpsiyon, sorbent miktarı ve ortam sıcaklığı sabit tutulduğunda konsantrasyona bağlı olarak değişmektedir. Yüzeğe adsorplanan madde miktarının konsantrasyonla değişimini veren eğrilere “adsorpsiyon izotermi” adı verilmektedir. Deneysel olarak elde edilen adsorpsiyon izotermelerini değerlendirebilmek için çok sayıda teorik adsorpsiyon izoterm modeli geliştirilmiştir.

2.2.1. Langmiur Adsorpsiyon İzotermi

Homojen adsorpsiyon işlemlerini ifade eden Langmiur adsorpsiyon izoterminde, katı yüzeyin her noktası aynı özelliktedir ve adsorbe olan moleküller katı yüzeyini tek tabaka halinde örter. Langmiur adsorpsiyon izoterm modeli aşağıdaki eşitlikle verilmektedir.

$$q = q_m C / (K_d + C) \quad (2.1)$$

Yukarıdaki eşitlikte; q_m , fungal biyokütlenin maksimum adsorpsiyon kapasitesini (mg/g katı); C , sulu ortamdaki denge konsantrasyonunu (mg/L); q , fungal biyokütlenin dengedeki adsorpsiyon kapasitesini (mg/g katı); ve K_d ise ayrılma sabitini (mg/L) göstermektedir.

2.2.2. Freundlich Adsorpsiyon İzotermi

Heterojen adsorpsiyonlar için, bir denge reaksiyonu olan Langmiur denkleminde türetilen Freundlich adsorpsiyon izotermi kullanılır (Arıca ve ark., 2004).

$$q = K_F (C)^n \quad (2.2)$$

Burada q , dengedeki biyosorpsiyon kapasitesi (mg/g katı); C , denge anında sulu ortamdaki çözelti konsantrasyonu (mg/L); K_F ve n , sistemin karakteristiği olan Freundlich sabitleridir. K_F , Freundlich izoterm modelindeki kapasite parametresi; n , Freundlich izoterm modelindeki adsorpsiyon yoğunluğunu gösteren üssel parametredir. Freundlich modeli, adsorbent üzerinde bir bölgeye bağlanan boyanın adsorpsiyon enerjisinin sürekli oluşan komşu bölgelere bağlı olup olmadığını varsayar (Bayramoğlu ve ark., 2004).

2.3. Temas Açısı Ölçümleri

Katı yüzeyinin bir sıvıyla ıslatılması ve temas açısı (θ) kavramı, ilk olarak Young tarafından formüle edilmiştir (Blanco ve ark., 1989).

$$\gamma_l \cos \theta = \gamma_s - \gamma_{sl} \quad (2.3)$$

Burada γ_l sıvının yüzey enerjisi, γ_{sl} katı/sıvı arayüzeyinin, arayüzey enerjisi ve γ_s katının yüzey enerjisidir. Temas açısı verilerinden yüzey enerjisinin (bazen katı yüzey gerilimi olarak tanımlanır) belirlenmesi için kararlaştırılmış tek bir yaklaşım yoktur (Mykhaylyk ve ark., 2003).

Bu sonuçlar, dört yöntemle göre analiz edilirler (Zisman, 1963; Fowkes, 1987; Wu, 1979; van Oss ve ark., 1987);

- (a) Zisman'ın kritik yüzey gerilimi
- (b) Fowkes'un geometrik ifadesi
- (c) Wu'nun harmonik ifadesi
- (d) van Oss'un asit-bazı

2.3.1 Kritik Yüzey Gerilimi (Zisman Yöntemi)

Kritik yüzey gerilimini (γ) belirlemek için, Zisman tarafından geliştirilen, deneysel bir yöntemdir. Bu yöntemde, farklı sıvıların temas açısının θ kosinüsü ölçülür ve eşitlik 2.3'e göre sıvıların yüzey gerilimine karşı grafiğe geçirilir.

$$\cos \theta = 1 - b (\gamma_l - \gamma_s) \quad (2.4)$$

Burada b, korrelasyon çizgisinin eğimidir.

Verilerin, verilen γ değerinde, $\cos \theta = 1$ 'e yaklaşan bir doğru verdiği bulunmuştur. Bu çoğunlukla, bir sıvının, katı yüzeyini tamamen ıslatan, en yüksek yüzey gerilimi değeri olarak tanımlanır. Bu teorik "sıvı" yüzey gerilimi, γ 'ya eşittir ve katının yüzeyini karakterize etmek için kullanılır.

2.3.2. Geometrik İfade (Fowkes Yöntemi)

Bu yaklaşım yüzey enerjisini dispersif ve polar olarak, iki bileşene böler ve bunların katkılarının birleştirilmesi için geometrik bir yaklaşım kullanır.

Young eşitliği ile birleştirildiğinde, sonuç eşitlik şu şekildedir:

$$\gamma_l (1 + \cos \theta) = 2 [(\gamma_l^p \gamma_s^p)^{1/2} + (\gamma_l^d \gamma_s^d)^{1/2}] \quad (2.5)$$

Burada, θ temas açısıdır, γ_l ve γ_s sırasıyla, sıvı ve katı yüzey gerilimi ya da serbest yüzey enerjisidir. Üst indisteki d ve p, her birinin dispersif ve polar bileşenlerini göstermektedir. Katı yüzey geriliminin bileşenleri, Owens ve Wendt'e göre, $(\gamma_l^p)^{1/2} / (\gamma_l^d)^{1/2}$ 'ye karşı $\gamma_l (1 + \cos \theta) / (\gamma_l^d)^{1/2}$ 'nin grafiğe geçirilmesi ile eğimden, $(\gamma_s^p)^{1/2}$ ve kayma değerinden de, $(\gamma_s^d)^{1/2}$ parametreleri hesaplanır. Toplam serbest enerji (γ_s), iki bileşen kuvvetinin toplamıdır [$\gamma_s = (\gamma_s^d + \gamma_s^p)$].

2.3.3. Harmonik İfade (Wu Yöntemi)

Bu yöntem benzer bir yaklaşım kullanır fakat dispersif ve polar katkıların toplamı için harmonik bir ifade eşitliği kullanır. γ^d ve γ^p değerleri bilinen iki sıvı için temas açıları ölçülür ve her bir deneyin değeri, aşağıdaki eşitlikte yerine konulur.

$$\gamma_l (1 + \cos \theta) = 4 [(\gamma_l^d - \gamma_s^d) / (\gamma_l^d + \gamma_s^d) + (\gamma_l^p - \gamma_s^p) / (\gamma_l^p + \gamma_s^p)] \quad (2.6)$$

Yüzey polaritesi, X^p , şu şekilde verilir:

$$X^p = \gamma_s^p / \gamma_s \quad (2.7)$$

2.3.4. Asit-Baz (van Oss Yöntemi)

Bu yöntemde, γ^d , γ^+ ve γ^- değerleri bilinen en az üç sıvı için temas açısı ölçülür. Burada üst indisler (d), (+) ve (-) sırasıyla, dispersif, Lewis asit ve baz bileşenlerini ifade eder. Her deneyin değerleri, aşağıdaki eşitlikte yerine konulur.

$$(1 + \cos \theta) \gamma_l = 2 [(\gamma_s^{LW} \times \gamma_l^{LW})^{1/2} + (\gamma_s^+ \times \gamma_l^-)^{1/2} + (\gamma_s^- \times \gamma_l^+)^{1/2}] \quad (2.8)$$

Toplam yüzey enerjisi γ_s , Lifshitz- van der Walls ve Lewis asit ve baz bileşenlerinin toplamı olarak verilir.

$$\gamma_s = \gamma_s^{LW} + \gamma_s^{AB} \quad (2.9)$$

Burada, γ_s^{LW} , uzun mesafeli etkileşimleri gösteren (dispersif etkileşim, dipol-dipol etkileşim ve dipol-indüklenmiş dipol etkileşimini içerir, dispersiyon baskın durumdadır) diiyodometan (DIM) ile temas açısının ölçülmesinden hesaplanan Lifshitz-van der Walls etkileşimini belirtir, γ_s^{AB} ise hidrojen bağları gibi asit-baz etkileşimlerini belirtir ve γ^+ ve γ^- sırasıyla, proton ve elektron veren karakteri göstermektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyaller

3.1.1. Kimyasal Maddeler

Reaktif Red 120 (MA: 1470 g/mol, λ_{\max} : 511 nm), Reaktif Yellow 2 (MA:873 g/mol, λ_{\max} : 404 nm), Reaktif Blue 4 (MA: 637,4 g/mol, λ_{\max} : 595 nm) ve Reaktif Green 5 (MA: 1639 g/mol, λ_{\max} : 673nm) tekstil boya ları Sigma Chem. Co. (St. Louis.MO, ABD) firmasından alındı. Kullanılan diğ er tüm analitik derecede saflıktaki kimyasallar Merck AG (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edildi.

3.1.2. Cihazlar

3.1.2.1. UV-VIS Spektrofotometre

Sulu ortamdan tekstil boya larının biyosorpsiyon yoluyla ortamdan uzaklaştırılmasında, ortamda kalan boya miktarı, spektrofotometrik yöntem kullanılarak UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu, Tokyo, Japonya, Model 1601) ile belirlendi.

3.1.2.2. Kullanılan Diğ er Cihazlar

pH metre (NEL Elektronik, Türkiye), manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica, İtalya), vakum etüvü (Nüve EV018, Türkiye), otoklav (Autohouse AD7, Tayvan), çalkalamalı su banyosu (Nüve ST402, Türkiye), inkübatör (EN025, Türkiye), sirkülatörlü ısıtıcı soğutucu su banyosu (Labcon CPE20, Labcon LTB12140,

Güney Afrika), peristaltik pompa (Ismatec IPC Model), temas açısı ölçer cihazı CAM 200 (KSV Instruments Ltd., Helsinki, Finlandiya).

3.2. Yöntem

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma

Basidiomycetes sınıfı içerisinde yer alan *Phanerochaete chrysosporium* ME-446 (ATCC-3454) beyaz çürükçül fungusunun biyokütlesi çalışmada biyosorbent olarak kullanıldı.

3.2.2. Fungusun Üretimi

Phanerochaete chrysosporium sporları patates dekstroz agar yatık katı besiyerinde 30 °C' de 3 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 edildi. Fungus kültür stokları her 15 günde bir yenilendi ve 4 °C'de muhafaza edildi.

Patates dekstroz agar yatık katı besiyerinde üretilen *P.chrysosporium* kültürlerine 10 mL steril büyüme ortamı eklenerek süspanse hale getirildi. *P. chrysosporium* üretiminde kullanılan besin ortamının bileşimi (YMPG) Çizelge 3.1'de verildi. Fungal spor süspanasyonu, 100 mL YMPG sıvı büyüme ortamı içeren 250 mL'lik erlen içerisine aktarıldı ve çalkalamalı su banyosunda 37 °C'de 3 gün süre ile inkübe edildi. Üretilen biyokütle, Whatman 388 kağıdı ile filtre edilerek sıvı besiyerinden uzaklaştırıldı. Fungal biyokütlenin kuru ağırlıkları 50 °C'de vakum etüvünde kurutularak belirlendi.

Çizelge 3.1 YMPG sıvı büyüme ortamının bileşenleri

Madde	Miktar (g/L)
Yeast extract	2.0
Malt extract	10.0
Pepton	2.0
Glikoz	10.0
KH ₂ PO ₄	2.0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	1.0

3.2.3. Fungal Biyokütlenin Isı, Asit ve Baz ile Modifikasyonu

Kimyasal ve fiziksel modifikasyonun boya biyosorpsiyonuna etkisini belirlemek için fungal biyokütle, 0.1 M hidroklorik asit ve 0.1 M sodyum hidroksit ile 30 °C'de 1 saat süresince kimyasal olarak işleme tâbi tutuldu ve bu sürenin sonunda steril fizyolojik tuz çözeltisi (% 0.85) ile yıkanarak biyosorpsiyon deneylerinde kullanıldı. Fiziksel modifikasyon ise fungal biyokütlenin 100 °C'de fizyolojik tuz çözeltisi (% 0.85) içerisinde 10 dakika süre ile teması sonucunda gerçekleştirildi. Elde edilen biyosorbentler, deneylerde kullanılıncaya kadar +4 °C'de saklandı.

3.2.4. Fungal Biyokütlenin Karakterizasyonu

3.2.4.1. 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.

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

Burada, W_k kuru biyokütlenin ağırlığı, W_s ise denge su içeriğine ulaşmış biyokütlenin ağırlığıdır.

3.2.4.2. 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.

3.2.4.3. Fungal Biyokütlenin FT-IR Spektrumu

Fungal biyokütlenin FT-IR spektrumu FT-IR spektrofotometre (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.

3.2.5. Boya Biyosorpsiyonu

Biyokütlenin sulu ortamdan uzaklaştırdığı boya miktarı, biyosorpsiyon ortamındaki boyanın başlangıç ve biyosorpsiyon sonundaki bakiye konsantrasyonları ölçülerek belirlendi. Yaş kütlesi 0.25 gram olan fungal biyokütle (doğal ve ısı, asit ve baz ile işleme tâbi tutulan biyosorbent) 200 mg/L (10 ml) boya içeren ortama aktarıldı ve 6 saat süre ile 25 °C'de, 150 rpm hızda sürekli karıştırılarak kesikli sistemde inkübe edildi. Verilen biyosorpsiyon deney koşulları, başlangıç boya konsantrasyonu, ortam pH'sı, sıcaklık gibi faktörlerin doğal ve modifiye edilmiş biyokütlenin performansı üzerine etkisinin incelenmesi deneylerinde de kullanıldı.

3.2.5.1. pH'nın Etkisi

Biyosorpsiyon ortam pH'sının, boya biyosorpsiyon kapasitesine etkisi, pH 3.0 ile 10.0 aralığında farklı tampon sistemleri kullanılarak çalışıldı. pH 3.0'de sitrat tamponu, pH 4.0-5.0 aralığında asetat tamponu, pH 6.0-8.0 aralığında fosfat tamponu ve pH 9.0-10.0 aralığında karbonat tamponu kullanıldı. Her bir deney setinde başlangıç boya konsantrasyonu, 200 mg/L olacak şekilde 0.1 M, 10 ml tampon içerisinde çözüldü.

Her bir fungal biyokütle üzerine biyosorplanan boya miktarı, deney ortamındaki başlangıç ve bakiye boya miktarları UV-VIS spektrofotometresi ile, R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 için sırası ile, 511, 404, 595 ve 673 nm dalga boylarında spektrofotometrik yöntem kullanılarak belirlendi. Sulu ortamdaki boya miktarının belirlenebilmesi için, başlangıç boya konsantrasyonu 25-600 mg/L aralığında değiştirilerek kalibrasyon grafiği elde edildi. Fungal

biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesi (3.2) eşitliği, boya uzaklaştırma yüzdesi ise (3.3) eşitliğinin kullanılması ile hesaplandı.

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

$$\% \text{Uzaklaştırılan boya} = (C_0 - C) \times 100 / C_0 \quad (3.3)$$

Burada q, fungal biyokütle tarafından biyosorplanan boya miktarını (mg/g); C_0 ve C sırası ile başlangıç ve biyosorpsiyon işleminden sonra ortamda kalan boya konsantrasyonunu (mg/L); V_s , biyosorpsiyon çözeltisinin hacmini (L) ve m, fungal biyokütlenin kuru kütlesini (g) ifade etmektedir.

3.2.5.2. Biyosorpsiyona Zamanın Etkisi

Hazırlanan fungal biyokütlelerle sulu ortamdan tekstil boyalarının uzaklaştırılmasının zamana bağlılığını belirlemek için (biyosorbentlerin sürekli sistemde kullanılma aşamasında önemlidir) 100 mg/L ve 200 mg/L başlangıç boya konsantrasyonu içeren çözeltilerden adsorplanan boya miktarlarının zamanla değişimi 6 saat süresince kesikli sistemde yukarıda anılan yöntemle belirlendi.

3.2.5.3. Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisi

Başlangıç boya konsantrasyonu 25-600 mg/L aralığında değiştirilerek, doğal ve kimyasal ve fiziksel işleme tâbi tutulan fungal biyokütlelerin biyosorpsiyon hız kapasiteleri araştırıldı. Biyosorpsiyon deneyleri, değişen R.Red-120 tekstil boyası

başlangıç konsantrasyonlarında 25 °C sıcaklıkta doğal, ısı ve asit ile işlem gören biyosorbentlerle pH 3.0'de, baz ile muamele edilmiş biyokütle ile pH 6.0'da gerçekleştirildi. R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 tekstil boyaları içeren sulu ortamlardan boya uzaklaştırma deneylerinin başlangıç boya konsantrasyonuna bağlılığı, doğal, ısı ve asit ile işlem gören biyokütlerle ile, ortam pH'sı 3.0'e, baz ile muamele edilmiş biyokütle ile, pH 4.0'e ayarlanarak gerçekleştirildi. Deney süresinin sonunda biyokütle, boya çözeltisinden uzaklaştırıldı ve uzaklaştırılan boya miktarı (3.2) eşitliği kullanılarak deneysel adsorpsiyon izotermi elde edildi.

3.2.5.4. Sıcaklığın Etkisi

Sıcaklığın boya uzaklaştırma kapasitesine etkisi, 200 mg/L başlangıç boya konsantrasyonu varlığında her bir biyosorbentin, R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 tekstil boyalarına karşı gösterdiği biyosorpsiyon davranışı 4- 37°C sıcaklıkları aralığında incelendi.

3.2.5.5. Adsorpsiyon İzotermi

Deneysel verilerin, farklı teorik izoterm modellerine uygunluğu araştırılarak bu çalışmada kullanılan biyokütle ile yapılan biyosorpsiyon işleminin hangi izoterm modeline göre açıklanabileceği araştırıldı. Başlangıç boya konsantrasyonu değişimi ile belirlenen deneysel verilerin Langmiur ve Freundlich izoterm modellerine uygunluğu Bölüm 2.2'de verilen (2.1) ve (2.2) eşitlikleri kullanılarak belirlendi. Bu doğrultuda Langmiur adsorpsiyon izoterm modeline göre $C - C/q$ grafiği elde edilerek doğrunun eğiminden q_m ve kaymasından K_d değerleri ve korrelasyon

katsayısı belirlendi. Bir doğru denklemi olan Freundlich eşitliğine göre $\ln C - \ln q$ grafiği çiziminden elde edilen eğrinin eğim ve kayması sırasıyla, $1/n$ ve $\ln K_F$ 'e eşit olduğu için bu değerler kullanılarak Freundlich adsorpsiyon izoterm modelinin sabitleri hesaplandı. Elde edilen adsorpsiyon izoterm sabitleri ile deneysel veriler mukayese edildi ve fungal biyokütle üzerine boya biyosorpsiyon işleminin hangi model ile açıklanabileceği belirlendi.

3.2.5.6. Temas Açısı Ölçümleri

Fungal biyokütle örnekleri kurutulduktan sonra, farklı test sıvılarının (su, gliserol ve diiyodometan) temas açısı değerleri, 25°C'de durgun damla yöntemiyle, dijital optik temas açısı ölçer cihazı CAM 200 (KSV Instruments Ltd., Helsinki, Finlandiya) kullanılarak belirlendi. Biyokütle yüzeyinde, mikro şırınga yardımı ile bir damla oluşturuldu. Sağ ve sol temas açıları ve damla boyut parametreleri dijital görüntüden otomatik olarak hesaplandı. Ölçümler, üç biyokütle örneği üzerinde alınan, en az 15 temas açısının ortalaması alınarak değerlendirildi. Doğal ve boya bağlı doğal biyokütlelerin serbest yüzey enerjisi parametreleri, araştırılan sıvıların temas açıları kullanılarak, Bölüm 2.3'de verilen eşitlikler ve bu eşitliklerin Windows 98 işletim sistemi altında CAM 200 veri programı kullanılarak hesaplandı.

3.2.5.7. Sürekli Sistem Çalışmaları

Sulu ortamlardan R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 tekstil boyalarını uzaklaştırmak için biyosorbent olarak kullanılan *P.chrysosporium* biyokütlesi sabit yatak reaktörü (uzunluğu; 12 cm, çapı; 1,6 cm, kolon hacmi; 20 ml)

içerisine yerleştirildi. Tampon çözelti (sitrat, pH 3.0) içerisinde hazırlanmış ve belirli başlangıç boya konsantrasyonuna (R.Red-120 ve R.Yellow-2 için başlangıç boya konsantrasyonu 50mg/L; R.Blue-4 ve R.Green-5 için başlangıç boya konsantrasyonu 100mg/L) sahip olan boya çözeltisi peristaltik pompa yardımı ile 10ml/saat akış hızında sabit yatak reaktörünün alt girişinden reaktöre verildi. Ortamdaki bakiye boya miktarları, belirli zaman aralıklarında alınan örneklerin spektrofotometrik yöntemle ölçülmesi ve (3.2) eşitliğinin kullanılması ile hesaplandı.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE DEĞERLENDİRME

4.1. Araştırma Bulguları

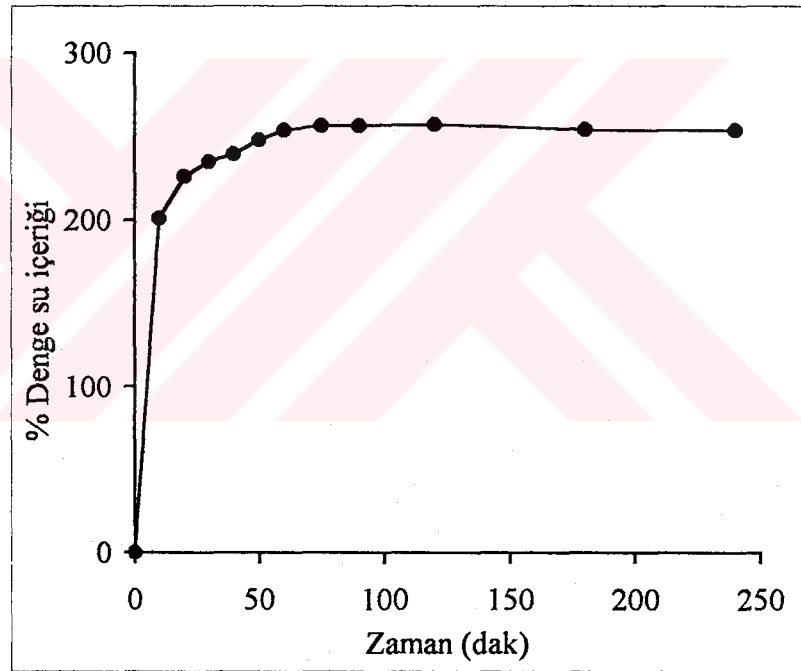
P.chryso sporium biyokütlesinin ucuz karbon kaynakları kullanılarak düşük maliyetle üretilebilmesi bu fungusun arıtım teknolojisinde biyosorbent olarak kullanılması yönünde bir avantaj sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca, *P.chryso sporium*' un ürettiği oksidatif enzimler, biyolojik yolla organik kirleticileri oksidasyonla etkisiz hale getirirken aynı zamanda da bu kirleticileri karbon kaynağı olarak kullanarak toplam organik madde miktarının da azaltılmasını sağlar. Aktif veya inaktif *P.chryso sporium* biyokütlesinin ağır metalleri ve organik bileşikleri yüksek oranda adsorplama kapasitesine sahip oldukları birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Pahalı polimerik sorbentlere göre bu tür mikroorganizmaların sorbent olarak kullanılmalarının ekonomik olarak avantaj sağladığı da bilinmektedir (Aksu, 2005). Kimyasal ve fiziksel yöntemlerle modifiye edilen biyokütlelerin adsorpsiyon kapasitelerini arttırdığı ve sulu ortamdan organik kirliliklerin uzaklaştırılmasında canlı karşıtlarına göre de avantajlar sağladığı rapor edilmiştir.

Biyosorpsiyon yöntemi ile doğal ve ısı, asit ve baz ile işleme tâbi tutulan *P.chryso sporium* biyokütlesi, sulu çözeltilerden dört farklı tekstil boyasını uzaklaştırmak için kullanıldı. Boya ile fungal biyokütle arasındaki etkileşimlerin boyanın kimyasal yapısı ve biyokütlenin kimyasal ve fiziksel özelliklerinin değiştirilmesi ile farklı adsorpsiyon kapasiteleri ve profillerinin elde edilebileceği düşünüldü. Boya molekülleri ile doğal ve kimyasal ve fiziksel işleme tâbi tutulan fungal biyokütle arasındaki etkileşimleri açıklayan mekanizmalar önerildi.

4.1.1. Karakterizasyon Çalışmaları

4.1.1.1. Denge Su İçeriği

P. chrysosporium' un denge su içeriği %254 olarak bulundu. Fungal biyokütlenin denge su içeriğine 60 dakikada ulaştığı Şekil 4.1'den görülmektedir. Fungusun hücre duvarı yapısında bulunan hidrofilik yapının (kitin/kitosan) elde edilen yüksek denge su içeriğine neden olduğu düşünüldü. Yüksek denge su içeriğinin çalışmalarımızda bir avantaj sağlayacağı düşünüldü.

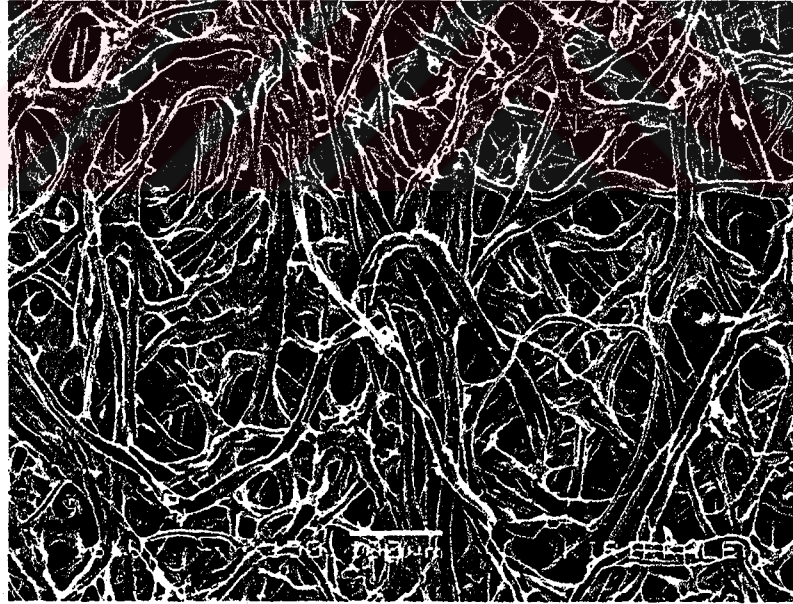


Şekil 4.1. Fungal biyosorbentin denge-su içeriği (%0.85'lik NaCl fizyolojik tuz çözeltisi içerisinde)

4.1.1.2. Yüzey Analizleri

Doğal ve kimyasal ve fiziksel işleme tâbi tutulan *P.chrysosporium* biyokütlesi ile sulu ortamlardan dört farklı boyanın biyosorpsiyonu çalışıldı. Boya ile biyokütle arasındaki etkileşim faktörlerinin, sorbentin yüzey topografyası, boya yüzeyindeki elektron verici grupların türü, sayısı ve dağılımı, ortamın pH'sı, biyosorbent yüzeyindeki grupların çeşitliliği ve yük yoğunluğu ve sıcaklık gibi parametrelerin olacağı düşünüldü.

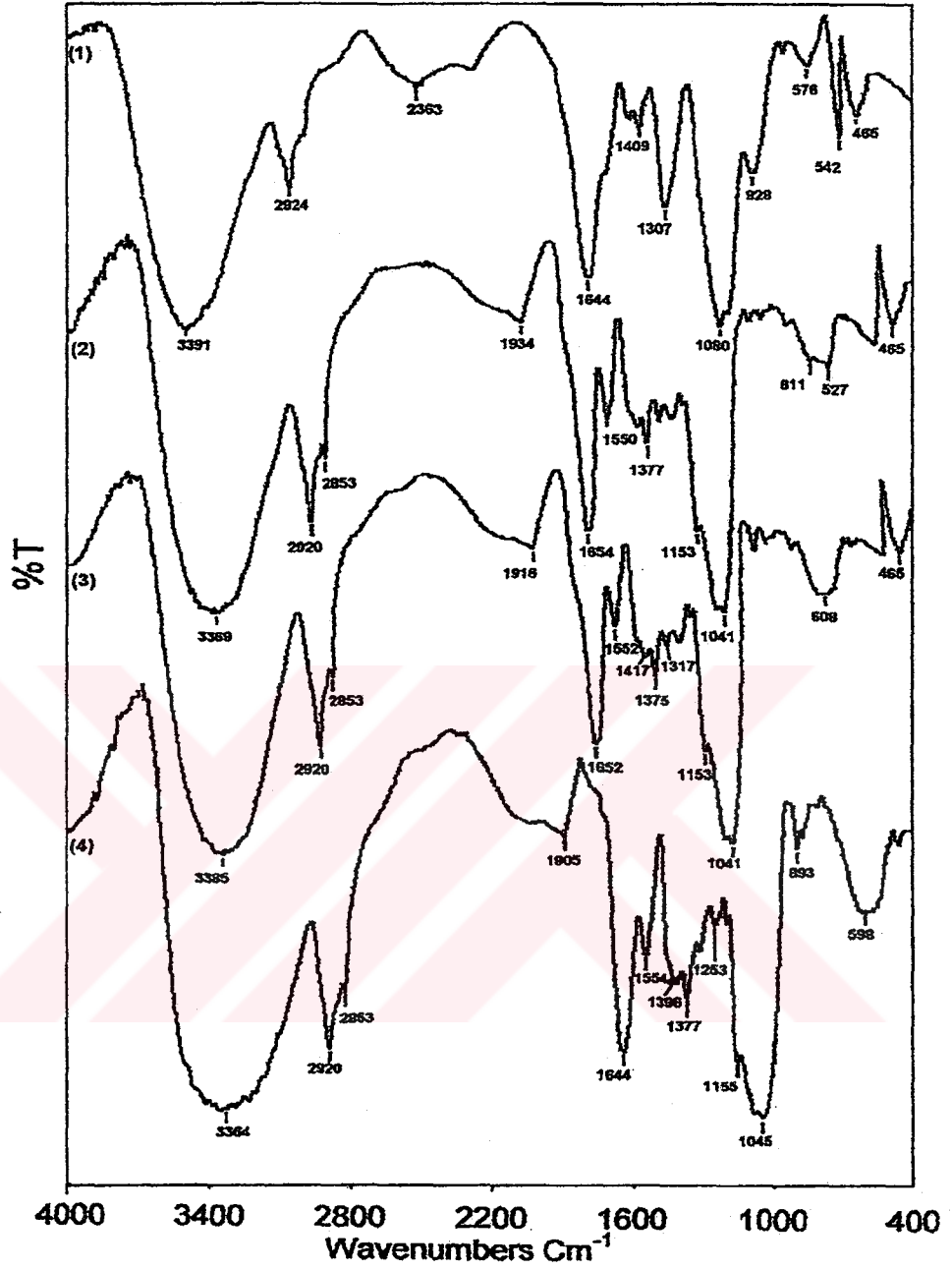
Taramalı elektron mikroskobu ile elde edilen *P.chrysosporium* biyosorbentinin yüzey morfolojisi görüntülerinden biyokütlenin yoğun bir misel ağına sahip olduğu gözlemlendi (Şekil 4.2.). Fungusun misel yapısı, tüm yüzey alanı üzerinde boya biyosorpsiyonunun gerçekleşeceğini düşündürdü.



Şekil 4.2. *P. chrysosporium* biyosorbentinin SEM fotoğrafı

4.1.1.3. Fungal Biyosorbentin FT-IR Spektrumu

Kitin, kitosan, protein, lipid, poliuronid ve melanin içeren fungal hücre duvarının, tekstil boyalarını, biyosorpsiyon yolu ile sulu ortamlardan uzaklaştırdığı bir çok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Fungal biyokütle ısı, asit ve baz ile işleme tâbi tutularak, yüzey modifikasyonları sağlandı. Fungal biyokütle bu işlemler sonucunda değişikliğe uğradı ve fonksiyonel gruplardaki değişimler FT-IR spektrumu ile desteklendi (Şekil.4.3). Doğal ve ısı, asit ve baz ile işleme tâbi tutulmuş *P.chryso sporium*'un FT-IR spektrumu amino, karboksilik, hidroksil ve karbonil gruplarının bulunma olasılığını destekler nitelikte farklı karakteristik piklerin varlığını kanıtladı. Biyokütlelerin, 3400-3200 cm⁻¹'deki gerilim bantları karboksilik, -OH ve -NH gruplarına ait piklerdir. 1650 cm⁻¹ civarındaki güçlü pikler fungal miselin hücre duvarındaki kitin ve kitosanın -NH bağlarından kaynaklanmaktadır. 2920, 1550, 1370, 1040 cm⁻¹'deki pikler sırasıyla C-H gerilme bandı, N-H eğilmesi, -CH₃ titreşimi ve C-OH gerilim titreşimlerini göstermektedir. Diğer taraftan 1000 cm⁻¹'deki -NH gerilme titreşimlerinin pikleri C-O gerilmesinin geniş bandı ile maskelendi ve O-C-O kesilmesi ve C=O bağları titreşimlerini gösteren 576 ve 542cm⁻¹'deki pik sadece doğal fungusda gözlemlendi. Fiziksel ve/veya kimyasal işlem gören biyokütlelerde, lipid bileşenlerinin uzaklaştırılmasından dolayı bu pikler görülmedi.



Şekil 4.3. Doğal (1) ve ısı (2), asit (3) ve baz (4) ile işlem görmüş biyokütlelerin FTIR spektrumu.

4.1.1.4. Araştırmamızda Kullanılan Tekstil Boyaları

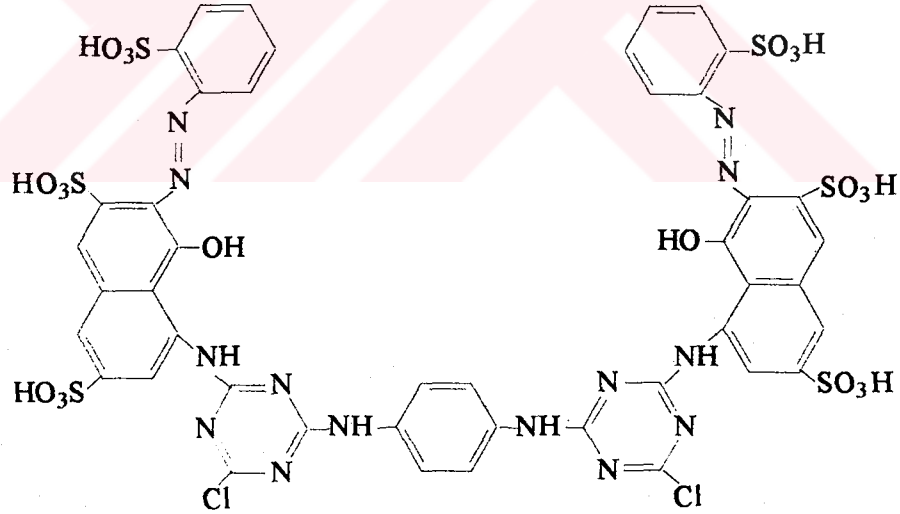
Araştırmada kullanılan tekstil boyaları farklı iyonik, hidrofobik gruba ve metal iyonlarına sahiptir.

1) R.Red-120 molekülü; altı sülfonil, iki hidroksil, dört tane sekonder amin grubuna,

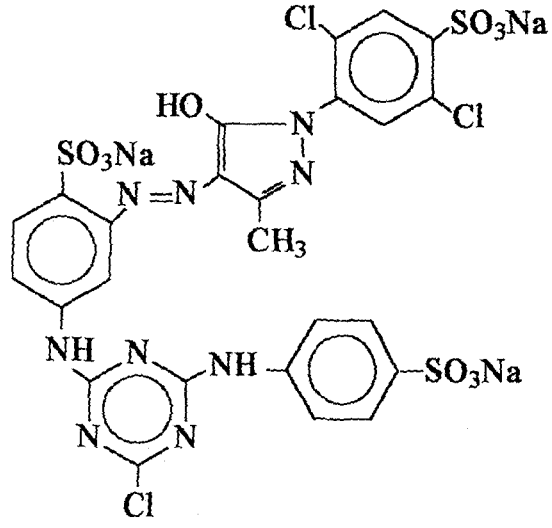
2) R.Yellow-2 molekülü; üç tane sülfonil, bir tane hidroksil, iki tane sekonder amin grubuna,

3) R.Blue-4 molekülü; iki tane sülfonil, bir tane primer amin, iki tane sekonder amin grubuna,

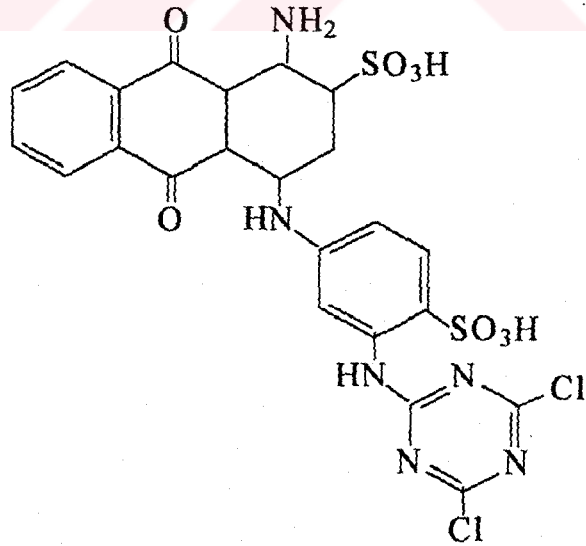
4) R. Green-5 molekülü; yedi sülfonil grubuna, üç sekonder amin grubuna ve Cu (II) iyonu taşıyan bir fitalosiyanın grubuna sahiptir (Şekil 4.4-4.7).



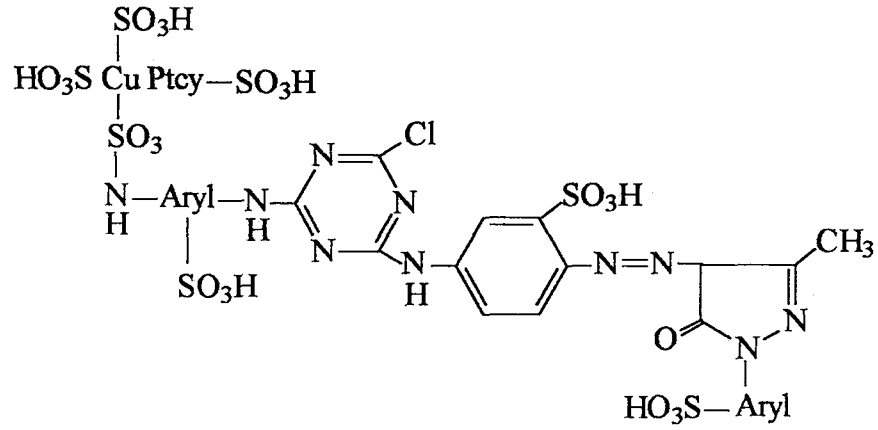
Şekil 4.4. Reaktif Red-120 boyasının kimyasal yapısı



Şekil 4.5. Reaktif Yellow-2 boyasının kimyasal yapısı



Şekil 4.6. Reaktif Blue-4 boyasının kimyasal yapısı



Ptcy = Fitalosiyanın grup

Şekil 4.7. Reaktif Green-5 boyasının kimyasal yapısı

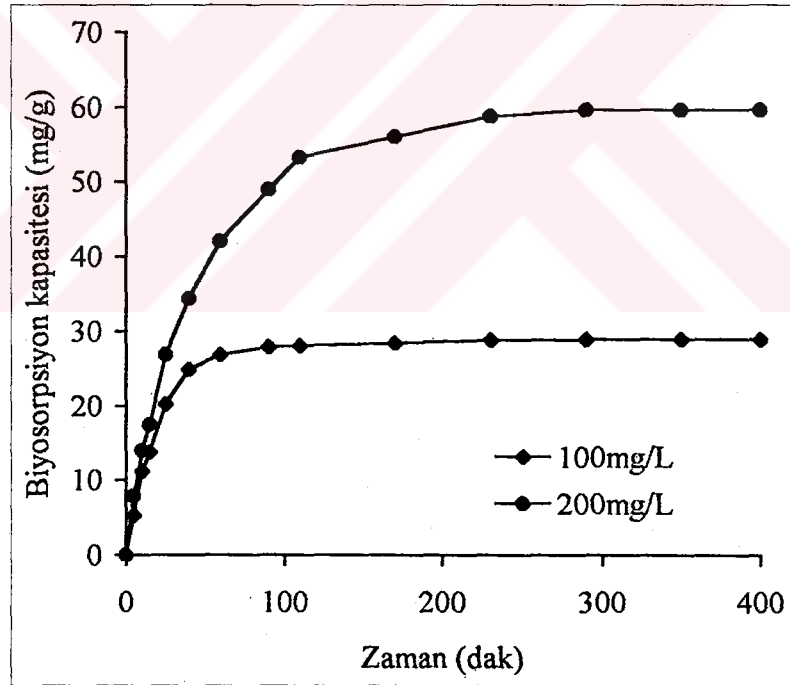
Boya moleküllerinin kimyasal yapısından da görüldüğü gibi doğal ve kimyasal ve fiziksel işlem gören biyosorbentlerin boya biyosorpsiyonu, iyon değişimi ve hidrofobik etkileşimlerin kombinasyonu sonucu olacağı düşünülmüştür. Çalışmada kullanılan beyaz bir çürükçül fungus olan *P. chrysosporium*'un hücre duvarları atıksu ve çözeltilerden boya moleküllerini etkili bir şekilde uzaklaştırmayı sağlayacak özelliğe sahip olduğu daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (O'Mahony, 2002).

4.1.2. Boya Biyosorpsiyonu

4.1.2.1. Biyosorpsiyon Zamanı

Biyosorpsiyonun hızını; sulu fazı karıştırma hızı, biyosorbentın yapısal özellikleri (fungus biyokütlenin hücre duvarı bileşiminin yüzey yük yoğunluğu, protein ve karbonhidrat bileşimi), sorbent miktarı, çalışılan koşullar altında boya

moleküllerinin özelliği, biyosorpsiyon ortamındaki başlangıç boya konsantrasyonu gibi etmenlerin belirlediği yapılan araştırmalar sonucu ortaya konmuştur. Bu nedenlerden dolayı literatürdeki diğer çalışmalarla, elde edilen adsorpsiyon hızını karşılaştırmanın çok doğru olmayacağı düşünöldü. Çalışmalarımızda, R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 boya larının sulu çözeltilerden doğal ve modifiye biyokötleler üzerine biyosorpsiyonunun 4 saatte dengeye ulaştığı ve 6 saat inkübasyon süresi sonucunda da adsorpsiyon dengesinde bir değişiklik olmadığı gözlemlendi. şekil 4.8, doğal fungal biyokötle ile başlangıç konsantrasyonu 100 ve 200mg/L olan R.Yellow-2 içeren sulu ortamdan boya uzaklaştırma işleminin zamanla değişimini göstermektedir.



şekil 4.8. Doğal biyokötle üzerine R.Yellow-2 biyosorpsiyonunun zamana bağlılığı (başlangıç boya konsantrasyonu, 100mg/L, 200 mg/L)

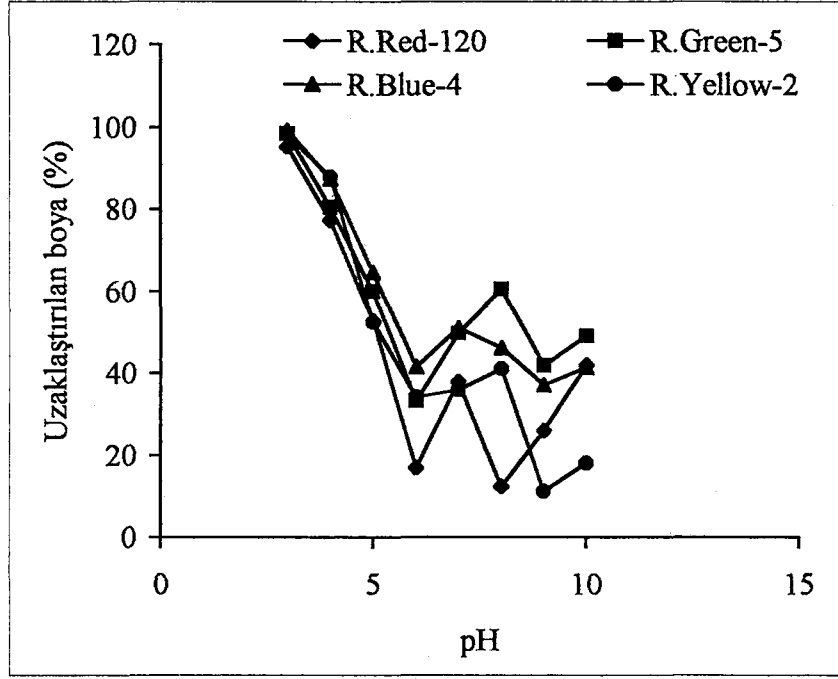
4.1.2.2. pH'nın Etkisi

Doğal ve modifiye fungal biyokütlenin yüzeyine tekstil boyalarının biyosorpsiyonu çözülmüş boyanın iyonik yapısına ve fungal biyokütle üzerindeki adsorptif bölgelerin boyanın bağlanması için uygun olup olmadığına bağlıdır. Mikrobiyal biyoküteller kullanılarak tekstil boyalarının uzaklaştırılması sırasında ortam pH'sının, adsorpsiyonu önemli derecede etkilediği çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Ortam pH'sı boya üzerinde bulunan, iyonlaşabilen grupların iyonizasyon durumlarını ve boyanın adsorpsiyon ortamındaki çözünürlüğünü etkiler. Aynı şekilde, fungal biyokütlenin adsorptif fonksiyonel gruplarının (karboksil, fosfat ve amino grupları) iyonizasyon durumlarını da etkilenir (Kapoor ve ark., 1999; Sağlam ve ark., 2002; Tobin ve ark., 1994). İyonlaşma sabitinin altındaki pH değerlerinde hücre üzerinde net pozitif yük bulunur ve fosfat, amino ve karboksil gibi gruplar iyonlaşmış halde bulunurlar.

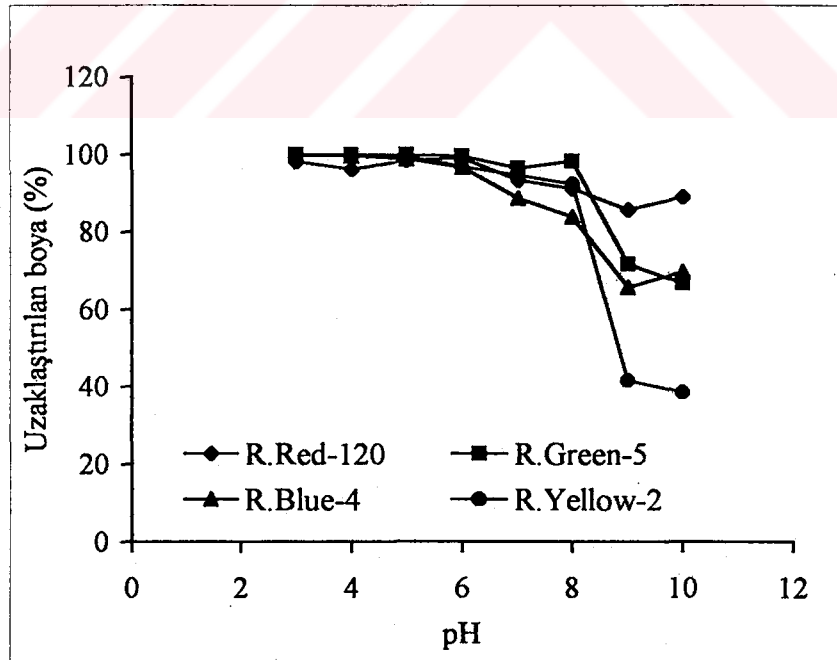
Reaktif boyalar, farklı iyonik ve hidrofobik gruplar içeren azo bileşikleridir. Bu gruplar fungal biyokütlenin hücre duvarı yüzeyindeki kitin, kitosan, asidik polisakkaritler, aminoasitler ve mikroorganizmanın diğer hücre sel bileşenleri gibi iyonik ve hidrofobik gruplarla etkileşimde bulunurlar (O'Mahony, 2002). Araştırmada kullanılan tekstil boyalarının fungal biyokütle üzerine biyosorpsiyonu için hücre duvarı yapısında bulunan karboksil, hidroksil, fosfat, tiyol ve amino grupları gibi fonksiyonel grupların, protone veya deprotone olması boyanın yüzeye adsorpsiyonunu etkileyen en önemli faktörlerden birisi olduğu düşünülmektedir. Düşük pH değerlerinde ($pH < 4.0$) fungal biyokütle yüzeyi net bir pozitif yüke sahiptir ve protonlanmış hale gelen biyokütlerdeki zayıf bazik grupların sayısında artış gözlenir (Tobin ve ark., 1984) ve bu yüklü bölgeler, anyonik gruplar içeren reaktif

boyaların bağlanması için uygun adsorptif bölgeler oluşturur. Sonuç olarak asidik pH'da fungal biyokütlerdeki amino grupların protone olarak hücre yüzeyinin pozitif yük yoğunluğunun artması ile biyosorpsiyon hız ve kapasitesi artmaktadır. Biyosorpsiyon kapasitesindeki bu artışın, bu pH'da negatif yüklü fonksiyonel gruplara sahip olan boya molekülleri (pK_a değeri 0.8 olan boyadaki sülfonil grupları negatif yüklüdür) ile pozitif yüklü hücre yüzeyi arasındaki elektrostatik etkileşimden kaynaklandığı düşünüldü. Şekil 4.9' da görüldüğü gibi, pH'nın artması ile hücre yüzeyindeki negatif yük yoğunluğu arttığı için boya biyosorpsiyonunun azaldığı gözlenmiştir.

Doğal fungal biyokütlerin sulu ortamdan R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 boyalarını uzaklaştırma yüzdesinin pH 3.0'de maksimum olduğu bulundu (Şekil 4.9). Ortam pH'sının artması sonucu test edilen boya moleküllerini uzaklaştırma veriminin azaldığı gözlemlendi. Bazı ile işlem gören biyokütle ile boyaların uzaklaştırılmasında ise adsorpsiyon kapasitelerinin pH 3.0-6.0 aralığında değişmediği, pH 7.0'den sonra azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.10).

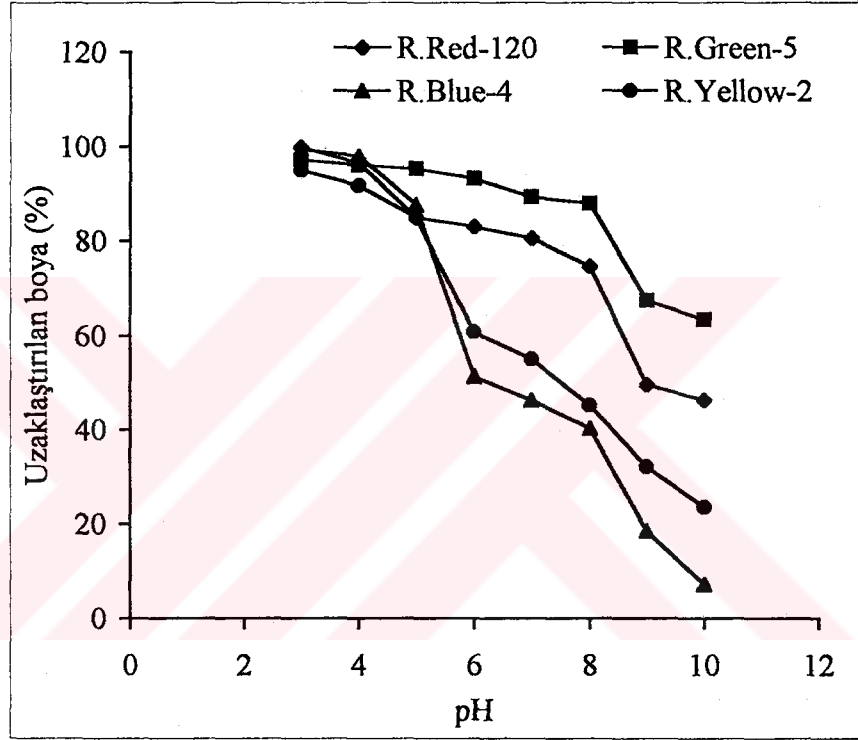


Şekil 4.9. Doğal biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi (başlangıç boya konsantrasyonu, 200 mg/L)

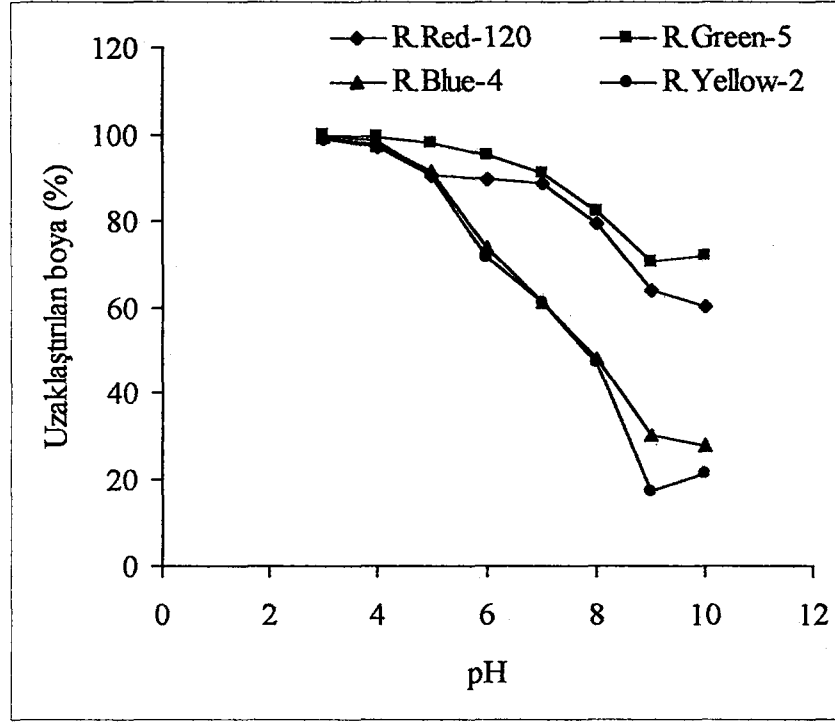


Şekil 4.10. Baz ile işlem gören biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi (başlangıç boya konsantrasyonu, 200 mg/L)

Asit ve ısı ile işlem görmüş biyokütlenin adsorpsiyonda kullanılması sonucunda ise test edilen her bir boyanın sulu ortamdan maksimum uzaklaştırılma değeri pH 3.0'de gerçekleştirildi. pH 3.0 değerinden daha yüksek değerlerde boya uzaklaştırma veriminde önemli azalmalar olduğu gözlemlendi (Şekil 4.11, 4.12).



Şekil 4.11. Asit ile işlem gören biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi (başlangıç boya konsantrasyonu, 200 mg/L)



Şekil 4.12. Isı ile işlem gören biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi (başlangıç boya konsantrasyonu, 200 mg/L)

Boyaların sulu ortamlardan uzaklaştırılması ve renk gideriminde pH'nın etkisi birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Hu (1992) *Aeromonas* sp. hücreleri tarafından onbir ayrı reaktif boyanın biyosorpsiyonu için optimum pH'nın, asidik aralıkta olduğunu, pH'nın 3.0'den 11.0'e artmasıyla birlikte boya uzaklaştırmasının azaldığını belirtmiştir. Araştırmacı asidik pH'da oluşan pozitif yüklü bakteri hücre yüzeyi ile düşük pH'da boyanın negatif yüklü anyon gruplarının etkileştiğini ifade etmiştir (Hu, 1992). Mittal ve Gupta (1996) inaktif fungus *F. carnea* ile Orlamar Red BG, Orlamar Blue G ve Orlamar Red GTL katyonik boyalarının biyosorpsiyonuna pH'nın etkisini çalışmışlar ve 3.0'den düşük pH değerlerinde pozitif yüklü biyosorbent yüzeyi ile çözeltildeki renkli boya

kationlarının birbirini itmesi sonucunda renk gideriminin azaldığını belirtmişlerdir (Mittal ve Gupta, 1996). Hu (1996) üç Gram negatif bakteri (*P.luteola*, *E.coli*, *Aeromonas* sp.) tarafından altı farklı reaktif boyanın uzaklaştırılmasında pH'nın etkisini araştırmış ve hücreler tarafından boya biyosorpsiyonunun, pH'nın azalmasıyla birlikte önemli derecede arttığını bildirmiştir (Hu, 1996).

Fu ve Viraraghavan (2001) sulu çözeltide boya çözeltisinin başlangıç pH'sının, inaktif *A.niger* fungusu ile Acid Blue 29 ve Basic Blue 9 boya moleküllerinin kimyasını önemli derecede etkilediğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar NaHCO₃ ile ön işlem görmüş *A.niger* biyokütlesi ile sulu çözeltiden Congo Red'in biyosorpsiyonu üzerine pH'nın etkisini incelemişler ve pH'dan kaynaklanan biyosorpsiyon mekanizmasını şu şekilde açıklamışlardır: NaHCO₃ ile ön işlem görmüş *A.niger* biyokütle yüzeyinin negatif yüklü adsorpsiyon bölgelerine sahip olduğu ve düşük pH'da yüksek proton konsantrasyonundan dolayı bu bölgelerin nötrale olduğu için adsorpsiyon gözlenemediği belirtilmiştir (Fu ve Viraraghavan, 2001).

4.1.2.3.Sıcaklığın Etkisi

Biyosorpsiyon ortam sıcaklığı mikrobiyal biyokütle ile tekstil boyası uzaklaştırma işleminin enerjiye bağımlı olduğu mekanizmalar için oldukça önemli olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Banat ve ark., 1996; Hu, 1996). Adsorpsiyon işlemlerinin bazılarının endotermik olduğu bunun yanında çoğunun ekzotermik adsorpsiyon olduğu rapor edilmiştir. Sıcaklığın artırılması ile doğal ve ısı, asit ve baz ile muamele edilmiş fungal biyokütlenin uzaklaştırdığı boya miktarlarında artış olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1-4.4). Boya moleküllerinin sahip

olduğu yüklü gruplar ve hücre yüzeyindeki yüklü reaksiyon alanları ile kompleks oluşturarak ve/veya pozitif yüklü reaksiyon alanları (polisakkaritler; sülfat, karboksil ve amino grupları) ile yer değiştirerek ya da arayüzeydeki hidrofobik etkileşimler sonucunda biyosorpsiyonda artışların gerçekleştiği düşünülmüştür. Ortam sıcaklığının artışı sonucu fungal biyokütellerin adsorpsiyon kapasitelerinin artması fungal biyokütle yüzeyinde mevcut adsorptif bölgelerin yeniden organize oldukları ve bunun sonucunda biyosorbent yüzeyinde bağlanma bölgelerinin arttığı dşnld.

Çizelge 4.1. Doğal ve işlem gören biyoktellerle R.Red-120 boyasının biyosorpsiyonunda sıcaklığın etkisi (başlangıç boya konsantrasyonu, 200 mg/L)

Sıcaklık (°C)	Biyosorpsiyon kapasitesi (mg/g)			
	Doğal	Isı	Asit	Baz
4	52.71	86.69	61.21	21.2
15	58.49	92.64	69.23	22.9
25	64.78	96.92	76.23	24.77
37	67.55	99.62	76.78	23.01

Çizelge 4.2. Doğal ve işlem gören biyokütlelerle R.Yellow-2 boyasının biyosorpsiyonunda sıcaklığın etkisi (başlangıç boya konsantrasyonu, 200 mg/L)

Biyosorpsiyon kapasitesi (mg/g)				
Sıcaklık (°C)	Doğal	Isı	Asit	Baz
4	49.26	72.68	62.45	24.64
15	55.26	78.57	66	26.34
25	59.65	81.5	71.31	30.15
37	58.63	85.4	72.98	29.64

Çizelge 4.3. Doğal ve işlem gören biyokütlelerle R.Blue-4 boyasının biyosorpsiyonunda sıcaklığın etkisi (başlangıç boya konsantrasyonu, 200 mg/L)

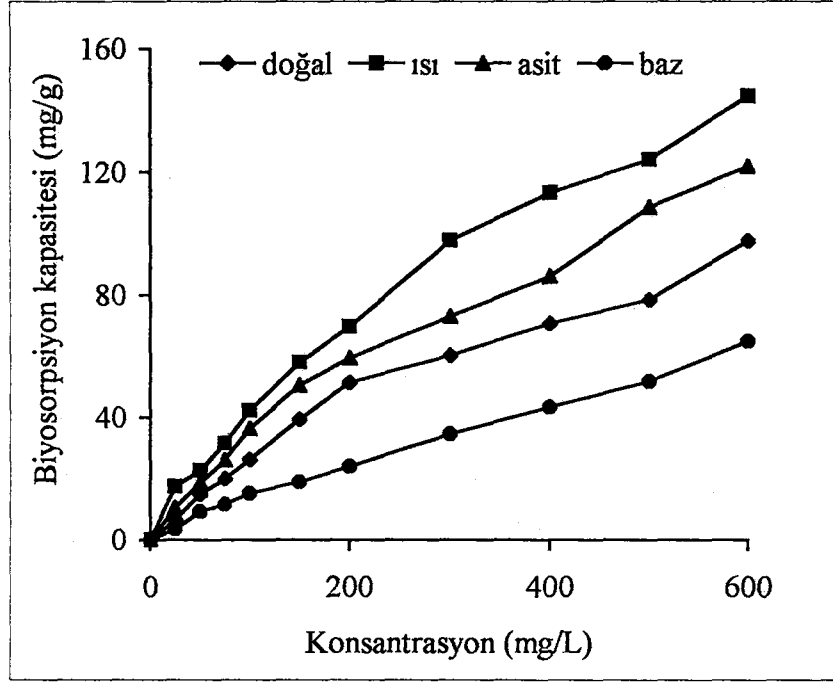
Biyosorpsiyon kapasitesi (mg/g)				
Sıcaklık (°C)	Doğal	Isı	Asit	Baz
4	67.59	80.34	72.36	25.01
15	72.64	84.64	79.68	27.23
25	78.96	89.61	84.67	28.48
37	80.03	90.67	86.72	29.88

Çizelge 4.4. Doğal ve işlem gören biyokütlelerle R.Green-5 boyasının biyosorpsiyonunda sıcaklığın etkisi (başlangıç boya konsantrasyonu, 200 mg/L)

Sıcaklık (°C)	Biyosorpsiyon kapasitesi (mg/g)			
	Doğal	Isı	Asit	Baz
4	38.61	64.32	50.21	22.9
15	44.31	65.11	52.69	23.57
25	51.19	69.78	59.5	23.98
37	55.67	71.21	62.21	25.42

4.1.2.4. Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisi

Başlangıç boya konsantrasyonu, sulu ve katı faz arasında boyanın, kütle transfer direncini tamamen yenmesi için önemli bir dinamik güç sağlar. Fungal biyokütle hücre duvarı temel olarak polisakkarit, protein ve lipitlerden oluşmaktadır. Bu doğal polimerler, karboksil, hidroksil, sülfat, fosfat ve amino grupları gibi çok sayıda fonksiyonel, boya ile etkileşecek gruplar sağlar. İncelenen tüm biyosorbentlerin maksimum biyosorpsiyon kapasitesinin adsorpsiyon ortamındaki başlangıç boya konsantrasyonunun artmasıyla birlikte arttığı gözlemlendi (Çizelge 4.6-4.9). Doğal fungus, ısı, asit ve baz ile işlem gören fungal biyokütle ile sulu ortamlardan R.Green-5 tekstil boyasının uzaklaştırılması işleminde maksimum biyosorpsiyon kapasitesi sırasıyla 97.7, 144.6, 121.7 ve 64.8 mg/g biyosorbent olarak bulundu (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Biyokütellerin sulu ortamdan R.Green-5 boyası biyosorpsiyonunda başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi

Sulu ortamlardan boya uzaklaştırma işleminde en çok kullanılan canlı organizmalar heterotrofik mikroorganizmalardır. Sarnaik ve Kanekar (1995), Vyas ve Molitoris (1995), mikroorganizmalar tarafından toksik ve zararlı boyaların biyodegradasyon ile ya da bakteri ve fungus gibi mikroorganizma zincirlerinde bu toksinlerin biyosorpsiyon yoluyla başarılabildiğini rapor etmişlerdir. Pradnya ve Seema (1995) tarafından atıksuyun boya endüstrisi ürünleri Metil Violet, Rhodamine B, Nigrosine ve Chrysoidin'in etkili şekilde arıtımı için mikrobiyal bir işlem geliştirilmiştir. Bu şekilde sığır gübresinden izole edilen *Pseudomonas alcaligenes*'in bir kültürünü kullanarak, kirliliklerin uzaklaştırılabildiğini belirlemişlerdir (Pradnya ve Seema, 1995). Spadaro ve Renganathan (1995) tarafından kanserojen olarak bildirilen ve endüstride kullanılan Yellow [2-(4-asetamidofenilazo)-4-(metilfenol)]

(DY3) boyasını degrade edebilen beyaz çürükçül Basidiomycetes *Phanerochaete chrysosporium*'un bütün kültürlerinin iyileştirme ajanı olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Spadaro ve Renganathan, 1995).

Çeşitli boyaların uzaklaştırılması ve biyodegradasyonu için çok sayıda mikroorganizma kullanılarak değişik biyosorpsiyon kapasitelerine ulaşılmıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Tekstil boyaların renk gideriminde kullanılan organizmalar ve belirlenen biyosorpsiyon kapasiteleri.

Organizma	Boya	Biyosorpsiyon kapasitesi (mg/g)	Kaynak
<i>Aeromonas sp.</i>	Reactive Yellow 2	124.3	Hu (1996)
<i>Aspergillus niger</i>	Congo Red	14.7	Fu ve Viraraghavan (2002)
<i>Geotrichum fici</i>	Reactive Blue 19	60	Polman ve Breckenridge (1996)
<i>Kluyveromyces waltii</i>	Remazol Black B	37	Bustard ve ark. (1998)
	Remazol Red	68	
<i>Pseudomonas luteola</i>	Reactive Yellow 2	102.6	Hu (1996)
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Reactive Orange 16	200	O'Mahony ve ark. (2002)
<i>Rhizopus oryzae</i>	Reactive Brilliant Red	102.6	Gallagher ve ark. (1997)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Remazol Blue	163	Aksu ve Dönmez (2003)
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Reactive Red 120	128.11	Bu çalışma
	Reactive Yellow 2	86.66	
	Reactive Green 5	97.72	
	Reactive Blue 4	132.51	

Çizelge 4.6. R.Red-120 tekstil boyasının farklı yapılardaki biyokütle ile uzaklaştırılmasında başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi

Derişim (mg/L)	Biyosorpsiyon kapasitesi (mg/g)			
	Doğal	Isı	Asit	Baz
25	5.79	6.83	9.17	3.61
50	14.11	12.14	15.93	4.85
75	13.85	19.21	21.13	8.08
100	19.05	24.15	23.63	10.9
150	32.33	42.88	44.27	15.09
200	44.51	65.28	61.66	19.97
300	63.02	113.73	86.78	34.64
400	90.46	128.61	105.18	51.07
500	100.57	162.83	91.15	52.91
600	128.11	173.84	109.02	53.32

Çizelge 4.7. R.Yellow-2 tekstil boyasının farklı yapılardaki biyokütle ile uzaklaştırılmasında başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi

Derişim (mg/L)	Biyosorpsiyon kapasitesi (mg/g)			
	Doğal	Isı	Asit	Baz
25	6.81	8.29	8.57	3.5
50	16.37	13.72	15.65	6.88
75	21.04	26.41	26.63	9.95
100	33.61	28.96	36.67	12.15
150	38.59	45.75	57.69	20.26
200	41.68	62.31	91.35	29.19
300	47.07	89.52	116.83	43.09
400	62.13	135.2	132.07	56.74
500	77.07	153.83	140.18	75.1
600	86.66	153.81	139.83	86.33

Çizelge 4.8. R.Blue-4 tekstil boyasının farklı yapılarıdaki biyokütle ile uzaklaştırılmasında başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi

Derişim (mg/L)	Biyosorpsiyon kapasitesi (mg/g)			
	Doğal	Isı	Asit	Baz
25	9.13	7.85	8.81	3.97
50	29.4	12.93	19.94	6.09
75	22.69	21.05	22.71	11.36
100	30.4	28.31	33.5	12.69
150	42.7	43.15	47.44	20.9
200	60.21	57.38	53.89	28.48
300	85.13	85.79	93.67	40.97
400	107.47	113.85	127.75	54.71
500	108.45	131.93	130.21	67.71
600	132.51	147.66	156.94	88.11

Çizelge 4.9. R.Green-5 tekstil boyasının farklı yapılarıdaki biyokütle ile uzaklaştırılmasında başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi

Derişim (mg/L)	Biyosorpsiyon kapasitesi (mg/g)			
	Doğal	Isı	Asit	Baz
25	6.52	17.34	10.51	3.57
50	14.95	22.65	18.69	9.17
75	19.95	31.46	26.14	11.55
100	26.27	42.21	36.26	15.03
150	39.19	57.98	50.45	18.92
200	51.19	69.78	59.5	23.98
300	60.3	97.63	73.09	34.35
400	70.69	113.15	86.16	43.16
500	78.5	124.07	108.59	51.59
600	97.72	144.61	121.71	64.85

4.1.2.4.1. Biyokütleyle Uygulanan Ön İşlemin Biyosorpsiyona Etkisi

Genellikle ön işlem metotlarının uygulanması çeşitli mikrobiyal türlerin boya adsorpsiyon kapasiteslerinde önemli artışlara neden olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Isı, asit ve baz gibi fiziksel ve kimyasal modifikasyon teknikleri, biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesini arttırmak için kullanılan yöntemlerden bazılarıdır (Arıca ve ark., 2003; Şatıroğlu ve ark., 2002). Bu verilen yöntemlerin dışında, vakumla kurutma, otoklavlama, formaldehid gibi organik çözücülerle işlemler ya da NaOH, HCl, H₂SO₄, NaHCO₃ ve CaCl₂ gibi inorganik kimyasallarla biyoküteller muamele edilerek boya biyosorpsiyonunda kullanılmışlardır ve bazı yöntemlerin adsorpsiyon kapasitesini arttırdığı bazı yöntemlerin ise adsorpsiyon kapasitesini azalttığı yönünde raporlar bulunmaktadır (Fu ve Viraraghavan, 2002; Tatarko ve Bumpus, 1998; Lu and Wilkins, 1996).

Çalışmamızda R.Red 120 için, ısı ile işlem görmüş biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesi doğal biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesinden 1.7 kat yüksek olduğu bulundu. Isı ile işlem gören biyosorbentin R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 boya için biyosorpsiyon kapasitelerindeki artış ise sırası ile, 1.8, 1.1 ve 1.5 kat olarak bulundu. Biyosorpsiyon kapasitesindeki bu artış ön işlem sonucunda oluşturulan, fungal hücre duvarının biyosorptif karakteristiklerindeki değişimlerinden kaynaklanabileceği bir çok araştırmacı tarafından ifade edilmiştir. Zhou ve Banks (1991) *Rhizopus arrhizus* fungusuna ısı işlemi uygulamışlar ve canlı hücreler ile kıyaslandığında ön işlem görmüş bu hücrelerde belirgin olmayan bağlanma noktalarının ortaya çıkışı ile biyosorpsiyon kapasitesinin önemli derecede arttığını bildirmişlerdir (Zhou ve Banks, 1991). Gallagher ve ark. (1997) otoklavlama işleminin parçalanmayla sonuçlandığını ve böylece gizli bölgelerin ortaya çıktığını

dolayısıyla boya biyosorpsiyonunun arttığını ileri sürmüşlerdir (Gallagher ve ark., 1997). Fu ve Viraraghavan (2002) ısı ile işlemin fungal biyokütlerde gözeneklilik artışıyla sonuçlanan bir dağılıma yol açtığını ve böylece Congo Red'in biyosorpsiyon kapasitesinin artmasına neden olduğunu rapor etmişlerdir (Fu ve Viraraghavan, 2002). Tatarko ve Bumpus (1998) Congo Red'in renk giderimi için *P.chryso sporium*'un canlı ve otoklavlanmış kültürlerini kullanmışlar ve otoklavlanmış hücrelerin (%90) canlı hücrelerden (%70) daha yüksek renk giderimi sağladığını gözlemlemişlerdir (Tatarko ve Bumpus, 1998).

Baz ile işlem görmüş fungal biyokütle kullanıldığında R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 tekstil boyalarına karşı göstermiş olduğu biyosorpsiyon kapasitesinde önemli bir azalma olduğu belirlendi (Çizelge 4.6-4.9). Biyokütlelerin sulu ortamdan R.Green-5 boyası uzaklaştırılması işleminde; baz ile muamele edilen yapı, doğal ve ısı ile işlem gören biyosorbent ile kıyaslandığında boya uzaklaştırma kapasitesinin sırası ile %66 ve %45 azaldığı Şekil 4.13'den görülmektedir. Baz ile muamele fungal biyokütlerdeki protein bileşenlerinin hidrolizine ve kitinin deasetilasyonuna neden olmaktadır. Bununla birlikte, polimer zinciri kırılmasından dolayı biyokütlenin şişmesi gibi zorlayıcı etkiler meydana getirir ve böylece işlemsel kararlılığı engeller (Bai ve Abraham, 2002). Fu ve Viraraghavan, NaOH ile işlem görmüş *A. niger* biyokütlesi kullanarak anyonik bir boya olan Congo Red'in biyosorpsiyonunu çalışmışlar ve NaOH ile muamelenin Congo Red'in biyosorpsiyon kapasitesini azalttığını bildirmişlerdir. NaOH ile muamele, fungal biyokütlenin yüzeyinde anyonik bölgeler meydana getirir (Gallagher ve ark., 1997) ve böylece negatif yüklü fungal biyokütle yüzeyi ile Congo Red'in renkli anyonları arasında itme artar ve buna bağlı olarak biyosorpsiyon kapasitesi azalır (Fu ve Viraraghavan, 2002).

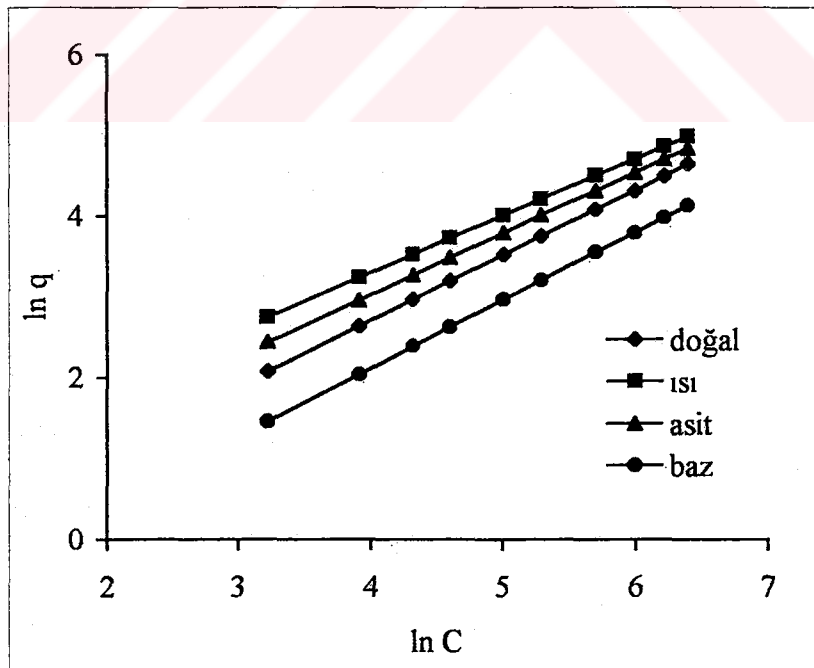
R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 boyalarının uzaklaştırılmasında, asit ile işlem görmüş fungal biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesi işlem görmemiş fungal biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesinden sırası ile 1.3, 1.6, 1.2 ve 1.3 kat daha yüksek bulundu (Çizelge 4.6-4.9). Fungal misellerin asit ile muamelesi, sadece fiziksel temizleme ya da yıkamayla değil, ayrıca protein moleküllerinin denatürasyonu gibi kimyasal transformasyonla da sonuçlanır. Asit ile muamele fungal hücre duvarının bazı polisakkarit bileşiklerini parçalayabilir ve böylece bağlanma bölgelerinin artmasına (ilave amin grupları) neden olur. Bu bölgelerin de düşük adsorpsiyon pH'sında protone olarak pozitif yüke sahip olan fungal biyokütle yüzeyi ile negatif yüklü boya anyonları arasındaki elektrostatik etkileşimlerin arttığı ve buna bağlı olarak da biyosorpsiyon kapasitesinin arttığı düşünüldü.

4.1.2.5. Adsorpsiyon İzoterm Modeli

Biyosorbent üzerine boyanın biyosorpsiyonu, sabit pH ve sıcaklık koşullarında çözeltideki denge boya konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak bulundu. Adsorpsiyon izoterm modeli, fungal biyokütle ile boyanın etkileşimini karakterize etmek için kullanıldı.

Fiziksel ve kimyasal işlem gören ve doğal fungal biyoküteller için elde edilen deneysel verilerle Langmiur eğrisi çizildiğinde doğrusal olmayan bir eğri elde edildi. Doğrusal olmayan eğri, adsorpsiyon heterojenitesine işaret ettiğinden, kullanılan biyokütellerle boyaların biyosorpsiyonu, Langmiur modeliyle açıklanamaz. Freundlich izoterm modeli, genellikle heterojen adsorpsiyon için uygulanır. Sulu ortamdan fungal biyokütle ile R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5

boyalarının 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 korelasyon katsayıları (R^2) belirlendi (Şekil 4.14). Freundlich modelinin K_F ve n değerlerinin büyüklüğü, fungal biyokütlenin yüksek bir biyosorpsiyon kapasitesi ile sulu ortamdan boya alımının kolay olduğunu göstermektedir. Test edilen bütün biyosorbentler için n değerlerinin 1'den büyük olması, denge konsantrasyonlarında bağlanan boyanın doğrusal bağlılığını gösterir (Çizelge 4.10, 4.11). Deneysel olarak incelenen tüm fungal biyoküteller için boya uzaklaştırma kapasitesi ısı > asit > doğal > baz yapısındaki sıra ile değişmektedir. Freundlich izoterm modelinin uygulanması ile belirlenen K_F değerlerinin de aynı sırayı takip ederek azalması, yani artan biyosorpsiyon kapasitesi ile K_F değerinin de artması, boya ile sorbent arasındaki biyosorpsiyon işleminin bu model ile tarif edilebileceğini göstermektedir (Çizelge 4.10, Çizelge 4.11).



Şekil 4.14. Freundlich adsorpsiyon izoterm modeli (Fungal biyokütle ile R.Green-5 biyosorpsiyonu)

Çizelge 4.10. Fungal biyokütle ile sulu ortamdan R.Red-120 ve R.Yellow-2 tekstil boyası uzaklaştırılması işleminde Freundlich adsorpsiyon izoterm modeli sabitleri ve korelasyon katsayıları

Biyosorbent	Reaktif Red 120			Reaktif Yellow 2		
	K_F	N	R^2	K_F	n	R^2
Doğal	0.431	1.12	0.982	0.369	1.12	0.976
Isı ile işlem gören	1.693	1.37	0.995	0.668	1.14	0.992
Asit ile işlem gören	1.097	1.31	0.993	0.505	1.11	0.993
Baz ile işlem gören	0.146	1.02	0.996	0.159	1.04	0.996

Çizelge 4.11. Fungal biyokütle ile sulu ortamdan R.Blue-4 ve R.Green-5 tekstil boyası uzaklaştırılması işleminde Freundlich adsorpsiyon izoterm modeli sabitleri ve korelasyon katsayıları

Biyosorbent	Reaktif Blue 4			Reaktif Green 5		
	K_F	N	R^2	K_F	n	R^2
Doğal	1.118	1.31	0.988	0.598	1.24	0.990
Isı ile işlem gören	2.166	1.47	0.996	1.621	1.41	0.996
Asit ile işlem gören	1.553	1.38	0.993	1.004	1.32	0.996
Baz ile işlem gören	0.193	1.06	0.999	0.298	1.18	0.994

4.1.2.6. Temas Açısı Ölçümleri ve Yüzey Enerjisi Hesaplamaları

Islatma gücünün değişimi, yüzey tabakası kalınlığındaki (en az 10Å) ve sıvı fazla doğrudan temasındaki fonksiyonel grupların etkisini yansıttığından yüzey karakteristiklerine, oldukça fazla hassastır. Su, gliserol, diiyodometan (DIM) için, kontrol grubunu oluşturan doğal fungus ve boya bağlanması işleminden sonra elde edilen eşlenik biyokütlelerin temas açısı değerleri, Çizelge 4.12’de verildi. Daha küçük yüzey gerilimli deneme sıvıları ile ölçülen temas açısı, Young eşitliğine göre daha küçük olmalıdır. Kontrol amaçlı ve yüzeye boya bağlanmış biyosorbentler, fonksiyonel grupların varlığına bağlı olarak, çok farklı yüzey karakteristikleri verdi. En yüksek temas açısı su ile elde edilirken en düşük temas açısı DIM ile elde edildi. Boya uzaklaştırma işleminden sonraki yüzeyin temas açısının değişimi, kontrol biyosorbent ile mukayese edildiğinde yüzeyin hidrofilitesinin azaldığını gösterir.

Çizelge 4.12. Kontrol ve R.Red-120, R.Yellow-2, R.Blue-4 ve R.Green-5 boya bağlı biyosorbentler için deneme sıvıları ile ölçülen temas açıları

Biyosorbent	θ (°)	Test sıvısı		
		Su	Gliserol	Diiyodometan
Doğal	θ (°)	77.53	68.57	46.57
Doğal–R.Green-5	θ (°)	80.97	71.35	48.61
Doğal –R.Red-120	θ (°)	81.44	73.91	55.51
Doğal –R. Yellow-2	θ (°)	74.65	70.88	44.23
Doğal –R.Blue-4	θ (°)	79.26	69.84	38.77

Araştırılan biyokütlelerin yüzey enerjisi parametreleri, temas açısı ölçümlerinden, çoğunlukla kullanılan üç yöntemle hesaplandı (Wu'nun harmonik ifadesi, Fowkes'in geometrik ifadesi ve van Oss'un asit-baz). Lifshitz-van der Waals (γ^{LW}) ve asit-baz (γ^{AB}) bileşeninin toplamından oluşan toplam serbest yüzey enerjisi (γ^{Toplam}) van Oss metodu kullanılarak hesaplandı ve elde edilen değerler Çizelge 4.13'de verildi. Apolar sıvı olarak DIM seçildi. Diğer iki polar sıvı olarak ise su ve gliserol seçildi. Asit-baz metodundan elde edilen sonuçlar, daha güvenilir ve daha aydınlatıcıdır. İncelenen biyosorbentler, yüzeylerinin farklı kimyasal yapılarından dolayı, yüzey enerjisinin (γ^{Toplam}) asit-baz bileşenleri (γ^{AB}), farklılık gösterdi.

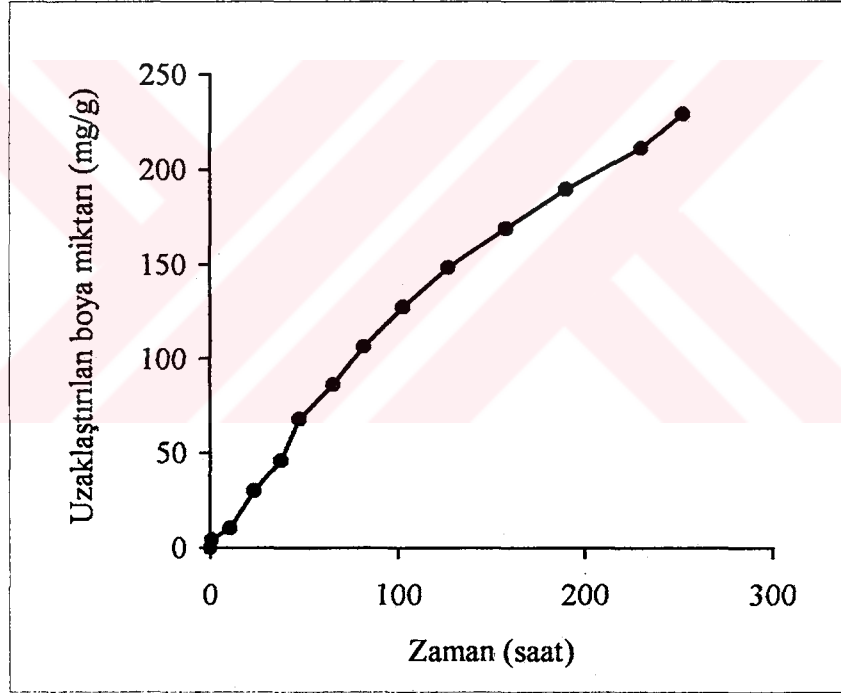
Çizelge 4.13. van Oss metoduna göre doğal biyosorbent ve boya bağlı doğal biyosorbent için hesaplanan yüzey serbest enerji (mJ/m^2) parametreleri

Biyosorbent	γ^{LW} (mN/m^2)	γ^+ (mN/m^2)	γ^- (mN/m^2)	γ^{AB} (mN/m^2)	γ^{Toplam} (mN/m^2)	Polarite (%)
Doğal	6.16	0.47	2.54	2.41	38.57	6.24
Doğal –R.Green-5	35.04	0.43	2.26	1.93	36.98	5.22
Doğal – R.Red-120	31.15	0.45	2.50	2.23	33.38	6.68
Doğal – R.Yellow-2	37.42	0.06	3.20	0.39	37.81	1.03
Doğal – R.Blue-4	40.22	0.19	2.31	0.90	41.12	2.19

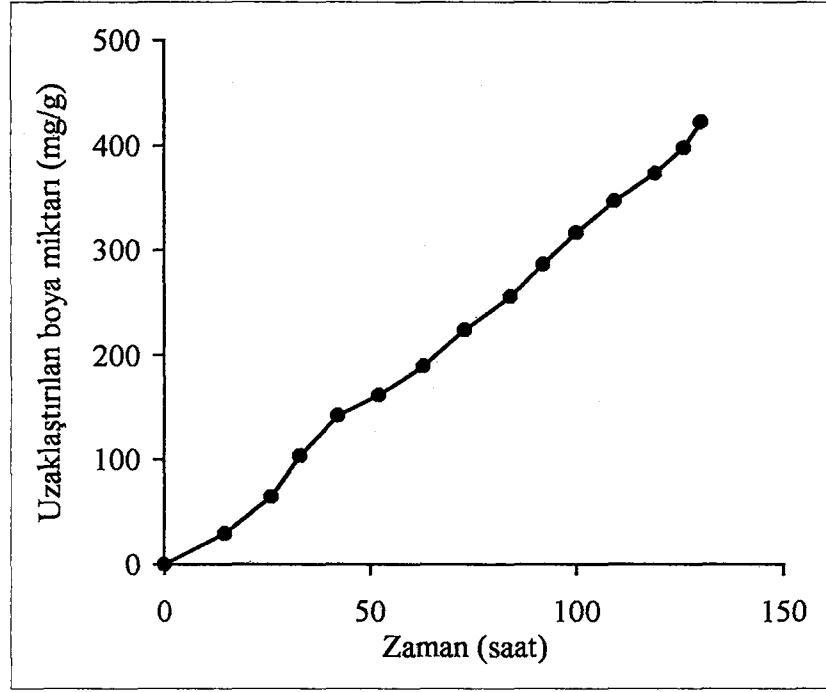
$$(\%) \text{ Polarite} = (\gamma^{AB}/\gamma^{TOT}) \times 100$$

4.1.2.7. Sürekli Sistemle Sulu Ortamlardan Tekstil Boyalarının Uzaklaştırılması

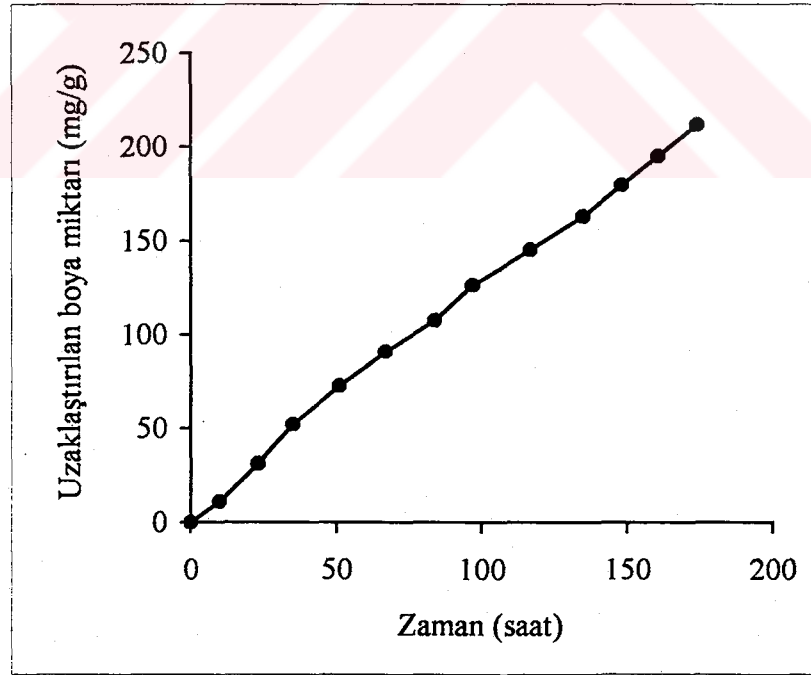
Doğal fungal biyokütle model olarak kullanılarak, optimum koşullar altında (pH 3.0; sıcaklık, 25 °C) sulu ortamlardan R. Red-120, R. Yellow-2, R. Blue-4 ve R. Green-5 tekstil boyalarının uzaklaştırılması biyoreaktör sürekli sisteminde incelendi. Belirli başlangıç boya konsantrasyonuna sahip boya içeren deney çözeltisi belirli akış hızında verilerek biyosorpsiyon kapasiteleri ve biyosorbentin besleme kapasitesi belirlendi (Şekil 4.15-4.18).



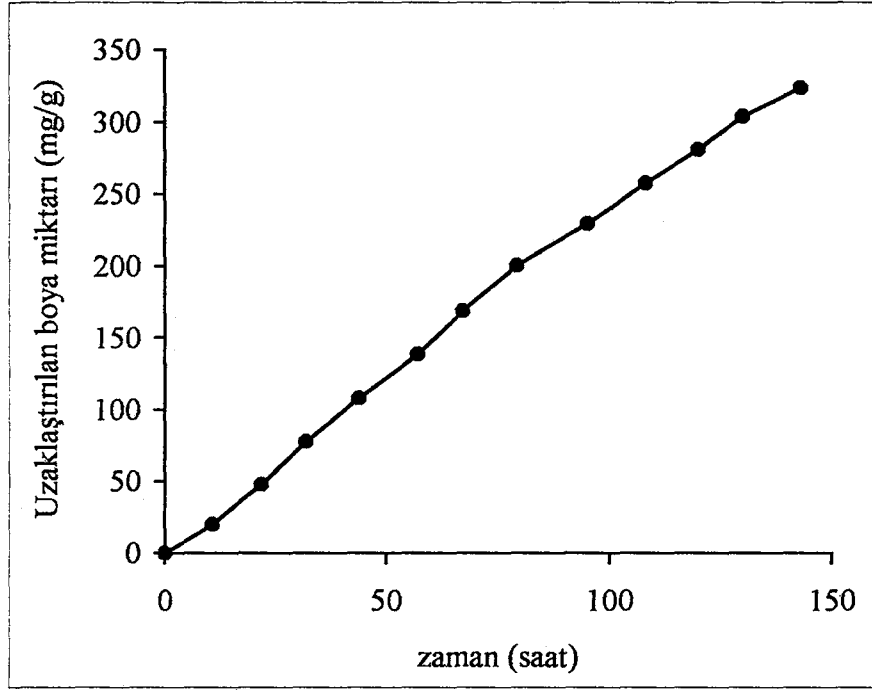
Şekil 4.15. Sulu ortamdan doğal biyokütle ile R.Red-120 tekstil boyasının paketlenmiş biyoreaktör sürekli sisteminde uzaklaştırılması



Şekil 4.16. Sulu ortamdan doğal biyokütle ile R.Yellow-2 tekstil boyasının paketlenmiş biyoreaktör sürekli sisteminde uzaklaştırılması



Şekil 4.17. Sulu ortamdan doğal biyokütle ile R.Blue-4 tekstil boyasının paketlenmiş biyoreaktör sürekli sisteminde uzaklaştırılması



Şekil 4.18. Sulu ortamdan doğal biyokütle ile R.Green-5 tekstil boyasının paketlenmiş biyoreaktör sürekli sisteminde uzaklaştırılması

4.2.Değerlendirme

Dünyada ve ülkemizde 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. 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 varlığı 1 ppm konsantrasyonunda bile görünür olabildiğinden estetik olarak kabul edilmez olarak rapor edilmiştir. Çevreye yayılan ve oldukça toksik maddeler arasında bulunan fenollü ve aromatik aminleri yapısında bulunduran tekstil boya bileşiklerine bugün, içme ve kullanım sularında rastlamaktayız. Bu tür kirleticileri içme sularından uzaklaştırmak için fiziksel ve kimyasal yöntemler yetersiz kaldığından bugün daha çok biyoteknolojik yöntemlere başvurulmaktadır.

Bu doğrultuda çalışmamızda, insan sağlığı ve çevre için son derece zararlı kirleticiler arasında yer alan Reaktif Red 120, Reaktif Green 5, Reaktif Yellow 2 ve Reaktif Blue 4 tekstil boyalarının uzaklaştırılması için, beyaz bir çürükçül fungus olan *Phanerochaete chrysosporium*, biyosorbent olarak kullanıldı. Fiziksel ve kimyasal işlemlerin uygulanması ile elde edilen fungal biyokütlenin, biyosorpsiyon kapasitesine etkisi araştırıldı. Sonuçlar, biyoteknolojik alanda, biyosorpsiyonla atıksulardan boya bileşiklerinin uzaklaştırılması işleminde *P. chrysosporium* kullanımının umut verici olduğunu gösterdi. Boya biyosorpsiyonundan önce ve sonra Wu, Fowkes ve van Oss yöntemleri kullanılarak, film halindeki biyokütle örnekleri üzerine damlatılan polar ve apolar sıvıların temas açılarından, yüzey serbest enerji parametreleri hesaplandı. Kontrol amaçlı kullanılan biyosorpsiyon

işlemine tâbi tutulmamış biyokütle yüzeyi ile boya biyosorpsiyonu işleminden sonra belirlenen temas açılarının değişimi sonucu boya uzaklaştırma işleminden sonra yüzeyin hidrofilitésinin azaldığı gözlemlendi. Temas açısı ölçümleri ile gösterildiği gibi, R. Red-120 ve R. Green-5 ile biyosorpsiyon işlemine tâbi tutulmuş fungal biyokütlelerin, R. Blue-4 ve R. Yellow-2 boya bağlı biyokütleden daha az hidrofobik olduğu gözlemlendi.

Doğal fungus, ısı, asit ve baz ile işleme tâbi tutulmuş fungal biyokütle üzerine R. Red-120, R. Yellow-2, R. Blue-4 ve R. Green-5 biyosorpsiyonuna pH'nın etkisi 3.0-10.0 aralığında farklı tampon sistemleri kullanılarak belirlendi. Düşük pH (pH 3.0-4.0) değerlerinde aromatik yapıları ve farklı fonksiyonel gruplara sahip olan büyük moleküllü boya bileşiklerinin yüksek bir biyobirikim değeri gösterdiği, ortam pH'sının artmasıyla birlikte biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesinin azaldığı gözlemlendi.

Sulu ortamdaki boya konsantrasyonunun artmasıyla birlikte doğal fungus, ısı, asit ve baz ile işlem gören biyokütlelerin, biyosorpsiyon kapasitelerinin de arttığı gözlemlendi. Belirlenen deneysel sonuçların teorik izoterm modellerine uygulanması sonucu *P.chrysosporium* ile sulu ortamdan boya uzaklaştırılması işlemi Freundlich izoterm modeli ile açıklanabilmektedir. Langmiur modeli, eşit erişilebilir adsorpsiyon yerleri, tek tabakalı yüzey kaplaması ve adsorplanan türler arasında etkileşimin olmadığı gibi homojenite varsayımına dayanır. Langmiur modeli, homojen adsorpsiyonlar için formüle edildiğinden, Freundlich izoterm modelleri, genellikle heterojen adsorpsiyon için uygulanır. Biyosorpsiyon işleminde sıcaklığın artırılması ile her bir yapıdaki fungal biyokütlenin uzaklaştırdığı boya miktarının

arttığı belirlendi. Boya uzaklaştırma işleminde, başlangıç biyosorpsiyon hızının yüksek olduğu ve dengeye yaklaşık olarak 4 saatte ulaşıldığı bulundu.

Artan çevre problemlerini azaltmak amacıyla atıksulardaki renk giderim işlemlerinde beyaz çürükçül fungusların kullanımının oldukça verimli sonuçlar vereceği düşünüldü. Üretimi fazla maliyet gerektirmeyen ve basit fermantasyon teknikleriyle geniş çaplı olarak üretilebilen *P. chrysosporium*, atıksuların renk gideriminde başarılı bir şekilde uygulanabileceği görüldü. Sürekli sistemde ard arda en az 12 kez boya yüklemeleri ile biyokütlenin boya uzaklaştırma kapasitesinin de değişmeden endüstriyel açıdan önemli bir parametre olan uzun süreli biyobirikimde veya alıkonma süresinin sınırlayıcı faktör olmadığı durumlarda *P.chrysosporium*'un boya uzaklaştırma işlemlerinde kullanılabilmesi belirlendi.

KAYNAKLAR

1. Aksu, Z., Proc. Biochem. **40**, 997(2005).
2. Aksu, Z. And Kabasakal, E., Sep. Purif. Technol. **35**, 223(2004).
3. Aksu, Z., Dönmez, G.A., Chemosphere **50**, 1075(2003).
4. Aksu, Z., Biochem. Eng. J. **7**, 79(2001).
5. Aksu, Z., Tezer, S., Proc. Biochem. **36**, 431(2000).
6. Arıca, M.Y., Bayramoğlu, G., Yılmaz, M., Bektaş, S., Genç, Ö., J. Of Hazardous Materials B **109**, 191(2004).
7. Arıca, M.Y., Arpa, Ç., Kaya, B., Bektaş, S., Denizli, A., Genç, Ö., Biores. Technol. **89**, 145(2003).
8. Archibald, F. and Roy, B., Appl. Environ. Microbiol. **58**, 1496(1992).
9. Arlı, M., Doğal Bitkisel Boyalarla Boyama Yöntemleri Üzerine Düşünceler, 2. Ulusal el sanatları sempozyum bildirileri. 9 Eylül Üniversitesi Güzel Sanatlar Fakültesi Yayınları No: 19, 15(1982).
10. Banat, I.M., Nigam, P., Singh, D. and Marchant, R., Bioresour. Technol. **58**, 217(1996).
11. Bayramoğlu, G., Yılmaz, M., Arıca, M.Y., Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects **243**, 11(2004).
12. Bayramoğlu, G., Yılmaz, M. and Arıca, M.Y., Biochem. Engineering J. **13**, 35(2003).
13. Bayramoğlu, G., Denizli, A., Bektaş, S., Arıca, M.Y., Microchem. J. **72**, 63(2002).

14. Blanco, R., Arai A., Grinberg, N., Yarmush, B.D., Karger, M.L., J. Chromatogr. **482**, 1(1989).
15. Brahimi-Horn, M.C., Lim, K.K., Liany, S.L. and Mou, D.G., J. Ind. Microbiol. **10**, 245(1992).
16. Bustard, M., McMullan, G., McHale, A.P., Bioprocess Eng. **19**, 427(1998).
17. Calin, C. and Miron, M., Ind. Text. (Bucharest) **46**, 140(1995).
18. Chagas, E.P. and Durrant, L.R., Enzyme Microb. Technol. **29**, 473(2001).
19. Chu, H.C. and Chen K.M., Process Biochem. **37**, 1129(2002).
20. Ciardelli, G., Corsi, L., Marucci, M., Resour. Conserv. Recycl. **31**, 189(2000).
21. Daifullah, A.A.M. and Girgis, B.S., Water Res. **32**, 1169(1998).
22. Eyüpoğlu, Ü., Okaygün, I., Yaraş, F., Doğal Boyalarla Yün Boyama (Uygulamalı Ve Geleneksel Yöntemler) Özkur Basımevi, İstanbul, 1983.
23. Forgacs, E., Cserhati, T., Oros, G., Environ. Inter. **30**, 953(2004).
24. Fowkes, F.M., J. Adhes Sc. Technol. **1**, 7(1987)
25. Fu, Y.Z. and Viraraghavan, T., Adv. Environ. Res. **7**, 239(2002).
26. Fu, Y.Z. and Viraraghavan, T., Bioresour. Technol. **79**, 251(2001).
27. Fu, Y. and Virarahavan, T., Water Quality Res. J. Can. **35**, 95(2000).
28. Gallagher, K.A., Healy, M.G., Allen, S.J., In: Wise DL. (Ed.). Global Environmental Biotechnology. UK: Elsevier; 27(1997).
29. Glenn, J.K. and Gold, M.H., Appl. Environ. Microbiol. **45**, 1741(1983).
30. Gong, R., Ding, Y., Li, M., Yang, C., Liu, H., Sun, Y., Dyes and Pigments **64**, 187(2005).
31. Ho, Y.S., Chiang, T.Z., Hsueh Y.M., Proc. Biochem. **40**, 119(2005).
32. Hu, T.L., Water Sci. Technol. **34**, 89(1996).

33. Hu, T.L., *Water Sci. Technol.* **26**, 357(1992).
34. Hunger, K., *Pitt. Vernici Eur.* **71**, 30(1995).
35. Juang, R.S., Wu, F. C. and Tseng, R.L., *Environ. Technol.* **18**, 525(1997).
36. Kanekar, P. and Sarnaik, S., *Environ. Pollut.* **70**, 27(1991).
37. Kapdan, I.K., Kargi F., McMullan G. and Marchant R., *Enzyme Microbial Technol.* **26**, 381(2000).
38. Kapoor, A., Viraraghavan, T., & Cullimore, D.R., *Bioresour. Technol.* **70**, 95(1999).
39. Karcher, S., Kornmuller, A. and Jekel, M., *Water Sci. Technol.* **40**, 425(1999).
40. Kargi, F., Özmihci, S., *Enzyme and Microb. Technol.* **35**, 267(2004).
41. Kirby, N., DPhil Thesis, University of Ulster, Coleraine, UK, 1999.
42. Kocaer, F.O., Alkan, U., *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi* **7**, 47(2002).
43. Koch, M., Yediler, A., Lienert, D., Insel, G. and Kettrup, A., *Chemosphere* **46**, 109(2002).
44. Kumar, M.N.V.R., Sridhari, T.R., Bhavani, K.D. and Dutta, P.K., *Colorage* **40**, 25(1998).
45. Levin, L., Forchiassin, F., Viale, A., *Proc. Biochem.* **40**, 1381(2005).
46. Lu, Y., Wilkins, E., *J. of Hazardous Materials* **49**, 165(1996).
47. Malik, P.K., Saha, S.K., *Sep. Purif. Technol.* **31**, 241(2003).
48. Martins, M.A.M., Ferreira, I.C., Santos, I.M., Queiroz M.J., Lima, N., *J. Biotechnol.* **89**, 91(2001).

49. McMullan, G., Meehan, C., Conneely, A., Kirby, N., Robinson, T., Nigam, P., Banat, I.M., Marchant, R., Smyth, W.F., *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **56**, 81(2001).
50. Mishra, G. and Tripathy, M., *Colourage* **40**, 35(1993).
51. Mittal, A.K. and Gupta, S.K., *Water Sci. Technol.* **34**, 157(1996).
52. Mou, D.G., Lim, K.K. and Shen, H.P., *Biotechnol. Adv.* **9**, 613(1991).
53. Mykhaylyk, T.A., Evans, S.D., Fernyhough, C.M., Hamley, L.W., Henderson, J.R., *J. Colloid Interf. Sci.* **260**, 234(2003).
54. Novotny, C., Rawal, B., Bhatt, M., Patel, M., Aek, V., Molitoris, H.P., *J. Biotechnol.* **89**, 113(2001).
55. O'Mahony, T., Guibal, E. and Tobin, J.M., *Enzyme Microb. Technol.* **31**, 456(2002).
56. Pelegrini, R., Peralto-Zamora, P., de Andrade, A.R., Reyers, J. and Duran, N., *App. Catal B-Environ.* **22**, 83(1999).
57. Polman, A. and Brekenridge, C.R., *Tex. Chem. Colour.* **28**, 31(1996).
58. Pradnya, K. and Seema, S., *Environment Sci and Eng and Toxic and Hazardous Subs Contr*, **30**, 1817(1995).
59. Reddy, C.A., *Curr. Opt Biotechnol.* **6**, 320(1995).
60. Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R. and Nigam, P., *Bioresour. Technol.* **77**, 247(2001).
61. Robles, A., Lucas, R., Cienfuegos, G.A. and Galvez, A., *Enzyme and Microb. Technol.* **26**, 484(2000).
62. Sağlam, N., Yalçınkaya, Y., Denizli, Arica, M.Y., Genç, Ö., *Microchemical Journal* **71**, 73(2002).

63. Sağlam, N., Say, R., Denizli, A., Patır, S., Arıca, M.Y., Proc. Biochem. **34**, 725(1999).
64. Schliephake, K. and Lonergan, G.T., Biotechnol. Lett. **18**, 881(1996).
65. Seshadri, S., Bishop, P.L. and Agha, A.M., Waste Manag. **14**, 127(1994).
66. Slampova, A., Smela, D., Vondrackova, A., Jancarova, I. and Kuban, V., Chem. Listy **95**, 163(2001).
67. Slokar, Y.M. and Le Marechal, A.M., Dyes Pigments **37**, 335(1997).
68. Spadaro, J.T. and Renganathan, V., Arch Biochem Biophys, **312**, 301(1994).
69. Sumathi, S. and Manju, B.S., Enzyme Microb. Technol. **27**, 347(2000).
70. Şatıroğlu, N., Yalçınkaya, Y., Denizli, A., Arıca, M.Y., Bektaş, S., Genç, Ö., Proc. Biochem. **38**, 65(2002).
71. Tatarko, M. and Bumpus, J.A., Water Res. **32**, 1713(1998).
72. Thurston, C.F., Microbiology **140**, 19(1994).
73. Tobin, J.M., White, C., & Gadd, G.M., J. of Indust. Microb. **13**, 126(1994).
74. Tobin, J.M., Cooper, D.G. and Neufeld, R.J., Appl. Environ. Microbiol. **47**, 821(1984).
75. Tsuda, S., Murakami, M., Matsusaka, N., Kano, K., Taniguchi, K. and Sasaki, Y.F., Toxicol. Sci. **61**, 92(2001).
76. van Oss, C.J., Good, R.J., Chaudury M.K., Langmiur **4**, 884(1988).
77. Vyas, B.R. and Molitoris, H.P., R Appl Environment Microbiol. **61**, 3919(1995).
78. Walthall, W.K. and Stark, J.D., Environ. Pollut. **104**, 207(1999).
79. Wu, S.J., Colloid Surface Sci. **71**, 605(1979)
80. Xu, Y. and Lebrun, R.E., Separ. Sci. Technol. **34**, 2501(1999).
81. Yang, Y., Wyatt II, D.T. and Bahorsky, M., Text. Chem. Color. **30**, 27(1998).

82. Yesilada, Ö., Asma, D., Cing, S., Proc. Biochem. **38**, 933(2003).
83. Yesilada, Ö., Özcan, B., Tr. J. Biol. **22**, 463(1998).
84. Yu, M.C., Skipper, P.L., Tannenbaum S.R., Chan, K.K., Ross, R.K., Mutat. Res. Fundam. Mol. Mech. Mutagen **21/8**, 506(2002).
85. Zisman, W.A., Ind. Eng. Chem. **55**, 19(1963).
86. Zhou, W. and Zimmermann, W., FEMS Microbiol. Lett. **107**, 157(1993).
87. Zhou, J.L. and Banks, C.J., Environ. Technol. **12**, 859(1991).

